**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA, FISIOLÓGICA E
PATOGENICA DE ISOLADOS DE *Colletotrichum gloeosporioides*
sensu ARX (1957), CAUSADORES DE
PRODRIDÕES DE FRUTOS.**

BLANCALUZ [PINILLA CARVAJAL

Orientador: Prof. Dr. HIROSHI KIMATI

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Agronomia - Área de Concentração: Fitopatologia.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Junho - 1987

P654c Pinilla Carvajal, Blancaluz
Caracterização morfológica, fisiológica e
patogênica de isolados de Colletotrichum glo-
eosporioides sensu ARX (1957) causadores de
podridões de frutos / Blancaluz Pinilla Car-
vajal. Piracicaba, 1987.
108p.

Tese (Me) Escola Superior de Agricultura
Luiz de Queiroz.

1. Fungos - Fitopatologia - Fruticultura.
2. Colletotrichum gloeosporioides - Mico-
logia - Fruticultura. I. Título.

CDU 632.4:634.1/.8

CDD 632.4

Índices para catálogo sistemático:

1. Fungos : Fitopatologia : Fruticultura 632.4:634.1/.8
2. Colletotrichum gloeosporioides : Micologia : Fruti-
cultura 632.4:634.1/.8
3. Fruticultura : Fungos : Fitopatologia 634.1/1.8:632.4

A

Juan Patricio, meu esposo
e à Pamela e Andrés, meus
filhos, por sua infinita
paciência, colaboração,
estímulo e carinho.

Dedico.

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA, FISIOLÓGICA E PATOGENICA DDE
ISOLADOS DE *Colletotrichum gloeosporioides* sensu ARX(1957),
CAUSADORES DE PODRIDOES DE FRUTOS.

BLANCALUZ PINILLA CARVAJAL

Aprovada em : 03.09.1987

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. Hiroshi Kimati

ESALQ/USP

Prof. Dr. Celio Soares Moreira

ESALQ/USP

Prof. Dr. José Otávio Machado Menten

ESALQ/USP

Prof. Dr. Hiroshi Kimati
Orientador

AGRADECIMENTOS

A autora expressa seus agradecimentos:

Ao Prof. Dr. HIROSHI KIMATI pela sua orientação constante, estímulo, apoio e amizade.

Ao Departamento de Fitopatologia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", que possibilitou a participação no Curso de Pós-Graduação e a realização do presente trabalho.

Ao Departamento de Agronomia da Universidade Estadual de Londrina por ter-me concedido licença para realizar este curso.

Ao Prof. NEWTON DE CASTRO FEGIES do Departamento de Agronomia da UEL, por ter assumido minha carga horária durante o período de duração do Curso, pelas suas sugestões e correção dos originais.

Aos Profs. do Departamento de Fitopatologia da ESALQ., por seus ensinamentos e colaboração para a realização deste estudo.

Aos funcionários do Departamento de Fitopatologia da ESALQ., em especial aos Srs. PEDRO DA SILVA e RODOLFO GROPPPO, pelos valiosos auxílios prestados na instalação dos experimentos.

A Dr^a. ROSA MARIA VALDEBENITO SANHUEZA pela sua generosa amizade, decisivo apoio e acertadas sugestões.

Ao Engº Agrº ANTONIO CARLOS MARINGONI, pelo seu interesse, amizade e colaboração permanentes durante o Curso e execução deste trabalho.

Ao Engº Agrº MARIA DE FÁTIMA GUIMARÃES do Departamento de Agronomia da UEL pela amizade, colabora
ção e estímulo.

Ao Prof. CÉLIO MOREIRA, pela colaboração e por ter-me facilitado a obtenção de materiais usados nos testes de patogenicidade.

Ao Engº Agrº JORGE RESENDE do Instituto Agro
nômico de Campinas por ter-me facilitado materiais utili
zados nos experimentos.

Ao Engº Agrº SEIJI IGARASHI do Instituto A
gronômico do Paraná, pelo material cedido e pelas suges
tões e estímulo.

Ao Engº Agrº MARTIN HOMECHIN por suas suges
tões e amizade.

A todos os que direta ou indiretamente cola
boraram para a realização deste trabalho.

ÍNDICE

	Página
RESUMO.....	vii
SUMMARY.....	ix
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	5
2.1. Caracterização morfológica, fisiológica e pa togênica.....	5
2.2. Antracnoses e podridões de frutos.....	28
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	37
3.1. Local e época do estudo.....	37
3.2. Isolados utilizados.....	37
3.3. Técnica de isolamento.....	38
3.4. Caracterização morfológica dos conídios.....	38
3.5. Morfologia dos apressórios.....	40
3.6. Determinação do número de núcleos.....	41
3.7. Avaliação do crescimento micelial em meio m _i nimo e meio completo.....	42
3.8. Comportamento "in vitro" de isolados de <u>Co</u> lletotrichum spp., de diferentes hospedeiros sensíveis ou não ao Benomyl.....	43
3.9. Avaliação da sensibilidade "in vitro" de <u>Co</u> lletotrichum spp., provenientes de manga ao Benomyl.....	44
3.10. Caracterização patogênica de diferentes iso lados de Colletotrichum spp.....	46
3.10.1. Patogenicidade em discos de folhas..	47
3.10.2. Patogenicidade em frutos.....	48
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	52
4.1. Caracterização morfológica dos conídios.....	52

	Página
4.2. Morfologia dos apressórios.....	57
4.3. Determinação do número de núcleos.....	61
4.4. Avaliação do crescimento micelial em meio mínimo e meio completo.....	62
4.5. Comportamento "in vitro" de isolados de <i>Colletotrichum</i> spp., de diferentes hospedeiros sensíveis ou não ao Benomyl.....	68
4.6. Avaliação da sensibilidade "in vitro" de isolados de <i>Colletotrichum</i> spp., provenientes de manga ao Benomyl.....	73
4.7. Caracterização patogênica de diferentes isolados de <i>Colletotrichum</i> spp.....	76
4.7.1. Patogenicidade em discos de folhas....	76
4.7.2. Patogenicidade em frutos.....	81
5. CONCLUSOES.....	89
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	91
APÊNDICE.....	105

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA, FISIOLÓGICA E PATOGENICA DE
ISOLADOS DE *Colletotrichum gloeosporioides* sensu ARX (1957),
CAUSADORES DE PODRIDOES DE FRUTOS.

Blancaluz Pinilla Carvajal

Orientador: Prof. Dr. Hiroshi Kimati

RESUMO

Foram estudadas as características morfológicas, fisiológicas e patogênicas de frutos de abacate, banana, mamão, manga e morango.

Com base nas dimensões apresentadas pelos confídios, pode-se estabelecer que apesar das variações exibidas pelo diferentes isolados do fungo, o comprimento e a largura dos mesmos esteve dentro dos limites fixados por ARX (1957), para a espécie *Colletotrichum gloeosporioides*.

Quanto aos apressórios, estes também apresentaram variações de tamanho e formato, sendo que isolados de abacate, banana, mamão e manga tiveram apressórios de formatos diferentes dos de morango os que foram notadamente esféricos.

Quanto às características fisiológicas , todos os isolados do fungo demonstraram ser auxoautotróficos. Por outro lado, isolados provenientes de frutos de morango e manga foram os únicos insensíveis in vitro a concentrações de 100ppm de Benomyl.

Através dos testes de patogenicidade realizados tanto em discos de folhas, como em frutos verdes, ficou comprovado que nas inoculações cruzadas todos os isolados testados foram mais patogênicos, quando inoculados em seus hospedeiros congêniais.

MORPHOLOGICAL, PHYSIOLOGICAL AND PATHOGENIC CHARACTERIZATION
OF *Colletotrichum gloeosporioides* sensu ARX (1957), ISOLATES
WHICH CAUSES FRUIT ROT.

Author: Blancaluz Pinilla Carvajal

Adviser: Prof. Dr. Hiroshi Kimati

SUMMARY

Morphological, physiological and pathogenic characteristics of fifteen isolates of *Colletotrichum* from fruits of avocado, banana, papaya, mango and strawberry were studied.

Based on the dimensions presented by the conidia it was possible to establish that in spite of the variations exhibit by the different isolates of fungi, the length and width were within the limits fixed by ARX (1957) for *Colletotrichum gloeosporioides* species.

As to the appressoria, these also presented variations of size and shape, being the avocado, banana, papaya and mango different in shape in relation to strawberry isolates which had notoriously spherical shape.

Practically all conidia of the different isolates of *Colletotrichum* spp. observed had one nucleus.

Concerning the physiological characteristics , all the isolates demonstrated to be auxoautotrophics. On the other hand, isolates from mango and strawberry fruits, were the only insensible ones *in vitro* at concentrations of 100 ppm of Benomyl.

Through the pathogenicity tests done in disk of leaves and also in green fruits, it was proved that in the cross inoculations, all isolates tested were more pathogenic when inoculated in their congenial hosts.

1. INTRODUÇÃO

As espécies do gênero *Colletotrichum* representam a forma conidial do gênero *Glomerella* que por sua vez corresponde a forma ascógena do fungo.

O gênero *Glomerella* (SCRENK & SPAULDING, 1903), possui ampla importância econômica e científica. Poucas são as plantas que estão livres do ataque de fungos desse gênero e sabe-se que existem espécies que podem atacar grande número de hospedeiros distintos. Causam as doenças conhecidas como "antracnoses" entre as quais a "antracnose" do feijoeiro é o exemplo clássico. Possuem uma distribuição cosmopolita, embora sejam mais abundantes em regiões de clima tropical e subtropical.

Atualmente sabe-se que nem todas as espécies dos gêneros *Gloeosporium* e *Colletotrichum* são estágios conidiais de *Glomerella*.

O trabalho de revisão taxonômico do gênero

Colletotrichum realizados por ARX (1957), baseado predominantemente em análises comparativas de características morfológicas, reformulou os conceitos aplicados para a classificação destes fungos, reduzindo-os para somente 11 espécies básicas e algumas formas especializadas dentro do gênero. Suprimiu também o gênero *Gloeosporium*, já que segundo esse autor, a única diferença entre os dois gêneros, estava na presença de setas nos acérvulos de *Colletotrichum*, estando as mesmas ausentes nos de *Gloeosporium*.

Frutos de numerosas espécies de plantas podem ser atacados por espécies do gênero *Colletotrichum* causando "antracnoses" que podem afetar quantitativa e qualitativamente a produção de frutos. A infecção dá-se em alguns casos através de ferimentos, em outros casos o fungo penetra diretamente a cutícula e a parede externa da epiderme. Quando os frutos estão verdes causam uma podridão pequena, imersa, apresentando nesta fase pouca capacidade de expansão, podendo ficar nessas condições algumas semanas até que os frutos amadureçam, ocasionando então uma completa podridão ou mumificação, tornando-os impréstáveis para o consumo, ou diminuindo, sensivelmente seu valor comercial.

Numerosos trabalhos desenvolvidos tanto no exterior como no Brasil assinalam que as antracnoses do abacateiro, bananeira, mamoeiro, mangueira e morangueiro, constituem problemas importantes a essas culturas nas prin

cipais regiões produtoras desses frutos (MARTINEZ et alii, 1962; FIGUEIREDO, 1962; HOWARD, 1972; MARTINEZ, 1974; BOLKAN, 1976; SAMPAIO, 1977; BALMER, 1980; KIMATI & GALLI , 1980; SPAULDING, 1982; COUEY & ALVAREZ, 1984; CHALFOUN, 1985).

A classificação das espécies, dando ênfase exclusivamente à características morfológicas agrupando - as de forma muito ampla foi contestado por vários pesquisadores. Sugeriam eles o uso de outras características como as dos apressórios, na identificação de espécies do gênero *Colletotrichum*. A utilização somente de características morfológicas pode não ser eficiente, pois não indica a especificidade de hospedeiros, fenômeno muito frequente entre os fungos, particularmente os mais evoluídos. Neste sentido as características fisiológicas, como patogenicidade a determinados hospedeiros, devem ser denominadas de formas especializadas, ou seja um taxon inferior a espécie.

Além das características morfológicas e de patogenicidade, outro modo de diferenciar microrganismos é através da avaliação do crescimento micelial *in vitro* em meios de cultura de diferente composição, para separar espécies auxoautotróficas de espécies auxoheterotróficas.

No Brasil, os tratamentos com fungicidas são pouco utilizados nas culturas de abacateiro, bananeira, mamoeiro e manguueira a não ser quando a produção é destinada a exportação. Na cultura do morangueiro a situação é diferente, e repetidas aplicações com fungicidas durante a temporada de cultivo

são feitas, tanto para o controle da antracnose como de outras doenças foliares. Entretanto, vem-se observando pouca eficiência neste tipo de controle quando se utiliza o fungicida Benomyl, seja pela insensibilidade do patógeno a este fungicida ou por outros fatores que favorecem o desenvolvimento da doença.

Assim sendo, os objetivos deste estudo são estabelecer se existem diferenças morfológicas, fisiológicas e patogênicas entre os isolados de *Colletorichum gloeosporioides* obtidos de frutos de abacate, banana, mamão, manga e morango. Através da mensuração do tamanho dos conídios, apressórios, número de núcleos, crescimento micelial *in vitro*, sensibilidade a fungicidas e patogenicidade em testes de inoculação cruzada, procurou-se encontrar essas diferenças. Estudou-se ainda, se as diferenças eram suficientes para determinar se os isolados testados pertencem a espécie *Colletorichum gloeosporioides*, ou são formas especializadas dentro do gênero *Colletorichum*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Caracterização morfológica, fisiológica e patogênica

O gênero *Colletotrichum* foi descrito por Corda em 1831 como tendo conídios unicelulares, hialinos, ovóides a ablongos, produzidos em acérvulos providos de setas. Em 1849, outro gênero muito próximo, *Gloeosporium*, com conídios similares em acérvulos desprovidos de setas foi descrito por DESMAZIERES & MONTAIGNE (1849).

No entanto SHEAR & WOOD (1907) demonstraram comparando culturas de *Gloeosporium musarum* Cooke & Massee, *Colletotrichum lagenarium* (Pass) Ellis & Halst e *C. atramentarium* (Berk & Br) Taub, que eles eram indistinguíveis morfológicamente e que as setas podiam formar-se em alguns acérvulos e estar ausentes em outros, no mesmo isolado, assim eles concluíram que os dois gêneros eram idênticos e que exibiam características similares. Essas obser

vações foram corroboradas posteriormente por trabalhos desenvolvidos por ARX (1957), e FROST (1964).

TIFFANY & GILMAN (1954), estudando espécies *Colletotrichum* que atacavam leguminosas, sugeriram a identificação de espécies, baseando-se na forma dos conídios, dividindo as espécies em dois grupos: um com conídios retos e outro com conídios curvos. PRASAD et alii (1967), adotando o critério de TIFFANY & GILMAN (1954), dividiram todas as espécies do gênero em duas espécies básicas: *Colletotrichum gloeosporioides* e *C. dematium*. O primeiro inclui espécies que possuem conídios retos e o segundo que tem conídios curvos; a classificação posterior dessas espécies em formas specialis deveria ser feita de acordo com o parasitismo seletivo no hospedeiro como por exemplo *C. dematium* sp. *cyamopsicola* e *C. gloeosporioides* sp. *diascorea* atacando *Cyamopsis tetragonolaba* (L) Taub e *Diascorea alata* L respectivamente.

Segundo JOHNSON (1968), a morfologia tem sido o principal critério de classificação e somente estes caracteres devem ser usados para delimitar espécies e taxa superiores; a identificação deve ser possível independentemente do substrato. Além disso SNYDER & TOUSSON (1965) afirmam que, quando é necessário o emprego de métodos biológicos, como testes de patogenicidade num processo de identificação de fungos, alguma coisa está errada com o sistema. Ainda conforme estes autores, os caracte

res usados para especiação devem ser adequados, permitindo variações dentro dos limites morfológicos (apresentam menor plasticidade que os fisiológicos) bem definidos.

Para fungos parasitas de plantas fazia-se antigamente uma melhor especiação. Consequentemente, cada fungo que se encontrava parasitando uma determinada planta era tido como uma espécie e, como tal, geralmente, denominado seguindo a planta hospedeira. Mas descobriu-se que muitos fungos não eram específicos e sim, na maioria dos casos, polípagos e com certa facilidade podiam ir de uma planta hospedeira para outra. Isto foi muitas vezes provado com exatidão, através de experiências de inoculações cruzadas (ARX,1957).

Como exemplo de parasitas biotróficos pode ser dado *Erysiphe polyphaga* Hammarl. Para esta espécie Hammarlund citado por ARX (1957) deu como plantas hospedeiras, 88 espécies de 33 gêneros, pertencentes a 23 famílias: Este espectro de hospedeiros foi aumentado, em algumas espécies, por Blumer também citado por ARX (1957) através de bem sucedidos experimentos de infecção.

Depois dessas experiências deixou-se de caracterizar os fungos segundo as plantas hospedeiras e o crescimento no substrato e sim quanto aos caracteres morfológicos. Para isto mostrou-se um meio de ajuda indispensável a cultura pura, principalmente para parasitas necrotróficos.

As formas conidiais dos representantes do gênero *Glomerella* Spauld & V. Schrenk são em geral denominados *Colletotrichum* ou *Gloeosporium* Desm & Mont. As numerosas espécies desses gêneros vivem, em sua grande maioria como parasitas em Fanerógamas, provocando manchas foliares, antracnoses, podridões de frutos e doenças vasculares (ARX, 1957). Trabalhos realizados por esse mesmo autor utilizando análises comparativas, como também experiências em culturas puras e de inoculação provaram que esses dois gêneros, com base nessas características, não podiam ser separados. As espécies podiam ser determinadas por características morfológicas; assim pode-se esclarecer quão fortemente as espécies eram especializadas, como parasitas sobre certas plantas hospedeiras suscetíveis.

