

## HETEROTALISMO E SEXUALIDADE EM *Nectria haematococca*

f. sp. *piperis*\*

Fernando Carneiro de Albuquerque\*\*  
Silamar Ferraz\*\*\*

### 1. INTRODUÇÃO

Foi comprovado que *Nectria haematococca* f. sp. *piperis* é o estágio perfeito de *Fusarium solani* f. sp. *piperis* (1), agente causal da podridão das raízes e do secamento dos ramos da pimenta-do-reino.

Segundo SNYDER e HANSEN (17) e GEORGOPOULOS (8), as "formae especiais" da espécie podem possuir isolamentos hermafroditas, femininos, masculinos, neutros e hermafroditas protadores de "locus" Stp, que interfere na expressão do caráter feminino. Com relação à compatibilidade heterotática, apresentam os fatores opostos em clones separados (2, 11, 15, 17).

Algumas "formae especiais" desenvolvem peritécios somente em culturas de laboratório. Outros podem desenvolver estas frutificações tanto em meios de cultura como em tecidos mortos da planta infectada (14, 18). MATUO e SNYDER (15) verificaram, mediante ensaios experimentais que cada "forma especialis" de *F. solani* possui população própria de isolamentos sexualmente compatíveis.

No presente trabalho, culturas de *N. haematococca* f. sp. *piperis* foram cruzadas entre si em várias combinações, com o objetivo de determinar a sexualidade e o fator de compatibilidade heterotática de diversos clones.

---

\* Parte da tese do primeiro autor, para obtenção do grau de M.S. em Microbiologia Agrícola (Fitopatologia) na Universidade Federal de Viçosa.

Recebido para publicação em 25-05-1976.

\*\* Pesquisador em Agricultura da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária e Pesquisador bolsista do Conselho Nacional de Pesquisas.

\*\*\* Professor Adjunto da Universidade Federal de Viçosa.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Determinação da Sexualidade e dos Fatores de Compatibilidade Heterotática em Culturas Monospóricas

De ramos e raízes infectados provenientes de materiais coletados em pimentais cultivados nos Estados do Pará e Espírito Santo, foram obtidos vários isolamentos monospóricos, a partir de ascósporos e de macroconídios, pela técnica descrita por HANSEN (11).

Prepararam-se placas com 5 ml de ágar a 2%. A suspensão de esporos foi preparada em 10 ml de água destilada esterilizada, na concentração de 1 - 10 esporos por gota de aproximadamente 3 mm de diâmetro, quando examinada em campo de microscópio sob objetiva de baixo poder de aumento (5 - 10 X). Colocou-se a suspensão de esporos na placa com ágar, de maneira a cobrir toda a superfície. Após alguns minutos, o excesso foi eliminado. As placas foram levadas para câmara de crescimento a 24°C e mantidas em posição inclinada durante 3-5 horas, quando se tratava de macroconídios, e 7 - 10 horas, no caso de ascósporos. Decorrido este tempo, as placas foram abertas e sacudidas com firmeza para eliminar o excesso de umidade acumulada no lado que permaneceu em pleno inferior. Sob o microscópio estereoscópico, localizaram-se os esporos que germinavam isoladamente. Com uma agulha dissecadora, cortaram-se diminutos blocos de ágar em volta dos esporos, transferindo-os para ágar simples a 2% ou BDA em tubos inclinados.

A compatibilidade heterotática e o sexo foram determinados cultivando-se um dos isolamentos em tubos de batata-sacarose-ágar a 1% de sacarose e ágar-pecíolo de soja durante 20 a 25 dias. Depois, colocaram-se sobre esta cultura 1 a 2 ml de suspensão de macroconídios de outro isolamento, na concentração de 2.000-5.000 esporos por milímetro, eliminando-se, em seguida, o excesso de suspensão (19). Quando se procurou avaliar o número de peritécios resultantes de determinado cruzamento, empregou-se uma suspensão de esporos com 5.000 macroconídios por milímetro, na quantidade de 2 ml de suspensão para fertilizar cultura com 25 dias de desenvolvimento, em 10 ml do meio de cultura por tubo de 14 mm x 150 mm, obtendo-se a média de 4 tubos.

