

JUANA BEATRÍZ CABALLERO ALMADA

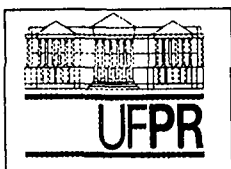
**AVALIAÇÃO DE MÉTODOS DE INOCULAÇÃO, CONTROLE
QUÍMICO E ALTERNATIVO DE *Pseudoperonospora cubensis*
(Berk. e Curt.), AGENTE CAUSAL DO MÍLDIO DO PEPINO
(*Cucumis sativus* L.)**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração Produção Vegetal da Universidade Federal do Paraná como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Maria Lúcia R. Z. da Costa Lima

CURITIBA

1998



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA E FITOSSANITARISMO
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
PRODUÇÃO VEGETAL

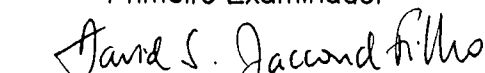
PARECER

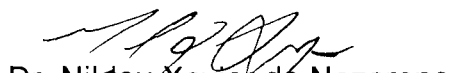
Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Curso de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal, reuniram-se para realizar a arguição da Dissertação de MESTRADO, apresentada pela candidata **JUANA BEATRIZ CABALLERO ALMADA**, sob o título "**AVALIAÇÃO DE MÉTODOS DE INOCULAÇÃO, CONTROLE QUÍMICO E ALTERNATIVO DE *Pseudoperonospora cubensis* (BERK. E CURT.), AGENTE CAUSAL DO MÍLDIO DO PEPINO (*Cucumis sativus* L.)**", para obtenção do grau de Mestre em Ciências do Curso de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná.

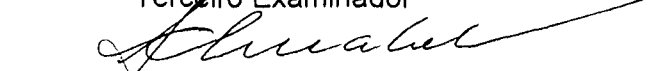
Após haver analisado o referido trabalho e arguido a candidata são de parecer pela "**APROVAÇÃO**" da Dissertação com conceito: (**A**).

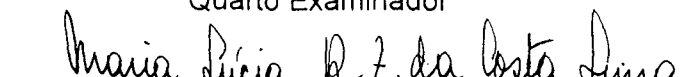
Curitiba, 30 de abril de 1998.


Prof^a Dra. Maristella Dalla Pria
Primeiro Examinador


Prof. Dr. David S. Jaccoud Filho
Segundo Examinador


Dr. Nilceu Xavier de Nazareno
Terceiro Examinador


Prof. Dr. Vismar da Costa Lima Neto
Quarto Examinador


Prof^a Dra. Maria Lúcia R. Z. da Costa Lima
Presidente da Banca e Orientadora

A Deus, pela saúde e boa vontade....

AGRADEÇO

Aos meus pais Margarita e Silvio

pelas orações....

OFEREÇO

Às minhas filhas

Sandra Beatriz e Christa Violeta

pela compreensão de minha ausência....

A Ken Moriya

pelo amor, estímulo, paciência e confiança....

Às minhas irmãs Venus Margarita e Ana María

pelo incentivo permanente....

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Produção Vegetal pela oportunidade de realização deste curso.

Ao Ministerio de Agricultura y Ganaderia (MAG) do Paraguay, à Dirección de Extensión Agraria (DEAG) e à Dirección de Administración y Coordinación de Proyectos (DINCAP), pelo apoio e oportunidade concedidos.

À Prof^a. Dra. Maria Lúcia R. Z. da Costa Lima, pela orientação, amizade e incentivo para a execução e elaboração desta obra.

Ao Prof. Dr. A. Grigoriu, Department of Plant Pathology, Agricultural University of Athens (Grécia) pela boa vontade de colocar à minha disposição seu tempo e conhecimento, apesar da distância.

Ao Prof. Dr. Nilceu R. X. de Nazareno pela co-orientação, amizade, sugestões e conhecimentos transmitidos na elaboração deste trabalho.

À Prof^a. Fernanda Rita Aguiar Zambon pela co-orientação, amizade, estímulo e sugestões na execução do trabalho.

Ao Prof. João Carlos Possamai pela paciência na co-orientação segura e objetiva durante a instalação e condução dos experimentos e nas análises estatísticas.

À Prof^a. Dra. Tomoe Nakashima do Depto. de Farmácia, pela dedicação, sugestões e colaboração na área de plantas medicinais.

Aos Professores integrantes da Banca Examinadora da Pré-Defesa : Luiz Antonio Biasi, José Cavassin Tosin, Ruy J. M. Carvalho, Renato Tratch e Cícero Dechamps pelas correções e sugestões.

Aos Professores membros da Banca Examinadora da Defesa de Dissertação: Drs. Vismar da Costa Lima, Maristella Dalla Pria e David Jaccoud Filho, pela leitura crítica e sugestões.

Aos Professores do Curso de Pós-Graduação pelos ensinamentos e amizade.

Aos Engº. Agrºs. Gerardo López, Vice Ministro de Agricultura do Paraguay, e Jacinto Montiel, Diretor de Comunicação da Dirección de Extensión Agraria, pelo apoio e confiança depositados.

Aos Engº. Agrºs. Miguel Angel Ruiz Arce, Guillermo Céspedes e Sergio Cantero, da Dirección de Extensión Agrária, pelo apoio.

Aos colegas do Curso pelos bons momentos compartilhados, apoio e amizade, em especial a Roselí Frota M. Salles, Luis Alberto Koslowski, Luciene Martins Moreira, Lia Nara Paludo de Oliveira, Flora Osaki, Giselda Maia Rêgo e Regina Canestraro Koch.

Às colegas Lucimeris Ruaro Schuta e Louise Larissa May De Mio pelas sugestões e colaboração.

Aos funcionários do Depto. de Fitotecnia e Fitossanitarismo pela prestação de serviços.

Ao Eng. Agrº. Hideo Katahira, ex experto da Cooperación Técnica Internacional do Japão (JICA), pela colaboração e treinamento no campo.

Aos meus primos Nelly e David Mc Callum, pelo estímulo permanente e colaboração.

Às colegas do Paraguai, Maria Delas Nieves Matta, Gloria Beatríz Aquino, Graciela de López e Soledad Martínez, pelo estímulo constante.

Aos colegas Hugo Reis Vidal, Alfredo Rodelo Fontes e Hugo C. Rodriguez pela gentileza de terem facilitado materiais para os experimentos.

Às funcionárias da Biblioteca do SCA, em especial às bibliotecárias Marcia Regina Wellner, Doroti Maria de Lourdes Andrade e Liliana L. Pizzolato pela colaboração.

Ao Senhor Luis Chezanoski, produtor de plantas medicinais no município de Araucária.

Ao Agrônomo Braz E. de Moraes da Secretaria Municipal de Agricultura e Abastecimento (SMAA) - Prefeitura de Curitiba.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
RESUMO.....	x
RESUMEM.....	xi
ABSTRACT.....	xii
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	5
2.1 A IMPORTÂNCIA DO MÍLDIO NAS CUCURBITÁCEAS.....	5
2.2 MÉTODOS DE INOCULAÇÃO.....	9
2.3 CONTROLE QUÍMICO DO MÍLDIO.....	12
2.4 CONTROLE ALTERNATIVO DO MÍLDIO.....	15
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	19
a. LOCAL.....	19
b. OBTENÇÃO E PREPARO DE INÓCULO.....	19
3.1 EXPERIMENTO SOBRE MÉTODOS DE INOCULAÇÃO.....	22
3.1.1 Inoculação em casa de vegetação.....	22
3.1.2 Inoculação em laboratório.....	22
3.1.3 Métodos de inoculações.....	23
3.1.3.1 Discos de folha de pepino.....	23
3.1.3.2 Discos de papel.....	24
3.1.3.3 Pipeta.....	24
3.1.3.4 Pulverização.....	24
3.1.3.5 Seringa.....	25
3.1.4 Delineamento experimental e avaliação.....	25
3.1.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
3.2 EXPERIMENTO COM CONTROLE QUÍMICO.....	33
3.2.1 Inoculação em casa de vegetação.....	33
3.2.2 Inoculação em laboratório.....	34

3.2.3 Avaliação e delineamento experimental.....	34
3.2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
3.2.4.1 Em casa de vegetação.....	36
3.2.4.2 Em folhas destacadas.....	39
3.3. EXPERIMENTO COM CONTROLE ALTERNATIVO.....	41
3.3.1 Inoculação em casa de vegetação.....	41
3.3.2 Inoculação em laboratório.....	41
3.3.3 Produtos testados.....	41
3.3.4 Avaliação e Delineamento experimental.....	42
3.3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	44
3.3.5.1 Em casa de vegetação.....	44
3.3.5.2 Em folhas destacadas.....	47
4 CONCLUSÕES	49
5 RECOMENDAÇÕES	50
ANEXOS	51
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56

LISTA DE TABELAS

- 1 - PORCENTAGEM DE ÁREA FOLIAR COM SINTOMAS DE MÍLDIO OBSERVADA EM DUAS CULTIVARES DE PEPINO COM DIFERENTES MÉTODOS DE INOCULAÇÃO..... 28
- 2 - RELAÇÃO DE PRODUTOS FUNGICIDAS, NOMES COMERCIAL E TÉCNICO, FORMULAÇÕES, CONCENTRAÇÕES E DOSES TESTADOS PARA O CONTROLE DO MÍLDIO EM PEPINO..... 35
- 3 - PRODUTOS ALTERNATIVOS, NOMES COMUM, CIENTÍFICO E CONCENTRAÇÕES, TESTADOS PARA O CONTROLE DO MÍLDIO DO PEPINO..... 42

LISTA DE FIGURAS

1 - FOLHAS DE PEPINO RECORTADAS, EM PLACA DE PETRI.....	23
2 - CÂMARA ÚMIDA UTILIZADA EM PLANTAS DE PEPINO EM CASA DE VEGETAÇÃO.....	26
3 - SINTOMAS DO MÍLDIO EM FOLHAS DE PEPINO.....	27
4 - PERCENTAGEM DE ÁREA FOLIAR COM SINTOMAS DE MÍLDIO EM DUAS CULTIVARES DE PEPINO AVALIADAS EM DUAS EPOCAS DEPOIS DA INOCULAÇÃO.....	29
5 - EFEITO DE FUNGICIDAS EM PLANTAS DE PEPINO EM CASA DE VEGETAÇÃO PARA O CONTROLE DO MÍLDIO COM APLICAÇÃO PROTETIVA (AI) E CURATIVA (DI).....	38
6 - EFEITO DE FUNGICIDAS EM FOLHAS DESTACADAS DE PEPINO PARA O CONTROLE DO MÍLDIO COM APLICAÇÃO PROTETIVA (AI) E CURATIVA (DI).....	40
7 - EFEITO DE PRODUTOS ALTERNATIVOS EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES APLICADOS PREVENTIVAMENTE (AI) EM PLANTAS DE PEPINO EM CASA DE VEGETAÇÃO PARA O CONTROLE DO MÍLDIO.....	45
8 - SINTOMAS DO MÍLDIO EM FOLHA DE PEPINO TRATADA COM ÁGUA E COM EXTRATO DE CAVALINHA 10%.....	46
9 - EFEITO DE PRODUTOS ALTERNATIVOS EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES APLICADOS PREVENTIVAMENTE (AI) EM FOLHAS DESTACADAS DE PEPINO PARA O CONTROLE DO MÍLDIO.....	48

RESUMO

No presente trabalho foram avaliados diferentes métodos de inoculação de *Pseudoperonospora cubensis* (Berk. e Curt.), agente causal do míldio em pepino (*Cucumis sativus* L.), e o efeito da aplicação de produtos químicos bem como de produtos alternativos no controle do patógeno. Os experimentos foram realizados no período de março a novembro de 1997, no Laboratório de Fitopatologia e em Casa de Vegetação do Setor de Ciências Agrárias da UFPR, Curitiba. Nos 3 experimentos com delineamento inteiramente casualizado foi utilizada uma concentração de inóculo de 5×10^4 esporângios. mL⁻¹, provenientes de um isolado obtido da cultivar Aodai Melhorado. No primeiro experimento utilizou-se o arranjo fatorial 2 x 5 (duas épocas de avaliação, no 5º e 14º dias e cinco métodos de inoculação). Foram utilizadas as três primeiras folhas de plantas em vasos e também folhas destacadas das cultivares Aodai Melhorado e Nanshin com 45 dias de idade. Os métodos de inoculação testados foram: discos de folha de pepino, discos de papel de filtro, pipeta, pulverização e seringa. As avaliações foram realizadas considerando-se a percentagem de área foliar lesionada. Todos os métodos de inoculação foram eficientes na expressão de sintomas, sendo superior o da pipeta, seguido pelo da pulverização em condições de laboratório. No segundo experimento foram utilizados 12 tratamentos e 10 repetições, sendo testados fungicidas protetores e curativos, aplicados 24h antes (AI) e 24h depois das inoculações (DI) em plantas em vaso e em folhas destacadas da cv. Aodai Melhorado. Três avaliações, no 5º, 10º e 15º dias foram realizadas DI considerando a percentagem de área foliar lesionada e calculada a área sob a curva de progresso do míldio (ASCM), utilizando-se o teste de Tukey ($P \geq 0,01$) para comparação das médias. Os produtos foram significativamente diferentes da testemunha (água) quando aplicados AI e DI em casa de vegetação, sendo os mais eficientes fosetyl-AI e dimethomorph e fosetyl-AI, respectivamente. Em folhas destacadas os melhores produtos AI foram fosetyl-AI, oxicloreto de cobre + mancozeb, metalaxyl + chlorotalonil, dimethomorph, cymoxanil + sais de cobre e metalaxyl + mancozeb. Quando aplicados DI os mais eficientes foram dimethomorph e metalaxyl+mancozeb. No terceiro experimento sobre controle alternativo, com sete tratamentos e 10 repetições, foram testados extratos vegetais de cinco espécies e leite cru aplicados antes da inoculação em plantas em vaso e folhas destacadas da cv. Aodai Melhorado. Para as avaliações, em casa de vegetação procedeu-se da mesma forma que para os produtos químicos. Em folhas destacadas, foram realizadas duas avaliações (5º e 10º dias), considerando-se a percentagem de área foliar com sintomas da doença. Em ambas as condições o extrato de alho (10 e 20%) foi o mais eficiente comparado com a testemunha (água). Houve uma redução em quase 50% da ASCM quando comparada com a testemunha.