Comparando-se as várias espécies chega-se à conclusão que muitos fungos com conídios, fazendo parte até agora dos gêneros *Colletotrichum*, *Vermicularia* e *Gloeosporium*, devem pertencer ao mesmo gênero. Por outro lado, sobretudo o gênero *Gloeosporium*, mostrou-se muito heterogêneo, isto com vista à sistemática, seus muitos representantes pertencem aos mais diferentes gêneros, muitos deles a *Colletotrichum* (ARX, 1957).

O gênero *Colletotrichum* e sua divisão em espécies, baseada nas características morfológicas da fase conidial, foi discutida por ARX (1957) que, para o gênero

definiu as seguintes características: acérvulos formados na epiderme do tecido hospedeiro e, menos frequentemente sob a epiderme. O micélio forte e septado que cresce nas células epidermais de células mais profundas condensa-se em certos locais e as hifas orientam-se no sentido perpendicular à superfície do substrato, fazendo pressão sobre a parede externa da epiderme e cutícula de modo que esta se abre em lobos ou fendas. Os acérvulos podem, dentro de uma mesma espécie e frequentemente sobre a mesma planta, variar muito em forma e tamanho. São rasos com formato de crosta, lentilha ou pústula e alcançam um diâmetro de 40 micra até 1mm. A camada basal possui muitas vezes um estroma composto, as vezes raso e fino. Muitas vezes os acérvulos estão cobertos com grande número de setas rejuvenecidas, marrons, ponteagudas para cima, emergindo da parte basal. As células da camada basal se transformam em conidióforos com formato de bastão, geralmente com 1 a 2 septos. Os conídios surgem acrogenamente e se soltam com facilidade. Tem tamanho médio até grande variando de 10 a 40 micra de comprimento por 3 a 8 micra de espessura, são elípticos, cilíndricos, fusiformes e, ainda, recurvados com formato de foice, unicelulares, hialinos. Embora quando existe alta umidade, o grande número de conídios formam gotículas mucilaginosas de cor vermelho tijolo, laranja, marrom ou esbranquiçadas. Os conídios são disseminados pela água, sobretudo por pingos de chuva. Na água

ocorre a germinação formando os tubos germinativos, posteriormente são formados os apressórios ; estes podem-se formar diretamente dos conídios ou com mais frequência eles se formam nos tubos germinativos. A partir dos apressórios nascem hifas de infecção que perfuram a cutícula , iniciando-se o processo de colonização.

Ainda ARX (1957) classifica a espécie *Colletotrichum gloeosporioides* como possuindo conídios com 12 a 19 micra de comprimento por 1 a 6 micra de espessura e massa conidial avermelhada.

A descrição original de *Colletotrichum fragarie* de acordo com Brooks, citado por IGARASHI (1984), é a seguinte: acérvulos globosos elevados, dispersos e algumas vezes formando abundante quantidade de setas. Conídios fusiformes com extremidades arredondadas medindo de 14 a 21 micra de comprimento por 3.9 a 6.3 micra, de espessura (média de 16.4 x 4.8 micra), e conidióforos hialinos sem septos, medindo 5.0 a 10.0 micra de comprimento por 3.0 a 5.0 micra de espessura (média de 7.0 x 3.5 micra). Segundo IGARASHI (1984) além de *C. fragarie* outras espécies do mesmo gênero podem causar doenças em morangueiro, a saber: *C. acutatum* e *C. dematium* ambos atacando os frutos quando inoculados. *C. dematium* mostrou ser menos patogênico nos frutos que *C. fragarie*. Os conídios de *C. acutatum* são de menor tamanho com uma de suas extremidades aguçada e *C. dematium* apresenta conídios com

formato acanoado. ARX(1957) colocou *C. fragarie* dentro da espécie *C. gloeosporioides*. Por outro lado designou o agente causal da antracnose da bananeira como *C. musae* achando-o especializado sobre esse hospedeiro. Estudos realizados por SHEAR & WOOD (1913) mostram que os conídios de *C. musae* medem de 9.0 a 28.0 micra de comprimento por 4.5 a 6.5 micra de espessura. Já ARX (1957) assinala para esta forma acérvulos pequenos e pelado e diz que é conhecida na literatura sob o nome de *Gloeosporium musarum*. Da forma conidial de *Glomerella cingulata*, ela só deixa diferenciar pelo crescimento mais rápido do micélio em cultura pura. Em ágar -cereja o crescimento diário a 24°C foi de 8 a 10mm enquanto que para *Glomerella cingulata* foi de 5 a 7mm, conídios de *Colletotrichum musae* medem em média de 11 a 18 por 4.5 a 6.5 micra. No entanto como já advertia SIMMONDS (1965) se bem que o trabalho de ARX (1957) tenha efetuado uma simplificação útil reduzindo grandemente o número de espécies, é inevitável que dentro dos sinónimos listados hajam espécies ou grupos de espécies que, em novas investigações possam ser separados em formas especializadas ou ainda em espécies diferentes.

Apressórios foram descritos pela primeira vez para *Fusicladium temulae* Frank e *Gloeosporium lindemuthianum* Sacc e Magn. em 1883 por Frank citado por SUTTON (1968). Posteriormente Halsted em 1893, também citado por SUTTON (1968), encontrou que isolados de *Colletotrichum* e *Gloeos*

porium de 24 hospedeiros diferentes produziram apressórios.

Estas células especializadas, formadas antes da penetração nos tecidos das plantas hospedeiras aparecem frequentemente em espécies **Colletotrichum** e muitos outros fungos.

HASSELBRING (1906) realizou o primeiro estudo aprofundado da formação de apressórios e SIMMONDS (1941) na sua discussão sobre a infecção de frutos tropicais por **Colletotrichum** estudou a sua formação e seu relevante papel na infecção latente. As características morfológicas e a fisiologia de sua formação especialmente as influenciadas por estímulos nutricionais ou de contato tem sido reportadas por vários pesquisadores citados por SKOROPAD (1967).

Apesar que os apressórios tem sido considerados diagnósticos de **Colletotrichum**, seu valor na identificação de espécies não tem sido suficientemente apreciada. DUKE (1928) em um trabalho abrangendo muitas espécies, se refere especificamente aos apressórios de **C. trichellum** (Fr ex FR) Duke como possuindo paredes espessadas de cor parda e de formato variado. ARX (1957) utilizou a morfologias dos apressórios formados a partir de conídios de **C. crassipes** (Speg) Arx para separar esta espécie de outra com esporos retos que estava estudando.

Apressórios de **C. gloeosporioides**, **C. fuscum** Laub., e **C. spinaciae** Ell & Halst resultaram serem idênticos morfologicamente, somente apresentaram algumas diferenças em tamanho (SUTTON, 1968).

Por outro lado SUTTON (1962) sugeriu a possibilidade que os caracteres dos apressórios poderiam ser utilizados mais extensivamente na identificação de espécies de *Colletotrichum* e demonstrou que *C. trichellum* considerado por ARX (1957) como sinônimo de *C. dematium* (Pers ex Fr) Grove pode prontamente ser distinguido dessa espécie através de diferenças quantitativas dos apressórios.

Diferenças de forma, tamanho e cor entre apressórios formados por isolados de *Colletotrichum* obtidos de sorgo, cana de açúcar e milho foram descritas por SUTTON (1918). Essas observações foram corroboradas por trabalhos realizados por MINUSSI (1977), evidenciando que existem diferenças entre os apressórios dos isolados de *Colletotrichum* da cana de açúcar, milho e sorgo e adicionalmente trigo. Porém KIMATI (1975) equipara as diferenças morfológicas dos apressórios ao nível das serológicas e auxanográficas por ele encontradas, admitindo essas características como distintivas, mas suplementares de *formae specialis* e não de espécies.

Os apressórios de *C. graminicola* são binucleados em contraste com a condição uninucleada dos conídios. Certas características dos apressórios como sua aparência de esporos, sua parede espessa e sua habilidade de permanecer latentes, estão associadas com sua capacidade de sobrevivência e habilidade de resistir a condições adversas (SKOROPAD, 1967). CLINTON (1902) & BIRAGHI (1934) estabeleceram que os apressórios de *C. graminicola* são análogos a clamidosporos. Estes apressórios produzem somente hifas de penetração e não tubos germinativos e são formados numa ampla faixa de temperatura que varia de 15 - 35°C. Apesar que os apressórios são

formados a temperaturas de 15-20°C eles penetram nas fo_lhas somente quando as temperaturas atingem de 25-30°C . Esta característica de penetrar a temperaturas mais eleva_das pode explicar porque a antracnose está associada com a maturidade do hospedeiro (SKOROPAD, 1967).

Conforme LAPP & SKOROPAD (1978), a formação de apressórios é uma das etapas cruciais no processo de pe_netração da planta hospedeira por muitos fungos patógenos e frequentemente ocorre em um local específico da superfí_cie da planta. O contato com uma superfície dura é neces_sária antes que ocorra a formação do apressório . Em *C. gloeosporioides*, tubos de germinação somente formaram apres_sórios quando entraram em contato com uma superfície sufi_cientemente dura (DEY, 1933). A falta de uma superfície de contato conduz a formação de apressórios anormais. O estí_mulo de contato para a formação de apressórios de_e acordo com LAPP & SKOROPAD (1978) tem sido assinalada também pa_ra *C. atramentarium* (Berck e Br) Taubenh e *C. dematium* (pers ex Fr) Grove, *C. trichellum* (Fr ex FR) Duke, *C. truncatum* (Schw) Andrus e Moore. Assim, geralmente, a locali_zação controlada da formação do apressório tem sido atri_buída ao efeito do estímulo de contato no ápice do tubo de germinação.

MANANDHAR *et alii* (1985) estudando as for_mas de penetração e infecção de folhas de soja por *Colletotricum truncatum* observaram que durante a germinação dos

conídios são formados tubos de germinação em ambos extremos do conídio e posteriormente aparecem apressórios com formatos que variam de globoso a esférico ou clavados. Os conídios quando germinam produzem uma substância mucilaginosa que se torna mais conspícua após a emergência do tubo de germinação. Essas massas mucilaginosas estão associadas com as regiões de contato entre os apressórios e a cutícula. Os tubos de germinação raramente formam mais que um apressório e aqueles que não formam apressórios parecem penetrar diretamente na cutícula. Os apressórios geralmente estão delimitados por um septo, mas em alguns casos essa estrutura não é formada. A penetração das células das folhas pela formação de apressórios e hifas de infecção é a forma mais comum de entrada. Observações similares foram feitas para *C. gloeosporioides* em mamão por CHAU & ALVAREZ, (1983) e em citrus por BROWN (1975).

Experiências efetuadas por LAPP & SKOROPAD (1978) determinam que os apressórios encontram-se firmemente aderidos a seu substrato. Os apressórios de *Gloeosporium fructigenum* Berk e *Colletotrichum graminicola* (ces) Wils não puderam ser lavados com um jato de água de lâminas de vidro onde foram formados. SKOROPAD (1967) também reportou que os apressórios de *C. graminicola* não puderam ser removidos das folhas através de tratamentos com álcool absoluto, ácido acético glacial ou lactofenol fervente. No entanto BROWN (1975) conseguiu remover apressórios de

C. gloeosporioides de lâminas de vidro, esfregando-os com um detergente. MARKS *et alii* (1965) encontraram uma camada mucilagínosa sendo o material adesivo produzido por *C. gloeosporioides*. Esta camada mucilagínosa também tem sido encontrada em outros grupos. Como apontam LAPP & SKORPAD (1978) a hemicelulose é considerada o cimento universal do reino vegetal, portanto é razoável sugerir que mucilago seja constituído por hemicelulose.

SWINBURNE (1976) trabalhando com *C. musae* estabeleceu que o desenvolvimento de fungos patogênicos na superfície de seus hospedeiros era influenciada por muitos fatores. Um desses fatores era o papel exercido por substâncias químicas normalmente exudadas ou lixiviadas pelas plantas. Tais substâncias podem afetar três fases diferentes do desenvolvimento do fungo: a germinação dos esporos, o crescimento do tubo de germinação e a formação de apressórios. Diversos pesquisadores, citados por SWINBURNE (1976) afirmam que o ambiente químico que permite a germinação dos conídios pode não permitir a formação de apressórios. Opiniões de EMMETT & PARBERY (1975) estabelecem que os nutrientes que estimulam o crescimento micelial podem impedir a formação de apressórios, o que tem levado a vários pesquisadores a postular que a carência de nutrientes inicia a formação de apressórios. Por outro lado outros pesquisadores como PREECE & DICKSON (1971) concluem que a formação de apressórios é quimicamente dependente e com

demandas mais específicas que a germinação.

A diferença observada no crescimento micelial de isolados de *Colletotrichum* em meios de cultura de diferente composição pode ter significado taxonômico, como demonstrado por CARVALHO (1966) trabalhando com isolados de *C. falcatum*.

Segundo KIMATI (1975) uma outra característica taxonômica consiste na caracterização auxanográfica mediante a qual podem ser diferenciadas espécies de *Colletotrichum* completamente deficientes em biotina, por exemplo e da mesma forma determinar espécies auxoautotróficas e auxoheterotróficas.

Estudos de QUIMIO (1976) revelam que 2 isolados de *C. gloeosporioides* provenientes de mangas, crescem, esporulam e germinam a temperaturas entre 15 e 35°C, sendo as temperaturas ótimas de 25 a 30°C. A luz foi considerada não necessária apesar que favorece a esporulação. O crescimento micelial e a esporulação ocorrem em uma ampla faixa de pH sendo o pH ótimo de 6. A germinação é melhor em meios mais ácidos. Dos seis meios testados os que melhor favoreceram a esporulação foram os meios Czapek e o de extrato de levedura mais ágar. Meios feitos com extratos de frutos de manga também foram favoráveis à germinação. Por outro lado resultados obtidos por GORDILLO & LOPEZ (1980) concordam que aqueles resultados de QUIMIO (1975) em relação ao crescimento e esporulação de *C. glo*

eosporioides (manga dextrose ágar a 28°C e com pH do meio igual a 6). Peritécios e ascóporos foram formados melhor a 22°C e pH de 6.6. o estado perfeito se encontra normalmente em folhas de mangas onde o fungo sobrevive durante o inverno.

Já TENCKHOFF (1982) salienta que os dois mais importantes agentes patogênicos do cafeeiro, em Cuba, são *C.gloeosporioides* e *Cercospora coffeicola*. O crescimento micelial de *C. gloeosporioides* foi máximo a temperatura de 24-27°C e paralizado a temperaturas superiores que 36°C. A luz aumentou o crescimento do fungo.

Segundo SHARVELLE* (1975) os meios convencionais como BDA e feijão-ágar e milho-carne-ágar provocam abundante crescimento micelial mais produzem poucos esporos de *C.graminicola* isolado de sorgo. Meio de aveia e ágar foi o melhor meio para esporulação, sendo que esta foi grandemente aumentada pela superposição de papel de filtro Whatman.

Nas condições brasileira, em especial, no Estado de São Paulo, o Benomyl vem sendo empregado na cultura do morangueiro, desde 1969, no controle da mancha de folhas causada por *Mycosphaerella fragariae* (Tul) Lind. Surpreendentemente, em 1973, já foi observado um controle ineficiente do referido patógeno, em condições de campo (IGARASHI, 1984). Em condições de laboratório, o patógeno não foi inibido até concentrações de 100ppm de Benomyl, (Remiro e Kimati, 1974) citados por IGARASHI, 1984. Considerando que

este produto é altamente específico, e a sua perda de efetividade ocorrer em 2-3 anos após seu uso consecutivo (WIKS, 1974), é possível que também *C. fragarie* mostre resistência a este e outros produtos do mesmo grupo.

LIMA et alii (1975) estudaram a influência de alguns produtos químicos na inibição do crescimento linear e germinação de esporos de *C. gloeosporioides*. Estudos in vitro para verificar a eficiência de certos produtos sobre determinados patógenos, já foram desenvolvidos por vários pesquisadores, todos citados por LIMA (1975) , com resultados satisfatórios. Os resultados obtidos por este pesquisador em relação ao crescimento linear do fungo revelou uma diferença altamente significativa entre os fungicidas testados. Os fungicidas que apresentaram melhor eficiência, na dosagem de 5 ppm foram, Tiofanato metílico, Benomyl e Chlorothalomil, os quais diferiram da testemunha ao nível de 1% de probabilidade. A comparação dos tres fungicidas entre si, revelou superioridade do Benomyl , ao nível de 1% de probabilidade, em relação ao Chlorothalonil. Este mesmo resultado foi obtido na dosagem de 10 ppm. Na dosagem de 100ppm, o fungo mostrou-se sensível a todos os produtos testados.

As diferenças de ação tóxica dos fungicidas nos processos de crescimento linear e germinação de esporos do fungo, uns inibindo o crescimento radial, enquanto que outros a germinação dos esporos foram analisados por

HORSFALL & RICH (1953) e HORSFALL (1958).

SPALDING (1982) trabalhando com controle de doenças de pós-colheita de manga, salienta que as mangas submetidas a temperaturas inferiores a 13°C sofrem injúrias e então baixas temperaturas não podem ser utilizadas para retardar o desenvolvimento de podridão durante o armazenamento e venda. A utilização de Benomyl tem se mostrado bastante eficiente para controle da antracnose. Os tratamentos das plantas no pomar com Benomyl também tem aumentado a eficácia dos tratamentos de pós-colheita com água quente utilizados no controle de podridões de frutos. No entanto SPALDING (1982) assinala que o desenvolvimento de resistência de isolados de *C. gloeosporioides* ao Benomyl tem aumentado notoriamente nos últimos anos. O desenvolvimento de resistência ao Benomyl não tinha sido relatado para *C. gloeosporioides* e sim para outros fungos incluindo *C. musae*. como demonstrado por Griffiee (1973) citado por SPALDING (1982) que explica que o desenvolvimento de resistência ao Benomyl por parte de *C. gloeosporioides* da manga na Flórida deva-se provavelmente ao uso repetido de aplicações foliares desse fungicida para o controle de antracnose nos pomares.