Foram, também, feitos pareamentos de isolamentos em placas de batata-sacarose-ágar a 1% de ágar-extrato de soja, para comprovar o tipo de compatibilidade das culturas e obter culturas monospóricas de ascósporos resultantes do cruzamento entre isolamentos compatíveis.

### 2.2. Desenvolvimento de Peritécios no Tecido do Hospedeiro

Com um atomizador de Vilbiss Nº 15, foram aplicadas suspensões de macroconídios de 3 isolamentos de *N. haematococca* f. sp. *piperis* em mudas de pimenta-do-reino, originárias de sementes, com 5 meses de idade. Os isolamentos, todos hermafroditas, foram obtidos do caule infectado de pimenteiros cultivadas no Estado do Pará. O isolamento 21 possuía misturas dos fatores de compatibilidade; o identificado como AP<sub>2</sub> era portador de único fator (+) e o AP<sub>9</sub>, do fator (-) isolado.

Suspensões de macroconídios de cada um dos isolamentos fo-

ram aplicadas em 16 mudas, que permaneceram em câmara úmida por 96 horas. Depois foram levadas para casa-de-vegetação. Decorridos 25 dias, 50% das mudas inoculadas com AP<sub>2</sub> e 50% das que receberam AP<sub>9</sub> como inóculo, quando apresentavam, nos tecidos infectados do caule, esporodoquios em desenvolvimento, foram novamente atomizadas com suspensão de macroconídios do isolamento com fator de compatibilidade heterotática oposto.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Determinação da Sexualidade e do Fator de Compatibilidade Heterotática de Isolamentos Monospóricos

Como é apresentado no Quadro 1, quando os isolamentos cruzados possuíam fator de compatibilidade heterotática oposto, os peritécios desenvolviam-se no tubo do isolamento que recebia a suspensão de macroconídios, desde que fosse hermafrodita (Figura 1 A). Os isolamentos hermafroditas funcionaram como culturas receptivas pela produção de primórdios de peritécios e como fertilizadoras por meio dos macroconídios que atuaram como espermiácias. Os clones masculinos tiveram função única de fertilizadores, pois produziram apenas macroconídios (Quadro 1).

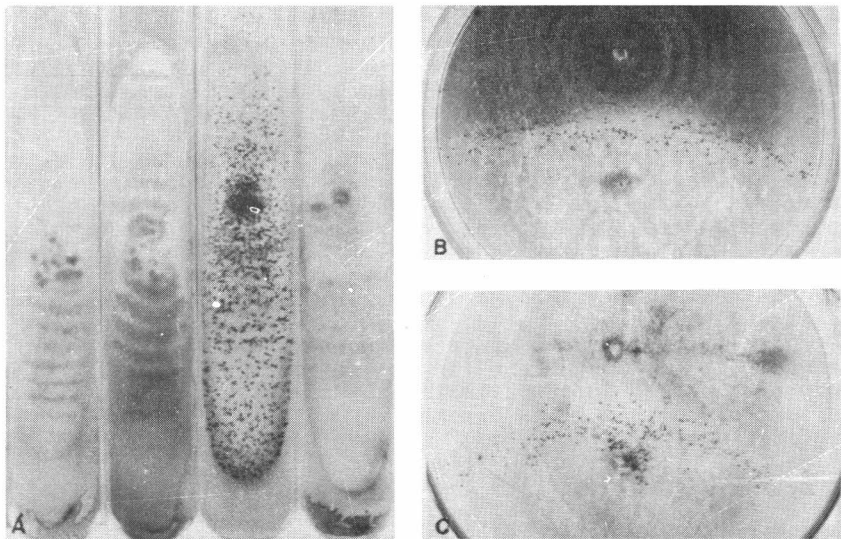


FIGURA 1 - (A) A colônia do terceiro tubo com inúmeros peritécios resultou do cruzamento dos dois isolamentos à esquerda. O cruzamento feito, no último tubo à direita, foi infértil. (B) Pareamento em placas dos isolamentos ES<sub>2</sub>C(H) (+) x AP<sub>9</sub>(H)(-) e (C) ES<sub>2</sub>D(H) (+) x AP<sub>9</sub>(H) (-). Os peritécios desenvolveram-se na região de encontro dos micélios.