RESUMEN

En el presente trabajo fueron evaluados diferentes métodos de inoculación de *Pseudoperonospora cubensis* (Berk. y Curt.), agente causal de la enfermedad mildiu em pepino (*Cucumis sativus* L.), y el efecto de la aplicación de productos químicos así como de productos alternativos para el control del patógeno. Los experimentos fueron realizados en el período de marzo a noviembre de 1997 en el Laboratorio de Fitopatología y en la Casa de Vegetación del Sector de Ciencias Agrarias de la Universidad Federal de Paraná, en Curitiba. En los 3 experimentos, con *delineamiento completamente aleatorio*, fue utilizada una concentración de inóculo de 5×10^4 esporangios. mL⁻¹, provenientes de un aislado obtenido del cv. Aodai Melhorado. En el primer experimento se utilizó el arreglo factorial 2 x 5, correspondiendo a dos épocas de evaluación, (5° y 14° días) y cinco métodos de inoculación. Fueron utilizadas las tres primeras hojas de plantas en macetas y hojas separadas de los cvs. Aodai Melhorado y Nanshin con 45 días de edad. Los métodos de inoculación testados fueron: discos de hojas de pepino, discos de papel filtro, pipeta, pulverización y jeringa. Las evaluaciones fueron realizadas considerando el porcentaje de área foliar lesionada. Todos los métodos de inoculación fueron eficientes en la manifestación de síntomas, siendo superior el de la pipeta, seguido por el método de pulverización en condiciones de laboratorio. En el segundo experimento fueron utilizados 12 tratamientos y 10 repeticiones, siendo testados fungicidas protectores y curativos aplicados 24h antes (AI) y 24h después (DI) de las inoculaciones de las plantas en macetas y de las hojas separadas del cv. Aodai Melhorado. Fueron realizadas tres evaluaciones, al 5°, 10° y 15° días DI considerando el porcentaje de área foliar lesionada y calculada el área abajo de la curva de progreso de mildiu (ASCM), utilizando el teste de Tukey ($P \geq 0,01$) para comparación de las medias. Los productos fueron significativamente diferentes del testigo (água) cuando aplicados AI y DI en casa de vegetación, siendo los mas eficientes fosetyl-AI y dimethomorph y fosetyl-AI, respectivamente. En hojas separadas los mejores productos aplicados AI fueron fosetyl-AI, oxicloreto de cobre+mancozeb, metalaxyl+chlorotalonil, dimethomorph, cymoxanil + sales de cobre y metalaxyl + mancozeb. Cuando aplicados DI dimethomorph y metalaxyl + mancozeb fueron los mas eficientes. En el tercer experimento sobre control alternativo, con siete tratamientos y 10 repeticiones, fueron testados extractos vegetales de cinco especies y leche cruda, aplicados antes de las inoculación de las plantas em vaso y de las hojas separadas del cv. Aodai Melhorado. Para las evaluaciones en casa de vegetación se procedió de la misma forma que para los productos químicos. En hojas separadas fueron realizadas dos evaluaciones (5° y 10° días), considerando el porcentaje de área foliar con síntoma de la enfermedad. En ambas condiciones el extracto de ajo (10 y 20%) fue el mas eficiente comparado con el testigo (água). Hubo una reducción de casi 50% del ASCM cuando comparado con el testigo sin control.

ABSTRACT

In the present study, different inoculation methods for *Pseudoperonospora cubensis* (Berk. and Curt.), the causal agent of downy mildew in cucumber (*Cucumis sativus* L.), and the effect of spraying chemical and alternative products to control the pathogen were evaluated. The experiments were carried out between March, and November, 1997, at the Plant Pathology Laboratory and greenhouse facilities of the Agricultural Sciences Sector of the Federal University of Paraná (UFPR) in Curitiba. The complete randomized design was used for the 3 experiments, with a 5×10^4 mL⁻¹ sporangia as inoculum concentration. Pathogen isolates were acquired from plants of Aodai Melhorado cultivar; 45 day old plants of Nanshin and Aodai Melhorado cultivars were used, both in detached leaves and potted plants. Evaluations were done considering the percentage leaf area injured. All inoculation methods were efficient for symptom expression. Under laboratory conditions, pipetting was the best followed by spraying the inoculum on leaves. For the chemical control experiment, 11 fungicides were testes, both in detached leaves and potted plants of the susceptible Aodai Melhorado cultivar. Applications were done 24 h before (BI), and 24 h after (AI) inoculation, giving a total of 24 combinations including 2 unsprayed checks. Ten replications per treatment were used. Disease severity assessments were done at 5, 10 and 15 days after inoculation, using the percentage diseased area on leaves. The area under the downy mildew progress curve (AUDMC) was estimated for each replication for treatment mean comparison using the Tukey teste procedure at ($P \geq 0,01$). There were significant differences among treatments when applied BI and AI in both detached leaves and potted plants. The best disease control in potted plants was achieved with fosetyl-AI and dimethomorph, regardless of BI or AI applications. In detached leaves the best fungicides applied BI were fosetyl-AI, cooper oxychloride + mancozeb, metalaxyl + chlorotalonil, dimethomorph, cymoxanil + cooper salt and metalaxyl + mancozeb. When applied AI, the best fungicides were dimethomorph, and metalaxyl + mancozeb. For the alternative products downy mildew control, an experiment was conducted with 7 treatments and 10 replications. Raw milk and 5 plant species extracts were tested BI on Aodai Melhorado cultivar, both in detached leaves, and on potted plants as described before. Disease assessments were done as for the chemical control experiments. The best disease control was obtained using garlic extracts in both 10 and 20% concentration. There was nearly 50% reduction in AUDMC as compared to the unsprayed control.

1 INTRODUÇÃO

A planta de pepino (*Cucumis sativus* L.) é originária das regiões montanhosas do Himalaia e da Baía de Bengala, (LOPES e MAKISHIMA, 1995); pertence à família botânica *Cucurbitaceae*, cujas espécies são cultivadas em todo o mundo, exceto no Ártico e na Antártica (MATTANA et al., 1982).

Os frutos podem ser consumidos tanto no estágio floral na forma de picles quanto no imaturo na forma de salada (LOPES e MAKISHIMA, 1995).

Junto com a abóbora, é a espécie mais conhecida do consumidor brasileiro. É o terceiro em volume de comercialização entre esta família e o nono entre as hortaliças. Os maiores mercados consumidores do país são: São Paulo, seguido pelo do Rio de Janeiro, Paraná e Minas Gerais (MAKISHIMA, 1991).

Nos últimos anos, vários híbridos e cultivares tem sido lançados no mercado, abrindo novas opções aos agricultores e também aos consumidores (HENZ, 1995). A produtividade média é de aproximadamente 30 t ha⁻¹ mas há produtores que conseguem até 70 t ha⁻¹ (MAKISHIMA, 1991). No Estado do Paraná, a produção total de pepino em 1996 foi de 32.342 t, volume superior ao de outras cucurbitáceas, conforme EMATER-PR/Perfil Periódico 1996, citado pelo INSTITUTO MUNICIPAL DE ADMINISTRAÇÃO PÚBLICA (1997).

No Paraguai, a rentabilidade do pepino é alta comparada com outras cucurbitáceas; os produtores conseguem um rendimento de 25 a 35 t ha⁻¹

a campo, mas em casa de vegetação este rendimento se duplica conforme Katahira¹.

Como a planta de pepino é sensível à baixas temperaturas muitos produtores a vem cultivando em estufas plásticas para a produção no inverno ou em regiões onde o clima é desfavorável. Este método, além de permitir a produção em épocas de temperaturas baixas ou chuvosas, antecipa o início da colheita, prolonga o período de produção e o fruto apresenta melhor qualidade (LOPES e MAKISHIMA, 1995).

A área de cultivo sob estruturas plásticas tipo capela ou guarda-chuva tem aumentado muito e a cada dia mais problemas têm surgido devido a doenças fúngicas e bacterianas, conforme relatório da Mesa Redonda sobre Fitossanidade proferida no 1º Simpósio Brasileiro sobre Cucurbitáceas (LOPES, 1991).

No Brasil e Paraguai os maiores danos à produção do pepino tem sido ocasionados pelo patógeno *Pseudoperonospora cubensis* Berk. e Curt., causador da doença conhecida com o nome comum de míldio, presente em todas as áreas onde se cultivam cucurbitáceas (NIIUCHI, 1994; REGO, 1995)

As perdas ocasionadas dependem do estágio de crescimento em que a planta é infectada e do desenvolvimento do patógeno (REGO, 1995) que ocorre predominantemente nas folhas, podendo atingir também ramificações novas e frutos nos estádios iniciais de desenvolvimento (BEDENDO, 1995).

¹ Comunicação pessoal do Engº. Agrº. Hideo Katahira, 1996. Ex Experto de la Cooperación Técnica Internacional del Japón - JICA - Ministerio de Agricultura y Ganadería, Dirección de Extensión Agraria. Asunción - Paraguay

Segundo LOPES (1995), um grande problema para o controle químico de doenças em hortaliças advém da falta de produtos registrados para a maioria das culturas, sendo uma delas o pepino.

A baixa eficiência com que são conduzidas as pulverizações, aliada à escolha de produtos, dosagens e épocas de aplicação inadequadas, causa sérios problemas como o risco de intoxicação dos aplicadores e consumidores de alimentos, além de favorecer o surgimento de raças resistentes do patógeno e provocar desequilíbrio biológico (OLIVEIRA, 1994).

Apesar da importância econômica da doença no Brasil e no Paraguai, assim como na maioria dos países onde o pepino é cultivado, constatou-se a inexistência de informações sobre métodos de inoculação, métodos de controle químico e alternativo de *P. cubensis*. Esta escassez de dados provavelmente, seja devido ao míldio ser causado por um patógeno obrigatório, o que dificulta sua manipulação e manutenção em condições experimentais, em laboratório e em casa de vegetação. Por isso, se justifica a realização de pesquisas que gerem informações que possam contribuir para maior conhecimento deste patógeno e de seu controle em nossas condições.

Partindo da hipótese que, se utilizarmos diversos métodos de inoculação para que ocorra a infecção do patógeno e expressão de sintomas no hospedeiro, então, espera-se que um deles seja mais eficiente. Se doenças causadas por fitopatógenos diferentes podem ser controladas com a aplicação de produtos químicos e alternativos de forma diferenciada, espera-se encontrar comportamento semelhante para o patógeno *P. cubensis*.

Este trabalho teve como objetivo geral avaliar diferentes metodologias de inoculação experimental de *P. cubensis* no pepino e o efeito da aplicação de produtos químicos protetores e curativos, bem como de produtos alternativos aplicados em diferentes concentrações no controle do patógeno, em condições de laboratório e em casa de vegetação.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A IMPORTÂNCIA DO MÍLDIO NAS CUCURBITÁCEAS

A doença míldio está difundida em todo o mundo onde existem espécies silvestres e cultivadas de cucurbitáceas, do genero *Cucumis*, sendo sua ocorrência já registrada em 70 países (COHEN, 1981). O patógeno causador pode ocasionar grandes perdas na produção de pepino, (*Cucumis sativus* L.), melão (*Cucumis melo* L.), melancia (*Citrullus lanatus* T.) e outras cucurbitáceas cultivadas a campo e em casa de vegetação (THOMAS, 1996).

Esta doença foi observada em pepino pela primeira vez em Cuba, no ano de 1868 (VARADY e DUCROT, 1985). O patógeno causador foi identificado por Berkeley M. J. e Curtis M. A. como *Pseudoperonospora cubensis* (FARR et al., 1995).

A distribuição geográfica de *P. cubensis* abrange todo o mundo, ocorrendo na forma natural somente em espécies da família cucurbitaceae. Como plantas hospedeiras foram registradas mais de 40 espécies representando aproximadamente 20 gêneros (PALTÍ e COHEN, 1980).

O patógeno pertence à Classe dos *Oomycetes*, cujos representantes têm desenvolvido uma ampla faixa de adaptação para assegurar a sua sobrevivência sob várias condições ambientais. Novos hospedeiros e novas espécies continuam sendo descobertas (GRIFFITH, DAVIS e GRANT, 1992).

P. cubensis pertence à família *Peronosporaceae*, a qual inclui parasitas obrigatórios que precisam de plantas vivas para sobreviver e formar novas

estruturas vegetativas e reprodutivas; não havendo portanto ocorrência de fase saprofitica (BEDENDO,1995). Atualmente a família *Peronosporaceae* está classificada no *Filo Oomycota*, dentro do *Reino Chromista*, não sendo mais incluído entre os fungos verdadeiros por motivos estruturais, fisiológicos, químicos e moleculares (COELHO, 1997).

A ocorrência de *P. cubensis* em pepino tem sido estudada por pesquisadores japoneses e americanos desde 1927 segundo COHEN (1977) e o agente causal é considerado um dos patógenos zoospóricos mais destrutivos (STANGHELLINI e MILLER, 1997).

A doença reduz a capacidade fotossintética das folhas, implicando em prejuízo no desenvolvimento vegetativo da planta, bem como em danos à produção (BEDENDO, 1995).

Infecções ocasionadas nos estádios iniciais de desenvolvimento podem causar perda total da produção (PAPPAS, 1982), porém, se o patógeno ataca em final de ciclo, as perdas são menores (PALTÍ e COHEN,1980)

Este patógeno sobrevive na entressafra mediante suas estruturas de resistência (oósporos) que suportam altas e baixas temperaturas até encontrar novamente um hospedeiro suscetível (SHERF e MACNAB, 1986). Sua disseminação se dá por meio de respingos de chuva, água de irrigação e vento (ZAMBOLIM, RIBEIRO DO VALE e COSTA, 1997).

O míldio é favorecido por temperaturas amenas (17-22°C), com ocorrência simultânea de alta umidade relativa (acima de 95%). Locais constantemente sujeitos

ao acúmulo de neblina e presença de orvalho, são ideais para o desenvolvimento da doença (BEDENDO, 1995).

A ocorrência de alta umidade relativa é condição essencial para o desenvolvimento deste patógeno pois a germinação das estruturas reprodutivas exige um filme de água recobrendo a superfície do órgão atacado (BEDENDO, 1995). A emergência dos esporângios, a partir dos estômatos que é o primeiro passo na esporulação, ocorre somente com alta umidade relativa do ar (COHEN, 1981).

Apesar da sintomatologia típica de míldio ser observada nas folhas, e raramente em frutos e partes florais, os efeitos da doença afetam o hospedeiro como um todo, retardando o desenvolvimento da planta, provocando a queda de flores, folhas e frutos e causando até a morte de ramos novos e pecíolos (BEDENDO, (1995) e PALTÍ e COHEN (1980). As folhas infectadas, inicialmente, apresentam-se mosqueadas, surgindo, em seguida, manchas amarelo-claras que posteriormente coalescem e tornam-se bronzeadas a marrons e formam fina camada branco-acinzentada sobre a superfície foliar; com alta umidade, as manchas crescem e, tornam-se de cor cinza-púrpura (REGO, 1995). As lesões variam consideravelmente entre as diferentes cucurbitáceas, sendo em pepino angulares e delimitadas pelas nervuras foliares (THOMAS, 1996).

Segundo COHEN e EYAL (1980) *P. cubensis* penetra por aberturas naturais, principalmente através dos estômatos.

Embora a literatura não registre a transmissão de *P. cubensis* via sementes, pré-testes realizados em casa de vegetação permitiram observar 45% de

transmissibilidade do patógeno em plantas de pepino (cv. Aodai Melhorado), sendo estas originadas de sementes de plantas cujas flores femininas foram inoculadas com uma suspensão de 5×10^4 esporângios. mL⁻¹ pelo método da pipeta, conforme trabalho realizado por Caballero e Costa Lima².

PALTI e COHEN (1980) afirmaram que há evidências sobre a existência de diferentes raças fisiológicas, com leves diferenças morfológicas em vários países, e foi confirmado por COHEN (1981) e THOMAS, INABA e COHEN (1987).

Em razão da carência de cultivares adaptadas às condições edafo-climáticas regionais do Brasil, boa parte das cultivares disponíveis, ainda são importadas. Esse fator explica provavelmente a suscetibilidade dessas cultivares às doenças em virtude de raças do patógeno prevalescentes nas regiões brasileiras (SANTOS, 1995).