De forma semelhante JACOBS et alii (1973) e SOHI et alii (1973), realizando ensaios para controle da antracnose em frutos de manga armazenadas observaram que tratamentos por imersão em uma suspensão de 500ppm de Be

nomyl em água deram ótimos resultados no controle da doença.

Experimentos efetuados por QUIMIO & QUIMIO (1974), com Benomyl, demonstraram que a dose letal de Benomyl sobre o micélio de *C. gloeosporioides* de manga variou de 275 a 600ppm. Aparentemente houve duas raças que mostraram uma sensibilidade diferente ao fungicida. A raça suscetível foi cerca de duas vezes mais sensível ao Benomyl que a raça resistente. A germinação dos esporos em ambas raças não foi interrompida, apesar que houve demora na germinação de 24 a 48 horas e o crescimento subsequente dos tubos germinativos e hifas foi severamente inibido em forma gradativa em concentrações de 100 a 2.000ppm. A 3.000ppm a germinação dos esporos da raça suscetível foi drasticamente inibida, mas o mesmo não aconteceu com a raça resistente. A inibição do crescimento micelial foi muito mais evidente na raça suscetível. As hifas que se desenvolveram de esporos expostos ao fungicida foram mal formadas. Esses resultados sugerem que o Benomyl tem um efeito fungistático sobre os esporos nas dosagens testadas. Porém as doses letais no micélio indicam que as hifas são mais sensíveis ao Benomyl que os esporos. Isto tem importância visto que Benomyl poderia provavelmente erradicar infecções latentes de *C. gloeosporioides*, as quais se pensa que existem na forma de tubos germinativos inativos presentes na casca dos frutos.

Testes de inoculações cruzadas tem utilida

de em indicar a especificidade de espécies do gênero *Colletotrichum* em relação a seus hospedeiros. Segundo ARX (1957) inúmeras espécies desse gênero não apresentam diferenças em características morfológicas, aceitando-se então uma especialização biológica.

SHEAR & WOOD (1913) examinaram isolamentos *Glomerella cingulata* de muitos substratos, achando que fungos provenientes de diferentes plantas hospedeiras apresentavam a forma conidial e ascógena. Também por meio de experimentos de inoculações cruzadas provaram que *G. cingulata* é uma espécie polífaga, com variações morfológicas. Como exemplo conseguiram podridões de frutos de maçã com isolados do fungo proveniente de *Gossypium*, *Ficus*, *Rubus*, *Vitis* e várias espécies de *Citrus*. Além de *Glomerella cingulata*, para a qual designaram várias plantas hospedeiras, reconheceram como especializadas *G. gossypii* em *Gossypium*, *G. lindemuthianum* Shear (como forma ascóide de *Colletotrichum lindemuthianum*) sobre *Phaseolus vulgaris*, *Gloeosporium lagenarium* (Pass.) Sacc e Roun sobre cucurbitáceas e *G. musarum* Cke e Mass sobre *Musa*. Um isolado de *Gloeosporium* de banana causou infecção quando inoculado em bananas, tomates sadios e em maçãs, pêssegos, pepinos com fermento, provocando resultados duvidosos em feijão. Este isolado formava peritécios e foi identificado como *Glomerella cingulata*. Um outro isolado de *Gloeosporium* de tomate diferenciava-se por ter conídios maiores e pela formação de

peritécios, devido a isto foi descrito como *Glomerella lycopersici*. Com *Colletotrichum lindemuthianum* conseguiu-se uma infecção parcial em tomate, sendo reconhecido como uma espécie própria. Dastur (1920), citado por ARX (1957), examinou espécies de *Colletotrichum* de pimenta, pimentão e mamão, esclarecendo que *C. nigricans* Ellis & Halst era idêntico a *Glomerella piperatum* Ellis e Ev. e juntou -os à *Glomerella*.

Bohni citado por ARX (1957) executou experimentos de infecções cruzadas em frutos mantidos em caixas úmidas, que foram bem sucedidos com tomates, cerejas e maçãs, quando inoculada uma espécie de *Gloeosporium*, isolada de *Phaseolus*.

Alguns experimentos de inoculações cruzadas realizadas para esclarecer a relação entre *Glomerella cingulata* e *Colletotrichum lindemuthianum* demonstraram que *Glomerella cingulata* deve ser observada como espécie básica e *Colletotrichum lindemuthianum* como forma especializada. Muitas das formas especializadas sobre determinadas plantas hospedeiras divergem da espécie básica por certas propriedades de crescimento em meio de cultura pura.

SHEAR & WOOD (1907) alertavam que aspectos como idade das plantas, concentração de inóculo, tempo de exposição em câmara úmida, temperatura de incubação, órgão inoculado e outros fatores devem ser considerados em experimentos de inoculações cruzadas, para não induzir a

conclusões precipitadas. WHEELER (1968) afirma que o espectro de hospedeiros de um fungo particular pode, aparentemente, ser ampliado sob condições experimentais SNYDER & HANSEN (1940) mostraram que testes de patogenicidade são empregados para determinar formas especializadas.

Por outro lado MENTEN (1977) afirma que o agente causal da antracnose das cucurbitáceas, reconhecido como uma forma especializada, mas morfológicamente indistinguível da espécie básica *Colletotrichum gloeosporioides*, deve ter sua nomenclatura alterada para *C. gloeosporioides* f. sp. *cucurbitae* (Berk et Mout). Este mesmo autor salienta ainda que é necessário estender este ponto de vista para as demais formas de *C. gloeosporioides* especializadas sobre determinados grupos hospedeiros, sugerindo que sejam chamadas de *C. gloeosporioides* ff.spp. *phaseoli*, *malvarum*, *musae*, etc., em substituição as espécies *C. lindemuthianum*, *C. malvarum*, *C. musae*, etc., respectivamente. *C. gloeosporioides* incluiria os patógenos polífagos e os saprófitas com características morfológicas coerentes com as delimitações de espécie proposta por ARX (1957).

Estas proposições são corroboradas pela nomenclatura das fases perfeitas das formas especializadas em *Cucurbitaceae* e em *Phaseolus vulgaris*, como *Glomerella cingulata* f.sp., *orbiculare* e *G. cingulata* f. sp *phaseoli* respectivamente, por apresentarem características morfológicas dentro dos limites fixados para a espécie

básica *G. cingulata*.

DASTUR (1934) deu muito ênfase à patogenicidade para diferenciar novas espécies dentro do gênero mas RAMAKRISHNAN (1941,1947) sugeriu que a patogenicidade sozinha não podia ter tanta importância para distinguir espécies, visto que a falta de conhecimento sobre as condições ambientais necessárias para produzir a infecção em experimentos de inoculações cruzadas geralmente levaram a resultados errôneos.

Na Argentina, MITIDIERI (1973) realizou testes de inoculação cruzada com isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* provenientes de tecidos de caules infectados de alfavaca e conseguiu transmitir a doença a frutos de maçã, uva, laranja, tangerina, melão, pimentão e tomate.

Experimentos de inoculações cruzadas efetuados em tomates com diversos isolados de *Colletotrichum* mostraram que *C. gloeosporioides*, *C. dematium* e *Glomerella glycines* foram os mais agressivos. *C. graminicola* e *C. gossypii* não diferiram na sua patogenicidade, *C. dematium* foi mais agressivo que *C. trichellum* e dois isolados de *C. dematium* var. *truncata*, foram pela primeira vez relatados como patógenos na cultura de tomate (BATSON & ROY, 1982).

Trabalhos de QUIMIO & QUIMIO (1975) mostram que todos os isolados de manga foram patogênicos quando

inoculados em frutos de manga e que variaram ligeiramente em relação ao seu grau de patogenicidade. Ensaio de inoculação cruzada demonstram que *C. gloeosporioides* de manga, citrus e mamão causam infecções positivas nos tres tipos de frutos mas com variados graus de patogenicidade. Inoculações cruzadas entre duas espécies de *Colletotri*
chum e uma espécie de *Gloesporium*, no entanto mostraram que cada um deles era restrito a seu próprio hospedeiro exceto para *Glomerella psidii* de goiaba, em este último caso, esse fungo foi capaz de infeccionar manga, banana e goiaba. Esses pesquisadores concluem que possivelmente *C. gloeosporioides* é representado por numerosas raças diferentes com uma gama considerável de patogenicidade relativa. Da mesma forma demonstraram a variabilidade de *C. gloeosporioides* e *C. musae* tanto em meios de cul
tura como em testes de patogenicidade.

Estudos realizados por TAKATSU (1970), mos
tram que linhagens de *C. gloeosporioides* isoladas de ma
mão, abacate e manga para estudos comparativos, são for
mas fisiológicas distintas daquelas que afetam pimentão,
beringela e jiló, não apresentando nenhum indício de pa
togenicidade nestas plantas hospedeiras. Por outro la
do BAJUNGU (1979), conclui que isolados de *C. gloeosporioi*
des de cebola não são capazes de afetar outros hospedei
ros, como por exemplo mangueira.

Conforme JOHNSON (1968) as características

fisiológicas dos organismos tais como patogenicidade e outras devem ser representadas por formas especializadas, já que os organismos parasíticos variam amplamente em suas características patogênicas, embora na classificação a nível de espécies devam prevalecer os critérios morfológicos.

Bruehl e Dickson (1950), citados por TARR (1962), observaram que isolados de *C. graminicola* de cereais e gramíneas foram altamente específicos para seus hospedeiros. MAAS (1985) afirma que variações morfológicas e patológicas ocorrem entre isolados de *G. cingulata*, *C. gloeosporioides*, *C. fragariae*, *C. acutatum* e *C. coccodes*. Isolados de *G. cingulata* e várias espécies de *Colletotrichum* diferiram em patogenicidade e virulência em estolões e frutos de morango e frutos de maçã. Isolados de *C. trifolii* não foram patogênicos a morango e maçã. *C. dematium* não foi patogênico em estolões mas provocou lesões em frutos de morango e maçã. Este resultado difere de um dado anterior que um isolado de *C. dematium* de tomate não produzia lesões em frutos de maçã. *C. coccodes* não é um patógeno do morango na natureza, no entanto seus isolados variaram de moderada a altamente virulentos em estolões e causaram lesões em frutos de morango e maçã. Nos estolões o isolado C-115 de *C. coccodes* provocou sintomas muito semelhantes em aparência e desenvolvimento a aqueles causados por *C. fragariae*. Isolados de *G. cingulata* e

C. gloeosporioides foram altamente virulentos em estolões e frutos de morango e maçã. A esporulação nas lesões de frutos de maçã variaram entre isolados de *C. cin gulata* e *C. gloeosporioides* de rara a abundante. Alguns autores tem tratado *C. fragarie* como uma forma de *C. gloeosporioides* apesar de não querer mudar esse ponto de vista, para MAAS (1985), parece lógico que se o alto grau de virulência for utilizado como critério de classificação, os isolados de *C. fragarie* representariam um grupo distinto.

Evidências mostram que isolados de uva, morango, tomate, "blueberry" e maçã foram aparentemente tão virulentos em morango como os isolados de *C. fragarie*, podendo refletir a existência natural de variabilidade entre isolados de espécies *Colletotrichum* e *Glomerella*. Muitos destes isolados podem ser patogênicos a morango sob condições ambientais favoráveis.

2.2 Antracnoses e podridões de frutos

Frutos de numerosas espécies de plantas podem ser atacados por espécies do gênero *Colletotricum* causando doenças que afetam a quantidade ou a qualidade dos frutos produzidos, ou ambas (COURSEY & BOOTH, 1973).

SAMPAIO (1977) e PRUSKY et alii (1982), indicam que a antracnose do abacateiro causada por *Colleto*

trichum gloesporioides é a podridão mais importante na maioria dos países onde é cultivado. Apesar de que os frutos não apresentam sintomas visíveis no momento da colheita, as podridões rapidamente se desenvolvem durante a maturação e amolecimento dos frutos. O grande número de lesões isoladas que aparecem em frutos sem ferimentos depois da colheita, sugerem a presença de uma infecção lacente em frutas verdes. Estudos anatômicos realizados por esses pesquisadores, revelam que os apressórios permanecem em frutos imaturos e que o desenvolvimento posterior do fungo ocorre somente durante a fase de amolecimento dos mesmos.

A presença de compostos fungitóxicos em frututos verdes e não em frutos maduros, tem sido sugerida como uma possível explicação da infecção latente do fungo (PRUSKY et alii, 1982). A infecção latente em frutos imaturos tem sido demonstrada por outros pesquisadores, assim EDNEY (1958) observou infecção latente na forma de apressórios em maçãs infectadas por *Gloeosporium perennans* e ADAM et alii (1949) comprovaram infecção latente de *Colletotrichum gloesporioides* em laranjas.

CHALFOUN (1985) assinala que a antracnose do abacateiro é uma doença que assume maior severidade apenas no período de pós-colheita. Ferimentos provocados durante a colheita e transporte dos frutos possibilitam a ocorrência de uma podridão escura e mole, devido ao ataque do

fungo, tornando-os totalmente inaproveitáveis.

Em relação à antracnose da bananeira SHILLINGFORD & SINCLAIR (1977) relatam que o fungo *Colletotrichum musae* causa importantes perdas por podridões de frutos durante o transporte, armazenamento e comercialização.

Segundo PEACOCK & MUIRHEAD (1974) as relações patógeno-hospedeiro entre banana e *C. musae* estão intimamente associadas com o processo de amadurecimento. Apesar que as infecções podem-se originar em frutos verdes, as mesmas permanecem latentes até que ocorra a maturação. No entanto se o fruto verde sofre algum ferimento, a infecção recomeça e causa uma lesão escura.

Trabalhos realizados por SIMMONDS (1963) sugerem que *Colletotrichum musae* produz etileno quando começa a crescer em tecidos feridos do fruto, o que poderia apressar o processo de amadurecimento e contribuir assim para seu próprio crescimento e desenvolvimento de lesões.

Descrições feitas por KIMATI & GALLI (1980) apontam o fungo *Colletotrichum musae* como agente etiológico da antracnose e a podridão do pedicelo da banana, sendo ambos problemas importantes devido a frequência com que ocorrem, principalmente nas condições de comércio interno em que poucos cuidados são tomados tendo sob o ponto de vista do manuseio durante o transporte o que facilita a ocorrência de ferimentos, como de controle químico ou ambiental. O fungo *Glomerella cingulata* (*Gloeosporium*

musarum) também causa podridão do engaço da bananeira conforme estudos de CHALFOUN (1980) podendo constituir um problema na comercialização do fruto uma vez que prejudica sua aparência, muito embora em certos casos o fruto não apresente qualquer alteração interna, o manchamento da casca é um ponto de rejeição pelo consumidor.

A antracnose do mamoeiro, segundo CHIACCHIO (1985), é uma doença causada por *C. gloeosporioides*, de ocorrência em todas as regiões produtoras de mamão do mundo. Alta temperatura, umidade e ferimentos de diversas naturezas, favorecem a infecção. Nos frutos verdoengos aparecem diminutas manchas arredondadas e encharcadas que crescem à medida que os frutos amadurecem, provocando o apodrecimento mole na polpa dos frutos maduros, inutilizando-os para o consumo. No centro das lesões há produção de massas róseas ou alaranjadas de conídios do fungo.

Trabalhos realizados por BOLKAN et alii (1976), demonstram que entre os fungos associados com as podridões de pré e pós-colheita de frutos de mamoeiro, no Brasil Central, *C. gloeosporioides* e espécies de *Gloeosporium* além de *Ascochyta caricae*, foram os fungos predominantemente isolados dos frutos em estudo.

BERGAMIN & KIMATI (1980) comentam que a "antracnose" causado por *C. gloeosporioides* é a podridão mais comum em frutos maduros de mamoeiro, podendo causar em certas ocasiões, grandes prejuízos, sendo encontrada

com bastante frequência e de sua incidência resulta automaticamente a eliminação dos frutos afetados, pois provoca uma podridão severa que inutiliza o produto para fins comerciais.

Ensaio feitos por CHAU & ALVARAZ (1983) mostraram que a penetração da cutícula do mamão através de apressórios e hifas de infecção parecia ser a forma de entrada mais comum, apesar que a penetração direta da cutícula por tubos de germinação também ocorreu. A ausência de dano mecânico e a aparição de áreas mais densas na parede celular perto da hifa de infecção no local de penetração, sugeriu que as células da epiderme do mamão poderiam ter sido enzimaticamente dissolvidas pelo fungo. MC KEEN *et alii* (1969) & STANLEY *et alii* (1969), MAEDA (1970) consideraram que o aumento da densidade da cutícula nos locais de penetração constituíam evidência da degradação enzimática da cutícula durante o processo de penetração. Recentemente DICKMAN *et alii* (1982) purificaram a enzima cutinase de *C. gloeosporioides* e demonstraram que esta enzima estava envolvida na penetração. RAI (1976) já tinha demonstrado o papel das enzimas pécticas produzidas por certos patógenos no processo de infecção. Sintomas de podridão mole, encharcamento e lesões deprimidas resultam da ação de enzimas no tecido do hospedeiro. Estas enzimas trabalham nas fases iniciais do processo parasítico e subsequentemente no estágio saprofítico que se segue, tor

nando o material degradado aproveitável para o patógeno.

Com relação a manga, trabalhos realizados por SPALDING (1982), na Flórida, demonstraram que dentre as doenças de pós-colheita, a antracnose causada por *C. gloeosporioides* era a mais importante. Experiências conduzidas por FITZEL (1979) na Austrália relatam que a antracnose da mangueira é o maior fator limitante da produção de manga nesse país. Isolamentos feitos demonstraram a presença de duas espécies de *Colletotrichum* envolvidas, a saber *C. gloeosporioides* var *minor* Simmonds e *C. acutatum* Simmonds.