QUADRO 1 - Formação de peritécios em relação à sexualidade e à compatibilidade heterotática em *Nectria haematococca* f. sp. *piperis*. Viçosa, MG, 1975

Função do isolamento			Número de peritécios*
Feminino		Masculino	
AP <sub>9</sub> (H) (-)	x	AP <sub>2</sub> (H) (+)	161
AP <sub>2</sub> (H) (+)	x	AP <sub>9</sub> (H) (-)	168
AP <sub>9</sub> (H) (-)	x	AP <sub>6</sub> (H) (-)**	0
AP <sub>2</sub> (H) (+)	x	AP <sub>20</sub> (H) (+)**	0
AP <sub>2</sub> (H) (+)	x	AP <sub>9</sub> (M) (-)	194
AP <sub>9</sub> (M) (-)	x	AP <sub>2</sub> (H) (+)	0
AP <sub>9</sub> (H) (-)	x	AP <sub>2</sub> (M) (+)	187
AP <sub>2</sub> (M) (+)	x	AP <sub>9</sub> (H) (-)	0
AP <sub>2</sub> (M) (+)	x	AP <sub>9</sub> (M) (-)**	0

\* Média de 4 tubos

\*\* Cruzamento infértil nos dois sentidos

H -Hermafrodita

M -Masculino

(+) (-) - Fator de compatibilidade heterotática

Em tubos, estas combinações de cruzamentos sã resultaram na formação de peritécios, quando AP<sub>9</sub> funcionou como cultura receptiva. Se os macroconídios que funcionaram como espermácias eram fornecidos pelo isolamento AP<sub>9</sub>, para fertilizar culturas de ES<sub>2</sub>D e ES<sub>2</sub>C, não ocorria formação de peritécios, ou desenvolviam-se somente alguns, pequenos e vazios, o que constituiu indicação de que os isolamentos ES<sub>2</sub>D e ES<sub>2</sub>C seriam portadores do "locus" Stp.

Os isolamentos TB<sub>4</sub> e ES<sub>2</sub>D, embora sendo hermafroditas, funcionaram unicamente como masculinos em determinadas combinações de cruzamento (Quadro 2), o que parece indicar que são portadores do "locus" Stp (8), que interfere na expressão do caráter feminino.

Três dias após a fertilização, diminutos peritécios começaram a ser observados a olho nu nas culturas receptivas, nos cruzamentos em que as condições de compatibilidade heterotática e de sexualidade eram favoráveis. Dez a quinze dias depois, as frutificações atingiram a maturidade (Figura 1 A). Pouco depois, começaram a liberar ascósporos pelo ostíolo.

Verifica-se no Quadro 2, que o número de peritécios produzidos depende da combinação de isolamentos para cruzamento.

Do cruzamento feito no laboratório entre dois isolamentos hermafroditas (Quadro 3) foram obtidas, de ascósporos coletados ao acaso, 115 culturas hermafroditas, nas quais os fatores de compatibilidade heterotática opostos ocorreram em porcentagens aproximadas de 54% (+) e 46% (-).

Em pareamentos de culturas feitos em placas com batata-sacarose-ágar, verificou-se que os peritécios se desenvolveram quando as condições de sexualidade foram preenchidas, e cada isolamento possuía fator de compatibilidade heterotática oposto. Mesmo os cruzamentos (ES<sub>2</sub> C<sup>+</sup> x AP<sub>5</sub>) e (ES<sub>2</sub>D<sup>+</sup> x AP<sub>5</sub>), em que as culturas hermafroditas possuíam variações no grau de patogenicidade e apresentavam diferenças no aspecto, resultaram na produção de peritécios férteis na região de encontro dos micélios (Figura 1 B, C). A cultura do isolamento AP<sub>9</sub> (H) (-), de crescimento mais lento e coloração esbranquiçada, encontra-se situada em plano inferior, em relação à linha de formação dos peritécios.

Observa-se, no Quadro 4, que, de 79 isolamentos, obtidos no Estado do Pará, de esporos desenvolvidos em natureza no tecido do hospedeiro foram determinados 74 hermafroditas e 5 masculinos. Dos hermafroditas, dois seriam portadores do "locus" Stp. No estado do Espírito Santo, foram obtidos 6 isolamentos. Destes, 5 eram hermafroditas, dos quais 4 teriam o "locus" Stp. Apenas um foi determinado como masculino. Verificou-se, portanto, ocorrência de ambos os fatores de compatibilidade heterotática nos isolamentos provenientes de esporos associados ao tecido da planta hospedeira em natureza.