A mesma situação vem ocorrendo no Paraguai, onde o míldio a partir de 1985 começou a causar severos danos às cucurbitáceas, segundo informações fornecidas por Stauffer³.

A detecção de fontes de resistência ao míldio tem sido objeto de estudo em várias partes do mundo. PLYUSNINA e TIMOFEEV (1991), trabalhando com mais de 900 germoplasmas de pepino para resistência a *P. cubensis*, concluíram que nenhum dos materiais foi imune, porém uma parte mostrou-se com alta resistência, especialmente os procedentes do Japão.

² Dados não publicados. Caballero, J.B. e Lima, M. L. R. Z. C. , 1997. Depto. de Fitotecnia e Fitossanitarismo, SCA, UFPR.

³ Comunicação pessoal do Prof. Engº. Agrº. Alfredo Stauffer, 1996. Dpto. Protección Vegetal, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Asunción.

2.2 MÉTODOS DE INOCULAÇÃO

SAGI e SIPOS (1987) mencionaram que as plantas de pepino podem ser inoculadas com *P. cubensis* nas folhas cotiledonares ou nas folhas verdadeiras, com uma concentração de 5×10^4 esporângios. mL⁻¹, não existindo diferenças consideráveis de suscetibilidade à doença entre híbridos e cultivares.

Os métodos de inoculação de *P. cubensis* mais utilizados, tanto em condições de laboratório como em casa de vegetação, têm sido o de discos de folhas, discos de papel e pulverização (DHINGRA e SINCLAIR, 1986).

A esse respeito PARKASH e SOKHI (1989) afirmaram que o método de folhas destacadas em placas de Petri oferece vantagens tais como a facilidade de manuseio, economia de espaço físico necessário à manutenção de um grande número de plantas em vaso, além de permitir produção de grande quantidade de inóculo em pouco tempo. Os mesmos autores constataram também que a manutenção de *P. cubensis* por este método não afeta a morfologia nem a germinação dos esporângios, comparados com aqueles produzidos em condições naturais.

O método da pipeta permite obter grande quantidade de inóculo viável em um tempo de 30 a 45 minutos em ambiente com temperatura de 20 a 25°C e alta umidade (acima de 80%), conforme Grigoriu⁴.

⁴ Comunicação pessoal do Prof. Dr. A. Grigoriu, 1997. Department of Plant Pathology, Agricultural University of Athens, Greece

TSAI (1987) encontrou que folhas destacadas de pepino e melão não apresentaram diferenças nas lesões e esporulações quando inoculadas na superfície abaxial ou adaxial, além disso observou que a germinação decresceu com o aumento da temperatura.

Embora a maioria dos patógenos de folhas não necessite de ferimentos para infecção, porque penetram através de aberturas naturais ou ferimentos, a técnica de seringa para inocular os espaços intercelulares, pode ser outro método alternativo, apesar de exigir prática e habilidade, especialmente quando folhas tenras são submetidas à inoculação (DHINGRA e SINCLAIR, 1986).

Estudos realizados por OHGUCHI, ISMAIL e YOSHIDA (1989) sobre métodos de inoculação de *P. cubensis* em pepino, demonstraram que muitos zoosporângios foram formados, quando a segunda e a terceira folhas foram inoculadas, porém, quando frutos e pecíolos foram utilizados para inoculação, nenhuma infecção ocorreu porque a germinação de zoosporângios foi inibida.

Os zoósporos podem permanecer móveis em água por um período de 10 min a 18h, dependendo da temperatura, encistam e germinam em estômatos abertos e o tubo germinativo penetra dentro da câmara subestomática das folhas. Entretanto, por motivo ainda desconhecido não penetra em ramos, pecíolos e hipocótilo (COHEN, 1981).

TSAI, TU e LO (1992) estudando a ecologia e controle de míldio em folhas destacadas de pepino e melão, observaram que as lesões formaram-se quatro a cinco dias após inoculação, com temperatura entre 10 e 25°C e alta umidade

relativa do ar (60-80%). Nenhuma lesão ocorreu a 35°C e a germinação do patógeno aumentou com a elevação da umidade relativa.

Sintomas de infecção foram observados por PAPPAS (1982) em plantas de pepino inoculadas com 5×10^4 esporângios. mL⁻¹ e mantidas em câmara úmida, 48h após a inoculação

MA e CUI (1995), estudando a histopatologia da resistência a míldio em pepino, verificaram que a taxa de necrose da célula e o tempo de aparecimento das lesões na folha hospedeira diferiram entre cultivares resistentes e suscetíveis, sendo de maior tamanho e mais lento nas cultivares suscetíveis, e de menor tamanho e mais rápido nas resistentes.

Segundo COHEN (1981) *P. cubensis*, pode infectar folhas de pepino de cultivares resistentes e suscetíveis, produzindo hifas e haustórios intercelulares. Nesse sentido MA e CUI (1995) observaram que 6h após a inoculação de folhas de cultivar suscetível, o sitio de penetração do patógeno apresentou 65% de formação de haustórios e apenas 21% em folhas de cultivar resistente.

Nas cultivares com resistência à doença, as folhas infectadas morreram após um ciclo de esporulação, ao passo que em cultivares altamente suscetíveis, as áreas infectadas permaneceram cloróticas ou amarelas e produziram vários ciclos de esporulação (THOMAS, 1996).

LI et al. (1991) pesquisando sobre os mecanismos da resistência à *P. cubensis* em pepino, sob condições de laboratório observaram que as cultivares suscetíveis e resistentes não apresentaram diferenças na quantidade e tamanho dos estômatos na superfície das folhas.

Constataram também, que nas suscetíveis muitas hifas penetraram no mesófilo, produzindo numerosos esporangióforos e esporângios, formando lentamente numerosas lesões, porém, nas cultivares resistentes pequenas e poucas necroses se formaram e demoraram mais tempo a aparecer.

2.3 CONTROLE QUÍMICO DO MÍLDIO

Quanto às medidas de controle para os míldios, segundo BEDENDO (1995), estas envolvem especialmente o uso de variedades resistentes e o emprego de produtos químicos, embora MA e CUI (1995) afirmarem que os mecanismos de resistência nas plantas não estão claros e que a mesma pode variar em função das raças do patógeno.

GRIFFITH, DAVID e GRANT (1992) acreditam que um processo evolucionário diferente ao dos fungos superiores, confere aos oomicetos uma insensibilidade à maioria dos fungicidas de amplo espectro de ação disponíveis, motivo pelo qual continuam apresentando problemas no seu controle.

Apesar de diversas estratégias empregadas como cultivares resistentes, métodos culturais, químicos, físicos e biológicos; o uso de fungicidas foi e continuará sendo o método mais efetivo de controle de patógenos zoospóricos como *P. cubensis* (STANGHELLINI e MILLER, 1997). No entanto, para realizar o controle químico da doença, deve-se levar em consideração a proximidade e a quantidade da fonte de inóculo, idade da planta, o tipo de fungicida a ser utilizado e as condições climáticas durante o desenvolvimento das plantas (PALTÍ e COHEN 1980).

Para SANTOS (1995) deve-se ter sempre em mente que as melhores medidas de controle de doenças são profiláticas. Portanto, algumas medidas preventivas de manejo integrado como rotação de culturas, escolha de cultivares, sistema de irrigação e local de cultivo, podem ser tomadas para que se evite a multiplicação do patógeno na área reduzindo assim a possibilidade de ocorrência de epidemias (MANOLE et al., 1990).

Ocorrência de resistência ao fungicida metalaxyl foi detectada pela primeira vez em Israel em 1979, com *P. cubensis* em pepino (COHEN, REVEUNI e SAMOUCCHA, 1983).

PAPPAS (1982) constatou na Grécia, após intenso uso de metalaxyl em pulverizações foliares, uma alta incidência da doença no campo e em casa de vegetação, atribuída à presença de raças resistentes. No sul da Flórida, (USA), a ineficiência de controle do míldio em plantas de pepino cultivadas a céu aberto e pulverizadas com metalaxyl foi também atribuída à resistência do patógeno (MOSS, 1987).

WEIT e NEUHAUS (1990) verificaram que a mistura de metalaxyl e zineb apresentou controle eficiente do patógeno em pepino além do que, o uso desses fungicidas aplicados em conjunto poderia minimizar o risco de ocorrência de resistência do fungo ao metalaxyl.

Pesquisas conduzidas em condições de campo e em casa de vegetação, sobre a eficiência do uso separado ou combinado dos produtos metalaxyl e mancozeb no controle do mesmo patógeno, indicaram que pulverizações foliares

com a mistura dos fungicidas tiveram melhor efeito do que quando aplicados isoladamente (SAMOUCHA e COHEN, 1984).

Segundo MOTTE et al. (1988) pulverizações com mancozeb 80 ou metalaxyl+zineb são medidas preventivas de controle de *P. cubensis* em pepino, em campo ou em casa de vegetação.

GOLYSHIN, MASLOVA e GONCHAROVA (1994) testando a eficiência de dimethomorph aplicado isolado, a mistura de dimethomorph + chlorotalonil, dimethomorph + oxicloreto de cobre no controle de *P. cubensis* em pepino em condições de campo, observaram que os melhores produtos foram dimethomorph e a mistura de dimethomorph+chlorotalonil. Outras pesquisas indicaram que o melhor tratamento químico para *P. cubensis* em plântulas de pepino e melão, antes da inoculação, foi obtido com chlorotalonil e metalaxyl + mancozeb (TSAI, TU e LO, 1992).

RANDOMANSKI e WOZNIAK (1989) constataram que mancozeb, mancozeb+metalaxyl, mancozeb+oxadixyl e chlorotalonil foram os mais efetivos para o controle de *P. cubensis* em pepino, em casa de vegetação e no campo.

MANOLE et al. (1990) observaram que oxicloreto de cobre+metalaxyl, mancozeb+metalaxyl e fosetyl-Al, tiveram controle eficiente sobre o mesmo patógeno em pepino.

COHEN e COFFEY (1986) mencionaram que o cymoxanil é metabolizado rapidamente na planta e no solo, e quando utilizado em baixas concentrações apresenta eficiente atividade preventiva e curativa contra o míldio do pepino.

Os mesmos autores indicaram que fosetyl-Al foi o primeiro fungicida com capacidade de se movimentar em direção basipetal e que apresenta boa atividade sobre os patógenos causadores do míldio da uva e da alface.

Estudos realizados por COHEN, BAIDER e COHEN (1995) indicaram que dimethomorph, aplicado um dia depois da inoculação, protegeu plantas de pepino contra *P. cubensis* e reduziu a esporulação do patógeno apresentando alto poder residual (9 dias) e resistência ao molhamento foliar.

No Brasil, o controle do míldio é feito satisfatoriamente com fungicidas a base de metalaxyl, embora captan, chlorotalonil, mancozeb, thiofanato metílico e folpet sejam também recomendados (REGO, 1995).

2.3 CONTROLE ALTERNATIVO DO MÍLDIO

O aparecimento de resistência do patógeno a fungicidas específicos passa a limitar seu uso em determinadas regiões, levando à necessidade de se procurar novas e seguras alternativas para controle de doenças (WILSON et al., 1997).

O uso de fungos antagonistas como agentes de controle biológico pode ser um potencial para o controle do míldio. Nesse aspecto, pulverizações de *Fusarium proliferatum* F., principal antagonista dos oomicetos, foram efetivas no controle do míldio em pepino (STUART et al., 1996). Porém, a necessidade de se obter os agentes de controle biológicos na região de cultivo, as dificuldades burocráticas e financeiras para registrá-los e o fator cultural de técnicos e de

produtores têm sido as principais limitações do uso desses produtos na agricultura brasileira conforme Sanhueza ⁵.

ASTIARRAGA e BETTIOL (1997a), testando o leite cru nas concentrações 5, 10, 20, 30, 40 e 50% para o controle de oídio em abóbora, constataram que o produto apresenta potencial para o controle do patógeno.

ASTIARRAGA e BETTIOL (1997b) também observaram que um produto lácteo à base de lactobacilos pulverizado duas vezes por semana nas concentrações de 10, 20, 30, 40 e 50% apresentou alto potencial de controle da mesma doença, podendo ser metodologia alternativa de controle de patógenos.

WATANABE et al. (1985) encontraram que os metabólitos secundários extraídos da parte aérea de *Helenium quadridentatum* L., planta medicinal muito utilizada no México, apresentaram diferentes atividades biológicas, comprovando que o *quadrinenino* (pseudoguaianolide) teve efeito fungicida contra *P. cubensis* em pepino.

Na Hungria, extratos de plantas de cinco espécies foram eficientes no controle de doenças e pragas, dentre elas *P. cubensis* e *Sphaeroteca fuliginea* em pepino. Uma das espécies utilizadas foi *Equisetum* sp. (HANO et al., 1993), cujas plantas, segundo FONT (1985), se caracterizam por conter sílica, ácido equisético, sais potássicos, ácidos gálico e málico, taninos e pequena quantidade de óleo.

⁵ Comunicação pessoal da Eng^a. Agr^a. Sanhueza, R. M. V. Pesquisadora de EMBRAPA, Vacaria, RS. 1997. Aula ministrada no Curso de Controle de Doenças de Plantas, Pós-Graduação em Produção Vegetal. SCA - UFPR.

FIORI et al. (1998) observaram que o extrato bruto de *Eucalyptus citriodora*, *Cymbopogon citratus*, *Achillea millefolium* e *Ageratum conizoides* e óleos essenciais de *E. citriodora* e *C. citratus* foram capazes de inibir o crescimento micelial de *Didymela bryoniae* A. em melão.

Na Tailândia, o suco de alho (*Allium sativum* L.), apresentou resultados satisfatórios no controle de *P. cubensis* em pepino (SIRIWANLOP, BUNTHAVI e PHIMUBON, 1985).

GASPARIN et al. (1998) constataram a inibição do crescimento micelial de *Rhizoctonia solani* K. e *Alternaria stevia* com extrato bruto e óleo essencial de alho.

Estudos farmacológicos comprovaram a ação antimicrobiana e antifúngica do alho contra dermatófitos e leveduras patogênicas, e o poder bactericida da alicina foi verificado sobre as bactérias gram+ e gram- (ACOSTA DE LA LUZ, 1993).

Ark e Thompson ⁶, citados por WILSON et al. (1997), mencionaram que o extrato de alho contém um potente fungicida e que preparações desodorizadas protegeram o pêssego contra a infecção de *Monilinia fructicola* W.

No Paraguai, pesquisadores e produtores de olerícolas sob cultivo orgânico (sem controle químico), estão testando soluções preparadas com extratos de alho (*A. sativum* L., 100 g.10 L⁻¹ de água) para controle de fungos do solo; cavalinha (*Equisetum arvense* L., 1 kg. 10 L⁻¹ de água), para controle de *Septoria*, *Alternaria* e *Cercospora*; mamona (*Ricinus comunis* L., 1 kg.10 L⁻¹ de água) para *Antracnose* em

⁶ Ark, P. A. ; Thompson, J. P. Control of certain disease of plants with antibiotics from garlic (*Allium sativum* L.). Plant Disease Rep. v. 43, p. 276-282, 1959.

pepino e artemisia (*Artemisia absinthium* L.) aplicado a outras doenças fúngicas; todos em forma preventiva e com resultados satisfatórios conforme Martinez ⁷.