No Brasil, estudos de CHALFOUN (1982) comprovam que a antracnose da mangueira é uma das doenças mais importantes causando sérios prejuízos. SAMPAIO & RODRIGUEZ (1985) consideram a antracnose como o fator mais limitante da produção e comercialização, ocorrendo em todos os países onde a mangueira é cultivada. Esta doença de acordo com SIMAO (1960) prejudica a mangueira, reduzindo a polinização, causa o secamento das flores e a queda dos frutos recém formados. Os frutos desenvolvidos exibem manchas escuras na casca e parte da polpa se torna mucilaginosa, imprópria para o consumo. O período de maior incidência ocorre desde o início da floração até o fruto atingir a metade de seu tamanho definitivo. No entanto o fungo pode permanecer latente, podendo manifestar seu ataque durante o armazenamento dos frutos, levando-os ao apo

drecimento.

No caso da antracnose do morango foi HOWARD (1972) o primeiro a relacionar *Colletotrichum fragarie* isolado do rizoma com sintomas de antracnose em fruto em condições de campo. Esse pesquisador encontrou que isolados de *C. fragarie* tanto de lesões do fruto como de estolões podiam causar podridão de fruto e antracnose em estolões e pecíolos.

Mais recentemente HOWARD & ALBREGTS (1983) citam *C. fragarie* como sinônimo de *C. gloeosporioides*, comprovando que esse fungo é agente causal da mancha preta do morangueiro.

Outras espécies de *Colletotrichum* descritas em morango são *C. acutatum* isolado de folhas de morango que resultou ser patogênico em inoculações nos frutos (SIMMONDS, 1965) e *C. dematium* isolado de frutos e que se mostrou pouco patogênico em inoculações nos frutos, quando comparadas com *C. fragarie* (BERANHA & WRIGHT, 1973). Essas duas espécies de *Colletotrichum* são fáceis de serem distinguidas de *C. fragarie* uma vez que a primeira apresenta conídios de menor tamanho com uma de suas extremidades aguçada e, a segunda pelo formato acanoado dos esporos (IGARASHI, 1984).

Em trabalhos de MARTINEZ et alii (1962) realizados no Estado de São Paulo, é descrita pela primeira vez a "Podridão da antracnose do fruto" como sendo causa

da pelo fungo *Gloeosporium fragarie* que provoca lesões de coloração marrom, no início, depois escuras nos frutos em formação e sintomas de antracnose tanto em frutos verdes como maduros.

Ainda, quanto ao morango, CARDOSO (1980) ,, observa que a antracnose além de afetar os estolões e frutos, se manifesta também sob a forma de podridão do rizoma, conhecido como coração vermelho ou chocolate.

GULLINO *et alii* (1985) em levantamentos realizados em plantações comerciais de moranguinho na Itália, relatou a ocorrência de uma podridão de frutos, na forma de lesões circulares de aproximadamente três milímetros de diâmetro que rapidamente aumentam de tamanho e em 3 a 4 dias envolvem todo o fruto. Esses pesquisadores isolaram e identificaram o agente causal como *Colletotrichum gloeosporioides*. Já MENA *et alii* realizaram provas com *C. gloeosporioides* demonstrando que este fungo produz podridões em frutos de morango com sintomas um pouco diferentes a aqueles produzidos por *C. fragarie*.

MILHOLLAND (1982) estudando a resistência de diferentes variedades de morango à infecção por *C. fragarie* determinou que a germinação dos esporos começa 6 horas após a inoculação e a penetração a partir dos apressórios ocorre 12 a 24 horas após. As hifas do fungo crescem intercelularmente, colapsando as células do parenquima e aproximadamente aos 7 dias aparecem necroses extensivas

nos tecidos infectados das variedades suscetíveis. A resistência das plantas de morango à antracnose está mais relacionada com o desenvolvimento do fungo após a infecção que com o estabelecimento da infecção. Todas as plantas inoculadas foram infectadas. O tipo de lesão que se desenvolve após a infecção, mais do que o número de sítios de infecção é significativo para determinar a suscetibilidade ou resistência da variedade.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Local e época do estudo

O presente estudo foi realizado nos laboratórios do Departamento de Fitopatologia da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz", da Universidade de São Paulo, em Piracicaba, durante o ano de 1985 e início de 1986.

3.2 Isolados utilizados

Os isolados utilizados foram obtidos de frutos de abacate, banana, mamão, manga e morango com sintomas típicos de antracnose, procedentes de culturas comerciais. (Quadro 1)

Quadro 1 - Relação dos isolados de *Colletotrichum* spp obtidos a partir de frutos de abacate, banana, mamão, manga e morango.

Isolados	Hospedeiro	Procedência	Local
Aba 1	Abacate	Piracicaba SP	Mercado Municipal
Aba 3	Abacate	Piracicaba SP	Feira Livre
Aba 4	Abacate	Londrina PR	Feira Livre
Ban 1	Banana	Piracicaba SP	Supermercado "Bom Preço"
Ban 2	Banana	Londrina PR	Supermercado "Jumbo"
Ban 5	Banana	Piracicaba SP	Restaurante ESALQ
Mam 3	Mamão	Piracicaba SP	Mercado Municipal
Mam 4	Mamão	Piracicaba SP	Mercado Municipal
Mam 5	Mamão	Piracicaba SP	Supermercado "Jumbo"
Mag 1	Manga	Piracicaba SP	Pomar ESALQ
Mag 2	Manga	Piracicaba SP	Pomar ESALQ
Mag 4	Manga	Piracicaba SP	Mercado Municipal
Mag 5	Manga	Botucatu SP	Mercado Municipal
Mag 6	Manga	Piracicaba SP	Mercado Municipal
Mag 7	Manga	Piracicaba SP	Pomar ESALQ
Mag 8	Manga	Piracicaba SP	Pomar ESALQ
Mag 9	Manga	Londrina PR	Mercado Municipal
Mag 10	Manga	Piracicaba SP	Mercado Municipal
Mag 11	Manga	Piracicaba SP	Pomar ESALQ
Mor 17	Morango	Jundiai SP	Propriedade Agrícola
Mor 23	Morango	Botucatu SP	Propriedade Agrícola
Mor 32	Morango	Piracicaba SP	Propriedade Agrícola

3.3 Técnica de isolamento

Para se obterem culturas puras dos patógenos, fizeram-se isolamentos a partir de esporos presentes nas lesões dos diferentes frutos em condições de umidade elevada. Com auxílio de um escalpelo foram retiradas pequenas secções da margem das lesões, de tal maneira que tiveram tecidos sadios e doentes, colocadas em uma solução de hipoclorito de sódio 0,5%, por 3 minutos e posteriormente lavadas por 2 vezes consecutivas em água destilada e esterelizada, secadas em papel toalha e transferidas a placas de petri contendo BDA (Batata, 200g; dextrose, 20g; ágar, 15g e água, 1000ml) mais sulfato de estreptomicina (240ppm/ml) para evitar contaminações bacterianas. As placas foram incubadas em estufa a 25°C por 4 dias. As culturas puras assim obtidas foram conservadas em tubos de ensaio contendo BDA inclinado à temperatura de 5°C $\pm$ 2°C.

3.4 Caracterização morfológica dos conídios

Nos estudos da morfologia dos conídios de **Colletotrichum** foram utilizados 3 isolados de cada hospedeiro (abacate, mamão, manga e morango), cultivados em meio de farinha de aveia-ágar(farinha de aveia, 60g; ágar, 12g; água 1000ml, (TUIITE, 1969),durante 7 dias, sob luz contínua e tempera

tura de $\pm 27^\circ$ em uma Biotronette Mark III Environmental Chamber. Foi seguido em delineamento experimental inteiramente casualizado com 15 tratamentos e três repetições, utilizando como unidade experimental a lâmina.

Após esse período foram efetuadas as determinações do comprimento e espessura dos conídios através de um Filar Micrometer Eyepiece Bauch e Lomb, previamente calibrado para objetiva de 40x. Os conídios foram suspensos em 20ml de água destilada por placa com auxílio de um pincel de pelos finos, a suspensão obtida foi filtrada através de uma camada dupla de gaze esterilizada, a fim de eliminar fragmentos de micélio.

Para facilitar as leituras foi adicionado o espalhante Tween 80, na proporção de 1 gota para 100ml de suspensão. Foram feitas 20 medições de conídios por lâmina tomados ao acaso, de modo de perfazer um total de 60 medições por isolado.

Foram feitas as análises de variância do comprimento e da largura dos conídios, usando o modelo hierárquico misto, onde o fator hospedeiro (H) foi considerado fixo e o fator isolado (I) foi considerado aleatório dentro do fator hospedeiro ou seja:

$$X_{ijk} = M + H_i + I_{j(i)} + E_{ijk}$$

onde X é a variável resposta, M a média geral, H_i é o efeito do isolado i, $I_{j(i)}$ é o efeito do isolado j dentro do hospedeiro i, e E_{ijk} é o efeito aleatório à k-ésima

repetição do isolado j dentro do hospedeiro i.

Foram feitas comparações entre as médias de comprimento e as médias de largura dos conídios segundo os hospedeiros usando o teste de Tukey a 5%

3.5 Morfologia dos apressórios

Os isolados utilizados neste experimento foram os mesmos do experimento anterior. Para o estudo da morfologia dos apressórios foi utilizado o método de cultura em lâmina de vidro descrito por SUTTON (1968) e modificado por MINUSSI (1977).

Placas de Petri contendo em seu interior papel de filtro, suporte de vidro, lâmina e lamínulas foram esterilizadas. Em condições assépticas foram transferidas para cada extremidade das lâminas colocadas sobre os suportes, blocos circulares de BDA (1cm de diâmetro). A continuação foram colocados na parte central fragmentos de micélio dos 15 isolados em estudo e cobertos com as lamínulas, adicionando-se com uma pipeta 10ml de água esterilizada por placa para garantir a umidade. As placas foram incubadas em Biotronette Mark III Environmental Chamber sob luz contínua a 27°C por um período de 7 dias.

Após esse período foram montadas as lâminas para observação no microscópio, utilizando as lâminas e lamínulas contendo as estruturas do fungo a elas aderentes, perfazendo um total de 6 lâminas para cada isolado e

para facilitar as observações foram utilizadas duas gotas de corante azul de algodão (fenol, 10g; glicerina, 10ml; ácido láctico, 10ml; azul de algodão, 0,05g e água destilada, 10ml) por lâmina (RAWLINGS, 1933).

As avaliações foram feitas com um Fillar Micrometer Eyepiece "BAUSH e LOMB" previamente calibrado para objetiva de 40x, determinando-se o comprimento e a largura de 5 apressórios para cada lâmina, tomados ao acaso, perfazendo um total de 30 medições para cada isolado.

O comprimento foi medido da base truncada até o ápice mais distante nos apressórios simples ou multilobados, e a largura, em ângulo reto ao eixo do comprimento através da parte mais distante do apressório incluindo os lóbulos conforme SUTTON (1968).

O delineamento experimental, as avaliações e análises estatísticas foram realizadas conforme descrito no item 3.4.

3.6 Determinação do número de núcleos

Foi determinado o número de núcleos de conídios dos diferentes isolados de *Colletotrichum* spp obtidos dos frutos em estudo, utilizando o método de coloração conhecido como HCl-giemsa, descrito por ROBINOW (1945).

Gotas de suspensões de conídios dos isolados de *Colletotrichum* spp provenientes de abacate, banana, mamão, man

ga e morango foram fixadas com uma suspensão de albumina de ovo à 5% em lâminas de vidro e posteriormente secas. Após isto foram fixadas em etanol + ácido acético + ácido lático (6+1+1/volume) por 20 minutos. Em seguida foram lavadas por 5 a 8 minutos nas seguintes soluções alcoólicas : 95%; 70%; 50% e 0% respectivamente; logo a seguir foram hidrolizadas em HCl 1 N por 5 a 6 minutos à temperatura ambiente e 6 a 8 minutos à 60 - 63°C. Posteriormente foram lavadas por 4 a 5 vezes em água durante 5 a 8 minutos cada uma, lavando-se em seguida em tampão fosfato pH 7.2 por 20 minutos preparado na proporção de 7 partes (NaHPO_4 , 7 H_2O , 2.8g/l) mais 3 partes (KH_2PO_4 , 2.4g/l).

As lâminas assim preparadas foram coloridas com giemsa e montadas em tampão fosfato para exame microscópico.

Para cada isolado foram montadas três lâminas, sendo avaliados 50 conídios por isolado. Foram calculadas as porcentagens de conídios mononucleados, binucleados e trinucleados.

3.7 Avaliação do crescimento micelial em meio mínimo e meio completo

O meio mínimo (MM) foi preparado segundo a técnica descrita por PONTECORVO **et alii** (1953) e modificada por KIMATI (1975) empregando uma solução de micronutrientes preparada de acordo com LILLY e BARNETT (1951) con

tendo: $\text{Fe} (\text{NO}_3)_3 \cdot 9 \text{H}_2\text{O}$ 723, 4mg, $\text{Zn SO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ 439,8mg e $\text{Mn SO}_4 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ 203mg dissolvidos em 600ml de água, clarificada com $\text{H}_2 \text{SO}_4$ e completado com água até 1000ml. A composição do meio mínimo foi a seguinte: Na NO_3 , 6g; KCl , 0.52g; $\text{Mg SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.52g; $\text{KH}_2 \text{PO}_4$, 3.8g, solução de micro nutrientes 1ml; glucose, 10g; ágar Difco, 15g e água até completar 1000ml.

O meio completo (MC) foi preparado conforme PONTECORVO et alii (1953) e foi modificado substituindo a peptona e o ácido nucleico hidrolizado por caseína hidrolizada (1.5g/l) e extrato de levedura (0.5g/l).

Foram utilizados ao todo, 15 isolados de *Colletotrichum* provenientes de abacate, banana, mamão, manga e morango. Discos de micélio de 0.5cm de diâmetro obtidos da periferia da colônia do fungo, com seis dias de idade, foram transferidos para o centro de placas de Petri contendo os meios de cultura acima mencionados e logo colocados a incubar em Biotronette Mark III Environmental Chamber sob luz contínua e temperatura de 27°C por um período de 6 dias ou até que o crescimento do fungo atingisse todo o diâmetro da placa.

As avaliações dos resultados foram feitas a intervalos de 24 horas, determinando-se quantitativamente o crescimento radial das colônias com auxílio de uma régua graduada, medindo o diâmetro em dois sentidos perpendiculares entre si.

Os resultados foram colocados em figuras , onde o crescimento foi expresso em termos da média dos diâmetros do crescimento micelial para cada isolado em cada tempo.

3.8 Comportamento de isolados de Colletotrichum gloeosporioides de diferentes hospedeiros sensíveis ou não ao Benomyl

Para se determinar a sensibilidade de isolados de Colletotrichum spp ao Benomyl, foi primeiramente testada a concentração de 100 ppm do fungicida. Para o preparo dos meios de cultura com o fungicida seguiu-se a técnica de EDGINGTON et alii (1971), modificada por MENTEN et alii (1976) e que consiste em : dissolver o fungicida em 5ml de acetona e completar o volume com água destilada e esterilizada até 100ml. Desta solução considerada estoque, foram feitas diluições em série, de tal maneira que, adicionando-se 1ml destas suspensões em 99ml de meio de cultura BDA fundente (45-50°C) se obtenha a concentração desejada do fungicida.

Neste experimento foram utilizados 3 isolados de Colletotrichum gloeosporioides provenientes de abacate , banana, mamão, manga e morango, os que foram previamente cultivados em BDA e posteriormente em BDA contendo 100ppm de Benomyl, conforme a metodologia acima descrita. Discos

de micélio de 0.5cm de diâmetro obtidos das margens das colônias do fungo com 6 dias de idade foram transferido para o centro de placas de Petri contendo Benomyl e colocadas a incubar nas mesmas condições relatadas no item 3.7.

As avaliações do crescimento micelial foram feitas segundo a metodologia descrita no item 3.7.

Os resultados foram colocados em figuras , onde o crescimento foi expressado em termos da média e dos diâmetros do crescimento micelial para cada isolado em cada tempo e para a concentração do fungicida utilizado.

3.9 Avaliação da sensibilidade *in vitro* de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* provenientes de manga ao Benomyl

Três isolados de manga que não foram sensíveis ao Benomyl no experimento anterior foram comparados quanto a sua sensibilidade "in vitro" com mais 7 isolados de manga de outras procedências, utilizando as concentrações de 0 e 100ppm (Quadro 1).

Os isolados foram cultivados em BDA com 0 ppm e 100ppm de Benomyl respectivamente, sendo que o inóculo foi preparado e transferido seguindo a metodologia descrita no item 3.8. As avaliações foram feitas as 72, 120, 216, 336 e 384 horas após a implantação dos discos de micélio, através da medição do diâmetro das colônias, uti

lizando duas medidas perpendiculares entre si.

Os resultados foram colocados em figuras , onde o crescimento foi expressado em termos da média e dos diâmetros do crescimento micelial para cada isolado em cada tempo e para cada concentração do fungicida utilizado.

3.10 Caracterização patogênica de diferentes isolados de *Colletotricum gloeosporioides*.

Foram utilizados nestes experimentos, discos de folhas de abacateiro e mangueira, assim como frutos verdes de abacate, banana, mamão e manga.

3.10.1 Patogenicidade em discos de folhas

Folhas de ramos do ano de abacateiro e mangueira com idades aproximadas de 17 a 25 dias foram lavadas cuidadosamente com água de torneira. Com auxílio de um vazador de rolha se obtiveram discos de 1.5cm de diâmetro, os quais foram logo imersos em uma solução de hipoclorito de sódio 3% durante 5 minutos e lavadas duas vezes consecutivas com água destilada para retirar o excesso de hipoclorito e posteriormente secos com papel toalha. Os discos foram colocados em caixas plásticas previamente esterilizadas contendo uma camada de algodão e duas folhas

de papel de filtro, também esterilizadas com antecedência.