Não foram encontrados isolamentos femininos nem neutros, quer se tratasse dos clones isolados de esporos formados no tecido infectado, naturalmente, quer das culturas que apresentaram mutações no laboratório.

Ocorreram, com freqüência, mutações em culturas hermafroditas, originando isolamentos masculinos. Estes possuíam coloração branca em BDA e eram do tipo micelial, enquanto aquelas apresentavam tonalidade escura, apresentando características do tipo conidial.

QUADRO 2 - Relação entre fertilização de isolamentos compatíveis e produção de peritécios de *Nectria haematococca* f. sp. *piperis*. Viçosa, MG, 1975

Função do isolamento			Número de peritécios*
Feminino		Masculino	
AP <sub>9</sub> (H) (-)	x	AP <sub>2</sub> (H) (+)	186
AP <sub>2</sub> (H) (+)	x	AP <sub>9</sub> (H) (-)	177
AP <sub>9</sub> (H) (-)	x	TB <sub>4</sub> (H) (+)	158
TB <sub>4</sub> (H) (+) (Stp)	x	AP <sub>9</sub> (H) (-)	0
TB <sub>4</sub> (H) (+) (Stp)	x	TB <sub>5</sub> (H) (-)	0
TB <sub>5</sub> (H) (-)	x	TB <sub>4</sub> (H) (-)	102
AP <sub>9</sub> (H) (-)	x	ES <sub>2</sub> D(H) (+)	172
ES <sub>2</sub> D(H) (+) (Stp)	x	AP <sub>9</sub> (H) (-)	0
ES <sub>3</sub> A(H) (-)	x	ES <sub>2</sub> D(H) (+)	23
AP <sub>2</sub> (H) (+)	x	ES <sub>1</sub> B(M) (-)	36

\* Média de 4 tubos  
 (+) (-) - Fator de compatibilidade heterotática  
 H - Hermafrodita  
 M - Masculino  
 Stp - Peritécio estéril

QUADRO 3 - Compatibilidade heterotática de isolamentos monospóricos provenientes do cruzamento de duas culturas hermafroditas de *Nectria haematococca* f. sp. *piperis*. Viçosa, MG, 1975

Cruzamento	Isolamentos monospóricos de ascósporos	Compatibilidade heterotática	
		(+)	(-)
AP <sub>2</sub> (H) (+)      x      AP <sub>9</sub> (H) (-)	115 (H)	62 (54%)	53 (46%)

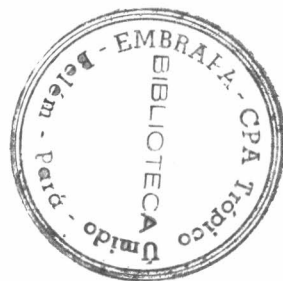
H      - Hermafrodita

(+) (-) - Fator de compatibilidade heterotática

QUADRO 4 - Sexualidade e compatibilidade heterotática de isolamentos de *Nectria haematococca* f. sp. *piperis*. Viçosa, 1975

	Compatibilidade heterotática		Sexualidade		
	(+)	(-)	Hermafrodita	Masculino	Hermafrodita "locus" Stp
Estado do Pará					
AP	37	26	59	4	
TB	4	5	9		2
TmU	4	3	6	1	
Estado do Espírito Santo					
ES	2	4	5	1	4

AP, TB, TmU - Respectivamente, municípios de Apeú, Timboteua, Tomé-Açu.





3.2. *Desenvolvimento de Peritécios no Tecido do Hospedeiro*

Nas mudas em que foram aplicadas suspensões de macroconídios do isolamento 21, aos 25-40 dias depois da inoculação surgiram peritécios em desenrolvimento sobre a casca do caule apodrecida, principalmente na região do coleto, em virtude da umidade elevada causada pela proximidade do solo umedecido (Figura 2 A, C).

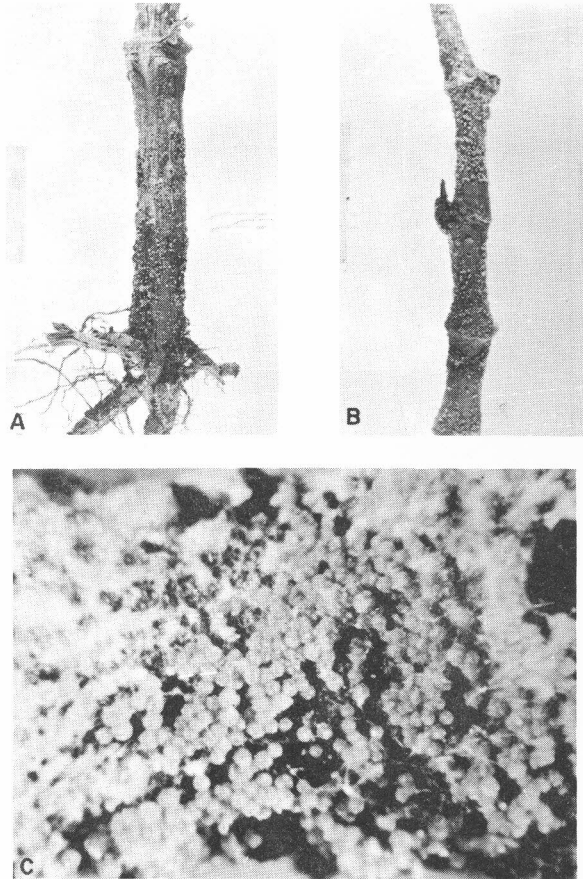


FIGURA 2 - Peritécios desenvolvidos sobre a casca do caule apodrecido de mudas inoculadas. (A) Resultantes da inoculação de macroconídios de um isolamento com misturas de fatores de compatibilidade heterotática. (B) Formados após a fertilização dos primórdios por macroconídios com fator de compatibilidade oposto. (C) Peritécios gregários formados próximos à região do coleto, ao lado de esporodóquios de formação mais recente.

Quando foram feitas aplicações separadas dos dois isolamentos, cada um deles com um fator de heterotalismo oposto, os peritécios desenvolveram-se somente 10 dias após a aspersão de suspensão de macroconídios que funcionaram como espermacias para fertilizar os primórdios desenvolvidos 15-25 dias após a inoculação sobre o tecido apodrecido, em razão de infecção causada pelas estruturas do primeiro isolamento aplicado (Figura 2 B).

Os peritécios formaram-se, em maiores quantidades, nas regiões apodrecidas do caule mais próximas do nível do solo ume-decido (Figura 2 C).

No tratamento em que as mudas foram atomizadas com suspensão de macroconídios de apenas um isolamento, AP<sub>2</sub>(+) ou AP<sub>9</sub>(-), portador de único fator de compatibilidade heterotática, não se verificou desenvolvimento de peritécios. Sobre a casca do caule apodrecido desenvolveram-se, unicamente, os esporodóquios e os primórdios de peritécios.

#### 4. DISCUSSÃO

O desenvolvimento de peritécios de *Nectria haematococca* f. sp. *piperis* depende, como em outras "formae speciales" descritas, de dois tipos de heterotalismo: o que tem relação com a sexualidade, como ficou estabelecido por BAKER (2), GEORGOPOULOS (8), HANSEN e SNYDER (11, 12), SNYDER e HANSEN (17), e o que está ligado a fatores de compatibilidade heterotática (+) e (-) ou (A) (a), como são identificados em diversos trabalhos (4, 8, 11, 16, 17). Quando se desenvolveram estruturas do estágio perfeito, a separação destes fatores foi feita por culturas monospóricas de ascósporos. Quando não ocorreu desenvolvimento de peritécios nos tecidos infectados nem nas colônias em meio de cultura, obtiveram-se clones com um só fator de compatibilidade heterotática, a partir de isolamentos de um único macroconídio. Esta possibilidade foi verificada por BUXTON (3), que encontrou macroconídios homozigotos oriundos de micélios heterozigotos. No entanto, podem ocorrer macroconídios portadores dos dois fatores (5, 6). Portanto, é importante verificar se o esporo leva apenas um dos fatores, antes da realização de ensaios de cruzamento.

A grande maioria dos isolamentos de *Nectria haematococca* f. sp. *piperis* foi do tipo hermafrodita. Embora tenham sido encontrados somente isolamentos hermafroditas, masculinos e hermafroditas portadores de "locus" Stp, é provável que ocorram os tipos feminino e neutro (2, 8, 11, 12, 17). Para encontrá-los, seria necessário desenvolver trabalhos de obtenção de culturas purificadas de maior número de isolamentos monospóricos. As mutações que ocorrem em laboratório devem ser observadas constantemente, pois podem originar tipos não determinados (17).

A comprovação de heterotalismo em *Nectria haematococca* f. sp. *piperis* está de acordo com normas estabelecida por MATUO e SNYDER (15), segundo a qual formas patogênicas de *Fusarium solani* são heterotáticas. No entanto, podem existir isolamentos saprófitas, que podem ser classificados em formas patogênicas, desde que sexualmente compatíveis (14).

Os trabalhos desenvolvidos experimentalmente por MATUO e SNYDER (15) comprovaram que cada "forma specialis" possui população própria de isolamentos sexualmente compatíveis. Des-

te modo, os testes de cruzamento constituem mais um auxílio na identificação dos isolamentos de *Nectria haematococca* f. sp. *piperis*, em complementação aos testes de patogenicidade.

Foram isolados clones desta "forma especialis" que apresentaram variações de crescimento e de aspecto, características que tiveram relação com o grau da patogenicidade.

Por meio de ensaios de cruzamento com clones-testes mantidos em laboratório, torna-se possível realizar levantamentos de isolamentos de *Nectria haematococca* f. sp. *piperis* que ocorrem em uma região, no solo ou em tecidos infectados da planta hospedeira (4, 16).

A espécie constitui material adequado para estudo da fisiologia de reprodução (13, 19), e, como ficou comprovado por GEORGOPOULOS (9, 10), pode também contribuir para elucidar o mecanismo da herança de patogenicidade e da tolerância aos fungicidas.

## 5. RESUMO

O patógeno *Nectria haematococca* f. sp. *piperis*, estágio perfeito de *Fusarium solani* f. sp. *piperis*, agente causal da podridão das raízes e do secamento dos ramos da pimenta-do-reino, é um fungo heterotálico. Após a fertilização de primórdios de peritécios, as frutificações desenvolveram-se em meios de cultura e no tecido infectado da planta hospedeira, depois de morto. A separação dos fatores de compatibilidade (+) e (-) foi feita por culturas monoascospóricas. Nos isolamentos que não estavam produzindo ascósporos, as colônias com fatores separados foram obtidas de um único macroconídio, que pode possuir apenas um fator de compatibilidade heterotálica. Estes fatores ocorreram em porcentagens aproximadas, tanto em esporos formados em meio de cultura como em a natureza.

Os clones isolados pertenciam, predominantemente, ao tipo hermafrodita. Foram também obtidos indivíduos masculinos. Alguns isolamentos, mesmo sendo hermafroditas em determinadas combinações de cruzamento, só funcionaram como masculinos, provavelmente em razão da presença do "locus" identificado como Stp, que interfere na manifestação do caráter feminino. Culturas hermafroditas, com facilidade, deram origem, por mutação, ao tipo masculino. Não foram encontrados clones femininos nem neutros.

## 6. SUMMARY

*Nectria haematococca* f. sp. *piperis*, the perfect stage of *Fusarium solani* f. sp. *piperis*, causal agent of root rot and blight in black pepper plants, is a heterothallic fungus. After the fertilization of the perithecial primordium, frutifications developed in artificial media or on the infected tissue of dead host plants. The mating types (+) and (-) were separated according to compatibility by means of single ascospore cultures. For the isolates that did not produce ascospores, colonies were obtained from a single macroconidium which usually have only one mating type factor. The frequency of both mating types was about the same either in nature and in lab cultures.

The majority of the isolates were hermaphroditic. Males

were also obtained. Some hermaphroditic isolates acted only as males in certain crossing combinations, probably due to the presence of the Stp locus affecting the female type expression. Hermaphroditic cultures easily mutated, giving rise to male cultures. Female and neuter types were not found.

#### 7. LITERATURA CITADA

1. ALBUQUERQUE, F. C. *Características morfológicas de Nectria haematococca* f. sp. *piperis* e sua patogenicidade à *pimenta-do-reino* (*Piper nigrum* L.). Universidade Federal de Viçosa, Imprensa Universitária, 1976. 63 p. (Tese M.S.).
2. BAKER, R. Fertilizing ability of males and hermaphrodites in *Hypomyces solani* f. *cucurbitae*. *Phytopathology* 46 (12):644-649. 1956.
3. BUXTON, W. W. Heterokaryosis, saltation and adaptation. In: HORSFAL, J. G. & DIMOND, E.E., ed. *Plant Pathology*. New York, Academic Press., 1960. V.2., p. 359-405.
4. COOK, R. J., FORD, E. J. & SNYDER, W.C. Mating types, sex, dissemination and possible sources of clones of *Hypomyces (Fusarium) solani* f. *pisi* in South Australia. *Australian J. Agr. Res.* 19(2):253-259. 1968.
5. CURTIS, C. R. Physiology of sexual reproduction in *Hypomyces solani* f. *cucurbitae*. II. Effects of radiant energy on sexual reproduction. *Phytopathology* 54 (9): 1141-1145. 1969.
6. CURTIS, C.R. Action spectrum of the phototoinduced sexual stage in the fungus *Nectria haematococca* Berk. and Br. var. *cucurbitae* (Snyder & Hansen) Dingley. *Plant Physiol.* 49 (2): 235-239. 1971.
7. EL-ANI, A. S. Ascus development and nuclear behavior in *Hypomyces solani* f. *cucurbitae*. *Amer J. Botany* 43 (10): 769-777. 1956.
8. GEORGOPOULOS, S.G. Genetic markers and linkage relationships from tetrad data in *Hypomyces solani* f. *cucurbitae*. *Can. J. Botany* 41 (5): 649-659. 1963.
9. GEORGOPOULOS, S. G. Pathogenicity of chlorinated-nitrobenzene tolerant strains of *Hypomyces solani* f. *cucurbitae* race 1. *Phytopathology* 53(9):1081-1085. 1963.
10. GEORGOPOULOS, S.G. Tolerance to chlorinated nitrobenzenes in *Hypomyces solani* f. *cucurbitae* and its mode of inheritance. *Phytopathology* 53 (9):1086-1093. 1963.
11. HANSEN, H.N. & SNYDER, W.C. The dual phenomenon and sex in *Hypomyces solani* f. *cucurbitae*. *Amer. J. Botany* 30 (6): 419-422. 1943.

12. HANSEN, H.N. & SNYDER, W.C. Inheritance of the sexes and compatibilities in fungi. *Phytopathology* 42 (8): 479-480. 1952.
13. HIX, S.M. & BAKER, R. Physiology of sexual reproduction in *Hypomyces solani* f. *cucurbitae*. I. Influence of carbon and nitrogen. *Phytopathology* 54(5): 584-586. 1964.
14. MATUO, T. & SNYDER, W. C. Host virulence and the *Hypomyces* stage of *Fusarium solani* f. sp. *pisi*. *Phytopathology* 62 (7): 731-735. 1972.
15. MATUO, T. & SNYDER, W.C. Use of morphology and mating populations in the identification of formae especiales in *Fusarium solani*. *Phytopathology* 63(5): 562-565. 1973.
16. SCHIPPERS, B. & SNYDER, W.C. Mating type and sex of *Fusarium solani* f. *cucurbitae* race 1 in the Netherlands. *Phytopathology* 57(3): 328. 1967.
17. SNYDER, W.C. & HANSEN, H. N. The species concept in *Fusarium*. *Amer. J. Botany* 27(2): 64-67. 1940.
18. TOUSSOUN, T.A. & SNYDER, W.C. The pathogenicity, distribution and control of two races of *Fusarium* (*Hypomyces*) *solani* f. *cucurbitae*. *Phytopathology* 51(1): 17-22. 1961.
19. TOUSSOUN, T.A. & WEINHOLD, A. R. Light requirement and light inhibition of sexual reproduction in *Fusarium* (*Hypomyces*) *solani* f. sp. *cucurbitae*, race 2. *Can. J. Botany* 45(6): 951-954. 1967.