MUÑOZ (1993) afirmou que a eficiência antifúngica do óleo do tomilho (*Thymus vulgaris* L.) é devido à presença de fenóis, substância utilizada em preparações farmacêuticas, veterinárias e cosméticas. O principal componente da essência do tomilho é o timol, mas contém também pentosanas, flavonas e pequenas quantidades de glicosídeos e resina (FONT, 1985).

KUSTRAK e PEPELJNJAK (1989) investigaram a composição química do óleo da sálvia e sua atividade antimicrobiana contra *Bacillus subtilis* e constataram que a composição dos princípios ativos varia com as condições de solo e clima. Observaram também, que a atividade antibactericida do óleo depende da concentração de pineno, tujona e cânfora. Segundo MUÑOZ (1993) o principal componente do óleo da sálvia é a tujona que tem propriedades bactericidas, germicidas e cicatrizantes.

WILSON et al. (1997) afirmou que embora existam pesquisas sobre a eficiência do controle químico de doenças de plantas, as substâncias naturais com propriedades fungicidas e bactericidas constituem uma importante alternativa que precisa ser explorada mais minuciosamente.

⁷ Comunicação pessoal da Eng^a. Agr^a. Soledad Martínez, 1997. Pesquisadora del Centro de Estudios y Formación para el Eco Desarrollo, Alter Vida, Asunción - Paraguay.

3 MATERIAL E MÉTODOS

a. LOCAL

Os experimentos sobre Métodos de Inoculação, Controle Químico e Controle Alternativo de *P. cubensis* foram realizados no Laboratório de Fitopatologia e na casa de vegetação do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo do Setor de Ciências Agrárias (SCA) da Universidade Federal do Paraná (UFPR), em Curitiba, no período de março a novembro de 1997.

b. OBTENÇÃO E PREPARO DO INÓCULO

Nos três experimentos foi utilizado um isolado de *P. cubensis* obtido de plantas da cv. Aodai Melhorado com 35 dias de idade, no campo do Setor de Ciências Agrárias da UFPR e mantido permanentemente, em plantas em vaso da mesma cultivar, em casa de vegetação.

Para obter esporângios, folhas de pepino infectadas com míldio foram cortadas com caule, para manter a turgescência, lavadas com água de torneira por 30 minutos, a fim de eliminar restos de fungicidas e velhas estruturas do patógeno, e submetidas à temperatura ambiente, em câmara úmida feita com saco plástico transparente.

Após 24h, as folhas foram separadas do caule para facilitar a manipulação, e sobre cada área lesionada pelo míldio, na face inferior das folhas, com ajuda de pipeta de 1 mL, depositou-se uma gota de água esterilizada.

Depois de quinze minutos, as gotas foram absorvidas com pipeta das folhas e depositadas em tubo de ensaio para obtenção da suspensão de inóculo com 5×10^4 esporângios. mL⁻¹ calibrada em câmara de Neubauer.

Inoculações periódicas sobre novas plantas da cv. Aodai Melhorado, em casa de vegetação, foram realizadas para manutenção da fonte de inóculo.

Pulverizações com fenarimol (1mL.10 L⁻¹ de água) ou com benzimidazol (benomyl 7g.10 L⁻¹ de água) foram realizadas para o controle de oídio quando necessário.

O processo de obtenção de esporângios e a quantidade de inóculo utilizado foram baseados no trabalho de PAPPAS (1982) e na comunicação pessoal de Grigoriu (1997)

A fim de dispor de plantas sadias a serem utilizadas no experimento com métodos de inoculação, as cultivares de pepino Aodai Melhorado e Nanshin foram semeadas quinzenalmente em bandejas de polietileno expandido (isopor), com 128 células piramidais. Estas foram preenchidas com substrato Plantmax, composto de vermiculita expandida selecionada e material orgânico vegetal isento de microorganismos patogênicos e de sementes de plantas daninhas. As sementes do mesmo lote foram adquiridas no comércio local. As mudas foram transplantadas aos 30 dias de idade, em vasos de alumínio de 16 cm de diâmetro por 16 cm de altura,

contendo cerca de 900 g de solo. Os vasos e o solo foram esterilizados a vapor em forno a 80-85°C por 7h.

Os frutos da cv. Aodai Melhorado, suscetível à *P. cubensis*, de procedência brasileira, se caracterizam por serem verde-escuros e terem no ponto de colheita comprimento variando entre 18 e 23 cm e diâmetro de 3 a 5 cm. O ciclo varia de 70 a 100 dias.

A cv. Nanshin, resistente à *P. cubensis*, de recente introdução no Brasil e Paraguai, apresenta frutos com 25 a 30 cm de comprimento e 2 a 3 cm de diâmetro que são verdes-escuros brilhantes.

As plantas foram tutoradas com estacas de bambu, desinfestadas primeiramente em água sanitária (10%) por dez minutos e a seguir em solução de fungicida cúprico (oxicloreto de cobre, 20 g.10 L⁻¹ água) por 15 minutos.

As irrigações foram feitas manualmente depositando água em cada vaso, segundo as necessidades das plantas.

No experimento sobre métodos de inoculação foram utilizadas plantas das duas cultivares com 45 dias de idade, em laboratório e em casa de vegetação. Já nos experimentos relacionados com Controles Químico e Alternativo foi utilizada a cv. Aodai Melhorado.

3.1 EXPERIMENTO SOBRE MÉTODOS DE INOCULAÇÃO

3.1.1 Inoculação em casa de vegetação

Plantas saudas das cvs. Aodai Melhorado e Nanshin com 45 dias de idade, semeadas primeiramente em bandejas e depois transplantadas em vasos, foram utilizadas para testar cinco métodos de inoculação. As três primeiras folhas de cada planta foram submetidas a inoculação e logo em seguida as plantas foram deixadas por 24h em câmara úmida feita com saco de plástico transparente, para favorecer a germinação e penetração do fungo.

3.1.2 Inoculação em laboratório

Folhas de pepino obtidas de plantas saudas das cultivares Aodai Melhorado e Nanshin, crescendo em casa de vegetação, foram colhidas com 45 dias de idade, lavadas com água esterilizada e secas entre papel filtro esterilizado.

Em cada placa depositou-se 10 mL da suspensão de Benomyl (50 μ l/mL) como conservante das folhas. A periferia e pecíolo foram recortados para poder acomodá-las em placas de Petri de vidro, com nove centímetros de diâmetro (Fig. 1).

No fundo da tampa das placas foram colocadas três folhas de papel filtro umedecidas com água esterilizada para manter alta umidade. Após as inoculações as placas foram fechadas com película plástica, acomodadas em bandejas e deixadas em temperatura ambiente.

FIGURA 1 - FOLHAS DE PEPINO RECORTADAS, EM PLACAS DE PETRI



3.1.3 Métodos de inoculações

3.1.3.1 Discos de folha de pepino

Folhas infectadas com míldio foram lavadas suavemente com água de torneira por 30 segundos e a seguir pulverizadas com água esterilizada. Em seguida foram feitos os discos de folhas de dois centímetros de diâmetro os quais foram distribuídos com pinça sobre a face superior das folhas. Três discos por cada folha de pepino foram utilizados.

3.1.3.2 Discos de papel

Discos de dois centímetros de diâmetro confeccionados a partir de papel filtro esterilizado, embebidos na suspensão de inóculo de 5×10^4 esporângios. mL⁻¹

Foram utilizados três discos por folha, distribuídos sobre a face superior das das mesmas. Os discos foram retirados das folhas de pepino que estavam nas placas e das plantas mantidas na casa de vegetação, no terceiro dia após a inoculação com ajuda de pinça.

3.1.3.3 Pipeta

Dez gotas da suspensão de esporângios coletadas em tubo de ensaio foram depositadas com pipeta, na face inferior de cada folha de pepino, na região da união das nervuras médias e laterais. A concentração aproximada do patógeno em cada gota variou de 2300 a 2500 esporângios.

3.1.3.4 Pulverização

A face inferior de cada folha foi pulverizada com 3 mL de suspensão de inóculo com uma concentração de 5×10^4 esporângios. mL⁻¹. A pulverização foi realizada até o ponto de escorrimento, utilizando-se pulverizador manual (600 mL), a uma distância de 20 cm.

3.1.3.5 Seringa

Na face inferior de cada folha de pepino foram feitas três injeções de 1 mL, na região da união das nervuras primárias e secundárias, provocando-se anasarca. A seringa foi esterilizada com álcool, hipoclorito de sódio (2%) e água esterilizada após cada injeção. Foi utilizada uma concentração de 5×10^4 esporângios. mL⁻¹.

3.1.4 Delineamento experimental

O delineamento experimental em laboratório e em casa de vegetação, foi inteiramente casualizado, com arranjo fatorial 2 x 5, correspondendo a duas épocas de avaliação (5º e 14º dias) e cinco tratamentos (discos de folhas de pepino, discos de papel, pipeta, pulverização e seringa), utilizando-se o teste de Tukey ($P \geq 0,01$) na comparação das médias.

As unidades experimentais foram constituídas de uma planta em vaso, em casa de vegetação, e uma folha destacada, em laboratório com 10 repetições. Três folhas por planta e três folhas por placa, de cada cultivar, foram utilizadas em cada repetição.

Para aumentar a esporulação, as plantas dos vasos foram cobertas com saco de plástico transparente (Fig. 2) pulverizando-se água esterilizada depois das inoculações e 24h antes das avaliações.

FIGURA 2 - CÂMARA ÚMIDA UTILIZADA EM PLANTAS DE PEPINO, EM CASA DE VEGETAÇÃO.



As avaliações foram realizadas visualmente no 5º e 14º dias depois da inoculação (DI) pela percentagem de área foliar com sintoma da doença (Fig. 3). A metodologia de avaliação foi baseada no trabalho de PAPPAS (1982).

A fim de minimizar o possível erro de parâmetro visual, as folhas foram divididas em quatro partes iguais correspondendo a cada uma o intervalo (0 a 25%). Para estimativa final considerou-se a soma total das percentagens de sintomas nos quatro quartos da folha.

A fim de avaliar a praticidade dos cinco métodos de inoculação, em casa de vegetação e no laboratório foi registrado o tempo empregado para inocular 30 folhas.

FIGURA 3 - SINTOMAS DO MÍLDIO EM FOLHAS DE PEPINO



3.1.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 e Figura 4 são apresentados os resultados da percentagem de área foliar infectada com *P. cubensis* em duas cultivares de pepino inoculadas com cinco métodos diferentes, e da época de avaliação de severidade da doença, respectivamente. Detectaram-se diferenças significativas ($P \geq 0,01$) para métodos de inoculação. As variações de temperatura e umidade relativa durante a condução do experimento em casa de vegetação podem ser observados no Anexo 1.

TABELA 1 - PERCENTAGEM DE ÁREA FOLIAR COM SINTOMAS DE MÍLDIO OBSERVADA EM DUAS CULTIVARES DE PEPINO COM DIFERENTES MÉTODOS DE INOCULAÇÃO

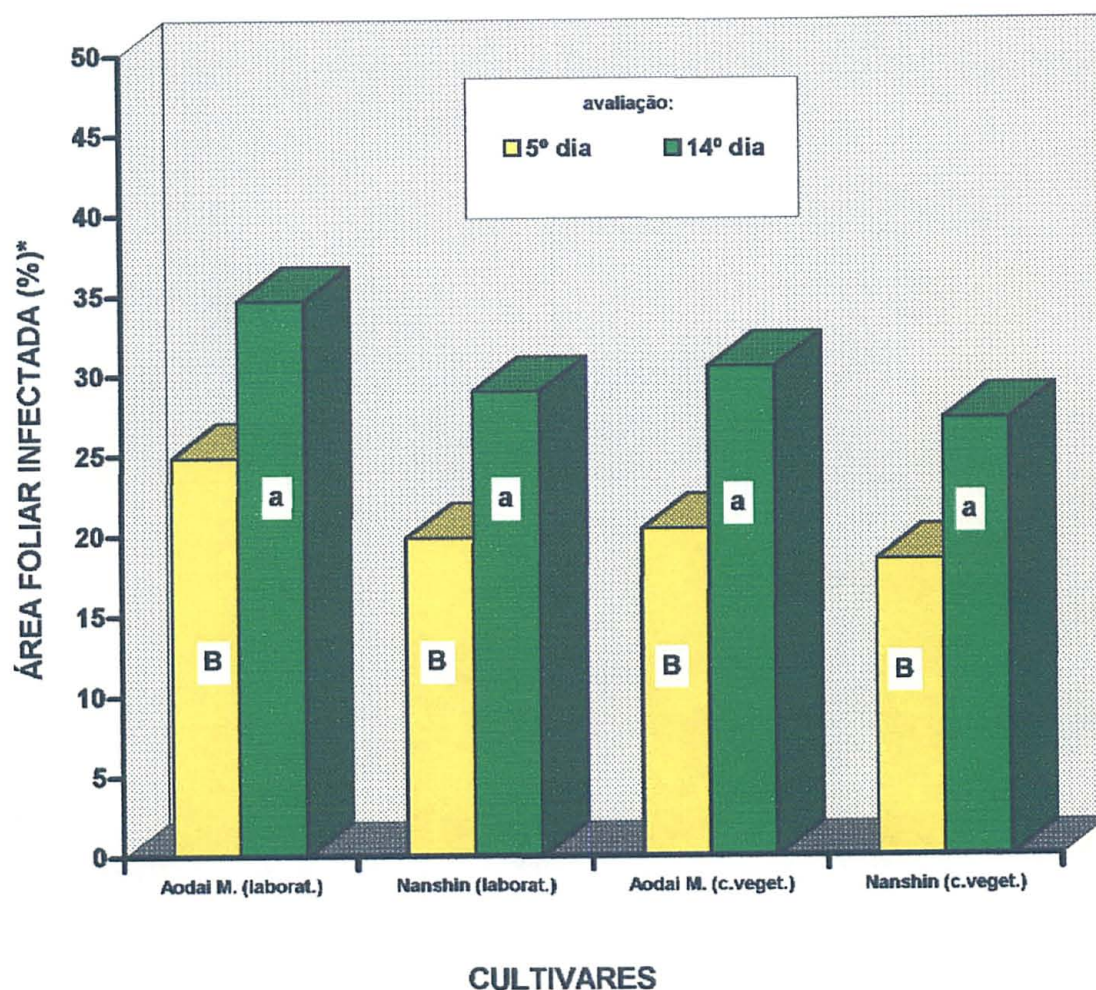
MÉTODOS DE INOCULAÇÃO	ÁREA FOLIAR INFECTADA (%) ⁽¹⁾					
	CULTIVARES					
	Aodai Melhorado			Nanshin		
	folha destacada	casa de vegetação	folha destacada	casa de vegetação		
Disco de folha de pepino	27,00 ⁽²⁾ b	21,50 bc	20,66 b	17,00 c		
Disco de papel filtro	19,00 c	19,50 c	18,83 b	23,83 b		
Pipeta	42,00 a	37,50 a	29,16 a	29,16 a		
Pulverização	37,83 a	26,16 b	31,16 a	21,83 b		
Seringa	22,16 bc	22,66 bc	22,16 b	22,33 b		
CV (%)	11,2	13,36	11,08	13,16		

⁽¹⁾ Estimada visualmente ao 5º e 14º dias depois da inoculação.

⁽²⁾ As médias seguidas verticalmente pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P \geq 0,01$).