Obteve-se o inóculo de suspensões de coní
dios provenientes de culturas dos diferentes isolados em
BDA com 6 dias de idade. As suspensões de esporos foram
preparadas colocando-se 10ml de água destilada e esteriliz
ada nas placas de Petri. Com um pincel de pelos finos
friccionaram-se levemente as colônias obtendo-se suspens
ões que foram filtradas através de uma camada dupla de
gaze para eliminar os resíduos. As concentrações das suss
pensões foram determinadas com um hemocitômetro. Através
de diluições, ajustaram-se as suspensões para a concentraa
ção de 10^5 conídios por ml e inocularam-se logo a seguir
os discos com uma micropipeta depositando 0.010ml da suss
pensão de conídios dos diferentes isolados de Colletotri
chum spp no centro dos discos, as testemunhas foi adii
cionada água destilada. Em seguida os discos foram manu
tidos por 48 horas em câmara úmida (umidade relativa próx
imo a 100%) e a temperatura ambiente. Após o período de
incubação, as caixas contendo os discos foram mantidas no
laboratório a temperatura de 25 - 27°C por um período de
6 dias, tempo considerado suficiente para que os sintomas
aparecessem e se desenvolvessem nos discos de folhas de
abacateiro e mangueira.

Fizeram-se duas avaliações, sendo a primeii
ra 3 dias após a inoculação, e a segunda no sexto dia dee
terminando-se a existência ou não de sintomas típicos de

antracnose nos discos das folhas inoculadas de acordo com os seguintes critérios: sem sintomas, + lesões escuras no ponto de inoculação e ++ lesões escuras características de "antracnose".

Para o teste de patogenicidade em discos de folhas de abacateiro, bem como de mangueira foi seguido um delineamento experimental inteiramente casualizado onde a unidade experimental correspondeu a 5 discos de folhas, os tratamentos aos isolados de *Colletotrichum* spp em estudo mais a testemunha e 4 repetições.

Foram feitas as análises de variância do número de discos que apresentaram sintomas, usando a transformação $x = \text{arc.sen} \sqrt{\frac{n}{5}}$. O modelo de análise utilizado foi o mesmo descrito nos itens 3.4 e 3.5.

As comparações dos isolados provenientes de 5 espécies de frutos (hospedeiros) através da média do número de discos de folhas de abacateiro, assim como de mangueira que apresentaram sintomas após 144 horas da inoculação, usando os dados transformados, foram feitas pelo teste de Tukey a 5%.

3.10.2 Patogenicidade em frutos

Frutos verdes de abacate var Winslonson, de banana var Nanicão e de manga var Monte Deste foram desinfestados durante 5 minutos em uma solução de hipoclorito

de sódio 5%, lavados duas vezes consecutivas com água destilada e secos. Frutos verdes de mamão var I.A.C.-98 foram submetidos a tratamento térmico em água quente a 49°C por 20 minutos em um tanque de aço inox com teflmostato, em água em constante agitação e logo a um banho de água fria também durante 20 minutos e logo secos. Em seguida os frutos foram colocados em bandejas de plástico previamente desinfetadas com álcool e inoculados, O inóculo foi preparado seguindo a metodologia descrita no item 3.10.1. antes de realizar as inoculações foram praticados pequenos ferimentos na casca dos frutos com a ponta de uma agulha desinfetada com álcool e flambada. Com exceção das bananas, onde os ferimentos foram praticados com um vazador de rolhas de 2mm de diâmetro, introduzindo-o até uma profundidade de 2mm e retirando com um estilete o disquinho de casca. O inóculo contendo 10^5 conídios por ml foi depositado sobre os ferimentos com auxílio de uma micropipeta, nas testemunhas utilizou-se água destilada.

As bandejas contendo os frutos inoculados foram colocadas no interior de sacolas plásticas previamente umedecidas para a obtenção de uma atmosfera saturada de água por aproximadamente 60 horas. Após esse período as sacolas foram retiradas e as bandejas com os frutos mantidas em condições de laboratório, a uma temperatura que variou de 23 - 28°C aproximadamente ,

até o aparecimento dos sintomas.

As avaliações dos sintomas foram feitas através da medição do diâmetro externo das lesões assim que apareceram os primeiros sintomas, medindo o diâmetro maior e menor das mesmas. O diâmetro das lesões indicaria o desenvolvimento da doença (QUIMIO, 1975).

Para o teste de patogenicidade em frutos foi seguido o delineamento experimental inteiramente casualizado, onde a unidade experimental foi o local de inoculação nos frutos, os tratamentos foram os isolados de *Colletotrichum* spp testados mais a testemunha. Foram feitas quatro repetições.

Fizeram-se as análises de variância da média entre o diâmetro maior e menor das lesões externas. O modelo utilizado foi o mesmo já indicado nos itens 3.4 e 3.5.

As comparações dos isolados do fungo obtidos nas diferentes espécies de frutos (hospedeiros), através das médias do diâmetro médio das lesões externas, foram feitas pelo teste de Tukey a 5% para cada uma das espécies de frutos testados.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização morfológica dos conídios

O comprimento e a largura dos conídios de *Colletotrichum* spp isolados de frutos de abacate, banana, mamão, manga e morango foram submetidos a análise de variância, como consta no Quadro 1 do Apêndice.

A análise de variância revelou efeito altamente significativo para comprimento e largura dos conídios a nível de hospedeiro. Dentro dos hospedeiros observou-se que os isolados de manga diferiram entre si, bem como os de morango quanto ao comprimento. Quanto a largura os isolados de banana diferiram entre si, assim como os isolados de morango. Os demais isolados, dentro de cada hospedeiro, não diferiram entre si, nem em relação ao comprimento nem a largura.

As médias do comprimento e da largura de conídios de *Colletotrichum* spp conforme o hospedeiro, bem

como as comparações entre hospedeiros são apresentadas no Quadro 3. Conídios de isolados provenientes de frutos de abacate, banana e mamão semelhantes em relação ao comprimento e a largura. Quanto a manga os conídios diferiram em comprimento com os de mamão e em largura com os de abacate e banana. Isolados de morango apresentaram dimensões de conídios menores que todos os demais, levando a crer que poderia tratar-se da espécie *C. acutatum*, cujas dimensões são 12,9 - 13,9 μ de comprimento por 3,2 - 3,9 μ de largura. No entanto observando o Quadro 2 onde constam as médias do comprimento e largura dos isolados de morango, pode-se concluir que a semelhança com as dimensões dessa espécie, estaria limitada somente ao comprimento, diferindo bastante em relação à largura.

Resultados dos trabalhos de IGARASHI (1984), também demonstraram que existiam diferenças em relação ao tamanho dos conídios de alguns isolados provenientes de morango; esse autor afirma que coincidentemente ou não, isolados de frutos que foram resistentes ao Benomyl tiveram dimensões de esporos menores que os de isolados sensíveis a esse fungicida. A descrição de *C. acutatum* se assemelha a dos isolados de morango deste estudo, porém somente dados referente a dimensões de conídios seriam insuficientes para afirmar que se trata de uma espécie diferente de *C. gloeosporioides*.

As dimensões dos conídios de acordo com os

resultados apresentados no Quadro 2, variaram entre os hospedeiros e entre os isolados dentro do hospedeiro, porém dentro dos limites estabelecidos por ARX (1957) para espécie *Colletotrichum gloeosporioides* quais sejam: coní
dios em média de 12 - 19 μ de comprimento por 10 - 6,0 μ de largura, na qual esse autor amalgamou mais de 600 espécies, incluindo aquelas causadoras de "antracnoses" e podridões de frutos em inúmeros hospedeiros, ba
seando-se exclusivamente em caracteres morfológicos como comprimento e largura dos conídios. Dentro dessa espécie morfológica, ARX (1957) admitia especializações fisiológicas porém não indicou a nomenclatura **formae**
speciales como o fizeram SNYDER & HANSEN (1940) com as formas especializadas de *Fusarium oxysporum*.

Trabalhos taxonômicos sobre formas especializadas de *Colletotrichum gloeosporioides*, levados a efeito mais recentemente mostram uma tendência a adotar o con
ceito amplo da espécie segundo ARX (1957) e a nomenclatu
ra de **formae speciales**, como proposto por MENTEN (1977), para o agente causal da antracnose das cucurbitáceas deno
minando-o *C. gloeosporioides* f. sp. **cucurbitae** e por KIMATI (1975) & MINUSSI (1977) para *Colletotrichum graminicola*, designando-se como *C. graminicola* f. sp. **zeae**, f. sp. **sacchari** e f. sp. **sorghii**; agentes causais da antracnose do milho, cana de açúcar e sorgo respectivamente.

Quadro 2 - Dimensões em (μ) do comprimento e largura de conídios e apressórios de isolados de *Colletotrichum* spp de abacate, banana, mamão, manga e morango.

Isolados	Conídio*		Apressórios**	
	comprimento	largura	comprimento	largura
Aba 1	14,09	5,12	10,68	7,79
Aba 3	14,18	5,37	9,47	8,20
Aba 4	13,64	5,07	10,13	8,53
Ban 1	14,37	4,96	10,54	9,14
Ban 2	14,13	4,83	10,14	9,14
Ban 5	14,53	5,36	10,11	8,09
Mam 3	13,85	5,12	8,56	6,80
Mam 4	14,02	4,75	8,63	7,48
Mam 5	13,42	4,97	7,91	7,30
Mag 1	15,12	4,33	10,41	8,34
Mag 2	13,87	4,50	8,77	7,89
Mag 4	14,80	4,30	10,11	8,35
Mor 17	11,72	4,15	7,60	7,33
Mor 23	11,92	3,92	8,68	6,67
Mor 32	12,92	4,81	8,33	7,18

* Média de 60 conídios

** Média de 30 apressórios

Quadro 3 - Comparação* entre as médias do comprimento e entre as médias da largura de conídios de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* provenientes de frutos de abacate, banana, mamão, manga e morango.

Hospedeiro	Média	
	Comprimento	Largura
Abacate	13,790 a b	5,203 a
Banana	14,341 a b	5,051 a
Mamão	13,762 b	4,948 a b
Manga	14,595 a	4,377 b c
Morango	12,185 c	4,291 c

* Teste de Tukey a 5%. Espécies seguidas da mesma letra são declarados não diferirem entre si.

Espécies seguidas de letras diferentes são declarados diferirem entre si.

DMS (comp.) = 0,725; DMS (larg) = 0,637

4.2 Morfologia dos apressórios

O comprimento e a largura dos apressórios de isolados de *Colletotrichum* spp de frutos de abacate , banana, mamão, manga e morango foram submetidas a análise de variância conforme Quadro 2 do Apêndice que revelou diferenças altamente significativas para comprimento e largura dos apressórios dos isolados a nível de hospedeiro. Dentro dos isolados de cada hospedeiro, somente os isolados de manga apresentaram diferenças significativas para comprimento, os demais não apresentaram diferenças estatisticamente significantes. Quanto a largura, não houve diferenças significativas entre os isolados do mesmo hospedeiro. De acordo com os resultados do Quadro 4, observa-se que tanto para o comprimento e largura dos apressórios; isolados provenientes de mamão e morango foram semelhantes diferindo dos de abacate, banana e manga, que foram iguais entre si.

Nos estudos desenvolvidos para determinação das características morfológicas dos apressórios observou-se que além das diferenças em tamanho, houve diferenças em relação ao formato sendo que destacam-se 3 tipos de formato entre os apressórios a saber: esféricos, piriformes e lobulados. Os apressórios que tinham formato esférico em geral eram de tamanho menor que aqueles de formato lobulado; talvez essa diferença de tamanho esteja

Quadro 4 - Comparação* entre as médias do comprimento e entre as médias da largura de apressórios provenientes de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* obtidos de frutos de abacate, banana, mamão, manga e morango.

Média		
Hospedeiro	Comprimento	Largura
Abacate	10,09 a	8,17 a
Banana	10,26 a	8,79 a
Mamão	8,37 b	7,20 b
Manga	9,76 a	8,19 a
Morango	8,20 b	7,06 b

* Teste de Tukey a 5%. Espécies seguidas de mesma letra são declarados não diferirem entre si.

Espécies seguidas de letras diferentes são declarados diferirem entre si.

DMS(comp) = 1,149 ; DMS (larg) = 0,924

relacionada com a idade dos apressórios, como apontado por SKOROPAD (1967) em seus estudos sobre a formação de apressórios em *C. graminicola* e concordam com os resultados de MANANDHAR et alii (1985) sobre apressórios de *C. truncatum*. Outros caracteres morfológicos observados foram textura da parede e a coloração dos apressórios. Esses caracteres estariam relacionados com a habilidade do fungo para permanecer em estado de latência e para resistir a condições ambientais adversas. SIMMONDS (1941) observou que os apressórios são mais resistentes que os conídios e seriam análogos à clamidosporos. Em relação a estes dois caracteres, todos os isolados apresentaram apressórios com paredes espessas e uma coloração que variava do castanho claro a castanho escuro, o que contrastava de forma bastante evidente com a coloração dos conídios e outras estruturas do fungo nas observações microscópicas.

As características morfológicas observadas nos apressórios dos isolados de *Colletotrichum* spp durante este experimento concordam com as descritas por SHEAR & WOOD (1913) e ARX (1957) para apressórios de fungos desse gênero. Segundo SKOROPAD (1967) a maioria das espécies do gênero *Colletotrichum* formam apressórios e suas características morfológicas e a fisiologia de sua formação está influenciada pela presença de nutrientes e por estímulos de contato, isto também foi confirmado nos trabalhos de Halstead, Hasselbring, Dey, Biraghi, Simmonds e Illman et

alii, todos citados por SKOROPAD (1967).

Quanto ao número de apressórios formados *in vitro*, trabalhos desenvolvidos por SHANE & SUTTON (1981) demonstram que a idade dos conídios influencia a produção de apressórios, assim conídios de 12 a 20 dias de idade formam comparativamente um número muito menor de apressórios que conídios de 4 dias de idade, 24 horas após a inoculação em discos de celofane. Estas observações também foram corroborados neste experimento já que a idade dos conídios utilizados foi de sete dias o que favoreceu bastante a produção abundante de apressórios *in vitro*. SUTTON (1968) também ressaltava na descrição da metodologia de seus trabalhos com *C. graminicola* e *C. falcatum*, a necessidade de utilizar conídios jovens para obter bastante apressórios.

Apesar que não foi realizada a análise estatística entre os diferentes formatos de apressórios, as observações microscópicas dos mesmos revelaram que os apressórios de isolados provenientes de frutos de abacate, banana e mamão apresentaram formatos lobulados e esféricos principalmente, sendo raros os que apresentaram formatos piriformes, já os provenientes de frutos de manga exibiram formatos piriformes preferentemente e os de morango formato esférico, assemelhando pequenos discos, sendo quase inexistentes dentro desses isolados, apressórios de formato lobulado ou piriforme. Cabe ressaltar aqui que novamente os isola

dos provenientes de morango, exibiram características morfológicas distintas dos outros isolados de *Colletotricum* provenientes de outros hospedeiros.

A respeito do valor taxonômico das características morfológicas dos apressórios, SUTTON (1962) apresentou evidências de que é possível a distinção de espécies com base nessas características e mostrou que *C. trichellum* considerado por ARX (1957) como sinônimo de *C. dematium* podia ser prontamente distinguido desta última espécie através das diferenças qualitativas dos apressórios. Este tipo de análise foi utilizado novamente pelo mesmo autor, quando estabeleceu diferenças qualitativas e quantitativas entre apressórios de *C. graminicola* de sorgo milho e *C. falcatum* de cana de açúcar, formados em hifas vegetativas. Esses resultados foram confirmados pelos trabalhos desenvolvidos por KIMATI (1975) e MINUSSI (1977) sobre taxonomia da espécie *Colletotrichum graminicola*. No entanto KIMATI (1975) admite que as diferenças morfológicas existentes entre apressórios de *C. graminicola* de diversos hospedeiros são características distintivas mas suplementares de *formae speciales* e não de espécies.

4.3 Determinação do número de núcleos

A determinação do número de núcleos presentes nos conídios de isolados de *Colletotrichum* spp provenientes de frutos de abacate, banana, mamão, manga e mo

rango foi feita através do cálculo da porcentagem de conídios uninucleados, binucleados e trinucleados, respectivamente e os resultados são apresentados no Quadro 5.

A análise dos resultados deste experimento mostra claramente que a maior parte dos conídios observados provenientes dos isolados de *Colletotrichum* spp de mamão, manga e morango apresentam conídios uninucleados, sendo escasso o número de conídios binucleados nesses isolados. Já entre os isolados provenientes de abacate e banana, aparecem com maior frequência conídios binucleados e no isolado Aba4 eventualmente alguns com tres núcleos.

Esses resultados assemelham-se a aqueles descritos por SKOROPAD (1967) em conídios de *C. graminicola*, que eram uninucleados. Esse mesmo autor explica que imediatmente antes da germinação dos conídios, o núcleo divide-se e geralmente um septo separa a célula em duas e muito raramente tres divisões tem sido observadas, esse fato explicaria o aparecimento de conídios com dois núcleos nos isolados Ab₁, Ab₄, Ban₅, Mam₃, Mam₄, Mag₂ e Mor₁₇ que poderiam estar na fase prévia à germinação apresentando por isto 2 núcleos no momento da observação microscópica.

4.4 Avaliação do crescimento micelial em meio mínimo e meio completo

As Figuras 1 e 2 ilustram o crescimento mé

Quadro 5 - Porcentagens de conídios mono, bi e trinucleados de diferentes isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* provenientes de frutos de abacate, banana, mamão, manga e morango.

Isolados	% de			conídios	
	mononucleados			binucleados	trinucleados
Aba 1	94			6	-
Aba 3	100			-	-
Aba 4	56			28	16
Ban 1	100			-	-
Ban 2	100			-	-
Ban 5	74			26	-
Mam 3	98			2	-
Mam 4	94			6	-
Mam 5	100			-	-
Mag 1	100			-	-
Mag 2	98			2	-
Mag 4	100			-	-
Mor 17	94			6	-
Mor 23	100			-	-
Mor 32	100			-	-

dio micelial de isolados de *Colletotrichum* spp provenientes de frutos de abacate, banana, mamão, manga e morango, medido a intervalos de 24 horas após a implantação em meio mínimo (MM) e meio completo (MC), respectivamente.

Todos os isolados de *Colletotrichum* spp utilizados neste experimento cresceram tanto no meio mínimo como no meio completo. De acordo com as Figuras 1 e 2 pode-se observar que após 144 horas da implantação em meio mínimo e meio completo, as médias do crescimento micelial de isolados de *Colletotrichum* spp. provenientes de abacate tiveram um comportamento muito semelhante, sendo que a média do crescimento micelial foi ligeiramente superior em meio mínimo que em meio completo. Quanto aos isolados de banana, o isolado Ban 5 apresentou uma média de crescimento inferior aos isolados Ban 1 e 2, em ambos meios de cultura. Já os isolados de mamão e manga apresentaram médias de crescimento micelial muito parecidas nos dois meios testados. Onde observou-se uma média de crescimento bem diferente aos demais isolados foi no caso dos provenientes de morango, onde o isolado Mor 32 apresentou uma média de crescimento bem maior que os isolados Mor 17 e Mor 23 tanto em meio mínimo quanto em meio completo.

As diferenças observadas no crescimento micelial de diferentes isolados de espécies do gênero *Colletotrichum* já foram relatadas por SHEAR & WOOD (1913); esses autores ressaltam que não existem caracteres morfoló

gicos ou fisiológicos que sejam fixos, a aparência do micélio em meios de cultura é relativamente mais uniforme, as hifas são quase todas submersas no substrato e brancas no início, formando colônias circulares, as que tornam-se verde escuras ou cinza após um curto período de tempo, algumas apresentam massas de cor laranja. A cor escura em meios de cultura pode dever-se a formação de peritécios ou mais comumente de acérvulos. Todas essas características coincidem com as observadas neste experimento.

CARVALHO (1966) observou que de 17 isolados de *Colletotrichum falcatum*, 12 não cresceram em meio mínimo, o mesmo ocorrendo com 2 isolados de *C. graminicola* do sorgo, incluídos no ensaio. KIMATI (1975) concluiu que *C. falcatum* de cana de açúcar é auxanograficamente diferente de *C. graminicola* do milho e do sorgo por ser deficiente em biotina; MINUSSI (1977) também demonstrou que isolados de *C. graminicola* do sorgo e do trigo podem ser distinguidos de *C. falcatum* por serem auxoautróficas.

As variações que ocorreram no crescimento micelial de isolados de *Colletotrichum* spp de abacate, banana, mamão, manga e morango em meio mínimo poderiam deveer-se a uma deficiência nutricional parcial, no entanto outros fatores também poderiam ter contribuído e, visto que não se conhecia a composição exata do meio de cultura, não poderíamos ter absoluta certeza de que isso ocorresse. Caberia também destacar que se todos os isolados de *Col*

letotrichum testados cresceram em meio mínimo, isso indicaria que todos eles são capazes de sintetizar a partir desse meio todos os elementos nutrientes necessários para seu crescimento, ou seja eles seriam auxoautotróficos o que viria concordar com os resultados obtidos por GUPTA & CHATRATH (1973) com mutantes bioquímicos de *C.gloeosporioides* obtidos com a aplicação de raios gamma que eram deficientes em alguns fatores de crescimento essenciais e os tipos selvagens do fungo que eram auxoautotróficos.

4.5 Comportamento *in vitro* de isolados de *Colletotrichum* spp de diferentes hospedeiros sensíveis ou não ao Benomyl

O crescimento radial do micélio de 3 isolados de *Colletotrichum* spp de abacate, banana, mamão, manga e morango em meio de cultura de BDA com 0ppm e 100 ppm de Benomyl, são apresentadas na Figura 3.

Os resultados são expressos como crescimento médio micelial em centímetros conforme o tempo de implantação em horas em meio de BDA com duas concentrações de Benomyl. Conforme a Figura 3 todos os isolados independente do hospedeiro de onde foram obtidos, cresceram em meio de BDA com 0ppm de Benomyl. A velocidade de crescimento total após 144 horas foi muito semelhante entre os diversos isolados testados.

Os únicos isolados que cresceram em meio de BDA contendo 100ppm de Benomyl foram os 3 isolados provenientes de morango, e os 3 isolados provenientes de manga, no entanto o crescimento dos isolados Mor 17 e Mor 23 se iniciou as 48 horas após a implantação e o isolado Mor 32 as 72 horas após a implantação no meio de BDA com 100 ppm de Benomyl. Isto viria a ressaltar novamente o comportamento diferente deste isolado em relação aos demais do morango em estudo. Por outro lado os isolados Mag 1 e Mag 2 começaram a crescer as 72 horas e o isolado Mag 4 somente as 96 horas após a implantação no meio de BDA contendo 100ppm de Benomyl. Os três isolados de morango tiveram maior crescimento que os três isolados de manga, sendo que o isolado Mag 1 apenas atingiu 1cm de crescimento médio micelial no mesmo tempo (144h). De acordo com esses resultados os isolados de *Colletotrichum* spp. provenientes de frutos de abacate, banana e mamão, se mostraram sensíveis *in vitro* à concentração de 100ppm de Benomyl. Nesse mesmo experimento isolados provenientes de frutos de manga e morango foram insensíveis a concentrações de 100ppm do fungicida. Segundo SPALDING (1982) a incidência de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* e *Diplodia natalensis* resistentes ao Benomyl aumentaram grandemente entre 1976 - 1980; 69% de isolados de *C.gloeosporioides*, 38% de isolados *D. natalensis* e 31% de isolados de *Phomopsis citri* testados durante 1980 mostraram algum grau de resistência ao Benomyl. O

desenvolvimento de resistência ao Benomyl não tinha sido assinalada anteriormente para esses fungos, mais tinha sido relatada para muitos outros fungos, incluindo *Colletotrichum musae*. O desenvolvimento de resistência ao Benomyl por patógenos de manga na Flórida é provavelmente o resultado do uso contínuo do fungicida em mangueiras para o controle de antracnose. Essas observações de SPALDING (1982) poderiam explicar a não sensibilidade *in vitro* de isolados de *Colletotrichum* spp de frutos de manga a concentrações de 100ppm de Benomyl, como ocorreram no presente experimento e no experimento que foram testados somente isolados provenientes de manga.

Outros resultados que concordam com os obtidos neste ensaio, são os de IGARASHI (1984) com diferentes isolados de *Colletotrichum* spp provenientes de morango, que também não se mostraram sensíveis *in vitro* a concentrações de 100ppm de Benomyl em meio de BDA. Isolados de *Colletotrichum* obtidos de frutos que foram resistentes ao Benomyl tiveram dimensões de esporos menores do que os sensíveis, apresentaram colônias mais claras e de menor taxa de crescimento. De acordo com esse autor isto poderia estar relacionado com a ocorrência de resistência de *Colletotrichum* spp de frutos de morango ao Benomyl, levando em consideração que este fungicida vem sendo empregado por quase 20 anos nas principais regiões produtoras de morango do Estado de São Paulo, o que teria favorecido o sur

gimento de resistência por parte do fungo. Por outro lado, isolados de *Colletotrichum* spp obtidos de outros órgãos de planta de morango mostraram-se sensíveis ao Benomyl em meio de BDA com 100ppm do fungicida. Segundo IGARASHI (1984) isso poderia dever-se a que, o fungicida por ter uma atuação sistêmica na planta, não se acumularia nos estolões e consequentemente exerceria uma baixa pressão de seleção sobre o patógeno. Resultados similares foram relatados por LIMA et alii (1975) DELP & MILHOLAND (1980) e GULLINO et alii (1985) estudando a ação tóxica de alguns fungicidas sobre *Colletotrichum gloeosporioides* agente causal da antracnose do cajueiro, observaram que a inibição do crescimento linear de *C.gloeosporioides* foi verificado com dosagens de 5ppm para Thiabendazole, Benomyl, Chlorotalonil, os quais diferiram da testemunha ao nível de 1% de probabilidade. A comparação dos três fungicidas entre si revelou superioridade de Thiabendazole e do Benomyl ao nível de 1% de probabilidade, em relação ao Chlorotalonil. Esse mesmo resultado foi obtido na dosagem de 10ppm. Na dosagem de 100ppm o fungo mostrou-se sensível a todos os produtos testados o que viria a coincidir com os resultados deste experimento com exceção dos isolados de morango e de manga já relatados. As diferenças de ação tóxica dos produtos nos processos de crescimento linear e germinação dos esporos do fungo, uns inibindo o crescimento radial enquanto que outros inibindo a germinação de esporos

poderiam dever-se a que de forma geral o micélio apresenta uma maior sensibilidade aos fungicidas do que os esporos, visto serem envolvidos no crescimento miceliano, processos de síntese e divisão celular. Os esporos por sua vez, necessitam de doses mais elevadas de fungicidas para que a germinação seja inibida, visto que possuem maiores reservas (HORSFALL & RICH, 1953; HORSFALL, 1958).

A inibição do crescimento micelial *in vitro* apresentada por isolados de *Colletotrichum* spp de frutos de mamão neste experimento, concordam com aquela observada por BOLKAN *et alii* (1976) *in vitro* em isolados de *Colletotri*
chum gloeosporioides obtidos de frutos de mamão no Brasil Central, quando submetidos a concentrações de 5,15 e 25mg/ml de Benomyl, demonstrando que esses isolados foram sensíveis as essas concentrações utilizadas.

4.6 Avaliação da sensibilidade *in vitro* de isolados de *Colletotrichum* spp provenientes de manga ao Benomyl

Visto que os 3 isolados de *Colletotrichum* spp provenientes de frutos de manga testados no experimento anterior se mostraram não sensíveis *in vitro* a concentrações de 100ppm de Benomyl em meio de BDA, foi realizado um outro experimento para avaliar a sensibilidade *in vitro* de 10 isolados de *Colletotrichum* spp de frutos de manga em

meio de cultura com 0ppm e 100ppm de Benomyl. Os resultados estão ilustrados na Figura 4 e são expressos como crescimento médio micelial em centímetros, conforme o tempo de implantação em horas em meio de BDA com as duas concentrações de Benomyl.

De acordo com os resultados obtidos podemos afirmar que o crescimento médio micelial (cm) de todos os isolados testados as 72 horas após a implantação em meio BDA com 0ppm de Benomyl já tinha começado enquanto que os mesmos isolados quando cresciam em meio de BDA com 100ppm de Benomyl não apresentavam nenhum crescimento, o crescimento micelial neste meio começou somente após 120 horas da implantação para os isolados Mag 1, Mag 7, Mag 2, Mag 8, Mag 9, Mag 4, Mag 11, mag 10, já para os isolados Mag 5 e mag 6 o crescimento micelial começou após 216 horas da implantação. Por outro lado se compararmos a média do crescimento micelial exibido pelo isolado Mag 6 em meio de BDA com 0ppm de Benomyl e em meio de BDA com 100ppm de Benomyl, poderíamos sugerir que talvez o fungo precise de um certo período de tempo adicional para começar o crescimento no meio contendo fungicida ou seja, a demora no início do crescimento micelial de isolados provenientes de frutos de manga pode dever-se a que o fungo necessite de um certo período de tempo para metabolizar o fungicida, presente no meio de cultura após o qual teriam condições de iniciar o crescimento micelial, que de todas maneiras é

Fig 4

Crescimento médio micelial (cm) de isolados de *Colletotrichum* spp., provenientes de frutos de manga, conforme tempo (h) após a implantação em meio BDA com 0 ppm e 100 ppm de Benomyl.

ESCALA 1:75

bastante reduzido, sendo que o isolado Mag 1 é o que teve uma média de crescimento micelial maior e o isolado Mag 6 é o que teve uma média de crescimento micelial quase insignificante. Uma outra explicação poderia ser que após um certo período de tempo, o fungicida se degrada naturalmente no meio, permitindo assim que se inicie o crescimento micelial do fungo.

4.7 Caracterização patogênica de diferentes isolados de *Colletotrichum* spp

4.7.1 Patogenicidade em discos de folhas

O número de discos de folhas de abacateiro e o número de discos de folhas de mangueira que apresentaram sintomas 144 horas após a inoculação com suspensões de conídios de 14 isolados de *Colletotrichum* spp obtidos de frutos de abacate, banana, mamão, manga e morango, foram submetidos a análise de variância, como consta no Quadro 3 do Apêndice. A testemunha e o isolado Mor 32 não provocaram sintomas. A análise de variância mostrou efeito significativo para hospedeiros em folhas de abacateiro e altamente significativo em folhas de mangueira.

Com relação aos diferentes isolados de *Colletotrichum* spp testados, a análise de variância demonstrou haver efeito altamente significativo entre eles, tanto nos

discos de folhas de abacateiro, como nos discos de folhas de mangueira. Observa-se também que os hospedeiros abacate, banana e mamão não mostraram diferenças significativas entre seus respectivos isolados em ambos os tipos de folhas, enquanto que os hospedeiros manga e morango, revelaram efeitos significativos a nível de 5% e 1% respectivamente, também nos dois tipos de discos de folhas utilizadas.

As médias do número de discos de folhas de abacateiro e de mangueira, bem como a comparação entre hospedeiros, são apresentadas no quadro 6.

Isolados de manga e morango não diferem entre si quanto ao número de discos com sintomas, quer em folhas de abacateiro, quer em folhas de mangueira apresentando as duas maiores médias.

Isolados de banana e mamão também não diferiram entre si, apresentando as duas médias mais baixas.

Em discos de folhas de abacateiro, podemos observar que o número de discos com sintomas, quando inoculados com isolados do fungo provenientes de frutos de abacate não difere dos provenientes de morango, nem dos de banana.

Em discos de folhas de mangueira, os isolados provenientes de abacate diferem dos provenientes de morango, mais não diferem dos provenientes de banana.

Embora todos os isolados de *Colletotrichum*

Quadro 5 - Comparação* entre as médias do número** de discos de folhas de abacateiro e entre as médias do número de discos de folhas de mangueira com sintomas após 144 horas da inoculação com suspensões de conídios de *Colletotrichum* spp .

Hospedeiro isolados de	Média	
	Folha de abacateiro	Folha de mangueira
Abacate	0,78538 b c	0,78375 b
Banana	0,62135 c d	0,56222 b c
Mamão	0,32064 d	0,30388 c
Manga	1,28370 a	1,35922 a
Morango	1,01205 a b	1,14776 a

* Teste de Tukey 5%. Espécies seguidas da mesma letra são declarados não diferirem entre si. Espécies seguidas de letras diferentes são declaradas diferentes entre si.

DMS (f.abacate)= 0,3224 e 0,3604 para morango; DMS(f.mangueira)= 0,2600 e 0,2907 para morango.

** Dados transformados em $x = \arcsen \sqrt{\frac{n}{5}}$

spp, com exceção da testemunha e do isolado Mor 32, te nham causado sintomas de podridão, quando inoculados nos discos de folhas, isso não significa que todos os isola dos sejam patogênicos a esses dois hospedeiros. É muito provável que o fato de utilizar discos de folhas destaca das com um vazador de rolhas, pelo ferimentos praticados, tenha propiciado uma penetração mais fácil do patógeno nas condições de inoculação empregadas neste experimento.

Os sintomas induzidos pelos isolados de *Colletotrichum* spp consistiram basicamente em lesões de formatos arredondados, de tamanho variável, de coloração marrom-escura até quase preto, sempre na face inferior dos discos de folhas inoculados. Foi observado, claramente que os isolados Mag 1, Mag 2 e Mag 4 provenientes de fru tos de mangueira e os isolados Mor 17 e Mor 23 de frutos de morango causaram as lesões mais conspícuas de "antracnose", tanto em discos de folhas de abacateiro como de mangueira. Por outro lado, os sintomas induzidos por iso lados provenientes de frutos de abacate neste experimento não provocaram sintomas bem característicos de antracnose quando inoculados em discos de folhas de abacateiro. Tal vez isso esteja relacionado com a sintomatologia observada em plantas de abacateiro e mangueira atacadas por " an tracnose", onde a mangueira apresenta sintomas bastante e videntes nas folhas, o que já não ocorre assim nas fo lhas de plantas de abacateiro, ao mesmo tempo o método de

inoculação mediante a deposição de uma gotícula de inóculo nos discos de folhas poderia ser menos apropriado para a caracterização patogênica entre isolados de Colletotrichum spp de vários hospedeiros em testes de inoculação cruzada, considerando os resultados obtidos neste experimento que não mostram claramente que existia uma afinidade bem definida entre os isolados de Colletotrichum spp de frutos de abacate e de manga pelos seus hospedeiros congeniais, representados pelos discos de folhas de abacate e mangueira.

Apesar dos resultados obtidos neste experimento, pode-se notar que eles não invalidam a idéia de que existia afinidade dos diferentes isolados do fungo pelos seus hospedeiros congeniais, mesmo porque existem outros fatores como a idade das folhas inoculadas, que influenciam o aparecimento de sintomas, como demonstrado por GORDILHO QUESADA (1981) trabalhando com folhas de mangueira de diferentes idades, determinando que folhas jovens de 17 dias de idade são mais suscetíveis a Colletotrichum gloeosporioides, seguidas por aquelas de 17 até 35 dias de idade e que folhas com mais de 68 dias de idade somente manifestaram sintomas quando as inoculações foram feitas com ferimentos e por MORRIS (1983) em seus estudos com C.gloeosporioides de Hakea sericea.

Outros fatores que tem grande influência no sucesso deste tipo de experimento, são a face de inoculação da folha utilizada e a umidade relativa existente.

Assim estudos de WASTIE (1972) demonstraram que a face inferior de folhas de *Hevea brasiliensis* foi mais suscetível à infecção por *C.gloeosporioides* que a face superior e que existiu certa correlação entre a severidade dos sintomas e a duração do período de alta umidade relativa, sendo que a máxima ocorreu com umidades relativas que variaram entre 97 - 100%, demonstrando todavia que a germinação dos esporos era praticamente nula com porcentagens de umidade relativa inferiores a 97%. Portanto podemos observar que é necessário aprimorar esta metodologia de inoculação para poder obter resultados que permitam chegar a conclusões mais exatas.