Em relação a época de avaliação (Fig. 4) também pode-se observar diferença significativa ($P \geq 0,01$) entre a severidade da doença observada nos 5º e 14º dias depois a inoculação.

FIGURA 4 - PERCENTAGEM DE ÁREA FOLIAR COM SINTOMAS DE MÍLDIO EM DUAS CULTIVARES DE PEPINO AVALIADAS EM DUAS EPOCAS DEPOIS DA INOCULAÇÃO.



Médias com as mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ($P \geq 0,01$).

No experimento com folhas destacadas, bem como em casa de vegetação, o método de inoculação que proporcionou a maior percentagem de área foliar infectada foi o da pipeta. Em folhas destacadas, para as duas cultivares não houve diferença estatística entre os métodos da pipeta e da pulverização.

Na cv. Nanshin o processo de infecção não foi inibido, confirmando a observação feita por COHEN (1981) que constatou que *P. cubensis* pode infectar cultivares resistentes e suscetíveis com diferentes graus de severidade. A cv. Nanshin apresentou poucas e pequenas lesões necróticas nas folhas entre oito a dez dias após inoculação, porém, na cv. Aodai Melhorado maiores e numerosas lesões necroticas formaram-se entre 12 a 15 dias depois da inoculação, concordando com as afirmações feitas por LI et al. (1991) e MA e CUI (1995). Esta diferença de comportamento entre as cultivares pode ser explicada pelo fato de que as cultivares suscetíveis podem produzir vários ciclos de esporulação, ao passo que nas resistentes a folhas necrosam e morrem após um ciclo de esporulação (THOMAS, 1996).

Os resultados concordam também com TSAI, TU e LO (1992) sobre a formação de lesões entre quatro a cinco dias após a inoculação em folhas destacadas as quais são favorecidas pelas condições de temperatura (média de 21°C) e alta umidade na placa (90-100%)

Em casa de vegetação a severidade foi menor quando comparada com as folhas destacadas, o que pode ser atribuída à baixa umidade do ar que atingiu 60%, considerando que o míldio é favorecido por umidade acima de 95%

(BEDENDO, 1995), embora a temperatura tenha sido favorável, com uma mínima de 5°C e máxima de 30°C (Anexo 1).

Os dados obtidos nestes ensaios também concordam com a observação feita por MA e CUI (1995), sobre a formação de hifas e haustórios intercelulares em menor quantidade nas cultivares resistentes. Embora esta variável não tenha sido avaliada neste experimento, a informação de MA e CUI (1995) pode ter sido a causa da diferença na percentagem de sintomas entre Nanshin e Aodai Melhorado. Esta observação confirma as informações fornecidas pelos produtores do Paraguai em relação à presença da doença na cv. Nanshin e outras cultivares resistentes, nas condições climáticas desse país.

Dados registrados em testes paralelos, permitiram constatar uma severidade da doença 50% menor em plantas que não foram deixadas sob condições de câmara úmida após inoculação e antes das avaliações, reforçando a importância dessa técnica e favorecendo o desenvolvimento da doença, que resulta em maior severidade em condições de umidade relativa alta, como em cultivos sob condição protegida de acordo com BEDENDO (1995), COHEN (1981) e PAPPAS (1982).

A menor percentagem de infecção no método da seringa em relação ao da pipeta e da pulverização, (Tab.1) pode ser atribuído à dificuldade em injetar a solução nos espaços intercelulares, especialmente por causa da delicadeza dos tecidos das folhas, também verificado por DHINGRA e SINCLAIR (1986) .

De acordo com PARKASH e SOKHI (1989) o uso da técnica de folhas destacadas é prático, de fácil execução e eficiente, economizando espaço físico;

contudo deve-se levar em consideração a necessidade de máxima limpeza das folhas, dos cortes das periferias e a esterilização de todos os materiais utilizados.

O método de inoculação com discos de folhas de pepino e de folhas de papel de filtro, foi trabalhoso, exigiu manipulação cuidadosa para evitar a queda dos mesmos da superfície foliar, além de permanecerem viáveis por tempo curto (5 a 24h) dependendo das condições de temperatura e umidade, especialmente em casa de vegetação.

Em termos de rapidez e facilidade de inoculação, o método de pulverização foi o mais vantajoso, especialmente quando realizado em casa de vegetação.

O método da pipeta, embora tenha permitido observar maior severidade da doença, exige firmeza e prática do operador para evitar escorrimento da suspensão, quando aplicado em plantas em vaso. Além disso torna-se extremamente trabalhoso quando o número de unidades experimentais é elevado. Nesse sentido, o tempo empregado para inocular 30 folhas em casa de vegetação (3 folhas por planta) foi de 12, 64 e 85 minutos com o método da pulverização, com o da pipeta e com o da seringa, respectivamente.

Em folhas destacadas, o tempo registrado foi 50% menor para os métodos da pipeta e pulverização, entretanto o da seringa foi superior por causa da dificuldade de manipulação das folhas em placa de Petri.

3.2 EXPERIMENTO COM CONTROLE QUÍMICO

Os fungicidas testados, nomes comercial e técnico, formulações, concentrações e doses utilizadas no controle químico do míldio podem ser observados na Tabela 2.

As doses de produtos não registrados para o pepino foram estabelecidas tomando-se como base a recomendação para outras olerícolas e consultas com técnicos das firmas responsáveis. Os tratamentos foram aplicados em plantas mantidas em casa de vegetação e em folhas destacadas da cv. Aodai Melhorado, 24h antes da inoculação (AI) e 24h depois da inoculação (DI) com *P. cubensis*. As pulverizações foram realizadas utilizando-se pulverizador manual com capacidade de 2000 mL.

3.2.1. Inoculação em casa de vegetação

Plantas inteiras de pepino da cv. Aodai Melhorado com 45 dias de idade, semeadas primeiramente em bandejas e a seguir transplantadas para vasos, foram utilizadas para serem submetidas à inoculação na superfície inferior, com uma concentração de 5×10^4 esporângios. mL⁻¹, pelo método de pulverização 24h antes e 24h depois da aplicação dos produtos químicos.

As plantas foram mantidas em câmara úmida feita com saco plástico transparente, por 24h, depois das inoculações e antes das avaliações.

3.2.2 Inoculação em laboratório

Folhas sadias de pepino da cultivar Aodai Melhorado, com 45 dias de idade, com pecíolo e periferia recortados foram colocadas em placas de Petri, seguindo a metodologia descrita para o experimento com métodos de inoculação.

(3.1.2).

As folhas foram inoculadas pelo método de pulverização com uma concentração de 5×10^4 esporângios . mL⁻¹ , pulverizando-se a face inferior da folha 24h antes e 24h depois da aplicação dos produtos químicos. Três folhas de papel filtro umidecidas em água esterilizada foram colocadas na tampa da placa de Petri para manter a umidade. Não foi utilizado benomyl para conservação das folhas.

3.2.3. Avaliação e delineamento experimental

As avaliações visuais foram realizadas no 5º, 10º e 15º dias depois das inoculações (DI) considerando-se a percentagem de área foliar (0-100%) lesionada com míldio, baseada no trabalho de PAPPAS (1982). Os dados obtidos foram calculados em área sob a curva de progresso do míldio (ASCM), segundo CAMPBELL e MADDEN (1990). O delineamento experimental em folhas destacadas e em casa de vegetação foi inteiramente casualizado, com 12 tratamentos e 10 repetições.

As unidades experimentais constituíram-se de uma planta por vaso e uma folha destacada por placa de Petri.

TABELA 2 - RELAÇÃO DOS PRODUTOS FUNGICIDAS, NOMES COMERCIAL E TÉCNICO, FORMULAÇÕES, CONCENTRAÇÕES E DOSES TESTADOS PARA O CONTROLE DO MÍLDIO EM PEPINO

	DENOMINAÇÃO		FORMULAÇÃO/ CONCENTRAÇÃO	DOSE DO PRODUTO COMERCIAL	
	Comercial	Técnica		ppm i.a.	g /100 l
1.	Aliette*	fosetyl-AI (S)	PM / 800 g/kg	1200	150
2.	Cuprozeb**	oxicloreto de cobre + mancozeb (NS)	PM / 300 - 440 g/kg	600 - 800	200
3.	Curzate M + Zinco*	cymoxanil + mancozeb + Zn (S)	PM / 80 - 640 - 20 g/kg	80 - 640 - 20	100
4.	Cerconil**	thiofanato metilico + chlorotalonil (S)	PM / 200 - 500	400 - 100	200
5.	Folio*	metalaxyl + chlorotalonil (S)	PM / 80 - 400 g/kg	2000 - 1000	250
6.	Forum*	dimethomorph (S)	PM / 500 g/kg	250	50
7.	Haley**	cymoxanil + sais de cobre (S)	PM / 60 - 460 g/kg	300 - 2300	500
8.	Isatalonil 500 *	chlorotalonil (NS)	SC / 500 g/l	1500	300 ml
9.	Manzate 800 **	mancozeb (NS)	PM / 800 g/kg	1600	200
10.	Ridomil Mancozeb*	metalaxyl + mancozeb (S)	PM / 80 - 40 g/kg	160 - 1280	200
11.	Ridomil 250*	metalaxyl (S)	PM / 250 g/kg	125	50

FONTE: **Guia de Fungicidas Agrícolas**. Grupo Paulista de Fitopatologia. 2. ed. Jaboticabal : Grupo Paulista de Fitopatologia, 1991. 1v. 224 p. **Compêndio de Defensivos Agrícolas**. 3. ed. São Paulo : Organização Andrei, 1990. 478 p. **Boletim Técnico de Bio Agro**: Haley. Asunción : Bio Agro, não paginado, 1995

i. a . = ingrediente ativo

* = não registrado para o pepino

** = registrado para o pepino

S = sistêmico

NS = não sistêmico

ppm = partes por milhão

g/100 L = gramas/100 litros de água

PM = pó molhavel

SC =suspensão concentrada

3.2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.2.4.1 Em casa de vegetação

As análises estatísticas dos dados sobre controle químico detectaram diferenças significativas para a testemunha quando comparada com todos os tratamentos aplicados em forma preventiva (AI) ou curativa(DI) o que indica uma eficiência dos fungicidas no controle de *P. cubensis* como pode observar-se na Figura 5.

Os fungicidas fosetyl-AI, oxiclreto de cobre + mancozeb, dimethomorph, metalaxyl + chlorotalonil foram estatisticamente iguais, com valores menores da ASCM e eficientes quando comparados com mancozeb, metalaxyl, cymoxanil + mancozeb + Zn, chlorotalonil e thiofanato metilico + chlorotalonil que apresentaram valores maiores da ASCM.

A eficiência de fosetyl-AI e dimethomorph concorda com os resultados obtidos por GOLYSHIN, MASLOVA e GONCHAROVA (1994) e MANOLE et al. (1990). A mistura de metalaxyl + mancozeb também foi eficiente, de acordo com TSAI, TU e LO (1992), apresentando neste caso comportamento intermediário.

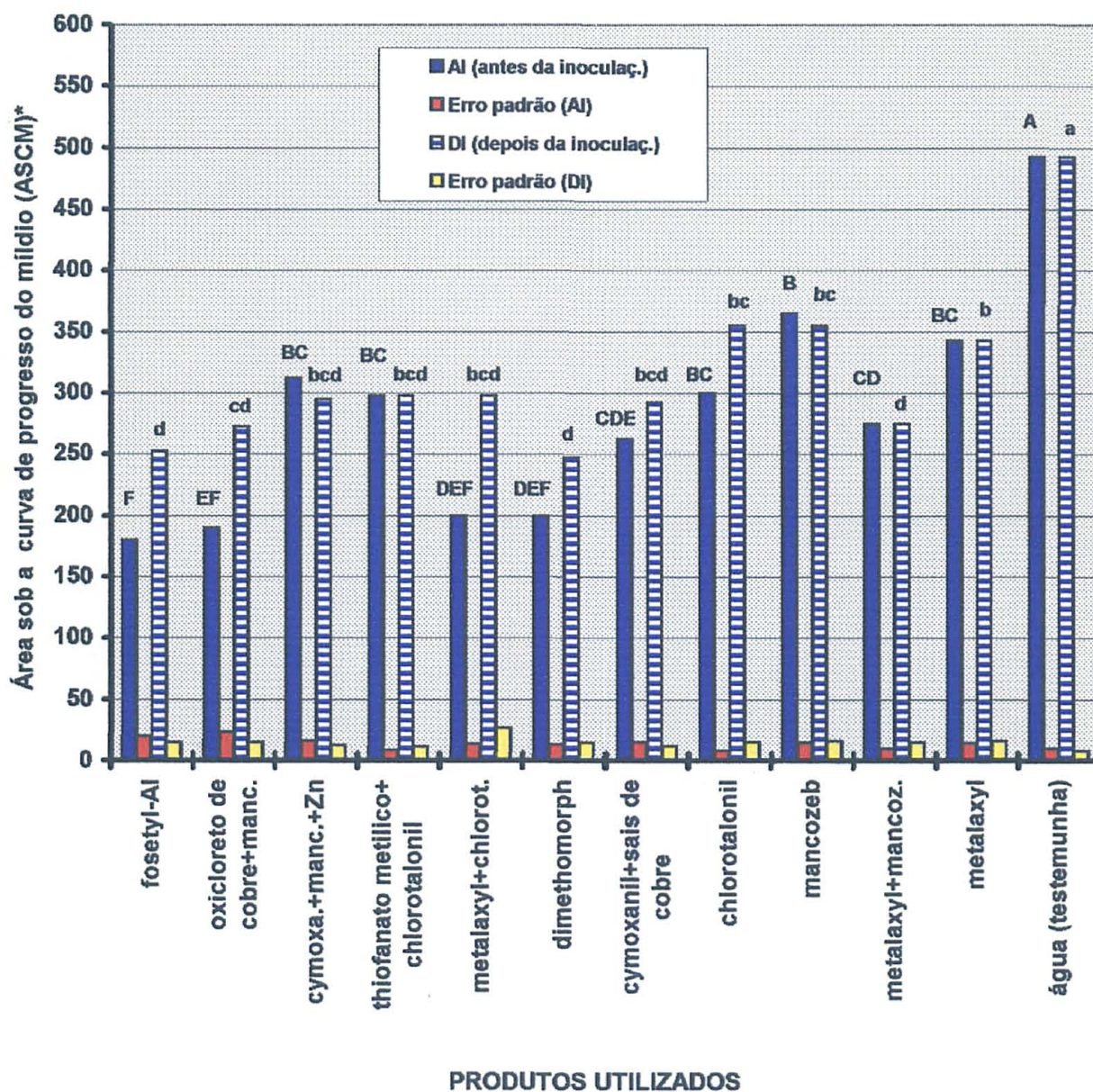
Quando aplicados (DI) os fungicidas dimethomorph, fosetyl-AI, metalaxyl + mancozeb, oxiclreto de cobre + mancozeb, cymoxanil + sais de cobre, cymoxanil + mancozeb + Zn, metalaxyl + chlorotalonil e thiofanato metilico + chlorotalonil foram estatisticamente iguais.

De acordo com COHEN e COFFEY (1986) e MANOLE et al. (1990) dimethomorph, metalaxyl + mancozeb e fosetyl-AI foram também eficientes no controle da doença.