4.7.2 Patogenicidade em frutos

Os diâmetros médios das lesões externas de frutos de abacate, banana, mamão e manga, foram submetidos a análise de variância de acordo com o Quadro 4 do Apêndice.

Em relação aos sintomas avaliados, estes consistiram em lesões de formatos arredondados, levemente deprimidas, de coloração marrom escura e apresentando massas gelatinosas de coloração rósea ou alaranjada correspondentes a conglomerados de conídios, as que foram mais frequentemente observadas em frutos de banana, mamão e manga e mais raramente em frutos de abacate. O tamanho das lesões foi bastante variável de acordo com o tipo de isolamento.

lado em questão, contudo foram consideradas lesões típicas de antracnose, aquelas que exibiram um diâmetro superior a 1cm ao redor do local de inoculação, ou seja o diâmetro da lesão foi usada como referência do desenvolvimento das doenças, tal como proposto por QUIMIO & QUIMIO (1975).

As avaliações dos sintomas foram feitas ao 3º e 4º dia após as inoculações para frutos de abacate ; ao 2º, 3º e 4º dia após as inoculações para frutos de banana; ao 4º, 5º e 7º dia após as inoculações para frutos de manga e ao 3º, 5º e 6º dia após as inoculações para frutos de mamão, sendo que para a análise estatística deste experimento somente foi considerada a última avaliação dos sintomas para cada tipo de fruto testado.

A análise de variância mostrou um efeito altamente significativo para os isolados de *Colletotrichum* spp obtidos de diferentes hospedeiros que apresentaram sintomas. Somente isolados provenientes de frutos de abacate, manga e morango causaram sintomas externos visíveis quando inoculados em frutos de abacate; em frutos de banana, os isolados provenientes de banana, abacate e morango causaram sintomas; em frutos de mamão os sintomas apareceram quando inoculados isolados de mamão, manga e morango e em frutos de manga apenas um dos três isolados de abacate e um dos três isolados obtidos de mamão e todos os isolados de manga provocaram sintomas de podridão nos frutos inoculados.

A análise de variância mostrou também não

haver efeito significativo dentro dos isolados de abacate, dos de manga e dos de morango, o mesmo ocorrendo com os isolados que provocaram sintomas quando inoculados em frutos de banana. Por outro lado em frutos de mamão e manga, os isolados do mesmo hospedeiro apresentaram efeitos significativos.

Através desses resultados, podem-se caracterizar os isolados de *Colletotrichum* spp em diferentes níveis de patogenicidade, sendo que os isolados de abacate causam lesões de maior diâmetro em frutos de abacate, os isolados de banana causam lesões de maior diâmetro em frutos de banana e os isolados de mamão também são mais patogênicos à frutos de mamão.

Os isolados de manga, como consta no Quadro 4 do Apêndice, revelaram um efeito altamente significativo como resultado de sua inoculação em frutos de manga, em avaliações realizadas ao 7º dia. Porém não foi possível realizar o teste de Tukey para comparar os isolados provenientes dos hospedeiros que provocaram sintomas em frutos de manga, pois os isolados de manga foram praticamente os únicos patogênicos com exceção do isolado Aba 1 e Mam 4 que também provocaram sintomas em apenas duas repetições cada, o que impossibilitou o teste de comparações entre hospedeiros. As médias dos diâmetros das lesões externas, bem como as comparações entre hospedeiros são apresentados no Quadro 7.

Pode-se afirmar, com base nos resultados obtidos neste experimento (Quadro 7), que isolados de *Colletotrichum* spp obtidos de frutos de abacate, banana, mamão e manga são mais patogênicos quando inoculados em frutos de seus hospedeiros congêniais que isolados do mesmo fungo provenientes de hospedeiros não congêniais, o que se comprova através da média do diâmetro das lesões presentes nos diversos tipos de frutos inoculados neste experimento.

Os resultados de testes de patogenicidade em inoculações cruzadas, mostrando a especificidade de isolados de *Colletotrichum* (de abacate, banana, mamão e manga) em causar sintomas típicos de antracnose em seus hospedeiros congêniais como foram observado nas condições deste experimento, se assemelham com aqueles descritos por QUIMIO & QUIMIO (1975) para isolados de manga que foram patogênicos somente em frutos de manga apesar de apresentar graus variáveis de patogenicidade entre eles. Ensaios de inoculações cruzadas conduzidas por esses mesmos pesquisadores demonstram que isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* de manga, citrus e mamão causam sintomas nos três tipos de frutos no entanto variam na sua severidade. Eles concluem que possivelmente *C. gloeosporioides* é uma espécie representada por numerosas raças diferentes com uma ampla faixa de patogenicidade.

Resultados análogos foram encontrados por TAKATSU (1970) com isolados de *C. gloeosporioides* proveni

entes de mamão, abacate manga, os quais foram patogênicos quando inoculados em pimentão, beringela e jiló, sendo então consideradas formas fisiológicas distintas e por MENTEN (1977) trabalhando com isolados de *C. gloeosporioides* de cucurbitáceas, admitiu esse organismo como especializado em hospedeiros pertencentes a essa família de plantas e sugeriu a alteração de sua nomenclatura para *C. gloeosporioides* f.sp. *cucurbitae*. Da mesma forma BAJUNGU (1979) concluiu em seus estudos que apenas isolados congêniais de *C. gloeosporioides* de cebola, conseguiram causar doença em cebola, pelo que sugeriu a denominação de *C. gloeosporioides* f.sp. *cepae* para o fungo.

É interessante assinalar que outras espécies do gênero *Colletotrichum* também demonstraram ser patogênicas somente aos seus hospedeiros congêniais, como ocorreu em experimentos conduzidos por MINUSSI (1977) com *C. graminicola* de milho, sorgo, cana de açúcar e trigo.

Testes de inoculações cruzadas são importantes para indicar a especificidade de espécies de fungos do gênero *Colletotrichum* em relação a seus hospedeiros. Dessa maneira, ARX (1957) afirmava que muitas espécies desse gênero que não apresentavam diferenças em caracteres morfológicos deveriam possuir uma especialização biológica. Baseados nos resultados obtidos nos diferentes experimentos que fizeram parte desta pesquisa, notadamente em aqueles referentes as características morfológicas dos conídios os

que coincidiram com aqueles descritos por ARX (1957) para a espécie *Colletotrichum gloeosporioides*, podemos afirmar que os isolados obtidos de frutos de abacate, banana, ma mão, manga e morango aqui testados, correspondem a essa es pécie do gênero *Colletotrichum*.

Ao mesmo tempo, considerando os resultados obtidos no experimento de inoculação cruzada onde vários isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* empregados pro varam ser mais patogênicos em frutos de seus hospedeiros congêniais, demonstrando assim que são formas biologica mente diferentes na sua patogenicidade em relação aos ou tros hospedeiros. JOHNSON (1968) já afirmara que caracte^u rísticas fisiológicas como patogenicidade devem ser repre^u sentadas por formas especializadas, ou seja um taxon infe^u rior a espécie denominado *formae specialis*.

Retomando a proposta de MENTEN (1977) de al teração da nomenclatura de *Colletotrichum gloeosporioides* das cucurbitáceas para *C. gloeosporioides* sp *cucurbitae* e para as demais formas de *C. gloeosporioides* especializa das em outros hospedeiros, sugerimos que os agentes cau sais das antracnoses do abacateiro, bananeira, mamoeiro e mangueira, sejam denominados *C. gloeosporioides* r.sp. per sea; *C. gloeosporioides* f.sp. *musae*; *C. gloeosporioides* f.sp. *caricae* e *C. gloeosporioides* f.sp. *mangae* respectivamente. Quanto a antracnose do morango segundo MAAS(1985) várias espécies de *Colletotrichum* podem causar antracnose

com variados graus de patogenicidade tanto em estolões como em frutos. Apesar que *C. fragarie* e *C. gloe*osporioides foram considerados sinônimos por ARX (1957) , MAAS (1985) aponta que se o grau de virulência fosse utilizado como critério de classificação, *C. fragarie* representaria um grupo diferente, mostrando o alto grau de variabilidade que pode ser encontrado nos fungos que causam as antracnoses, portanto sugerimos continuar utilizando a denominação *C. gloeosporioides* sensu ARX (1957) até que sejam definitivamente aceitas outras denominações para o agente causal da antracnose do morango.

5. CONCLUSOES

. Isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* provenientes de frutos de abacate, banana, mamão, manga e morango possuem características morfológicas tais que se enquadram dentro dessa espécie.

. Isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* provenientes de morango apresentam características morfológicas, fisiológicas e patogênicas pouco diferentes aos de abacate, banana, mamão e manga.

. Todos os isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* testados são auxoautotróficos.

. Isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* provenientes de frutos de morango e manga são insensíveis à 100ppm de Benomyl *in vitro*.

. Isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* provenientes de frutos de abacate, banana, mamão, manga e morango, apresentam quase exclusivamente conídios uninucleados.

. Isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* provenientes de frutos de abacate, banana, mamão e manga são mais viru lentos (maior diâmetro de lesão externa) em testes de ino culações cruzadas aos frutos de seus respectivos hospedeiros congêniais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAM, D.B.; MC NEIL, J.; HANSON-MERZ, B.M.; MC CARTY, D.F.; STOKES, J. The stimulation of latent infection of oranges. **Australian J. Sci. Res.** 52 : 1-18, 1949.

ARX, J.A. von. Die arten der gattung *Colletotrichum* Cda . **Phytopathology Z**, Berlin, 29:413-468, 1957.

BAJUNGU, H.E. Caracterização patogênica, serológica e fisiológica de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. Piracicaba, 1979. 35p.(Mestrado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz"/USP).

BALMER, E. Doenças do abacateiro. In: GALLI, F. coord. **Manual de Fitopatologia. Doenças das plantas cultivadas.** São Paulo. Ed. Agronômica Ceres, 1980. vol.II , p. 9 - 16.

BALMER, E. Doenças da mangueira. In: GALLI, F. coord. **Manual de Fitopatologia. Doenças das plantas cultivadas.** São Paulo. Ed. Agronômica Ceres, 1980. vol II , p.364-370.

- BATSON, W.E. & ROY, K.W. Species of *Colletotrichum* and *Gloeomerella* pathogenic to tomato fruit. *Plant Disease*, Maryland, Beltsville, 66(12): 1153 - 1155, dez. 1982.
- BERANHA, L. & WRIGHT, W.R. A new anthracnose os strawberry caused by *Colletotrichum dematium*. *Plant Disease Reprtr.* Maryland, Beltsville, 57: 448 -455. 1973.
- BERGAMIN, FILHO, A. & KIMATI, H. Doenças do mamoeiro. In: GALLI, F. coord. *Manual de Fitopatologia. Doenças das plantas cultivadas*. São Paulo, Ed. Agronômica Ceres , 1980, Vol.II, p.338-346.
- BIRAGHI, A. Sul significato biológico dei presenti " apresori" nel gen. *Gloeosporium*. *Boll. R. Staz. di Pat.Veg. Italia*, 14: 202 - 210. 1934.
- BOLKAN, H.A.; CUPERTINO, F.P.; DIANESE, J.C.; TAKATSU, A. Fungi associated with pre and posthavest fruit rots of papaya and their control in Central Brazil. *Plant Dis. Reprtr.*, Maryland, Beltsville, 60(7): 605 -609. jul.1976.
- BROWN, G.E. Factors affecting postharvest development of *Colletotrichum gloeosporioides*. *Phytopathology*, St.Paul, Minnesota, 65: 404 - 409. 1975.
- CARDOSO, C.O.N. Doenças do morangueiro. In: GALLI, F. oord. *Manual de Fitopatologia. Doenças das plantas cultivadas* São Paulo. Ed. Agronômica Ceres, 1980, Vol. II, p.392-403.
- CARVALHO, P.C.T. Estudos sobre variabilidade e heterocario se em *Physalospora tucumanensis* Speg (*Colletotrichum falcatum* Went). Piracicaba, 1966. 79p.(Livre -docencia Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz"/USP).

- CHALFOUN, S.M. Doenças bananeira . **Informe Agropecuário**, Be
lo Horizonte, 6(63): 31 - 34. 1980
- CHALFOUN, S.M. Doenças da mangueira. **Informe Agropecuário**.
Belo Horizonte, 8(86): 35 - 37. 1982.
- CHALFOUN, S.M. Abacate. **Informe Agropecuário**, Belo Hori
zonte, 11(123): 27 - 29. 1985.
- CHAU, K.F. & ALVAREZ, A.M. A histological study of anthrac
nose on **Carica papaya**. **Phytopathology**, St. Paul, Minne
sota, 73(8):1113 - 1116, agost., 1983.
- CHIACCHIO, F.P.B. Mamão. **Informe Agropecuário**, Belo Hori
zonte, 11 (123): 27 - 29. 1985.
- CLINTON, G.P. Apple rots in Illinois. Univ. Ill. Agr. Exp.
Sta. bull. 69. 1902.
- COUEY, H.M. & ALVAREZ, A.M. comparison of hotwater spray
and immersion treatments for control of post harvest
decay of papaya. **Plant Disease**, Maryland, Beltsville
68 (5): 436 -437, maio. 1984.
- COURSEY, D.G.& BOOTH, R.H. The post-harvest phytopathology
of perishable tropical produce. **Review of Plant Pathology**,
54(12): 751 - 761, dez. 1973.
- DASTUR, J.F. Cotton anthracnose in Central Province, India.
Indian Phytopathology, New Delhi, 8: 52 - 57. 1934.
- DELP, B.R. & MILHOLLAND, R.D. Control of strawberry anthrac
nose with Captafol. **Plant Disease**, Maryland, Beltsville,
64(11): 1013 - 1015, nov. 1980.

- DELP, B.R. & MILHOLLAND, R.D. Evaluating strawberry plants for resistance to *Colletotrichum fragariae*. *Plant Disease*, Maryland, Beltsville, **64**(12): 1071 - 1073, dez.1980.
- DESMAZIERES, J.B.H.J. & MONTAGNE, J.C.F. Quatorzieme notice sur les plants cryptogames recemment decouvertes en France. *Annals Sci. Nat. Sér.* **3**: 295. 1849.
- DEY, P.K. Studies in the physiology of the apressorium in *Colletotrichum gloeosporioides*. *Ann. Botany*, **47**: 305 - 312. 1933.
- DICKMAN, M.B.; PATIL, S.S.; KOLATTUKUDY, P.E. Effects of organophosphorus pesticides on cutinase activity and infection of papaya by *Colletotrichum gloeosporioides*. *Phytopathology*, St. Paul, Minnesota, **73**(8): 1209- 1214, agos. 1983.
- DUKE, M.M. The genera *Vermicularia* Fr. and *Colletotrichum* Cda. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, Great Britain, **13**: 156- 184. 1928.
- EDGINGTON, L.V.; KHEW, K.L.; BARRON, G.L. Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds. *Phytopathology*, St. Paul , Minnesota, **61**: 42 - 44. 1971.
- EDNEY, K.L. Observations on the infection of Cox's orange Peppin apples by *Gloeosporium perennans* Zeller and Childs. *Ann. Appl. Biol.* **46**: 622 - 629. 1958.
- EMMETT, R.W. & PARBERY, D.G. Apressoria. *Ann. Rev. Phytopath.* **13**: 147 - 167. 1975.
- FIGUEIREDO, M.B. Infestação de oídio ou da antracnose tornam improdutivas as mangueiras. *Brasil-Oeste*, **10**(101) s/p 1965.

- FITZEL, R.D. *Colletotrichum acutatum* as a cause of anthracnose of mango in New South Wales. *Plant Disease Repr.*, Maryland, Beltsville, 63(12): 1067 - 1070, dez. 1979.
- GORDILLO QUESADA, L. & LOPEZ, H.E. Sexual form and culture media for *Colletotrichum gloeosporioides*, pathogen of mango in Cuba. *Ciências de la Agricultura, Cuba*, 7: 11 -37. 1980.
- GULLINO, M.L.; ROMANO, M.L.; GARIBALDI, A. Identification and response to fungicides of *Colletotrichum gloeosporioides* incitant of strawberry black rot in Italy. *Plant Disease*, Maryland, Beltsville, 69(7): 608 - 609, jul. 1985.
- GUPTA, J.P. & CHATRATH, M.S. Radiation induced biochemical mutation in *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. causing anthracnose of guava (*Psidium guajava* L.) *Mycopathologia*, 51(2/3): 2 - 17, 1973.
- HASSELBRING, H. The apressoria of the anthracnoses. *Botan. Gaz.* 42: 135 - 142, 1906.
- HORSFALL, J.G. & RICH, S. Differential action of compounds on spore germination and hyphal growth. *Phytopathology*, St. Paul, Minnesota, 43: 476, 1953.
- HORSFALL, J.G. Principles of fungicidal action. *Chronic Botany* Waltham Massachussets, 1958.279p.
- HOWARD, C.M. A strawberry fruit rot caused by *Colletotrichum fragariae*. *Phytopathology*, St. Paul, Minnesota, 62:600-602. 1972.