A mistura de metalaxyl + mancozeb teve melhor efeito que quando aplicados isoladamente, de acordo com SAMOUCOA e COHEN (1984) e MANOLE et al. (1990), considerando que a mistura de fungicidas com diferentes mecanismos de ação tóxica pode favorecer o efeito sinérgico do produto.

Tratamento com chlorotalonil, isolado ou em mistura com thiofanato metílico ou metalaxyl, não apresentou diferenças estatísticas.

FIGURA 5 - EFEITO DE FUNGICIDAS EM PLANTAS DE PEPINO EM CASA DE VEGETAÇÃO PARA O CONTROLE DO MÍLDIO COM APLICAÇÃO PROTETIVA (AI) E CURATIVA (DI)



*ASCM = Área sob a curva de progresso do míldio, estimada visualmente pela percentagem de área foliar lesionada pelo patógeno entre o intervalo de 5 e 15 dias de inoculação. Barras da mesma série com as mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($P \geq 0,01$). CV = 16,26% (AI), CV = 15,35% (DI)

3.2.4.2 Em folhas destacadas (laboratório)

No ensaio realizado com folhas destacadas, verificou-se que a testemunha foi significativamente diferente ($P \geq 0,01$) quando comparada com todos os tratamentos fungicidas aplicados antes da inoculação do patógeno (AI) como pode ser observado na Figura 6.

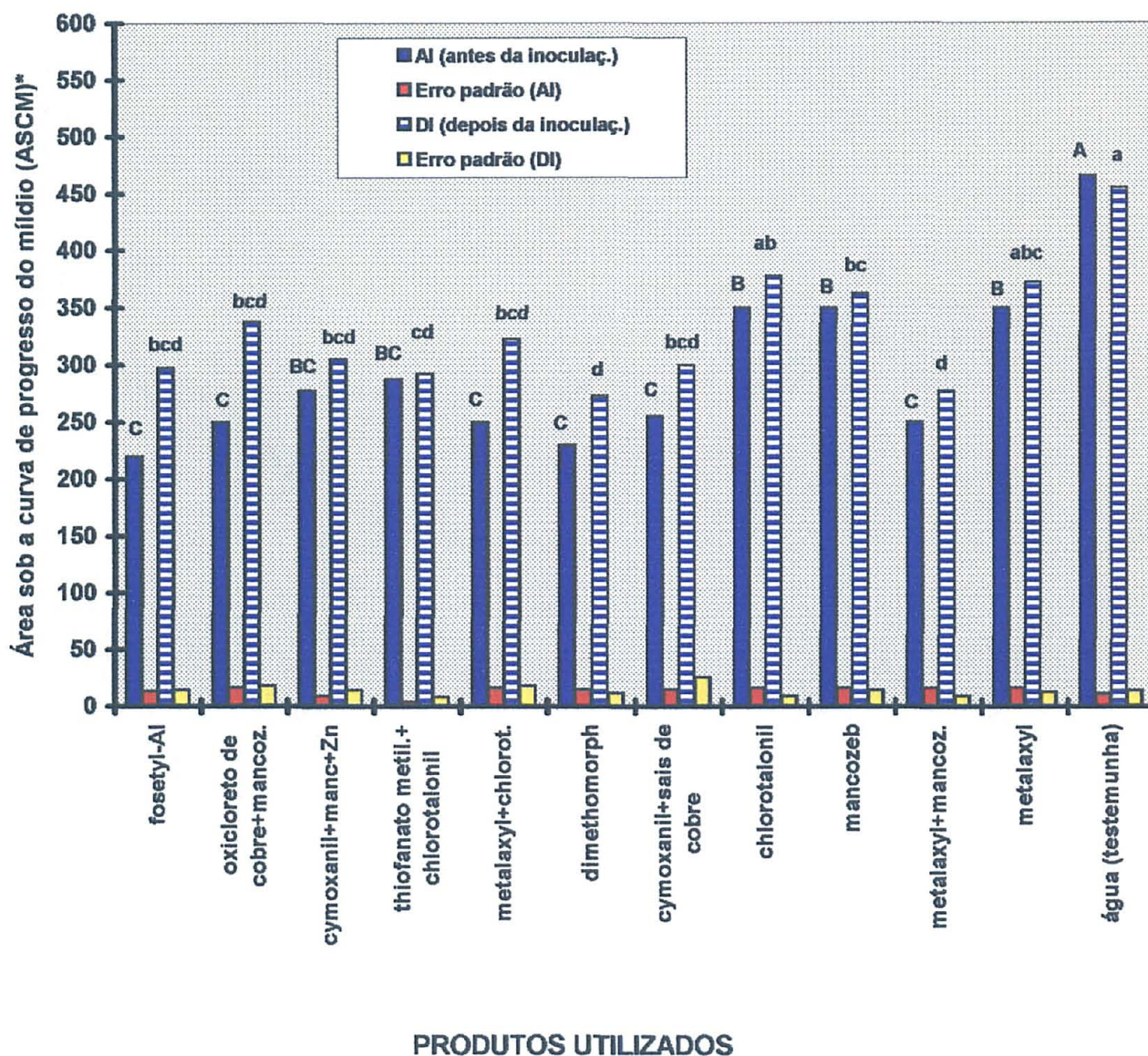
Os produtos à base de fosetyl-AI, dimethomorph, metalaxyl + chlorotalonil, oxicleto de cobre + mancozeb, metalaxyl + mancozeb, cymoxanil + sais de cobre, cymoxanil + mancozeb + Zn e thiofanato metilico + chlorotalonil, foram os mais eficientes no controle do míldio em folhas destacadas e estatisticamente iguais entre si.

A mistura de metalaxyl com mancozeb ou com chlorotalonil foi mais eficiente que metalaxyl ou chlorotalonil quando aplicados isoladamente.

Os tratamentos com os fungicidas aplicados depois de realizar as inoculações com o patógeno (DI) foram também significativamente diferentes da testemunha ($P \geq 0,01$).

Os fungicidas dimethomorph, metalaxyl + mancozeb, thiofanato metilico + chlorotalonil, fosetyl-AI, cymoxanil + sais de cobre, cymoxanil + mancozeb + Zn, metalaxyl + chlorotalonil e oxicleto de cobre + mancozeb apresentaram valores de ASCM estatisticamente iguais.

FIGURA 6 - EFEITO DE FUNGICIDAS EM FOLHAS DESTACADAS DE PEPINO PARA O CONTROLE DO MÍLDIO COM APLICAÇÃO PROTETIVA (AI) E CURATIVA (DI)



* ASCM = Área sob a curva de progresso do míldio, estimada visualmente pela percentagem de área foliar lesionada pelo patógeno entre o intervalo de 5 e 15 dias da inoculação. Barras da mesma série com as mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($P \geq 0,01$)
CV = 15,64% (AI); 14,35 % (DI)

3.3 EXPERIMENTO COM CONTROLE ALTERNATIVO

3.3.1 Inoculação em casa de vegetação

Neste experimento foram utilizadas plantas de pepino, da cultivar Aodai Melhorado, com 45 dias de idade, cultivadas em vasos. As inoculações foram feitas pelo método da pulverização 24h após a aplicação dos produtos na face inferior das folhas, utilizando-se uma concentração de 5×10^4 esporângios. mL⁻¹.

As plantas foram deixadas em câmara úmida por 24h, após as inoculações e antes das avaliações.

3.3.2 Inoculação em laboratório

Foram utilizadas folhas destacadas de pepino da cv. Aodai Melhorado com 45 dias de idade, com peciolo e periferia recortados, mantendo-se o sistema de três folhas de papel filtro para manter a umidade.

As inoculações foram feitas na face inferior das folhas, pelo método de pulverização, 24h após a aplicação dos produtos, utilizando-se uma concentração de 5×10^4 esporângios. mL⁻¹.

3.3.3 Produtos testados

O leite cru (antes do seu processamento) e extratos naturais preparados com folhas de plantas de sálvia (*Salvia officinalis* L.), tomilho (*Thymus vulgaris* L.), cavalinha (*Equisetum* sp.) e dentes de alho (*Allium sativum* L.) foram testados em forma preventiva no controle de *P. cubensis*.

Na Tabela 3 pode-se observar os produtos alternativos, denominação comum e científica e concentrações utilizadas no ensaio.

Neste experimento foram utilizadas folhas de cavalinha, com 36 meses de idade, de sálvia e tomilho com 70 e 45 dias de idade respectivamente, colhidas no campo em Curitiba, e dentes de alho, adquiridos diretamente no mercado local.

Os extratos foram preparados conforme NAKASHIMA (1994) utilizando-se folhas secas trituradas de sálvia, tomilho e cavalinha e dentes de alho frescos, triturados e macerados. Os mesmos foram aplicados nas folhas destacadas e nas plantas em vasos utilizando-se pulverizador manual com capacidade de 600 mL.

TABELA 3 - PRODUTOS ALTERNATIVOS, NOMES COMUM, CIENTÍFICO E CONCENTRAÇÕES, TESTADOS PARA O CONTROLE DO MÍLDIO DO PEPINO

NOME CIENTIFICO	NOME COMUM	PRODUTOS	CONCENTRAÇÕES	
			C ₁ (%)	C ₂ (%)
<i>Equisetum sp.</i>	cavalinha	extrato alcoólico	5	10
		extrato aquoso	5	10
<i>Allium sativum</i>	alho	extrato aquoso	10	20
<i>Salvia officinalis</i>	sálvia	extrato aquoso	10	20
<i>Thymus vulgaris</i>	tomilho	extrato aquoso	10	20
-	leite cru	leite cru	10	2

3.3.4 Avaliação e delineamento experimental

As avaliações em casa de vegetação foram realizadas visualmente depois das inoculações (DI) no 5º, 10º e 15º dias, considerando a percentagem de área foliar lesionada pelo míldio (0-100%) baseada no trabalho de PAPPAS (1982).

Os dados obtidos foram calculados em área sob a curva de progresso do míldio, segundo CAMPBELL e MADDEN (1990).

O delineamento experimental, em laboratório e em casa de vegetação, foi inteiramente casualizado com 7 tratamentos e 10 repetições, utilizando-se o Teste de Tukey ($P \geq 0,01$) para comparação de médias. As unidades experimentais constaram de uma planta em vaso e uma folha destacada em placa de Petri.

Em laboratório, por causa da dificuldade de manter as folhas por período de tempo mais longo em contato com os produtos, foram realizadas duas avaliações visuais, no 5º e 10º dias, considerando-se a percentagem de área foliar lesionada com a doença.

As folhas foram divididas em quatro partes iguais correspondendo a cada parte um intervalo de 0-25%. Para estimativa final considerou-se a soma total das porcentagens de sintomas nos quatro quartos da folha.

3.3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.5.1 Em casa de vegetação

Conforme mostra a Figura 7 os produtos preparados com alho 10% e cavalinha 5% (alcoólico e aquoso) foram os mais eficientes no controle de *P. cubensis* e significativamente diferentes da testemunha ($P \geq 0,01$).

Não houve diferença estatística entre os extratos alcoólico e o aquoso de cavalinha, porém, 80% das folhas tratadas com extrato alcoólico apresentaram manchas brancas similares a "queima" provavelmente devidas à presença do álcool no extrato, que pode ter sido fitotóxico.

Quando os produtos foram avaliados em concentração mais alta, alho (20%), cavalinha (10%) e tomilho (20%), estes foram significativamente diferentes da testemunha, do leite cru e da sálvia (20%).

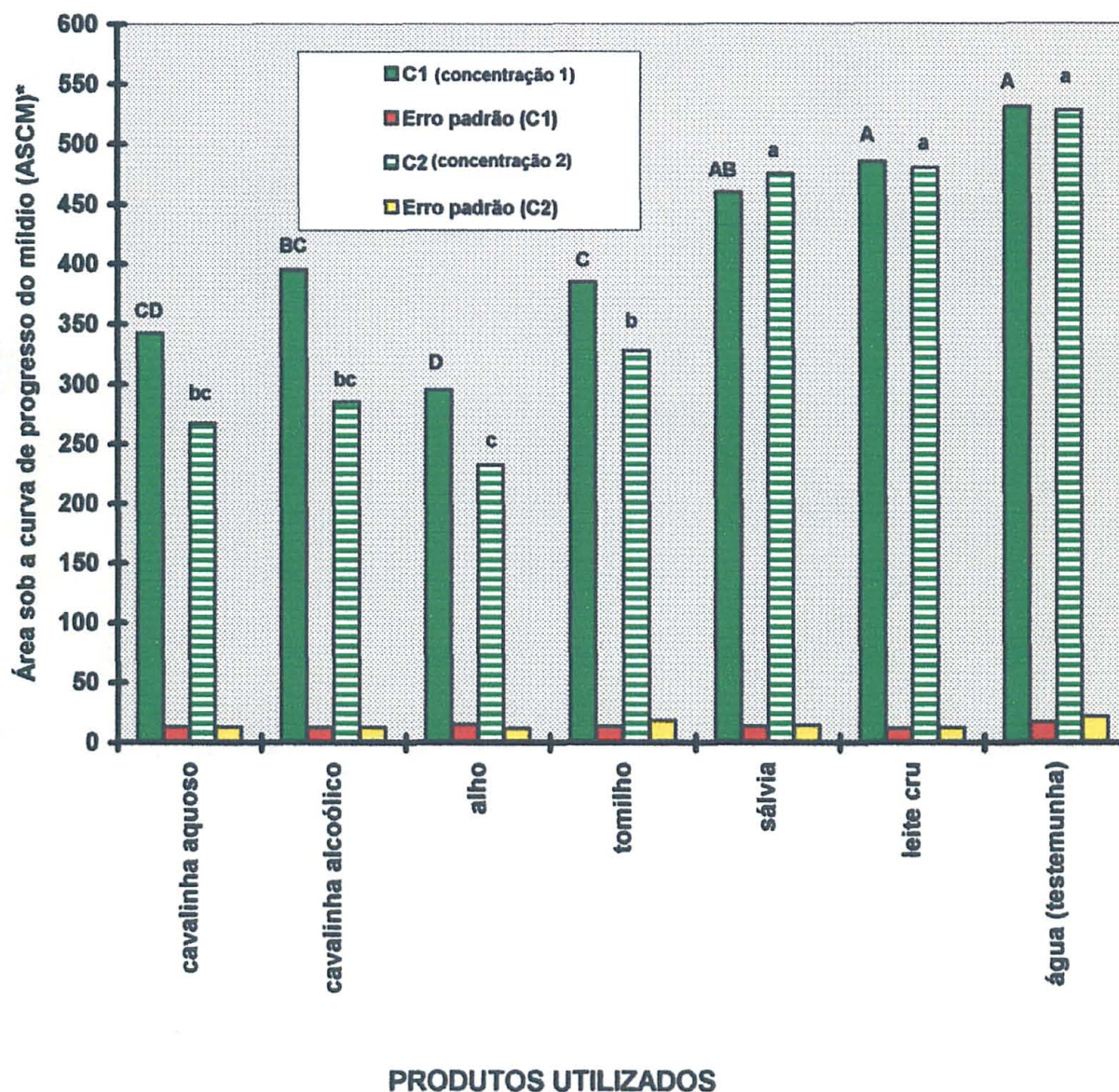
A eficiência do produto à base de cavalinha (Fig. 8) no controle de *P. cubensis* concorda com as observações realizadas por HANO et al. (1993).

O mesmo efeito de controle da doença foi obtido com o extrato de alho, conforme os resultados e observações realizadas por SIRINWANLOP, BUNTHAVI e PHIMUBON (1985).

A eficiência antifúngica do alho também concorda com WILSON et al. (1997) e a comunicação pessoal de Martínez (1997), embora estes pesquisadores tenham utilizado o extrato para o controle de outras doenças.

O extrato de tomilho 20% também apresentou-se eficiente no controle do míldio, de acordo com WILSON et al. (1997), embora este autor tenha utilizado outra espécie de planta.

FIGURA 7 - EFEITO DE PRODUTOS ALTERNATIVOS EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES APLICADOS PREVENTIVAMENTE (AI) EM PLANTAS DE PEPINO EM CASA DE VEGETAÇÃO PARA O CONTROLE DO MÍLDIO

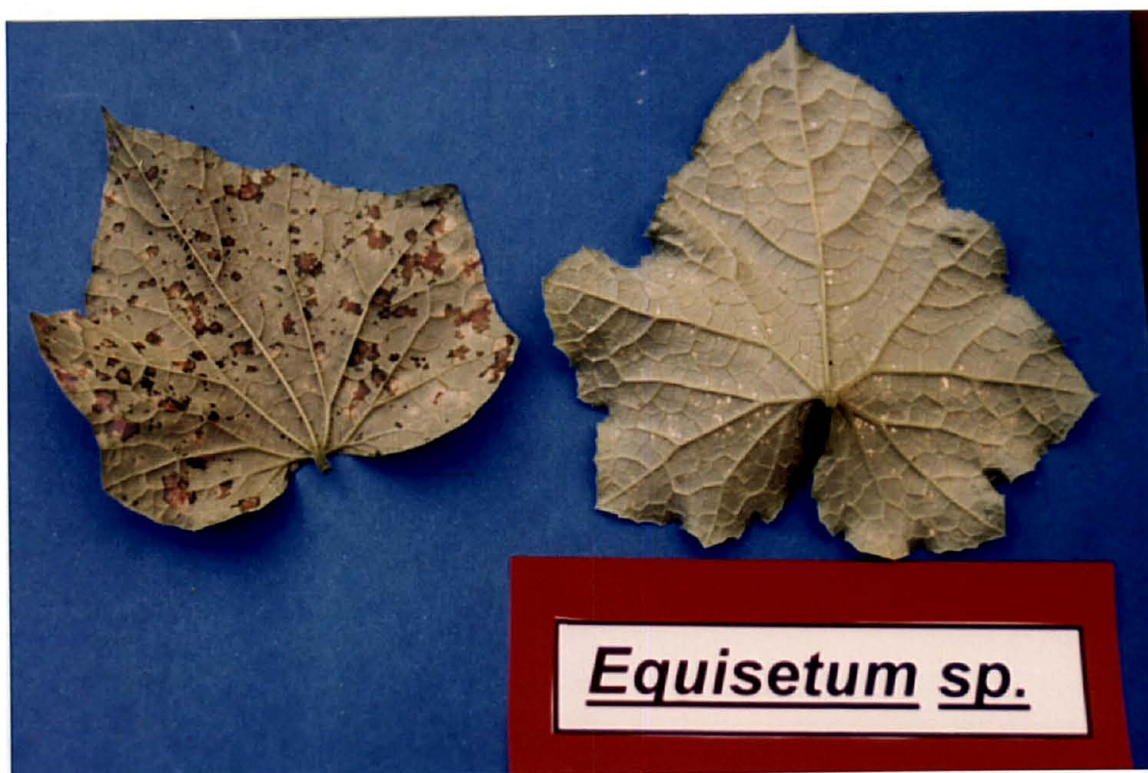


*ASMC = Área sob a curva de progresso do míldio, estimada visualmente pela percentagem de área foliar lesionada pelo patógeno entre o intervalo de 5 e 15 dias da inoculação. Barras da mesma série com as mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste Tukey ($P \geq 0,01$). CV= 10,67% (C_1); CV=13,22% (C_2)

O efeito do tomilho sobre *P. cubensis* pode estar relacionada à presença de fenóis no seu óleo (MUÑOZ, 1993) o que estaria inibindo a germinação de esporos conforme WILSON et al. (1997).

O tratamento com leite cru nas concentrações testadas (10 e 20%) não apresentou o mesmo potencial de controle do míldio comparando-se com os resultados obtidos por ASTIARRAGA e BETTIOL (1997a) com oídio (*Sphaeroteca fuliginea*) em abóbora (*Cucurbita sp.*).

FIGURA 8 - SINTOMAS DE MÍLDIO EM FOLHA DE PEPINO TRATADA COM ÁGUA (ESQ) E COM EXTRATO DE CAVALINHA 10% (DIR.).



Apesar do óleo da sálvia (tujona) ter comprovadamente propriedades bactericidas e germicidas (MUÑOZ, 1993), a ineficiência do extrato no controle do míldio neste ensaio (Fig. 7), pode estar relacionada com a quantidade de princípios ativos encontrados nas folhas, que varia com as condições de clima e solo (KUSTRAK e PEPELJNJAK, 1989).

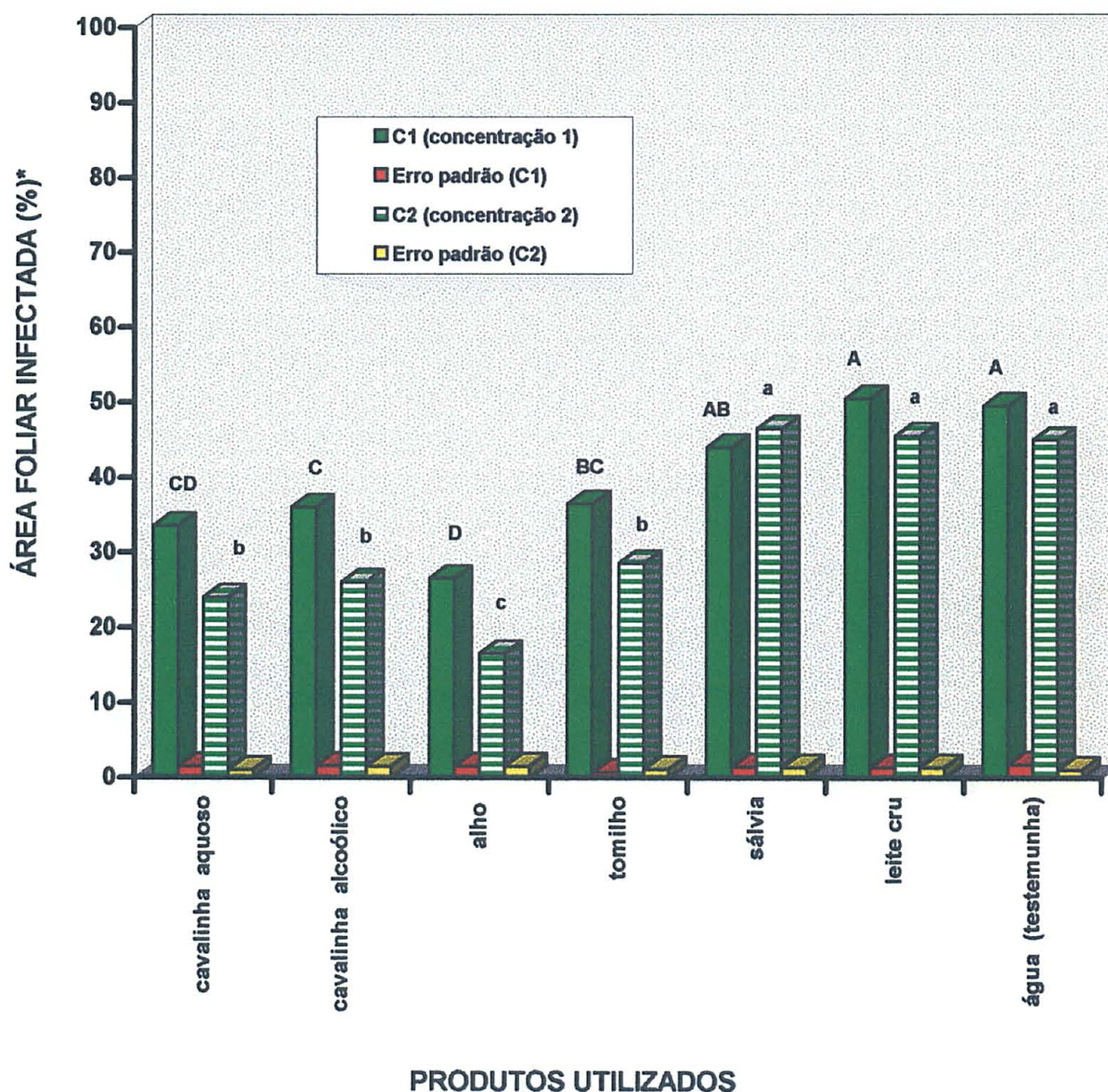
3.3.5.2 Em folhas destacadas (em laboratório)

Como pode observar-se na Figura 9, os produtos preparados com alho (10%) e cavalinha aquoso (5%) foram significativamente ($P \geq 0,01$) diferentes da testemunha sendo os mais eficientes no controle da doença. O tratamento com tomilho apresentou-se estatisticamente igual aos extratos alcoólico e aquoso de cavalinha.

Quando os produtos foram avaliados em maior concentração, a análise estatística apresentou diferença significativa para o alho (20%) comparado com todos os tratamentos. Os resultados obtidos com os tratamentos a base de extratos de sálvia e leite cru não diferiram estatisticamente da testemunha.

O extrato de alho (10% e 20%), seguido pelo de cavalinha (5%) foram os produtos que proporcionaram os melhores níveis de controle do míldio, em casa de vegetação como em folhas destacadas.

FIGURA 9 - EFEITO DE PRODUTOS ALTERNATIVOS EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES APLICADOS PREVENTIVAMENTE (A1) EM FOLHAS DESTACADAS DE PEPINO PARA O CONTROLE DO MÍLDIO



*A severidade da doença foi estimada visualmente pela percentagem de área foliar lesionada pelo patógeno no 5º e 10º dias após a inoculação. Colunas da mesma série com as mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($P \geq 0,01$). CV = 11,64% (C_1) ; CV = 12,08% (C_2).

4 CONCLUSÕES

Todos os métodos de inoculação foram eficientes na infecção de *P. cubensis* nas duas cultivares de pepino.

Com o método da pipeta observou-se maior percentagem de área lesionada nas folhas, provavelmente por causa da concentração elevada e localizada de inóculo.

O método da pulverização foi o mais prático em termos de trabalho e tempo quando realizado em casa de vegetação.

Os melhores fungicidas no controle de *P. cubensis* aplicados preventivamente em plantas de pepino em vaso, mantidas em casa de vegetação, foram fosetyl-Al, dimethomorph, oxicloreto de cobre + mancozeb e metalaxyl + chlorotalonil. Quando aplicados curativamente os mais eficientes foram fosetyl-Al, dimethomorph e metalaxyl + mancozeb.

Os fungicidas testados tiveram comportamento semelhante tanto no método de folhas destacadas quanto no método de plantas mantidas em casa de vegetação.

A mistura dos fungicidas metalaxyl com mancozeb ou com chlorotalonil foi mais eficiente do que quando os produtos foram aplicados de forma isolada.

Os extratos de alho (10 e 20%) e cavalinha aquoso (5%) apresentaram alto potencial de controle de *P. cubensis*.

5 RECOMENDAÇÕES

Testar novas cultivares com diferentes isolados do patógeno, considerando a existência de diversas raças ou isolados e que estas podem se comportar de forma diferente em outras cultivares.

Realizar os testes de controle com produtos químicos e alternativos a campo assim como, o uso dos mesmos em forma alternada.

Testar outros extratos de plantas de determinadas espécies considerando-se o grande potencial de substâncias antifúngicas existentes, visando o controle alternativo ou integrado de doenças.

Pesquisar o efeito dos extratos de alho, cavalinha e tomilho em outras concentrações e a misturas dos mesmos, visando aumento da atividade antifúngica.

Verificar a possibilidade de uso de conservante de folha aliado aos produtos alternativos, para aumentar o tempo de observação em folha destacada.

Testar outras doses de dimethomorph, fosetyl-Al, metalaxyl + chlorotalonil, metalaxyl + mancozeb que não estão registrados para o pepino, assim como a mistura de produtos com diferentes mecanismos de ação fungitóxica.

A utilização de fungicidas não registrados para a cultura do pepino, neste trabalho, não implica na sua recomendação, pois fazem parte de dados experimentais com o objetivo de avaliar a eficiência dos mesmos no controle do míldio. Todo produto deve ser devidamente registrado pelos representantes estaduais e federais antes de serem lançados ao mercado.

ANEXOS

ANEXO 1 - TEMPERATURA (°C) E UMIDADE RELATIVA DO AR (%) REGISTRADAS EM CASA DE VEGETAÇÃO DURANTE O EXPERIMENTO SOBRE MÉTODOS DE INOCULAÇÕES COM *P. CUBENSIS* EM PEPINO.

DATA	UMIDADE DO AR (%)	TEMPERATURA (°C)		
		máxima	mínima	média
29/04	65	22	9	15,5
30/04	60	29	9	19
01/05	60	23	10	16,5
02/05	65	22	9	15,5
03/05	60	24	13	18,5
04/05	50	23	10	16,5
05/05	50 (95)*	22	9	15,5
06/05	50	25	10	17,5
07/05	50	30	12	21
08/05	50	30	10	20
09/05	45	26	9	17,5
10/05	60	25	12	18,5
11/05	60	25	12	18,5
12/05	60	19	10	14,5
13/05	45	23	8	15,5
14/05	45 (90)*	18	5	11,5
15/05	60	22	7	14,5
16/05	60	20	10	15
17/05	60	20	11	15,5
18/05	45	19	8	13,5

FONTE: pesquisa em casa de vegetação

* umidade registrada nos vasos cobertos com sacos plásticos.

ANEXO 2 - ANÁLISES DE VARIÂNCIA DOS EXPERIMENTOS REALIZADOS

EXPERIMENTO COM MÉTODOS DE INOCULAÇÕES

(Fatorial 2 x 5 inteiramente ao acaso)

Fator A = 2 épocas de avaliação, Fator B = 5 métodos de inoculações

Casa de vegetação : cv. Nanshin

Fonte de variação	Graus de liberdade	Quadrado Médio
Fator A	1	1906.54*
Fator B	4	381.90*
AB	4	12.59
Erro experimental	90	9.02

Laboratório: cv. Nanshin

Fonte de variação	Graus de liberdade	Quadrado Médio
Fator A	1	2054.90*
Fator B	4	592.10*
AB	4	6.78
Erro experimental	90	7.03

Casa de vegetação: cv. Aodai Melhorado

Fonte de variação	Graus de liberdade	Quadrado Médio
Fator A	1	2566.74*
Fator B	4	1022.37*
AB	4	6.00
Erro experimental	90	11.57

Laboratório: cv. Aodai Melhorado

Fonte de variação	Graus de liberdade	Quadrado Médio
Fator A	1	2400.90*
Fator B	4	1893.78*
AB	4	10.716
Erro experimental	90	10.94

EXPERIMENTO COM CONTROLE QUÍMICO

(Delineado inteiramente ao acaso)

Casa de vegetação: depois da inoculação (DI)

Fonte de variação	Graus de liberdade	Quadrado Médio
Tratamento	11	46380**
Erro	108	2339.7

Casa de vegetação: antes da inoculação (AI)

Fonte de variação	Graus de liberdade	Quadrado Médio
Tratamento	11	80914**
Erro	108	2144.1

Laboratório (folhas destacadas) : depois da inoculação (DI)

Fonte de variação	Graus de liberdade	Quadrado Médio
Tratamento	11	28085**
Erro	108	2255.2

Laboratório (folhas destacadas) : antes da inoculação (AI)

Fonte de variação	Graus de liberdade	Quadrado Médio
Tratamento	11	50782**
Erro	108	2121.5

EXPERIMENTO COM CONTROLE ALTERNATIVO

(Delineado inteiramente ao acaso)

Casa de vegetação: C₁

Fonte de variação	Graus de liberdade	Quadrado Médio
Tratamento	6	68473**
Erro	63	1945.4

Casa vegetação: C₂

Fonte de variação	Graus de liberdade	Quadrado Médio
Tratamento	6	143952**
Erro	63	2400.8

Laboratório: C₁

Fonte de variação	Graus de liberdade	Quadrado Médio
Tratamento	6	779.17**
Erro	63	21.15

Laboratório: C₂

Fonte de variação	Graus de liberdade	Quadrado Médio
Tratamento	6	1508.05**
Erro	63	16.032

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 01 ACOSTA DE LA LUZ, L. L. **Proporciõese salud** : cultive plantas medicinales. La Habana : ed. Científico-Técnica, 1993. 227 p.
- 02 ASTIARRAGA, B. D; BETTIOL, W. Controle de *Sphaerotheca fuliginea* da abóbora com leite. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 22, supl, p. 246, 1997a.
- 03 ASTIARRAGA, B. D.; BETTIOL, W. Controle de *Sphaerotheca fuliginea* da abóbora com produtos alternativos. In: Congresso Paulista de Fitopatologia, Programa e Resumos. **Anais...**Campinas : Instituto Biológico, 1997b. p. 83
- 04 BEDENDO, J. P. Míldios. In: Bergamim F.; Kimati, H.; Amorim L. ed. **Manual de Fitopatologia**. São Paulo : Ceres, 1995. p. 860-865
- 05 CAMPBELL, C. L; MADDEN, L. V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York : John Wiley, 1990.
- 06 COELHO, R. W. R. Oomycota : por que não incluí-los mais no Reino Fungi?. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 22, supl., p. 227-228, 1997.
- 07 COHEN, Y. The combined effects of temperature, leaf wetness, and inoculum concentration on infection of cucumbers with *Pseudoperonospora cubensis*. **Canadian Journal of Botany**, Canadá, v. 55, n. 11, p.1478-1487, 1977.
- 08 COHEN, Y. Downy mildew of cucurbits. In: Spencer D. M. ed. **The downy mildew**. London : Academic Press, 1981. p. 341-354
- 09 COHEN, Y.; BAIDER, A.; COHEN, B. H. Dimethomorph Activity Against Oomycete Fungal Plant Pathogens. **Phytopathology**, St. Paul, v. 85, n. 12, p. 1500-1506, 1995.
- 10 COHEN, Y.; COFFEY, M. D. Systemic fungicides and the control of oomycetes. **Annual Review Phytopathology**, England, v. 24, p. 311-333, 1986.
- 11 COHEN, Y.; EYAL, H. Effects of light during infection on the incidence of downy mildew (*Pseudoperonospora cubensis*) on cucumber. **Physiological Plant Pathology**, London, v. 17, n. 1, p. 53-62, 1980.
- 12 COHEN, Y.; REUVENI, M.; SAMOUCOA, Y. Competition between metalaxyl resistant and-sensitive strains of *Pseudoperonospora cubensis* on cucumber plants. **Phytopathology**, St. Paul, v. 73, n. 11, p. 1516-1519, 1983.

- 13 DHINGRA, O. D.; SINCLAIR, J. **Basic Plant Pathology Methods**. 2. ed. Florida : CRC Press, 1986. 355 p.
- 14 FARR, D. F. et al. **Fungi on Plant and Plant Products in the United States**. 2. ed. Minnesota : The American Phytopathology Society, 1995. 1252 p.
- 15 FIORI, A. C. G. et al. Efeito do extrato bruto e do óleo essencial de plantas medicinais no crescimento micelial de *Dydymela bryoniae*. In: XXI Congresso Paulista de Fitopatologia, Programa e Resumos (1998 : Botucatu). **Anais...** Botucatu : Faculdade de Ciências Agrônômicas, 1998. p. 102
- 16 FONT, Q. P. **Plantas medicinales** 9. ed. Barcelona : Labor, 1985. 1033 p.
- 17 GASPARIN, M. D. G. et al. Efeito do óleo essencial e do extrato bruto do alho (*Allium sativum*) no crescimento micelial de *Rhizoctonia solani* e *Alternaria stevia*. In: XXI Congresso Paulista de Fitopatologia, Programa e Resumos (1998 : Botucatu) **Anais...** Botucatu : Faculdade de Ciências Agrônômicas, 1998. p. 102,
- 18 GOLYSHIN, M. N.; MASLOVA, A. A.; GONCHAROVA, T. F. Fungicides against peronosporose. **Zashchta Rasteniii**, Russia, n. 4, p. 18, 1994. **Pest Pathogens and Biogenic Diseases of Plant**. Resumo
- 19 GRIFFITH, J. M.; DAVIS, A. J.; GRANT, B. R. Target sites of fungicides to control oomycetes. In: KOLLER, W. ed. **Target sites of fungicide action**. New York : CRC Press, 1992. p. 69-100.
- 20 HANO, G. et al. Study of effectivity of plant extract against different pest. **Novenyvedelen**, Hungria, v. 29, n. 3-4, p. 174-181, 1993. **Pest Pathogens and Biogenic Diseases of Plant**. Resumo.
- 21 HENZ, G. P. Comportamento pós-colheita de cultivares de pepino. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 13, n. 1, p. 52-55, 1995.
- 22 INSTITUTO MUNICIPAL DE ADMINISTRAÇÃO PÚBLICA (IMAP), Secretaria Municipal de Agricultura e Abastecimento. **II Curso de atualização em comercialização de hortaliças a nível de varejo**. Curitiba : IMAP, 1997. 60 p.
- 23 LI, J. et al. Microscopical and ultrastructural studies on the resistance of cucumber to *Pseudoperonospora cubensis*. **Journal of Wuhan Botanical Research**, China, v. 9, n. 3, p. 212-214, 1991. **Review of Plant Pathology**, England, v. 71, n. 7, p. 511, 1992. Ref. 4228. Resumo.

- 24 LOPES, C. A. **Proteção de Plantas/Doenças**. Brasília : EMBRAPA, CNPH, 1995. 6p.
- 25 LOPES, F.; MAKISHIMA, N. **A cultura do pepino**. Brasília : EMBRAPA, CNPH, 1995. 11 p.
- 26 LOPES, F. Mesa Redonda sobre cucurbitáceas, fitossanidade. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 9, n. 2, p. 107-109, 1991.
- 27 MA, Q.; CUI, H. Histopathology of Cucumber Resistance to Downy Mildew. **Cucurbit Genetic Cooperative Report**, China, v. 18, p. 26-28, 1995.
- 28 MAKISHIMA, N. Situação das Cucurbitáceas no Brasil. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 9, n. 2, p. 99-101, 1991.
- 29 MANOLE, N. et al. Epidemiology and integrated control of *Pseudoperonospora cubensis* in cucumber. **Analele Institutului de Cercetari Pentru Protectia Plantelor**, Romania, v. 23, p. 57-73, 1990. **Review of Plant Pathology**, England, v. 71, n. 9, p. 679, 1990. Ref. 5641. Resumo.
- 30 MATTANA, S. H. et al. Cucurbitáceas : aspectos estatísticos. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 8, n. 85, p. 3-19, 1982.
- 31 MOSS, M. A. Resistance to Metalaxyl in the *Pseudoperonospora cubensis* Population Causing Downy Mildew of cucumber in South Florida. **Plant Disease**, St Paul, v. 71, n. 11, p. 1045, 1987.
- 32 MOTTE, G. et al. Monitoring and control of downy mildew of cucumbers. **Gartenbau**, Germany, v. 35, n. 1, p. 15-16, 1988. **Review of Plant Pathology**, England, v. 69, 1990. Ref. 8368. Resumo.
- 33 MUÑOZ, F. **Plantas medicinales y aromáticas** : estudio, cultivo y procesado. Madrid : Mundi Prensa, 1993. 365 p.
- 34 NAKASHIMA, T. **Manual prático da disciplina de Fitoquímica**. Curitiba : Departamento de Farmácia, UFPR, 1994. 25 p.
- 35 NIIUCHI, K. Las hortalizas del Paraguay. **Informe Técnico**, Centro Tecnológico Agropecuario en Paraguay. Yguazú, n. 2, p. 47-49, 1994.
- 36 OHGUCHI, T.; ISMAIL, Y. M.; YOSHIDA, K. A propagation method of cucumber downy mildew fungus (*Pseudoperonospora cubensis*, Berk. et Curtis) by the use of cucumber plant organs. **Memoirs of the College of Agriculture Ehime University**, Ehime, v. 34, n. 1, p. 113-121, 1989.

- 37 OLIVEIRA, DE C. A. **Incidência e severidade de doenças em hortaliças sob condições normais de uma horta comercial em Lavras - MG.** Lavras, 1994 Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Escola Superior de Agricultura de Lavras.
- 38 PALTI, J.; COHEN, Y. Downy mildew of cucurbits (*Pseudoperonospora cubensis*) the fungus and its hosts, distribution, epidemiology and control. **Phytoparasitica** Israel, v. 8, n. 2, p. 109-147, 1980.
- 39 PAPPAS, A. C. Metalaxyl resistance and control of cucumber downy mildew with oomycete fungicides. **Annales De Institut Phytopathologique Benaki**, Israel, v. 13, n. 2, p. 194-212, 1982.
- 40 PARKASH, V., SOKHI, S. S. Detached leaf method for maintenance of cultures of *Pseudoperonospora cubensis*. **Indian Phytopathology**, India, v. 42, n. 4, p. 575-576, 1989.
- 41 PLYUSNINA, R. A.; TIMOFEEV, A. N. Characterization of the Cucurbitaceae Juss in respect of resistance to downy mildew in the Primore area. **DalNevostcvhnaya Opytnaya**, USRR, n. 194, p. 28-31, 1991. **Review of Plant Pathology**, England, v. 70, n. 5, p. 379, 1991. Ref. 2992. Resumo.
- 42 KUSTRAK, D. ; PEPELJNJAK, S. Antimicrobial activity of Dalmatian sage oil from different regions of the Yugoslav Adriatic coast. **Acta Pharmaceutic Jugoslaviam**, Zagreb, v. 39, n. 3, p. 209-213, 1989.
- 43 REGO, A. M. Doenças causadas por fungos em Cucurbitáceas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 17, n. 182, p. 48-54, 1995.
- 44 RONDONANSKI, W.; WOZNIAK, J. Distribution and chemical control of downy mildew on cucumber. **Biuletyn Warzywniczy**, Polonia, n. 2, p. 145-149, 1989. **Review of Plant Pathology**, England, v. 71, n. 12, p. 953, 1992. Ref. 7855. Resumo.
- 45 SAGI, G.; SIPOS, L. Inoculation method for evaluating the effect of fungicides against *Pseudoperonospora cubensis*. **Novenyvedelem**, Hungary, v. 23, n. 2, p. 64-68, 1987. **Plant Diseases**, St Paul. Resumo.
- 46 SAMOUCHA, Y.; COHEN, Y. Synergy between metalaxyl and mancozeb in controlling downy mildew in cucumber. **Phytopathology**, St. Paul, v. 74, n. 12, p.1434-1439, 1984.
- 47 SANTOS, R. M. **Manejo integrado de doenças fúngicas em hortaliças.** Brasília : EMBRAPA, CNPH, 1995. 10 p.

- 48 SHERF, F. A.; MACNAB, A. A. Downy Mildew. In: **Vegetable diseases and their control**. 2 ed. New York : J. Wiley, 1986, p. 321-325.
- 49 SIRIWANLOP, P.; BUNTHAVI, S.; PHIMUBON, K. Testing efficiency of garlic juice (*Allium sativum* L.) and chemicals for controlling downy mildew of cucumber. Ministry of Agriculture and Cooperatives, **Research Report**, Thailand, p. 159, 1985. **Plant Diseases**, St. Paul, Resumo.
- 50 STANGHELLINI, M. E.; MILLER, R. M. Biosurfactants : their identity and potential efficacy in the biological control of zoosporic plant pathogens. **Plant Disease**, St. Paul, v. 81, n. 1, p. 4-12, 1997.
- 51 STUART, P. et al. *Fusarium proliferatum* as a Biocontrol Agent Against Grape Downy Mildew. **Phytopathology**, St. Paul, v. 86, n. 10, p. 1010-1016, 1996.
- 52 THOMAS, C. E. Downy mildew. In: Zitter, T. A.; Hopkins, D. L., Thomas C. E. (eds.) **Compendium of Cucurbit Disease**. The American Phytopathological Society, New York, 1996, p. 25-27
- 53 THOMAS, C. E.; INABA, T.; COHEN, Y. Physiological Specialization in *Pseudoperonospora cubensis*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 77, n. 12, p. 1621-1624, 1987.
- 54 TSAI, W. H. Inoculation of downy mildew on cucurbits under laboratory conditions. 1987. **Journal of Agricultural Research of China**, China, v. 36, n. 3, p.311-316. **Review of Plant Pathology**, England, v. 70, n. 1, p. 68, 1991, Ref. 584. Resumo.
- 55 TSAI, W. H.; TU, C. C.; LO, C. T. Ecology and control of downy mildew on cucurbits. **Plant Protection Bulletin Taipei**, Taipei, v. 34, n. 2, p. 149-161, 1992. **Pest Pathogens and Biogenic Diseases of Plant**. Resumo.
- 56 VARADY, C.; DUCROT, V. Le mildiou du cocombre. **Revue Suisse de Viticulture, Arboriculture, Horticulture**, Nyons, v. 17, n. 2, p. 103-106, 1985.
- 57 WATANABE, K. et al. Structure and Fungicidal Activity of Four Pseudoguaianolides Isolated from *Helenium quadridentatum* Labill. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Ehime, v. 33, n. 1, p. 83- 86, 1985.
- 58 WEIT, B.; NEUHAUS, W. Biology and control of cucumber downy mildew (*Pseudoperonospora cubensis*). **Nachrichtenblatt für den Pflanzenschutz in der DDR**, Germany, v. 44, n.1, p. 5-8, 1990. **Review of Plant Pathology**, England, v. 69, 1990. Ref. 8361. Resumo.

- 59 WILSON, C. L. et al. Rapid evaluation of plant extract and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. **Plant Disease**, St. Paul, v. 81, n.2, p. 204-210, 1997.
- 60 ZAMBOLIM, L.; RIBEIRO DO VALE, F. X. R.; COSTA, H. Principais doenças causadas por fungos, bactérias, vírus e nematóides em pepino.
In: ____ **Controle integrado das doenças de hortaliças**, Viçosa, 1997.
p. 86