- HOWARD, C.M. & ALBREGTS, E.E. Black leaf spot phase of strawberry anthracnose caused by Colletotrichum gloeosporioides (= C. fragariae). Plant Disease, Maryland, Beltsville, 67(10): 1144 - 1146, out. 1983.
- HOWARD, C.M. & ALBREGTS, E.E. Anthracnose of strawberry fruit caused by Glomerella cingulata in Florida. Plant Disease, Maryland, Beltsville, 68(9): 824 - 825, set. 1984.
- IGARASHI, S. Sensibilidade a fungicidas e caracterização morfológica, patogênica e serológica de Colletotrichum spp. do morango (Fragaria spp). Piracicaba, 1984. 57p. (Mestrado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz"/USP).
- JACOBS, C.J.; BODRICK, H.T.; SWARTS, H.D.; MULDER, N.J. Control of postharvest decay of mango fruit in South Africa. Plant Disease Reprtr., Maryland, Beltsville, 57 (2): 173 - 176, fev. 1973.
- JOHNSON, T. Host specialization as a taxonomic criterion . In: AINSWORTH, C.C. & SUSSMAN, A.S., Ed. The Fungi and Advanced Treatise. New York. Academic Press. 1980. p. 543 - 546.
- KIMATI, H. Taxonomia, esporulação e patogenicidade de Colletotrichum graminicola (Ces) wils (Sensu Arx, 1957) Piracicaba, 1975. 103p. (Livre-docência- Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz"/USP).
- KIMATI, H. & GALLI, F. Doenças da bananeira. In: GALLI, F. coord. Manual de Fitopatologia. Doenças das plantas cultivadas. São Paulo. Ed. Agronômica Ceres, 1980. Vol.II, p. 87 - 101.

- LAPP, M.S. & SKOROPAD, W.P. Nature of adhesive material of *Colletotrichum graminicola* apressoria. Trans. Br. mycol. Soc., Great Britain, 70(2): 221 - 223, fev., 1978.
- LILLY, V.G. & BARNETT, H.L. *Physiology of the fungi*, New York, Mc Graw-hill Book Company Inc. 1951. 464p.
- LIMA, J.A.; MENEZES, M.; KARAM, M.Q.; OLIVEIRA, V.P. de.; RODRIGUEZ, M.G.R. Ação tóxica de alguns fungicidas sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz., agente da antracnose do cajueiro. *Fitossanidade*, Fortaleza 1(2): 62 - 66, fev. 1975.
- MAAS, J. . Variation of several anthracnose fungi in virulence to strawberry and apple. *Plant Disease*, Maryland, Beltsville, 69(2): 164 - 166, fev. 1985.
- MAEDA, K.M. An ultrastructural study of *Venturia inaequalis*(Cke) Wint infection of *Malus* trosts . Purdue University, 1970. 112p.(M.S.Thesis).
- MANANDHAR, J.B.; KUNWAR, I.K.; SINGH, T.; HARTMAN, G.L.; SINclair, J.B. Penetration and infection of soybean leaf tissues by *Colletotrichum truncatum* and *Glomeralla glycines*. *Phytopathology*, St. Paul, Minnesota, 75(6):704-708, jun, 1985.
- MARTINEZ, J.A.; REZENDE, L.O.C.; FAZIO, G.M. de. Experiência para o controle da podridão da antracnose do fruto morangueiro. *O Biológico*, São Paulo, 28(10): 296 -299 , out. 1962.

- MARTINEZ, J.A. Problemas fitossanitários da bananicultura na América Central e no Caribe e algumas considerações sobre os mesmos nos bananais do Estado de São Paulo. *O Biológico*. São Paulo, 40(6): 184 - 189. 1974.
- Mc KEEN, W.E.; SMITH, R.; BATTACHARYA, P.K. Alterations of the host wall surrounding the infection peg of powdery mildew fungi. *Can. J. Bot.*, Ottawa, 47: 701 - 706. 1969.
- MENA, A. J.; GARCIA, M.E.P. de.; GONZALEZ, M.A. Presencia de la antracnosis de la frutilla en la República Argentina. *Rev. Agron. N.O. Argent.*, Tucumán, 11(3/4): 307-312, mar/abril. 1974.
- MENTEN, J.O.M.; MACHADO, C.C.; MINUSSI, E.; CASTRO, C. ; KIMATI, H. Efeito de alguns fungicidas no crescimento micelial da *Macrophomina phaseolina* (Tass) Goid. " in vitro ". *Fitopatologia brasileira*. 1: 57 - 66. 1976.
- MENTEN, J.O.M. Morfologia, patogenicidade e serologia de *Colletotrichum gloeosporioides*. F. SP. *cucurbitae* (BERK ET MONT) N. COMB. e resistência em melancia (*Citrullus vulgaris* SHRAD) e Pepino (*Cucumis sativus* L.). Piracicaba, 1977. 98p. (Mestrado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz"/USP).
- MILHOLLAND, R.D. histopathology of strawberry infected with *Colletotrichum fragarie*. *Phytopathology*, St. Paul, Minnesota, 72(11): 1434 - 1439, nov, 1982.
- MINUSSI, E. Taxonomia e esporulação de *Colletotrichum graminicola* (Ces) Wils (Sensus ARX, 1957) e patogenicidade em sorgo *Sorghum bicolor* (L) Moench. Piracicaba, 1977. 78p. (Doutorado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz"/USP).

- MITIDIERI, I.Z.M. de. La antracnosis de la albahaca (*Ocimum basilicum* L.) causada por *Colletotrichum gloeosporioides* Penz y su forma sexual *Glomerella cingulata* (Stonen) Spaulding e V. Schrenk. *Revista de Investigaciones Agropecuarias*, Argentina, 5 10(2):99 - 108. fev. 1973.
- MORRIS, M.J. Evaluation of field trials with *Colletotrichum gloeosporioides* for the biological control of *Haakea sericea*. *Phytophylactica*, South Africa, 15(1):13 - 16. 1983.
- PEACOCK, B.C. & MUIRHEAD, I.F. Ethylene production by *Colletotrichum musae*. *Queen. Sland Journal of Agricultural and Animal Science*, Austrália, 31(3): 249 - 252 , marc. 1974.
- PONTECORVO, G.; ROPE, J.A.; HEMMON, L.M.; Mc DONALD, K.D.; BUFTON, A.W.J. the genetics of *Aspergillus nidulans*. *Advances in genetics*, New York, 5: 141 - 231. 1953.
- PRASAD, N.; AGNIHOTRI, J.P.; SINGH, R.D. Speciation in the genus *Colletotrichum*. In: 1st International Symposium of Plant Disease, 1., New Delhi, 1967. p. 221 - 224.
- PREECE, T.F. & DICKINSON. *Ecology of leaf surface microorganisms*. Academic Press. London. 109p.
- PRUSKY, D.; KEEN, N.T.; SIMS, J.J.; MIDLAND, S. Possible involvement of an antifungal diene in the latency of *Colletotrichum gloeosporioides* on unripe avocado fruits. *Phytopathology*, St. Paul, Minnesota, 72(12): 1578 - 1582 dez. 1982.

- QUIMIO, A.J. & QUIMIO, T.H. Postharvest control of Philippine mango anthracnose by benomyl. Philippine Agriculturist, Laguna, 58(3/4): 147 - 155, mar/abril. 1974.
- QUIMIO, T.H. Mango anthracnose and low temperature storage. Philippine Agriculturist, Laguna, 58(5/6): 192 - 199 , maio/jun. 1974.
- QUIMIO, T.H. Studies on growth, sporulation and spore germination of Colletotrichum gloeosporioides Penz. Philippine Phytopathology, 9(1/2): 53 - 58. jan/fev., 1975.
- RAMAKRISHNAN, T.S. Studies in the genus Colletotrichum II . Physiological studies on Colletotrichum falcatum Went. Proc. Indian Academic Sci., 25B: 15- 27. 1941.
- RAMAKRISHNAN, T.S. Studies in the genus Colletotrichum III. Proc. Indian Acad. Sci. 25B: 15 - 27. 1947
- RAWLINGS, T.E. Phytopathological and Botanical Research Methods. New York, John Wiley & Sons Inc. 1933. 156p.
- ROBINOW, C.F. Nuclear apparatus and cell structure of rod - shaped bacteria. Addendum In: DUBOS, R.J. The bacterial cell, Cambridge, Harvard University Press, 1945. p.353-377.
- SAMPAIO, A.S. Sem doenças o abacateiro promete expansão . A Lavoura, São Paulo, 81(9/10) set/out. 1977.
- SAMPAIO, J.M.N. & RODRIGUEZ, J.A.S. Manga. Informe Agropecuário. Belo Horizonte, 11(123): 30 - 32. 1985.
- SCHRENK, H.V. & SPAULDING, P. The bitter-rot of apples. U.S.D.A. Bureau of Plant Industry, Bull 44. 1903. 54p.

- SHANE, W.W. & Sutton, T.B. Germination, Apressorium formation, and infection of immature and mature apple fruit by *Glomerella cingulata*. *Phytopathology*, St. Paul, Minnesota, 71(4): 454 - 457, abril. 1981.
- SHARVELLE, E.C. Sorghum diseases in Brazil. In:INTERNATIONAL SORGHUM WORKSHOP.. Mayagüez, Puerto Rico. 1975. p. 212 - 222.
- SHEAR, C.L. & WOOD, A.K. Ascogenous forms of *Gloeosporium* and *Colletotrichum*. *Bot GAZ* 43: 259 - 266. 1907.
- SHEAR, C.L. & WOOD, A.K. Studies of fungous parasites belonging to the genus *Glomerella*. U.S.D.A. Bureau of Plant Industry. Bull 252. 1913. 110p.
- SHILLINGFORD, C.A. & SINCLAIR, J.B. Macerating enzyme production by *Colletotrichum musae* and *Fusarium semitectum* incitans of banana fruit decay. *Phytopatolgy Z*, Berlim, 97(2): 127 - 135, fev. 1980.
- SIMMONDS, J.H. Latent infection in tropical fruits discussed in relation to the part played by species of *Gloeosporium* and *Colletotrichum* . *Proc. Roy. Soc., Queensland*,52:99 - 121. 1941.
- SIMMONDS, J.H. Studies in the latent phase of *Colletotrichum* species, causing ripe rots of tropical fruits. *Queensland J. Agri. Sci*, Austrália,20: 373 - 424.1963.
- SIMMONDS, J.H. A study of the species of *Colletotrichum* causing ripe fruit rots in Queensland. *Queensland Journal of Agricultural and Animal Sciences*, Austrália,22: 437- - 459. 1965

- SIMAO, S. Doenças que reduzem a frutificação das mangueiras. *Boletim de Agricultura*, Minas Gerais, 9(3/4):53-56, abril/maio, 1960.
- SKOROPAD, W.P. Effect of the temperature on the ability of *Colletotrichum graminicola* to forma apressoria and penetrate barley leaves. *Can.J. Plant. Sci.* Edmonton, Alberta, 47: 431 - 434. 1967.
- SNYDER, W.C. & HANSEN, H.N. The species concept in *Fusarium*. *Ann.J. Botany*, Washington, 27: 64 - 67. 1940.
- SNYDER, W.C. & TOUSSON, T.A. Current status of taxonomy in *Fusarium* species and their perfect stages. *Phytopathology*, St. Paul, Minnesota, 55: 833 - 837. 1965.
- SOHI, H.S.; SOHI, S.S.; TIWARI, R.P. Studies on the storage rot of mango caused by *Colletotrichum gloeosporioides* Penz and its control. *Phytopathologia Mediterranea*, 12 : 114 - 116. 1973.
- SPALDING, D.H. Resistance of mango pathogens to fungicides used to control postharvest diseases. *Plant Disease*, Maryland, Beltsville, 66(2): 1185 - 1186. fev. 1982.
- STAVELY, J.R.; PILLAI, A.; HANSON, E.W. Eletron microscopy of the development of *Erysiphe poligony* in resistant and suscetible *Trifolium pratense*. *Phytopathology*, St. Paul, Minnesota, 59: 1688 - 1693. 1969.
- SUTTON, B.C. *Colletotrichum dematium* (Pers ex Fr.). Grove and *C. trichellum* (Fr. ex Fr) Duke. *Trans.Brit.Mycol. Soc.* Great Britain, 45: 222 - 232. 1962.

- SUTTON, B.C. The apressoria of *Colletotrichum graminicola* and *C. falcatum*. *Can.J. Botany*, Ottawa, Canada, 46:873-876. 1968.
- SWINBURNE, T.R. Stimulants of germination and apressoria formation by *Colletotrichum musae* (Berk & Curt) Arx in Banana Leachate. *Phytopatology Z*, Berlim, 87(1): 74 - 90. 1976.
- TAKATSU, A. Estudo sobre os agentes causais das antracoses dos frutos de pimentão (*Capsicum annum* L.), berinjela (*Solanum melongena* L.), e jiló (*Solanum gilo* Raddy) que ocorrem nos núcleos rurais do Distrito Federal. Piracicaba, 1970. 69. (Doutoramento - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiróz"/USP).
- TARR, S.A.J. Diseases of sorghum, sudan grass and broom corn. Kew, Surrey. The Commonwealth Mycological Institute, 1962. 380p.
- TENCKHOFF, V. Studies on the biology of the agents causing anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz) and eye spot disease (*Cercospora coffeicola* Berk & coke) in the Republic of Cuba, *Beitrage zur Tropischen Landwirtschaft and Veterinarmedizin*, Leipzig, 20(1): 75 - 84, 1982. Apud Microbiological Abstract C 12 1681.
- TIFFANY, L.H. & GILMAN, J.C. Species of *Colletotrichum* from legumes. *Mykologia*, 46:52 - 75: 1954.
- TUITE, J. Plant Pathological Methods, Fungi and Bacteria. Mineneapolis, Burgess Publishing Company, 1969. 239p.

WASTIE, R.L. Secondary leaf fall of *Hevea brasiliensis*: meteorological and other factors affecting infection by *Colletotrichum gloeosporioides*. *Ann. of Applied Biology*, 72(3): 283 - 293. 1972.

WHEELER, B.E.J. Fungal parasites of plants. In: AINSWORTH, C.C. & SUSSMAN, ed. *The Fungi - An advanced Treatise*. New York and London Academic Press, 1968. p. 179 -210.

WICKS, T. Tolerance to Benzimidazole fungicides in blue mold (*Penicillium expansum*) on pears. *Plant Dis.Reptr.* Maryland, Beltsville, 61(6): 447 - 449, jun. 1977.

Quadro 1 - Análises de variância do comprimento e largura de conídios de *Colletotrichum* spp isolados de frutos de abacate, banana, mamão, manga e morango

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Comprimento		Largura	
		QM(quadrado médio)	F	QM	F
Hospedeiro	4	8,00592	12,57**	1,53530	6,84**
Isolado (Hospedeiro)	10	0,63706	2,10ns	0,22448	3,43**
isol(abacate)	2	0,26565	ns	0,12275	1,88ns
isol(banana)	2	0,12350	ns	0,22275	3,41*
isol(mamão)	2	0,28875	ns	0,10565	1,62ns
isol(manga)	2	1,27545	4,20*	0,02309	ns
isol(morango)	2	1,23275	4,06*	0,63657	9,74**
Resíduo	30	0,30360		0,06535	
CV		4,0%		5,3%	
Média		13,77		4,77	

Quadro 2 - Análises* de variância do comprimento e da largura de Apressórios de Colleto tricum spp obtidos de frutos de abacate, banana, mamão, manga e morango.

Fonte de Variação	Graus de liberdade	Comprimento		Largura	
		QM	F	QM	F
Hospedeiro	4	17,26175	8,71**	9,64620	9,73**
Isolado (Hospedeiro)	10	1,98151	1,36ns	0,99132	1,01ns
isol(abacate)	2	2,21475	1,52ns	0,82845	ns
isol(banana)	2	0,34275	ns	2,2614	2,30ns
isol(mamão)	2	0,95165	ns	0,74088	ns
isol(manga)	2	4,59810	3,16*	0,41720	ns
isol(morango)	2	1,80000	1,24ns	0,70894	ns
Resíduo	75	1,45680		0,98137	
CV		12,9%		12,6%	
Média		9,34		7,88	

Quadro 3 - Análises de variância do número* (n) de discos de folhas de abacateiro e do número de discos de folhas de mangueira com sintomas após 144 horas da inoculação com suspensão de conídios de *Colletotrichum* spp., de 14 isolados de frutos de 5 hospedeiros.

Fonte de variação	Graus de liberdade	Folha de abacateiro		Folha de mangueira	
		QM	F	QM	F
Hospedeiro	4	1,147330	5,55*	1,921323	9,71**
Isolado (Hospedeiro)	9	0,255123	3,27**	0,197810	3,90**
isol(abacate)	2	0,044616	ns	0,158501	3,13ns
isol(banana)	2	0,034960	ns	0,078147	1,54ns
isol(mamão)	2	0,033769	ns	0,057118	1,13ns
isol(manga)	2	0,250332	3,21*	0,219111	4,32*
isol(morango)	1	1,568752	20,12**	0,754544	14,88**
Resíduo	41	0,077957		0,050700	
CV		34,7%		27,3%	
Média		0,804169		0,823473	

Quadro 4 - Análises* de variância da média do diâmetro maior e menor das lesões exter nas nos frutos de abacate, banana, mamão e manga inoculados com diferentes isolados de *Colletotrichum* spp.

Fonte de Variação	Abacate aos 13 dias				Banana aos 6 dias				Mamão os 8 dias				Manga aos 7 dias			
	gl	QM	F		gl	QM	F		gl	QM	F		gl	QM	F	
Hospedeiro	2	13,86482	57,07**		2	10,33180	68,81**		4	1,72474	1,85 ns		2	1,92792	1,64ns	
Isolado(Hospedeiro)	6	0,24292	ns		5	0,15014	1,38ns		5	0,93104	2,00ns		-	-	-	
isol(abacate)	2	0,42333	ns		2	0,19511	1,80ns		-	-	-		-	-	-	
isol(banana)	-	-	-		2	0,09052	ns		-	-	-		-	-	-	
isol(mamão)	-	-	-		-	-	-		2	2,21700	4,77*		-	-	-	
isol(manga)	2	0,15828	ns		-	-	-		1	0,02012	ns		2	1,17271	7,65**	
isol(morango)	2	0,14729	ns		1	0,17645	1,62ns		2	0,10054	ns		-	-	-	
Resíduo	21	0,75174			20	0,10866			22	0,46509			11	0,14756		
CV		48,8%				21,6%				46,6%				16,4%		
Média		1,78				1,52				1,46				2,34		

Modelo: