Colletotrichum gloeosporioides (**sensu** ARX, 1957) EM
SERINGUEIRA (*Hevea* spp.): IDENTIFICAÇÃO,
PATOGENICIDADE E CONTROLE

PALMIRA REGINA RIGHETTO ROLIM
Engenheiro Agrônomo

Orientador : Prof. Dr. HIROSHI KIMATI

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

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Fevereiro - 1991

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Livros da Divisão de
Biblioteca e Documentação - PCLQ/USP

R748c Rolim, Palmira Regina Righetto
Colletotrichum gloeosporioides (sensu ARX, 1957) em
seringueira (*Hevea* spp.) : identificação,
patogenicidade e controle. Piracicaba, 1991.
56p.

Tese - ESALQ
Bibliografia.

1. Antracnose da seringueira 2. Fungo fitopatogênico 3.
Seringueira Doença - Controle I. Escola Superior de
Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

CDD 632.44
633.895

Colletotrichum gloeosporioides (sensu ARX, 1957) EM
SERINGUEIRA (*Hevea* spp.): IDENTIFICAÇÃO,
PATOGENICIDADE E CONTROLE

PALMIRA REGINA RIGHETTO ROLIM

APROVADA EM : 03.4.1991

COMISSÃO JULGADORA :

Prof. Dr. Hiroshi Kimati	ESALQ / USP
Prof. Dr. Clélio Lima Salgado	ESALQ / USP
Prof. Dr. José Otávio Machado Menten	ESALQ / USP
Prof. Dr. Modesto Barreto	FCA / UNESP
Dra. Rosa Maria Gayoso Cardoso	I.BIOLÓGICO

Prof. Dr. HIROSHI KIMATI
Orientador

Para a

***memória de Pai, Valentim,
minha Mãe, D.Lina,
Guilherme e Raquel,
meus filhos
José, meu marido,***

***dedico este trabalho e
todo esforço nele empenhado.***

AGRADECIMENTOS

Agradeço profundamente às pessoas e entidades que colaboraram para a realização deste trabalho e, de modo especial, às seguintes :

Prof. Dr. Hiroshi Kimati, pela valiosa orientação, sugestões e apoio;

Departamento de Fitopatologia de Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, pela oportunidade de realização do curso;

Dra. Rosa Maria Gayoso Cardoso, da Seção de Fungicidas do Instituto Biológico, pelo apoio técnico e incentivo prestados em todas as etapas do trabalho;

Dr. Francisco Brignani Neto, Chefe de Seção de Fungicidas do Instituto Biológico, pelo necessário apoio administrativo;

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP, pela concessão de recursos necessários à execução da parte experimental da pesquisa;

Drs. Arlindo Pinheiro da Silveira, Edson Luís Furtado e Marly de Fátima Stradioto, pelo fornecimento de isolados e de material vegetal para isolamento de *Colletotrichum* sp.;

Srs. Luís Takitani, da Fazenda Mundo Novo, e Marcos Simões da Costa, da Fazenda Umuarama; Drs. Luís Roberto Vicário, da CAM - Agropecuária Ltda., Camilo Cesara Scotone, do Sítio Alfa e José Maria das Neves, da Phidias Santana Agropecuária, pelo fornecimento de mudas dos clones de seringueira;

Dr. Domingos de Azevedo Oliveira, Chefe da Seção de Bioestatística do Instituto Biológico, pelas discussões e sugestões no delineamento experimental;

Drs. Antonio Carlos Dias de Toledo e Harumi Hojo, do Instituto Biológico, pelo apoio e colaboração na infra-estrutura ;

Bibliotecários Walter Graeber e Edméa S. C. Pagano e Srs. Maria Aparecida C. Andrade, Divalda Poletto e Douglas S. Rosa, da Biblioteca do Instituto Biológico, pelo empenho e eficiência na obtenção de grande parte da literatura consultada;

Funcionários da Seção de Fungicidas, particularmente Aidir Beltrão Gayoso, Francisco Beloso Garcia e Therezinha Moreira da Costa, pelo auxílio prestado em todas as fases do trabalho;

Guilherme e Raquel Righetto Rolim e José Odorico Rolim, pelo auxílio no preparo dos originais e reprodução do trabalho.

SUMÁRIO

Assunto	Página
ÍNDICE DE TABELAS	viii
RESUMO	1
SUMMARY	2
1. INTRODUÇÃO	3
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	5
2.1. Nomenclatura e taxonomia do patógeno.....	5
2.2. Descrição da doença.....	7
2.3. Denominação da doença	9
2.4. Controle	11
3. MATERIAL E MÉTODO	15
3.1. Isolados de <i>Colletotrichum</i> sp. utilizados.....	15
3.2. Meios de cultura utilizados.....	15
3.3. Manutenção das culturas.....	16
3.4. Manutenção das mudas de seringueira	16
3.5. Preparo do inóculo	16
3.6. Estudos para identificação de espécie.....	18
3.6.1. Características culturais - crescimento radial de micélio	18
3.6.2. Efeito do substrato sobre dimensões dos conídios	19
3.6.3. Morfologia de conídios	20
3.7. Incidência de <i>Colletotrichum</i> sp. em amostra de sementes de seringueira	20
3.8. Incidência de <i>Colletotrichum</i> sp. em látex	21
3.9. Estudos de patogenicidade de <i>Colletotrichum</i> sp. a seringueira	21

3.9.1. Inoculação comparativa em distintas regiões da superfície foliar.....	21
3.9.2. Efeito de ferimentos sobre a inoculação em ramos	22
3.9.3. Patogenicidade de isolados a tecido foliar do clone RRIM 600	23
3.9.4. Patogenicidade de isolados a caule do clone RRIM 600	23
3.9.5. Reação de clones com a inoculação em folha.....	24
3.9.6. Reação de clones à inoculação em caule.....	24
3.10. Estudos visando controle de antracnose de seringueira.....	24
3.10.1. Sensibilidade de <i>Colletotrichum</i> sp. a diversos fungicidas <i>in vitro</i>	24
3.10.2. Sensibilidade de <i>Colletotrichum</i> sp. a dois benzimidazóis <i>in vitro</i>	26
3.10.3. Efeito de fungicidas sobre a severidade de antracnose em painel	26
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
4.1. Identificação de espécie.....	28
4.1.1. Crescimento radial de micélio.....	28
4.1.2. Efeito de substrato sobre dimensões dos conídios	28
4.1.3. Morfologia de conídios e identificação de espécie	31
4.2. Incidência de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> e outros fungos sobre sementes de seringueira.....	34
4.3. Incidência de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> em látex	36
4.4. Patogenicidade de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> a seringueira	36
4.4.1. Influência da região da superfície foliar sobre a resposta à inoculação	36
4.4.2. Efeito de fermento sobre a infecção de ramos	37
4.4.3. Patogenicidade de isolados a tecido foliar do clone RRIM 600	38
4.4.4. Patogenicidade de isolados a caule do clone RRIM 600.....	40

4.4.5. Reação de clones à inoculação em folha	40
4.4.6. Reação de clones à inoculação em caule	43
4.5. Efeito de fungicidas sobre a antracnose de seringueira	44
4.5.1. Sensibilidade de <i>Colletotrichum</i> sp. a fungicidas <i>in vitro</i>	44
4.5.2. Sensibilidade de <i>Colletotrichum</i> sp. a dois benzimidazóis <i>in vitro</i>	46
4.5.3. Efeito de fungicidas sobre a severidade de antracnose em painel de sangria	47
5. DISCUSSÃO GERAL	48
6. CONCLUSÕES	50
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela	Título	Página
1	Isolados de <i>Colletotrichum</i> sp. obtidos de <i>Hevea</i> spp. e estudados quanto à morfologia, patogenicidade e sensibilidade a fungicidas	17
2	Fungicidas empregados no ensaio de sensibilidade de três isolados de <i>Colletotrichum</i> sp	25
3	Fungicidas aplicados no ensaio para controle de antracnose em painel de sangria do clone RRIM 600	27
4	Diâmetro (mm) de colônias de <i>Colletotrichum</i> sp. aos seis dias de desenvolvimento a 24°C	29
5	Dimensões (µm) de conídios de quatro isolados de <i>Colletotrichum</i> sp. desenvolvidos em três substratos	30
6	Características morfológicas qualitativas dos conídios de <i>Colletotrichum</i> sp. produzidos em folha de <i>Hevea</i> sp.	32
7	Dimensões de conídios de <i>Colletotrichum</i> sp., produzidos em folha de <i>Hevea brasiliensis</i>	33
8	Incidência dos gêneros de fungos detectados em sementes de <i>Hevea brasiliensis</i> pelo método do papel-de-filtro com assepsia	34
9	Porcentagem de lesões em discos foliares de <i>Hevea brasiliensis</i> inoculados com <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	37
10	Índice de doença em ramos de <i>Hevea</i> spp. inoculados com <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> ...	38
11	Porcentagem de lesões em discos de foliares do clone RRIM 600 inoculados com <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	39

12	Índices de doença (%) produzida em ramos verdes de três clones de <i>Hevea</i> sp. inoculados com <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	41
13	Porcentagem de lesões em discos foliares de <i>Hevea</i> spp. inoculados com <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	42
14	Comprimento (mm) de lesões em caule verde de <i>Hevea</i> spp.inoculado com <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	43
15	Inibição de crescimento micelial de três isolados de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> em meio de BDA contendo fungicidas	45
16	Inibição de crescimento micelial de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> por benzimidazóis em meio de BDA.....	46
17	Severidade de antracnose causada por <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> em painel de sangria de clone RRIM 600 submetido a tratamentos fungicidas.....	47

***Colletotrichum gloeosporioides* (sensu ARX, 1957) EM SERINGUEIRA (*Hevea* spp.) : IDENTIFICAÇÃO , PATOGENICIDADE E CONTROLE**

Autora : Palmira Regina Righetto Rolim

Orientador : Prof. Dr. Hiroshi Kimati

RESUMO

Diante da crescente incidência de antracnose em *Hevea* spp., ocorrendo principalmente em painel de sangria, e tendo sido relatadas três espécies do gênero *Colletotrichum* associadas a essa cultura, os objetivos do trabalho foram: identificar a espécie de *Colletotrichum* sp. isolado de seringueira; conhecer a incidência desse fungo em sementes e látex; determinar a patogenicidade de *Colletotrichum* sp. a clones recomendados para o Sudeste brasileiro; e selecionar fungicidas visando o controle da antracnose.

Testes de sanidade de sementes e plaqueamento de látex apontaram presença de fungos do gênero *Colletotrichum*, cujos isolados foram incluídos no estudos posteriores.

Isolados de folha, ramo, painel de sangria, colo, sementes e látex de seringueira, de diversas localidades, foram obtidos e estudados sob aspectos culturais, morfológicos, de patogenicidade e sensibilidade a fungicidas.

Evidenciou-se a grande variabilidade existente entre os isolados, sob as diversas características estudadas. Entretanto, todos os isolados foram identificados como pertencendo à espécie *C.gloeosporioides* (sensu ARX, 1957). A presença de ferimento em ramos verdes inoculados mostrou ser altamente favorável ao aumento da severidade de antracnose. A inoculação em caule verde demonstrou maior suscetibilidade do clone RRIM 600, em relação ao Fx 3028. Os clones GT 1, IAN 873 e PB 235 não diferiram estatisticamente de ambos. Inoculações efetuadas em discos foliares de sete clones, com três isolados, indicaram a existência de interação significativa entre isolados e clones, sendo que, em média, o RRIM 600 foi o menos infectado em tecido foliar e Fx 3028 e GT 1, os mais infectados.

Os fungicidas procloraz, propiconazole e tebuconazole inibiram completamente o crescimento micelial dos isolados, *in vitro*, a partir de 10 ppm e anilazine, a partir de 100 ppm. Pulverizações de painel de sangria com tebuconazole na dose de 400 ml/100 l de água, em intervalos de duas semanas, reduziram a severidade de antracnose.

Colletotrichum gloeosporioides (sensu ARX, 1957) ON RUBBER TREE
(*Hevea* spp.) : IDENTIFICATION, PATHOGENICITY AND CONTROL

Author : Palmira Regina Righetto Rolim

Adviser : Prof. Dr. Hiroshi Kimati

SUMMARY

In order to control the increasing incidence of anthracnosis on *Hevea* spp. occurring mainly on tapping pannel, and having been related three species of *Colletotrichum* infecting rubbertree, the purposes of the research were: to identify the species of *Colletotrichum* isolated from *Hevea* spp; to know the incidence of this fungus on seeds and latex; to determine its pathogenicity to clones recommended for Brazilian South Eastern region; and to select fungicides for anthracnosis control.

Seed pathology and latex tests revealed the incidence of *Colletotrichum* and the isolates obtained were included in later studies.

Isolates of the pathogen were obtained from leaves, stems, tapping pannels, seeds and latex, from several localities and studied as to cultural, morphologic, pathogenic and fungicide sensitivity aspects.

Evidence on the great variability among pathogenic isolates as to various aspects was recorded. Even so, all of the isolates were identified as belonging to the species *C. gloeosporioides* (sensu ARX, 1957). Woundings on inoculated green branches showed to be highly favourable to increase anthracnosis severity. Inoculation on green stem evidenced higher susceptibility of RRIM 600 clone than Fx 3028. GT 1, IAN 873 and PB 235 clones did not statistically differ from both. Inoculations on foliar discs of seven clones with three isolates indicated the existence of significant interaction between isolates and clones and revealed RRIM 600 as the least infected and GT 1 and Fx 3028 as the most ones.

Prochloraz, propiconazole and tebuconazole completely inhibited micelial growth of isolates, even at 10 ppm dosis. Anilazine completely inhibited at 100 ppm. Sprayings of tapping pannel with tebuconazole at 400 ml/100 l at two week intervals reduced anthracnosis severity.

1.INTRODUÇÃO

Originária da região amazônica, a seringueira (*Hevea spp.*) no Brasil é responsável pela produção de 0,68% da borracha natural produzida em todo o mundo. O Estado de São Paulo tem uma área de 23 820 ha ocupada pela heveicultura, compreendendo 1 600 000 árvores em produção e 10 720 000 árvores que não entraram ainda em sangria (INFORMAÇÕES ECONÔMICAS, 1990), observando-se um notável crescimento de cultura a cada ano que passa.

A ocorrência de fungos do gênero *Colletotrichum* associados a seringueira tem sido freqüentemente relatada, causando doenças em praticamente todas as regiões do mundo onde se desenvolve a heveicultura (CARPENTER & STEVENSON, 1954; SACCAS, 1959; TEJADA, 1983). Na Malásia, principal produtor mundial de látex, e em outros países do Oriente, *Colletotrichum gloeosporioides* (sensu ARX, 1957) é o principal responsável pela queda secundária das folhas, que constitui o mais sério problema sanitário da heveicultura naquela região.

A antracnose causada por *C. gloeosporioides* foi constatada no Amazônia (WEIR, 1926; LANGFORD, 1953) e Estado da Bahia, as duas principais regiões produtoras de látex do país (WASTIE, 1978), apresentando queda de folhas e brotações novas e morte descendente de ramos. Tal incidência vem sendo observada de forma progressiva (GASPAROTTO *et alii*, 1983).

No Estado de São Paulo, o primeiro surto de antracnose em seringueira, causada por *C. gloeosporioides*, foi relatado em 1987 (SILVEIRA & CARDOSO, 1987). Desde então outros ataques têm sido detectados, causando severos danos pela queda de brotações novas, morte descendente de ramos e formação de lesões no painel de sangria. A antracnose do painel foi relatada pela primeira vez por SILVEIRA *et alii* (1989), que constatarem a doença em Tupã, SP, e posteriormente em dez municípios das regiões agrícolas de Marília, São José do Rio Preto e Bauru, no Estado de São Paulo.

A mais grave doença da seringueira é a queima-de-folhas, causada pelo fungo *Microcyclus ulei* (P.Henn)Arx, que é limitante para o estabelecimento da cultura, nas áreas onde as condições climáticas são favoráveis à doença. Sua incidência é restrita às Américas do Sul e Central. Além desta, a requeima, causada por *Phytophthora spp.*, tem-se mostrado devastadora na Bahia, destruindo muitas culturas destinadas à produção de sementes, causando

enormes prejuízos (BERGAMIN & CARDOSO, 1980). Esses autores, referindo-se à antracnose, salientaram que a mesma tem sido constatada no Vale Amazônico, onde muitas vezes tem se mostrado mais destrutiva que a queima-de-folhas e a requeima. CHEE & WASTIE (1980) observaram a incidência de queda secundária de folhas, causada por *C. gloeosporioides*, no Vale Amazônico, considerando-a como doença provavelmente mais comum do que talvez seja reconhecido, e salientaram que ela pode assumir grande importância na América tropical, pela introdução de clones modernos, em plantios em larga escala.

Observa-se na região Sudeste do país, especialmente em São Paulo, uma expansão da heveicultura, particularmente nas chamadas zonas de escape da queima-de-folhas. Considerando-se a freqüente incidência de *Colletotrichum* sp. em seringueira, estudos devem ser desenvolvidos sobre esse patógeno frente aos diversos clones, a fim de se adotarem medidas integradas, na implantação de novos seringais e na condução dos já existentes, de tal modo que, no intuito de controlar doenças mais graves, não seja provocado um desequilíbrio que possa favorecer o caráter epidêmico de uma doença potencialmente importante como a antracnose.

Diversas espécies de *Colletotrichum* foram relatadas infectando *Hevea* spp., como *C. gloeosporioides* (sensu Arx), *C. dematium* (Pers.ex Fr.)Grove e *C. crassipes* (Speg.) Arx, com diferentes níveis de patogenicidade (WASTIE & JANARDHANAN, 1970). Para um adequado desenvolvimento de medidas de controle - principalmente quanto à seleção de cultivares e aplicação de fungicidas - estudos devem ser conduzidos sobre o patógeno e a doença por ele induzida, nas condições brasileiras. Nesse sentido, este trabalho teve por objetivo: identificar a espécie de *Colletotrichum* isolado de diversas partes da planta; conhecer a incidência de *Colletotrichum* sp. em látex e em sementes de seringueira; determinar a patogenicidade de *Colletotrichum* sp. a clones recomendados para o Sudeste brasileiro; e selecionar fungicidas visando o controle de infecção por *Colletotrichum* em seringueira.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Nomenclatura e taxonomia do patógeno

O gênero *Colletotrichum* Corda refere-se a um fungo da sub-divisão Deuteromycotina, classe Coelomycetes (AINSWORTH, 1971), cujos conídios são unicelulares, hialinos, elípticos, cilíndricos ou fusiformes; eretos ou falcados, formados em acérvulos e com a característica de formarem apressórios (ARX, 1957; SUTTON, 1980). A presença de setas sobre os acérvulos constituiu, durante muitos anos, a diferenciação entre *Colletotrichum* Corda e o gênero *Gloeosporium* Desm. e Mont. (Saccardo¹, citado por ARX, 1957; SACCAS, 1959). Esses dois gêneros, atualmente considerados sinônimos, representam a fase conidial de *Glomerella* v. Schrenk e Spaulding (SHEAR & WOOD, 1913).

Conforme relatado por ARX (1957), o gênero *Gloeosporium* foi descrito pela primeira vez em 1849, com a espécie-tipo *G. castagnei* Desm. & Mont. . Segundo a descrição de von Hohnel, feita em 1910, esse fungo tem conídios bicelulares, tendo sido descrito em 1884 por Saccardo como *Marssonina castagnei* (Desm. & Mont.) Sacc., do gênero *Marssonina*, sin. *Marssonina* Magr. A partir desse fato, ARX (1957) concluiu ser *Marssonina* idêntica a *Gloeosporium*. Por outro lado, Saccardo, em 1884, adotou este último nome para caracterizar fungos da ordem Melanconiales, crescendo sobre folhas, com conídios unicelulares, incolores, em acérvulos sem setas. Sob esta descrição o gênero passou a ser adotado, compreendendo centenas de espécies (ARX, 1957). Para diversos autores, entretanto, a presença ou ausência de setas não se mostrou como característica satisfatória para distinguir os gêneros *Colletotrichum* e *Gloeosporium*. SHEAR & WOOD (1913) observaram grande variabilidade em todas as características estudadas - morfológicas, culturais e de patogenicidade - entre isolados de *Colletotrichum* e *Gloeosporium* de um mesmo hospedeiro ou de hospedeiros diferentes. Concluíram tratar-se de diversas formas de uma única espécie.

MESSIAEN (1955), estudando patógenos de antracnose de tomate, maçã e feijão, concluiu que as espécies de *Colletotrichum* e *Gloeosporium*

¹ SACCARDO, P.A. Sylloge fungorum 3, 1884

formavam um grupo altamente homogêneo, não se justificando a distinção em dois gêneros.

Em 1957, ARX fez uma extensa revisão do gênero *Colletotrichum*, incluindo as espécies do gênero *Gloeosporium*, e reclassificou todas as espécies através de uma chave de classificação. Esse critério resultou em onze espécies de *Colletotrichum* e doze formas especializadas, originando extensa lista de sinônimos para *C. gloeosporioides* (Penz.) Sacc., caracterizado como espécie-tipo da forma conidiana de *G. cingulata* (ARX, 1957). Os fungos *C. heveae* Petch e *G. alborubrum* Petch, até então mencionados como os patógenos de *H. brasiliensis*, foram incluídos por ARX na lista de sinônimos de *C. gloeosporioides* e de sua forma ascospórica *G. cingulata*.

KAISER & LUKEZIC (1966) encontraram peritécios de *G. cingulata* e acérvulos de *Gloeosporium musarum* Cooke & Masee sobre diversos órgãos de bananeira, com grande variação em características culturais e de patogenicidade, e com acérvulos se apresentando com e sem setas.

FERRAZ (1977) observou que, depois de Sutton, não apareceram novas contribuições e que, apesar das tentativas, o problema da classificação desse grupo de fungos permanecia aberto. Por isso, desenvolveu estudo morfológico, cultural e de patogenicidade de espécies atribuídas a ambos os gêneros e concluiu não existirem distinções de valor sistemático que justifiquem a diferenciação entre os gêneros *Colletotrichum* e *Gloeosporium*.

FERRAZ & LIMA (1982) estudaram 20 isolados entre *Colletotrichum* e *Gloeosporium* e, utilizando dados de taxonomia numérica, separaram cinco grupos. Entretanto, a análise numérica mostrou não haver distinção entre os isolamentos de *Colletotrichum* spp. e de *Gloeosporium*.

DASTUR (1920) observou que, em cultura, a presença de setas não era uma característica constante para o gênero *Colletotrichum*. A formação de setas se mostrou frequentemente variável e controlada por fatores ambientes (FROST, 1964).

Variabilidade de *Colletotrichum* foi relatada sob diversos aspectos, por influência do ambiente ou da constituição genética.

ANDES & KEITT (1950) concluíram que a constituição genética é o principal fator que contribui para a grande variabilidade de *G. cingulata*, *in vitro*.

SACCAS (1959) concluiu, depois de minuciosos estudos, que o fungo *Colletotrichum* que parasita folhas, ramos e frutos de seringueira, pode ser considerado uma forma especializada de *C. gloeosporioides* e propôs a designação de *C. gloeosporioides* f. *heveae*, relativo à forma ascospórica *G. cingulata*.

Considerando que os sinônimos propostos por ARX (1957) para espécies de *Colletotrichum* eram baseados em justificativa experimental insuficiente e em

exame ou citação inadequados do material original, SUTTON (1962) elaborou nova chave para classificação, contendo 22 espécies, duas das quais como espécie-tipo, a saber *C. gloeosporioides* e *C. dematium*.

KULSHRESTA *et alii* (1976) salientaram que alguns isolados de *C. dematium*, *C. graminicola* e *C. gloeosporioides* perdiam a capacidade de formar setas depois de sucessivas repicagens em meios de batata e de aveia e que, entretanto, a morfologia dos conídios permanecia inalterada.

BAXTER *et alii* (1985) fizeram extensa revisão da literatura que tentou esclarecer a situação do gênero *Colletotrichum*, concluindo que, a despeito de todo esforço, uma delimitação satisfatória de espécie ainda não foi conseguida, sugerindo que se considere, futuramente, a patogenicidade aliada a características em cultura pura e sobre hospedeiro.

2.2. Descrição da doença

A infecção de *Colletotrichum* spp. em seringueira pode ocorrer em folhas, caules e ramos, brotações novas e frutos. As folhas são suscetíveis ao ataque de *C. gloeosporioides* durante cinco dias, enquanto as gemas estão ainda se abrindo, e durante os primeiros dez dias da expansão foliar. Se atacada nesse período, a folha rapidamente seca e cai; se atacada num estágio posterior, fica parcialmente deformada, muito manchada, mas não cai (WASTIE, 1967). Quando o folíolo está completamente expandido e muda a tonalidade bronze para verde pálido, a cutícula se forma e a folha desenvolve resistência (GLOEOSPORIUM, 1968). As lesões se apresentam em tamanhos e números variados nos folíolos, em semi-círculo, circulares ou irregulares, ocorrendo no meio do limbo foliar ou ao longo das margens; muitas dessas lesões coalescem e cobrem grandes áreas da superfície do folíolo (RAMAKRISHNAN & RADHAKRISHNA-PILLAY, 1961).

A doença afeta, além de folhas tenras e imaturas de árvores adultas, folhas tenras de plantas jovens, enxertos verdes e plântulas (RAMAKRISHNAN & RADHAKRISHNA-PILLAY, 1962; CARDOSO, R. M. G. - comunicação pessoal). Lesões também podem ser formadas em caule verde, jovem, podendo desencadear a morte descendente dos ramos (RAMAKRISHNAN & RADHAKRISHNA-PILLAY, 1962).

Morte descendente de ramos - "dieback" - é caracterizada por uma morte lenta e gradual dos brotos, ramos e mesmo toda a árvore, do topo para baixo. Na região oeste da Malásia, morte descendente causada por *Gloeosporium* é muito disseminada e tipicamente ocorre após severos ataques da doença foliar. Os caules verdes se tornam castanhos no ponto de entrada do fungo, e pústulas róseas de *Gloeosporium* podem ser visíveis na superfície após poucos dias de

tempo úmido. Quando o caule é circundado, a extremidade morre rapidamente, seguida por todo o lançamento foliar, quando o fungo se desenvolve no sentido descendente (DIEBACK, 1967).

Em caule, *Colletotrichum* é ainda relatado causando necrose da casca (TEJADA, 1983; TRINDADE & GASPAROTTO, 1982). Em Manaus, TRINDADE & GASPAROTTO (1982) descreveram a doença ocorrendo em plantas de 15 a 20 meses, de vários clones, associada a escaldadura no caule e necrose progressiva até causar morte das plantas. Os autores atribuíram o ataque por *Glomerella cingulata* como causa secundária, sendo favorecida a penetração do fungo nos tecidos que apresentavam início de escaldadura, os quais, estando enfraquecidos, sofrem facilmente apodrecimento, circundando todo o caule e matando a planta. Por volta de 1920, foi observado na Cochinchina, que *Gloeosporium* pode atacar caule e, associado a outros fungos como *Nectria* e *Fusarium*, causar numerosos cancrios sobre os troncos, ramos e painéis de sangria (SACCAS, 1959).

RAO (1975), ao apresentar a necrose da casca como uma nova doença do painel de sangria, descreveu sintomas que são muito semelhantes ao observados atualmente em lesões de painel causada por *Colletotrichum* sp., porém referiu-se a dois outros fungos como possíveis agentes causais: *Botryodiplodia theobromae* Pat. e *Fusarium solani* (Mart.) Appel & Wr. Em painel de sangria, os sintomas de antracnose podem se manifestar desde os cortes preliminares de alinhamento (espelho). Inicialmente aparecem manchas pequenas, escurecidas, levemente deprimidas. As áreas necróticas aumentam e se aprofundam, atingindo a região cambial e provocando o secamento da região afetada, com exsudação de látex (SILVEIRA *et alii*, 1989). Em casos avançados, grandes áreas do painel podem ser mortas e a doença pode progredir para baixo no tronco.

A antracnose em seringueira pode ocorrer em pecíolo e pecíolulo, causando a destruição de brotações novas que, em consequência da doença podem se quebrar quando as folhas estão ainda tenras (LANGFORD, 1953; CARDOSO, R.M.G.- comunicação pessoal).

C. gloeosporioides também foi relatado infectando frutos verdes, causando podridão e recobrando o pericarpo com numerosos acérvulos de coloração rosada (WEIR, 1926; RAMAKRISHNAN & RADHAKRISHINA-PILLAY, 1962).

A disseminação de *Colletotrichum* sp. se processa através de conídios. Há relato de constatação ocasional de frutificação sexual em folhas velhas infectadas, sem ser conhecida sua significância (GLOEOSPORIUM, 1968). Em condições de elevada umidade, a massa de esporos produzida nas folhas e ramos novos é amolecida e facilmente liberada, sendo os conídios rapidamente levados a árvores próximas por respingos e correntes de ar úmido.

A doença causada por *Colletotrichum* é particularmente severa em tempo úmido, pois o conídio requer períodos prolongados de umidade foliar para infecção (WASTIE, 1972, b e c; GLOEOSPORIUM, 1968).

LANGFORD (1953) atribuiu a elevada incidência de morte descendente de ramos de seringueira no Vale Amazônico, causada por *G.cingulata*, ao solo pobre ou lixiviado, observando que raramente a doença ocorre em árvores crescendo em solos férteis e bem drenados.

2.3. Denominação da doença

Fungos do gênero *Colletotrichum* têm sido relatados associados a seringueira causando doenças que recebem diversos nomes comuns, em alguns casos associados aos sintomas, em outros, a diferentes denominações do patógeno. Os nomes encontrados na literatura são: crestamento foliar por *Gloeosporium* (WEIR, 1926), mancha foliar secundária (CARPENTER & STEVENSON, 1954; RAMAKRISHNAN & RADHAKRISHNA-PILLAY, 1961), doença foliar por *Gloeosporium* (WIMALAJEEWA, 1963; WASTIE, 1967 e 1973; WASTIE & CHEE, 1969), mancha de folhas, murcha regressiva e casca necrótica (TEJADA, 1983), queda secundária de folhas por *Colletotrichum* (RAMAKRISHNAN & RADHAKRISHNA-PILLAY, 1962; WASTIE, 1972b e c; TAN, 1978), queda foliar por *Gloeosporium* (WASTIE, 1972a), antracnose (Petch¹, 1906, citado por SACCAS, 1959; Butler², 1918 e Hilton³, 1959, citados por RAMAKRISHNAN & RADHAKRISHNA-PILLAY, 1961; SACCAS, 1959; GASPAROTTO & TRINDADE, 1981; SILVEIRA & CARDOSO, 1987), antracnose ou doença foliar por *Colletotrichum* (WASTIE, 1978).

A antracnose causada por *C. heveae* foi observada e descrita pela primeira vez por Petch em 1906, sobre folhas de *Hevea brasiliensis* no Sri Lanka. O mesmo autor descreveu, em 1910, a ocorrência, no mesmo país, de antracnose de seringueira causada por *Gloeosporium alborubrum*, sobre ramos verdes (SACCAS, 1959).

CARPENTER & STEVENSON (1954) restringiram o uso do termo antracnose à doença tipicamente produzida por infecção direta de um patógeno mais forte, preferindo denominar "mancha foliar secundária" a infecção causada por *Glomerella cingulata*, que "tem sido relatada como a fase perfeita de várias espécies de *Colletotrichum* e *Gloeosporium* encontradas em seringueira".

¹ PETCH, T. Description of New Ceylon Fungi. Ann. Roy. Bot. Gard., Peradeniya, III, 1906.

² BUTLER, E.J. Fungi and disease in plants. Thacker, Spink and Co., Calcutta, 547p. 1918

³ HILTON, R.N. Maladies of *Hevea* in Malaya. Rubber Res. Inst., Kuala Lumpur, Malaya, 101p., 1959.

Esses autores observaram desenvolvimento parasítico de *C. gloeosporioides* sobre *Hevea* em Costa Rica e salientaram que a doença ocorre somente quando algumas condições adversas afetam o crescimento normal das plantas, ou quando as folhas sofrem injúria mecânica.

RAMAKRISHNAN & RADHAKRISHNA-PILLAY (1961) referiram-se a antracnose ou mancha foliar secundária, causada por *Glomerella cingulata* (Stonem.) Spauld & Schrenk, cujo estágio conidial é freqüentemente incluído nos gêneros *Colletotrichum* e *Gloeosporium*. Manifestaram-se concordantes com CARPENTER & STEVENSON (1954), preferindo a expressão mancha foliar secundária, uma vez que "antracnose é uma doença de planta caracterizada por lesões limitadas, necrose e hipoplasia, geralmente causada por um dos fungos Melanconiales e produzindo numerosas pústulas na superfície".

WASTIE (1968) referiu-se à doença causada por *G. cingulata* e *C. crassipes* em seringueira com diversas denominações: doença foliar por *Gloeosporium*, causada por *G. alborubrum*, como a principal causa da queda secundária de folhas; antracnose ou doença foliar por *Colletotrichum*; e morte descendente de ramos, ambas causadas por *C. gloeosporioides*. Assim como esse autor, RAMAKRISHNAN & RADHAKRISHNA-PILLAY (1962) consideraram que, embora os patógenos sejam sinônimos, os sintomas por eles provocados são suficientemente distintos para garantirem seu reconhecimento como doenças separadas: antracnose e mancha de *Colletotrichum* estariam sempre associadas a folhas maduras ou com deficiência nutricional, enquanto mancha foliar de *Gloeosporium* ocorreria em folhas jovens e freqüentemente de forma severa, no período de reenfolhamento anual.

WICHERLEY (1963) referiu-se a morte descendente de brotações novas por *Gloeosporium*, na Malásia, associada a condições úmidas; e a morte descendente de ramos, a *Colletotrichum* e *Phyllosticta*, parecendo ser favorecida por ambiente seco.

Em 1970, o Rubber Research Institute, da Malásia, divulgou a atualização de nomes de doenças e patógenos efetuada em 1957, atribuindo a *C. gloeosporioides* as seguintes doenças, as quais anteriormente recebiam as respectivas denominações: doença foliar por *Gloeosporium*, queda secundária de folha e morte descendente de ramos, causadas por *G. alborubrum*; doença foliar por *Colletotrichum*, causada por *C. heveae* e *C. derridis*; e antracnose, por *C. ficus* (NEW NAMES, 1970).

O termo antracnose parece ser o mais adequado para denominar a doença, que se manifesta através de diversos sintomas. Essa posição enquadra-se no conceito emitido por AGRIOS (1988), segundo o qual "antracnoses são doenças de folhagem, caules ou frutos que tipicamente aparecem como manchas pequenas ou grandes, escurecidas, ou lesões levemente deprimidas com bordo ligeiramente saliente. Além das manchas

foliares, antracnoses freqüentemente têm um estágio latente prolongado em infecção de fruto e podem causar morte descendente de brotos ou ramos..."

2.4. Controle

Por volta de 1956, considerava-se que a queda secundária de folhas não tinha importância suficiente na Malásia, a ponto de exigir medidas de controle. A situação era diferente em Sri Lanka, onde a severidade de oídio exigia aplicação de enxofre que, entretanto, aumentava a intensidade de doença causada por *Colletotrichum* (SECONDARY leaf fall, 1956). Na Malásia, as plantas mantinham uma copa razoável, mesmo sofrendo alguma queda secundária de folhas. Com a ênfase dada no período pós-guerra, a clones mais produtivos, mas que tinham menor resistência a doença, observou-se que *C. gloeosporioides* se disseminou, particularmente em algumas regiões da Malásia, resultando em copas pobres de folhagem durante grande parte do ano (RAO, 1972a).

Foi demonstrado que a severidade da queda de folhas causada por *C. gloeosporioides* depende das condições climáticas, suscetibilidade inerente do material vegetal e velocidade dos processos de queda anual de folhas e reenfolhamento (WASTIE, 1971). Uma técnica apontada, com o objetivo de contornar o problema, é o controle da troca anual de folhas, que consiste em adiantar o período de perda de folhas por um mês através de desfolha química, evitando assim as doenças foliares que incidem na fase de reenfolhamento (RAO, 1971 e 1972b; RAO & YUSOF AZALDIN, 1973).

Desfolha química, por outro lado, se aplicada repetidamente, prolonga substancialmente o tempo para produzir uma copa satisfatória, estendendo assim o período de baixa produção de látex. No caso da queda secundária de folhas causada por *C. gloeosporioides*, esse fato se verifica porque a doença persiste ao longo do ano. Como o fungo pode infectar gemas, um fungicida deve ser aplicado quando estas estão se abrindo, isto é, durante as três primeiras semanas, a cada cinco a seis dias (WASTIE, 1969). Os primeiros fungicidas relatados como satisfatórios para o controle de *Colletotrichum* sp. em seringueira foram os cúpricos, que apresentaram melhor eficiência em plantios de um a três anos; nos plantios mais velhos, o controle pareceu inferior (WIMALAJEEWA, 1963). WASTIE (1967) obteve bons resultados em ensaio em pequena escala, com fungicidas cúpricos, carbamatos e mercuriais, além de captafol e clorotalonil. Entretanto, produtos cúpricos sofrem restrição de uso em árvores em sangria, devido ao perigo de contaminação do látex com cobre (WASTIE & CHEE, 1969). WASTIE (1969) considerou como o melhor produto para controle, até aquele momento, clorotalonil a 0,2% em água mais 0,1% de um agente molhante não iônico, enquanto não se dispusesse de fungicida

sistêmico eficiente. O agente molhante é importante na fase em que as folhas estão ainda jovens, porque estas apresentam alta repelência à água.

HASHIM & RADZIAH (1987) observaram, em ensaio de campo, melhor resultado com captafol, em um dos campos, e resultados promissores com propiconazole, penconazole e procloraz. Destes três, propiconazole e penconazole foram considerados potencialmente mais poderosos, porque se mostraram eficientes em baixas doses, são sistêmicos e solúveis em óleo, o que os torna mais adequados à nebulização.

O controle de queda secundária de folhas por método químico é geralmente difícil e oneroso. As árvores em que a doença ocorre atingem alturas de 10 a 30 m e, durante muito tempo, não se dispunha de equipamento terrestre adequado que permitisse manobras em terreno irregular (RAO, 1972b). LIM *et alii* (1981) defenderam a utilização de máquinas nebulizadoras como meio mais adequado para aplicação de fungicidas. Entretanto, esses autores consideraram que proteção eficiente de clone suscetível contra queda de folhas causada por *Colletotrichum*, assim como por *Phytophthora*, dependem muito da descoberta de fungicidas eficientes e deve ser baseada em dados meteorológicos de previsão de doenças.

A medida mais satisfatória, a longo prazo, para conter a queda de folhas por *Colletotrichum* é, segundo diversos autores, o plantio de clones resistentes ou semi-resistentes (WASTIE, 1971; ONG *et alii*, 1977) ou tolerantes (Ho¹ *et alii*, citados por HASHIM, 1985).

Devido a sua ubiquidade e dificuldade de controle, queda de folhas causada por *Colletotrichum* foi a primeira doença de seringueira a ser considerada para seleção de clones (WASTIE *et alii*, 1973). Alguns clones são afetados em maior intensidade que outros, com reação às doenças variando segundo a localidade. Na Indochina, os clones BD 5 e PB 25 eram conhecidos como suscetíveis e PB 86 como resistente, enquanto na Malásia, este último é conhecido por ser muito afetado (RAMAKRISHNAN & RADHAKRISHNAN-PILLAY, 1962). No Sri Lanka, WIMALAJEEWA (1963) observou que 82% dos plantios com o clone PB 86 examinados, estavam afetados por *Gloeosporium*, valor que em outros clones situava-se em 20%.

LIM *et alii* (1981) salientaram que GT 1, um clone anteriormente não afetado por queda secundária de folhas, passou a ser severamente atacado por *Colletotrichum* em um número crescente de localidades. ONG *et alii* (1977) admitiram que deve haver um número razoável de clones, classificados como

¹ HO, C.Y.; NG, A.P. & SUBRAMANIAN, S. Choice of clones. *Pl. Bull. Rubber Res. Inst. Malaysia*, 104, 220. 1969.

moderadamente suscetíveis, que possuam resistência de campo à doença foliar causada por *Gloeosporium* e queima-de-folhas, causada por *M. ulei*.

ONG (1980) fez seleção para resistência a queima-de-folhas e doença foliar por *Gloeosporium* e nenhum dos clones estudados apresentou resistência às duas. O autor não encontrou qualquer associação entre a resistência às duas doenças.

Considera-se que, nas zonas de maior severidade, pode-se reduzir os efeitos da doença, se forem plantados clones que apresentem algum grau de resistência, mesmo sendo menos produtivos. Essa possibilidade se baseia no argumento segundo o qual uma árvore, habitualmente com copa pobre na maior parte do ano, devida à doença, provavelmente produza bem abaixo de sua potencialidade, tornando-se menos lucrativa que um clone sadio com menor potencial produtivo (GLOEOSPORIUM, 1968).

TAN & LOW (1975) salientaram que pouca atenção é concedida ao mecanismo de resistência de *H. brasiliensis* a *C. gloeosporioides*. No caso de infecção de *Hevea* por *Oidium heveae*, a espessura da cutícula foi sugerida como importante na determinação do grau de resistência (Young¹, citado por TAN & LOW, 1975). WASTIE (1973) não encontrou associação entre espessura da cutícula e suscetibilidade de clones a *C. gloeosporioides*. No mesmo sentido, PAWIROSOEMARDJO (1975) não encontrou diferenças significativas entre as espessuras de cutícula dos clones RRIM 600, GT 1 e PB 86, este último sendo considerado um dos mais suscetíveis a *C. gloeosporioides*.

TAN & LOW (1975) detectaram fitoalexina em *H. brasiliensis*, cujo difusato mostrou espectro anti-fúngico por inibição de germinação de esporos de *C. crassipes*, *Helminthosporium heveae*, *Corynespora cassicola*, *Phytophthora palmivora* e sobre a produção de conidióforo de *O. heveae*. DICKMAN *et alii* (1983) demonstraram que *C. gloeosporioides* penetra em fruto de mamão pela dissolução da cutícula, com uma cutinase, e que há inibidores dessa enzima capazes de reduzir infecção do fruto pelo patógeno.

SAMARAJEEWA & LIYANAGE (1986) demonstraram que a germinação de conídios ocorre igualmente bem em todos os clones, mas que, nos clones suscetíveis, ocorre um efeito estimulante sobre o crescimento do tubo germinativo.

Fatores do solo contribuem para a extensão da severidade da doença, observando-se alta incidência em plantios realizados em solos inférteis (RAMAKRISHNAN & RADHAKRISHNA - PILLAY, 1962). Para aliviar os piores

¹ YOUNG, H.E. Natural resistance to leaf mildew of *Hevea brasiliensis* by clone LCB 870. Q.Circ. Rubber Res. Inst., Ceylon, 26: 6, 1950.

efeitos da desfolha severa, uma das primeiras medidas consiste da aplicação pesada de fertilizante nitrogenado (LANGFORD, 1953; WASTIE, 1971).

O controle da morte descendente de ramos envolve medidas preventivas, como a restrição de podas à estação seca e o imediato revestimento com pasta de betume e fungicida sobre o ferimento. No caso de infecções estabelecidas, pode-se impedir o progresso da doença cortando o ramo afetado, abaixo do limite dos tecidos mortos. Se isso não resolver, deve-se aumentar o vigor da árvore, com fertilização generosa e, em casos severos, efetuar pulverizações com fungicida adequado (TAN, 1980).

3. MATERIAL E MÉTODO

O presente trabalho foi desenvolvido no período de 1988 a 1990, no Instituto Biológico de São Paulo e constou de: ensaios de laboratório para estudos de incidência de *Colletotrichum* sp. em sementes e látex, de características morfológicas e culturais de *Colletotrichum* sp. e de sua sensibilidade a fungicidas; ensaios em câmara de crescimento de plantas, sob condições controladas, para avaliação da patogenicidade de diversos isolados; e um ensaio de campo na região agrícola de Bauru, SP, para determinação do efeito de fungicidas sobre a antracnose em painel de sangria, produzida por *Colletotrichum* sp.

3.1. Isolados de *Colletotrichum* sp. utilizados

Foram utilizados isolados obtidos a partir de folha, ramo, painel de sangria, látex, colo e semente de seringueira, procedentes de diversas regiões. Os isolamentos foram efetuados depois de ser colocada a parte infectada da planta em câmara úmida, sob iluminação contínua com luz fluorescente branca, fornecida por duas lâmpadas de 40w, do tipo "luz do dia", durante intervalo que variou de 4 a 11 dias. Ao ser observada, sob microscópio estereoscópico, a formação de acérvulos, pequena massa de conídios era transferida, com auxílio de agulha de aço, para o substrato preparado com ágar e água (1,5% de ágar) e deste, para meio de cultura preparado com batata, dextrose e ágar, suplementado com 0,1g de sulfato de estreptomicina por litro de meio e vertido em placa de Petri. Os isolados obtidos são apresentados na tabela 1.

3.2. Meios de cultura utilizados

Para isolamento de *Colletotrichum* sp. e manutenção das culturas em forma de micélio, empregou-se o meio de batata, dextrose e ágar (BDA comum), nas proporções de 200, 20 e 15g, respectivamente, e água destilada em quantidade suficiente para (q.s.p.) 1000 ml de meio, suplementado com 0,1g sulfato de estreptomicina após autoclavagem.

Para produção de conídios foi utilizado o meio de farinha de aveia, descrito por TUIE (1969), contendo farinha de aveia (60g), ágar (12g) e água destilada (q.s.p. 1000 ml), igualmente suplementado com 0,1 g de sulfato de estreptomicina depois de autoclavado.

3.3. Manutenção das culturas

As culturas mantidas em tubos de vidro com BDA comum permaneceram em câmara a 25 ± 1 °C, em ausência de luz.

As culturas mantidas em tubos com meio de aveia, visando a produção de conídios, foram incubadas a 24 °C, sob regime de alternância luminosa de 12h de escuro e 12h sob luz fluorescente branca, fornecida por quatro lâmpadas de 20w, do tipo "luz do dia".

3.4. Manutenção das mudas de seringueira

Mudas dos clones RRIM 600, PB 235, GT 1, IAN 873, Fx 3864, Fx 3028 e IAN 2906 foram fornecidas por produtores comerciais de duas regiões paulistas, a saber, Planalto e Litoral Sul. As mesmas foram mantidas em condições de telado, em sacos plásticos contendo aproximadamente 15 kg de solo suplementado com esterco. Mensalmente efetuou-se adubação suplementar recomendada para manutenção de viveiros (IBAMA, 1979), com uma mistura de N, P e K de fórmula 32-32-36, aplicando-se 7g por planta. Para manter a disponibilidade de folhas jovens, em condições adequadas para inoculação com *Colletotrichum* sp., as folhas eram cortadas tão logo atingiam a maturidade, identificada pelo estágio *h* segundo classificação de POPULER (1972), caracterizado pelo enrijecimento do limbo, que se endireita, enquanto o pecíolo se inclina até perto da horizontal; o limbo se torna coriáceo e de tonalidade verde mais escura.

3.5. Preparo de inóculo

Para ensaios efetuados com micélio de *Colletotrichum* sp., o preparo do inóculo consistiu da retirada de um fragmento de micélio de cultura em tubo de BDA, o qual foi transferido para o centro de placa de Petri de 9 cm de diâmetro, contendo BDA comum. Depois de cinco dias a 25 °C, discos de micélio eram

Tabela 1 - Isolados de *Colletotrichum* spp. obtidos de *Hevea* spp. e estudados quanto à morfologia, patogenicidade e sensibilidade a fungicidas. São Paulo, 1988.

Número do isolado	Clone	Tecido	Local
1	RRIM 600	Folha	Porto Feliz - SP
2	RRIM 600	Folha	Tabapuã - SP
3	Fx 2261	Folha	Registro - SP
4	Fx 3810	Folha	Pontes e Lacerda - MT
5	RRIM 600	Folha	Pontes e Lacerda - MT
6	Fx 3844	Folha	Pontes e Lacerda - MT
7	RRIM 600	Folha	Pontes e Lacerda - MT
8	RRIM 600	Ramo	Colina - SP
10	RRIM 600	Ramo	Porto Feliz - SP
11	RRIM 600	Semente	Palestina - SP
15	RRIM 600	Painel	Tupã - SP
16	Fx 3844	Folha	Registro - SP
17	RRIM 600	Painel	Barretos - SP
18	IAN 817	Painel	Nipoã - SP
21	RRIM 600	Painel	São José do Rio Preto - SP
25	RRIM 600	Painel	Taquaritinga - SP
26	RRIM 600	Painel	Colina - SP
27	RRIM 600	Painel	Cajobi - SP
28	RRIM 600	Painel	Bebedouro - SP
30	RRIM 600	Colo	Avaí - SP
31	RRIM 600	Painel	Poloni - SP
32	RRIM 600	Painel	Poloni - SP
33	RRIM 600	Painel	Tupã - SP
34	RRIM 600	Painel	Rio Claro - SP
35	RRIM 600	Painel	Taquaritinga - SP
36	RRIM 600	Ramo	Garça - SP
37	GT 1	Folha	Garça - SP
38	PB 235	Folha	Matão - SP
41	RRIM 600	Painel	Garça - SP
42	RRIM 600	Folha	Registro - SP
43	RRIM 600	Painel	Lucianópolis - SP
44	RRIM 600	Látex	Avaí - SP

retirados dos bordos da colônia, com auxílio de furador de rolha de 3 mm de diâmetro interno, constituindo o inóculo.

Quando o inóculo desejado tratava-se de conídios de *Colletotrichum* sp., pequena porção de massa alaranjada de conídios era retirada com ponta de agulha de aço, transferida para placa de Petri de 5 cm de diâmetro contendo meio de aveia, recebendo duas gotas (aproximadamente 0,1 ml) de água destilada esterilizada, para dissolver a massa gelatinosa, a qual era espalhada com espátula de Drigalsky. Depois de cinco dias de incubação, sob alternância luminosa a 24 °C, o inóculo era preparado por suspensão de conídios em água esterilizada, adicionando-se uma gota de Tween 80 (polioxietileno sorbitano monooleato) para melhor dispersão da massa conidiana. A concentração de suspensão era avaliada em hemocitômetro (câmara de Neubauer "improved") sob microscópio ótico, procedendo-se a diluições e contagens até atingir-se o padrão adotado de $1,2 \times 10^5$ conídios/ml.

3.6. Estudos para identificação de espécie

Os estudos visando a identificação de espécie de *Colletotrichum* desenvolvido em seringueira foram orientados seguindo-se os critérios adotados por von ARX (1957), que consistem fundamentalmente das características morfológicas desse fungo. foram desenvolvidos ensaios com o objetivo de se conhecer a variabilidade entre isolados selecionados no presente trabalho e possíveis variações morfológicas e culturais devidas às técnicas experimentais adotadas.

3.6.1. Crescimento radial de micélio de *Colletotrichum*

O ensaio foi desenvolvido com 29 dos 32 isolados relacionados na tabela 1, em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, com meios de aveia-ágar e BDA, suplementados com sulfato de estreptomicina.

O inóculo, constituído por disco de micélio de 3mm de diâmetro e preparado conforme descrito no item 3.5, foi transferido para o centro das placas e estas, colocadas em câmara a 25 °C durante cinco dias, quando foram efetuadas medições do diâmetro das colônias. Adotou-se o esquema fatorial com 29 isolados e dois meios de cultura, com três repetições, em delineamento inteiramente casualizado.

3.6.2. Efeito do substrato sobre as dimensões dos conídios

O ensaio foi desenvolvido com os isolados identificados na tabela 1 pelos números 4, 10, 16 e 37, cultivados em três substratos, a saber: a) meio de aveia; b) BDA comum; c) folha destacada. Ambos os meios de cultura foram vertidos em placas de Petri de 9 cm de diâmetro. As folhas foram destacadas de planta do clone RRIM 600, aproximadamente 10 dias após abertura da gema, correspondendo ao estágio *f*, de acordo com descrição da ontogenia foliar apresentada por POPULER (1972), quando a cor do limbo começa a passar de verde-bronzeado e aspecto brilhante, para o verde amarelado, pálido e mate, com consistência flácida. Os folíolos foram destacados do pecíolo e colocados sobre três discos de papel-de-filtro embebidos em água destilada, dentro de placas de Petri de plástico, com a base do limbo foliar envolvida em algodão molhado em água destilada.

As placas com meio de cultura foram semeadas pela transferência de 0,1 ml do inóculo, preparado segundo descrição no item 3.5., o qual foi espalhado na superfície da mesma com espátula de Drigalsky. Cada folíolo foi inoculado com cinco gotas de 10 μ l do inóculo, aplicadas com microseringa.

As placas que receberam o fungo foram incubadas em câmara a 24 °C, sob alternância luminosa, conforme descrito em 3.3. Depois de quatro a seis dias, foi observada macroscopicamente a formação de massa alaranjada de conídios, nos substratos aveia-ágar e BDA e, sobre os folíolos de seringueira, o início de formação de acérvulos foi observado sob microscópio estereoscópico.

Foram feitas montagens de lâminas permanentes para microscópio, transferindo-se, com agulha de aço, pequenas porções da massa de conídios para o centro da lâmina contendo uma gota de fluido de Amman-lactofenol (TUIE, 1969) preparado com fenol (20g), ácido láctico (20g), glicerina (40g) e água destilada (20g), acrescentando-se 0,1% do corante azul de algodão. Depois de colocada a laminula e retirado o excesso de corante, procedeu-se a vedação com duas camadas de esmalte para unhas, aplicado com pincel nas bordas da laminula.

As medidas de comprimento e largura foram feitas em 30 conídios por lâmina, sob microscópio ótico, dotado de ocular micrométrica. O ensaio obedeceu a um delineamento estatístico de blocos ao acaso, em esquema fatorial 3x4 envolvendo três substratos e quatro isolados, em quatro repetições. Cada parcela constou de uma placa, da qual foi preparada uma lâmina. A análise estatística foi efetuada com as médias de 30 leituras.

3.6.3. Morfologia de conídios

Folíolos do clone RRIM 600 foram retirados de lançamentos foliares desenvolvidos até o estágio *f* (POPULER, 1972), conforme descrito em 3.6.4. Ao destacar-se o folíolo, deixou-se uma extensão de 5 mm de pecíolo junto da lâmina foliar, o qual foi envolvido em pequeno chumaço de algodão embebido em água destilada. Os folíolos assim preparados foram colocados em câmara úmida, em placas de Petri plásticas, contendo três discos de papel-de-filtro embebidos em água.

A inoculação foi efetuada com micropipeta, colocando-se quatro gotas de 10 µl em cada folíolo, do inóculo preparado. Depois de cinco a sete dias a 24 °C e alternância luminosa de 12 horas, observou-se início de formação de acérvulos. À medida em que isso ocorreu, eram preparadas lâminas permanentes para microscópio, conforme descrito em 3.6.4.

Foram medidos comprimento e largura de 30 conídios por lâmina, em microscópio ótico com objetiva 40x e dotado de ocular micrométrica.

Quanto a aspectos morfológicos qualitativos, foram anotadas as características predominantes em cada isolado quanto à forma e extremidade do conídio.

3.7. Incidência de *Colletotrichum* sp. em amostra de sementes de seringueira

Foi examinada uma amostra de sementes do clone RRIM 600 procedente de Palestina, SP, pelo método do papel-de-filtro, com assepsia (NEERGAARD, 1979), com modificação.

Foram separadas 100 sementes, as quais foram submetidas a assepsia superficial, mergulhando-se as mesmas em solução aquosa de hipoclorito de sódio (NaOCl) a 1%, durante dois minutos. Uma vez retiradas, as sementes foram dispostas sobre papel-toalha para secagem ao ar. A amostra de 100 sementes foi dividida em duas porções iguais, colocando-se 50 sementes em placas de vidro Pyrex de 9 cm de diâmetro e 2 cm de altura, contendo quatro discos de papel-de-filtro embebidos em água. As outras 50 sementes foram cortadas ao meio, plaqueando-se da mesma forma, 50 metades de sementes, com a face cortada voltada para o papel-de-filtro. As placas foram incubadas em estufa a 22 °C com iluminação de luz fluorescente branca ("luz do dia" - 40w), alternada a cada 12 horas com escuro. Depois de 11 dias foram feitas observações sob microscópio estereoscópico, anotando-se a frequência de *Colletotrichum* sp. nas sementes, bem como dos outros gêneros de fungos incidentes.

3.8. Incidência de *Colletotrichum* sp. em látex

Foram coletados fragmentos de látex coagulado, medindo 0,5 a 4,0 cm de comprimento, exsudado de lesões de painel, de seringueira do clone RRIM 600, localizado no município de Avaí, SP. As plantas tinham seis anos de idade, encontrando-se no primeiro ano de sangria.

As pequenas porções de látex foram colocadas em câmara úmida, em placas de Petri de plástico, contendo, ao fundo, três discos de papel-de-filtro embebidos em água, sob alternância luminosa de 12 horas de escuro e 12 horas de luz fluorescente branca, fornecida por duas lâmpadas "luz do dia" de 40w cada uma, à temperatura ambiente de laboratório. Depois de cinco dias, foi efetuada observação do crescimento fúngico, sob microscópio estereoscópico.

3.9. Estudos de patogenicidade de *Colletotrichum* sp. a seringueira

3.9.1. Inoculação comparativa em distintas regiões da superfície foliar

Folhas jovens de seringueira, no estágio *f*, segundo caracterização feita por POPULER (1972) e descrita no item 3.6.4. deste trabalho, foram retiradas de mudas do clone Fx 3028. Os folíolos foram destacados, sendo seus respectivos peciólulos mergulhados em água destilada até o momento de serem utilizados. De cada lâmina foliar foram cortados três discos de 19 mm de diâmetro, respectivamente da base, centro e ápice do folíolo, correspondendo às três regiões estudadas quanto à reação à inoculação com *Colletotrichum* sp. Os discos de cada região foram colocados separadamente em relação aos demais, em placas de Petri de plástico, contendo três discos de papel-de-filtro embebidos em água. Metade dos discos de cada região da lâmina foi plaqueada com a face adaxial voltada para cima e outra metade, com a face abaxial nessa posição.

Os discos de folha foram inoculados com suspensão de conídios do isolado 30, constante da tabela 1, contendo $1,0$ a $1,2 \times 10^6$ conídios/ml, em gotas de $10 \mu\text{l}$ cada, aplicadas com auxílio de pipeta automática. Foram feitas cinco inoculações em cada disco, colocando-se cinco discos por placa, que constituíram uma parcela. Adotou-se o delineamento estatístico inteiramente casualizado em esquema fatorial de 2×3 , sendo duas faces e três regiões do folíolo, com seis repetições por tratamento.

Os discos inoculados foram incubados em câmara com alternância de 12 horas de luz e 12 horas de escuro, a 24°C . Depois de quatro dias, a observação a olho nu, de formação de área escurecida sob a gota de inóculo, foi

considerada resposta positiva, com formação de lesão, segundo técnica anteriormente descrita por WASTIE & SANKAR (1970).

O total de respostas positivas foi transformado em porcentagem e analisado estatisticamente pelos testes F e Tukey.

3.9.2. Efeito de fermento sobre a inoculação de ramos

Foram cortados segmentos de ramos de 5 a 7 cm de comprimento, de plantas jovens dos clones RRIM 600, Fx 3028 e Fx 3864. Os segmentos foram colocados em placas de Petri de plástico, contendo ao fundo, revestimento com três discos de papel-de-filtro, embebidos em água destilada. O ferimento no ramo foi provocado pela ponta de uma agulha de aço, passada superficialmente em dois sentidos, em formato de cruz, numa extensão de 5 mm.

A inoculação consistiu da deposição de uma gota de 10 µl da suspensão de conídios preparada conforme descrito no item 3.5, sobre o ferimento ou sobre a superfície intacta do caule, quando fosse o caso. A testemunha consistiu da deposição de uma gota de água contendo Tween 80 sobre pontos com e sem ferimento no segmento de caule. Foram feitas 10 inoculações para cada tratamento, colocando-se três segmentos em cada placa.

As placas contendo os segmentos de caule foram mantidas a 24 °C, durante seis dias, tempo depois do qual foi feita avaliação dos resultados, medindo-se a extensão longitudinal das lesões formadas e atribuindo-se notas, de acordo com tais medidas, a saber: 0 - ausência de lesão; 1 - lesão medindo até 4 mm; 2 - entre 4 e 8 mm; 3 - maior que 8 mm. Calculou-se o índice de doença para cada tratamento, através da fórmula:

$$I.D. = \frac{(n \cdot f)}{N \cdot F} \times 100$$

onde:

I.D. = índice de doença (%)

n = cada nota atribuída (0, 1, 2, 3)

f = frequência

N = nota máxima (=3)

F = frequência máxima (=15)

3.9.3. Patogenicidade de isolados a tecido foliar do clone RRIM 600

Foram retiradas folhas de plantas do clone RRIM 600, desenvolvidas até o estágio *f* (POPULER, 1972) conforme descrito no item 3.6.4., sendo os respectivos pecíolos imediatamente mergulhados em água e assim mantidos até o momento da retirada dos discos a serem inoculados. Estes, medindo 19 mm de diâmetro, foram cortados a partir da região apical do limbo foliar, cortando-se tantos discos quanto possível, dentro de um terço, aproximadamente, da área de cada folíolo.

Os discos de folha foram colocados em placas de Petri de plástico, contendo três discos de papel-de-filtro embebidos em água, com a face abaxial voltada para cima. A inoculação foi efetuada através de gotas de 10 µl, de suspensão contendo 1 a 1,2 x 10⁶ conídios/ml, aplicadas com auxílio de pipeta automática.

Foram feitas inoculações foliares com 21 isolados, os quais estão identificados na tabela 1 pelos números 1, 3, 6, 7, 8, 15, 16, 17, 18, 21, 28, 30, 31, 32, 34, 35, 36, 37, 42, 43 e 44. Com cada isolado, foram feitas cinco inoculações por disco, colocando-se cinco discos por placa. O ensaio foi desenvolvido com quatro repetições, cada parcela constituindo-se de uma placa.

As placas contendo os discos inoculados foram mantidas a 24 °C, sob alternância de 12h de luz e 12h de escuro, durante 4 dias.

Os resultados foram avaliados a partir das inoculações bem sucedidas, evidenciadas pelo escurecimento do tecido foliar sob gota de inóculo (WASTIE & SANKAR, 1970).

3.9.4. Patogenicidade de isolados a caule do clone RRIM 600

Mudas de seringueira do clone RRIM 600, mantidas em casa-de-vegetação, conforme descrito no item 3.4., foram submetidas a inoculação no caule com os isolados 1, 2, 3, 4, 7, 8, 10, 11, 15, 16, 21, 25, 26, 27, 28, 30, 32, 33, 34, 36, 37, 38, 41, 42, 43 e 44. A técnica de inoculação foi executada conforme a descrita no item 3.6.10.

Foram efetuadas três inoculações para cada isolado e três para a testemunha. Depois de cinco dias em câmara de inoculação a 24 °C, foi retirado o esparadrapo e 10 dias após a inoculação, foi medida a extensão longitudinal das lesões formadas.

3.9.5. Reação de clones à inoculação em folha

A técnica adotada foi a mesma descrita em 3.6.7, durante todo o procedimento experimental. Foram inoculados discos foliares dos clones RRIM 600, GT 1, PB 235, IAN 873, IAN 2906, Fx 3028 e Fx 3864, com os isolados constantes da tabela 1 sob os números 17, 21 e 30.

O ensaio seguiu o delineamento estatístico inteiramente casualizado, em fatorial 7x3, com sete clones e três isolados, em quatro repetições. Cada parcela constituiu de uma placa contendo cinco discos, cada um inoculado em cinco pontos.

A avaliação foi efetuada depois de quatro dias, anotando-se a porcentagem de inoculações bem sucedidas, representadas pelas gotas que produziram sintomas.

3.9.6. Reação de clones à inoculação em caule

Foram feitas inoculações com os isolados 1, 3, 8 e 34 de *Colletotrichum* sp. em caule verde dos clones Fx 3028, GT 1, IAN 873, PB 235 e RRIM 600. O inóculo foi preparado de acordo com a técnica descrita no item 3.5.

O caule, de diâmetro medindo aproximadamente 8 mm, sofreu ferimentos provocados com furador de rolha de 3mm de diâmetro. A inoculação foi efetuada depositando-se sobre o ferimento, duas gotas de 10 µl de uma suspensão de conídios contendo $1,2 \times 10^5$ células/ml. Abaixo do ferimento, o caule foi envolvido por algodão embebido em água e o conjunto foi vedado com esparadrapo, colocado de forma a não encostar sobre o local da inoculação. Na testemunha, o procedimento foi semelhante, depositando-se duas gotas ao invés do inóculo.

Depois de cinco dias em câmara em 24 °C foi retirado o esparadrapo e 10 dias após a inoculação, foi tomada a medida da extensão longitudinal das lesões formadas. Adotou-se o delineamento estatístico inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5x5 com cinco isolados e cinco clones, em duas repetições.

3.10. Estudos visando controle de antracnose de seringueira

3.10.1. Sensibilidade de *Colletotrichum* sp. a diversos fungicidas *in vitro*

Foi desenvolvido ensaio em laboratório avaliando-se o efeito de fungicidas sobre o crescimento micelial de três isolados de *Colletotrichum* sp., iden-

tificados na tabela 1 pelos números 1, 4 e 16. Os fungicidas empregados no ensaio são relacionados na tabela 2.

Tabela 2 - Fungicidas empregados no ensaio de sensibilidade *in vitro* de três isolados de *Colletotrichum* sp. São Paulo, 1989.

Nome Técnico	Nome Químico	Produto Comercial
Anilazine	2,4-dicloro-6-(2-cloroanilina)-1,3,5-triazina	Dyrene 480 SC
Benomil	metil-1-(butilcarbamoil)-2-benzimidazol carbamato	Benlate 500 PM
Clorotalonil	tetracloroisoftalonitrila	Daconil BR 750 PM
Diniconazole	1(2,4-diclorofenil-4,4-dimetil-2-(1,2,4-triazol-1-il)-1-penten-3-ol	Sumi-Eight PM 125
Mancozeb	etileno bis-ditiocarbamato de manganês e ion zinco	Dithane SC 445
Penconazole	1-[2(2,4-diclorofenil)-n-pentil]-1H-1,2,4-triazol	Topas
Procloraz	1-N-propil-N[2(2,4,6-triclorofenoxi)etil]carbamoil imidazol	Sportak 45 CE
Propiconazole	1-[2-(2',4'-diclorofenil)-4-propil-1,3 dioxolan-2-il-metil]-1H-1,2,4, triazol	Tilt 250 CE
Tebuconazole	α -terc-butil- α -(p-clorofenetil)-1H-1,2,4-triazol-1-etanol	Folicur CE 250
Tiofanato metílico	1,2-bis-(3-metoxicarbonil-2-tioureido) benzeno	Cercobin 700 PM
Triflumizole	4-cloro- α,α,α -trifluoro-n[1-(1H imidazol -1 il)-2-propoxietilideno]-O-toluidina	Trifumin 300 PM

Foram preparadas soluções-estoque dos fungicidas em acetona e efetuadas diluições em série de modo que, ao se adicionar 0,1 ml da solução a 100 ml de BDA autoclavado e fundente (cerca de 50 °C), obteve-se a concentração desejada de fungicida no meio de cultura, que foi então distribuído em placas de Petri de 9 cm de diâmetro. As concentrações dos fungicidas foram de 10, 100 e 1000 ppm no meio de cultura. Foi incluída uma testemunha, sem fungicida, para efeito de comparação. Depois de solidificado o meio, a inoculação das placas foi efetuada transferindo-se disco de micélio de *Colletotrichum* sp. medindo 3mm de diâmetro, para o centro de cada placa. As placas foram mantidas em câmara a 25 °C em ausência de luz durante cinco dias.

A avaliação consistiu da medição do diâmetro das colônias desenvolvidas nos tratamentos e testemunha, calculando-se a seguir a porcentagem de inibição pela fórmula:

$$\% \text{ inibição} = \frac{\text{diâmetro testemunha} - \text{diâmetro tratamento}}{\text{diâmetro testemunha}} \times 100$$

3.10.2. Sensibilidade de *Colletotrichum* sp. a benzimidazóis *in vitro*

O ensaio foi desenvolvido com os fungicidas benomil e tiofanato metílico, nas concentrações 100 e 1000 ppm, em meio de BDA, preparados do modo como descrito no item 3.6.11. deste trabalho. Foi estudada a sensibilidade dos isolados 2, 4, 6, 7, 8, 10, 11, 15, 16, 18, 21, 30, 38, 43 e 44. A avaliação dos resultados foi efetuada após quatro dias de incubação a 25 °C, em ausência de luz, medindo-se o diâmetro da colônia desenvolvida.

3.10.3. Efeito de fungicidas sobre a severidade de antracnose em painel

Foi desenvolvido um ensaio de campo, no município de Avaí, SP, na região agrícola de Bauru, com aplicação de fungicidas em cultura comercial de seringueira, clone RRIM 600, com seis anos de idade. O ensaio foi iniciado dois meses após o início da sangria, com o painel medindo 4,0 cm de altura e exibindo sintomas de infecção por *Colletotrichum* sp., caracterizado pela presença de lesões deprimidas e escuras.

A aplicação de fungicidas foi efetuada com pulverizador costal manual, usando-se água como veículo e pulverizando-se a superfície do painel até início de escoamento da calda.

A frequência de pulverizações variou, sendo semanal para clorotalonil, procloraz, tiofanato metílico e a mistura de tiofanato metílico com clorotalonil, e quinzenal para os fungicidas defenoconazole, diniconazole, propiconazole e tebuconazole.

Adotou-se o delineamento estatístico de blocos ao acaso com nove tratamentos e dez repetições, cada parcela consistindo de uma planta. Na tabela 3 são relacionados os tratamentos, constando os nomes técnicos, químicos e comerciais dos fungicidas, as respectivas doses empregadas e os intervalos entre as aplicações. Foi ainda incluído um tratamento testemunha, sem aplicação de fungicida.

O ensaio teve a duração de onze semanas entre a primeira e a última pulverização e a avaliação dos resultados foi efetuada duas semanas após a última aplicação.

A severidade da doença foi avaliada pela leitura da porcentagem de área lesionada na faixa aberta no painel de sangria durante o período de execução do ensaio. Para facilitar essa avaliação foi preparada uma lâmina quadriculada em polietileno transparente, de tamanho adequado para cobrir o painel, anotando-se o número total de quadrados ocupados pelo painel em cada árvore, e o número de quadrados recobrindo áreas lesionadas. Essa técnica constituiu de uma adaptação da técnica usada anteriormente para avaliação de mofo cinzento em painel (D.A. Oliveira¹ - comunicação pessoal).

Os resultados foram analisados estatisticamente pelos testes F e Tukey, após transformação dos dados para $\arcsin \sqrt{x/100}$.

Tabela 3 - Fungicidas aplicados no ensaio para controle de antracnose em painel de sangria do clone RRIM 600. Avaí, SP, 1990.

Nome Técnico	Nome Químico	Produto Comercial	Dose pr.com./ 100 l	Frequência
Clorotalonil	tetracloroisoftalonitrila	Daconil 75PM	500 g	Semanal
Defenoconazole	1-{2-[4-(clorofenoxi)-2-clorofenil]-4-metil-1,3-dioxolan-2-yl-metil}-1H-1,2,4-triazol	Score 25 CE	100 ml	Quinzenal
Diniconazole	1(2,4-diclorofenil)-4,4-dimetil-2-(1,2,4-triazol-1-il)-1-pentenol	SumiEight 12,5PM	500 g	Quinzenal
Procloraz	1-N-propil-N-[2(2,4,6-triclorofenoxi)etil]carbamoil imidazol	Sportak 45CE	60 ml	Semanal
Propiconazole	1-[2-(2',4',-diclorofenil)-4-propil-1,3-dioxolan-2-il-metil]-1H-1,2,4-triazol	Tilt 25CE	100 ml	Quinzenal
Tebuconazole	α -terc-butil- α -(p-clorofenetil)-1H-1,2,4-triazol-1-etanol	Folicur 25CE	400 ml	Quinzenal
Tiofanato metílico	1,2bis-(3-metoxicarbonil-2-tioureido)benzeno	Cercobin 70 SC	300 ml	Semanal
Tiofanato metílico+ clorotalonil	1,2bis-(3-metoxicarbonil-2-tioureido)benzeno+tetracloroisoftalonitrila	Cerconil 49FW	400 ml	Semanal

¹ SILVEIRA, A.P.; OLIVEIRA, D.A.; CARDOSO, R.M.G.; BRIGNANI NETO, F.; ORTOLANI, A.A. & GODOY JR., G. Evolução e caracterização do prejuízo provocado pelo mofo cinzento (*Ceratocystis fimbriata* Ellis & Halted) em painéis de seringueira (*Hevea brasiliensis*) (no prelo).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Identificação da espécie de *Colletotrichum* isolado de seringueira

4.1.1. Crescimento radial de micélio

Os isolados apresentaram tamanhos diferentes de colônia, sendo que, em média, o meio de BDA proporcionou crescimento micelial significativamente maior que o meio de aveia.

A tabela 4 apresenta as médias de diâmetro de colônia dos isolados, evidenciando menor crescimento radial dos isolados (em ordem crescente) 6, 8, 44, 2, 28, 32 e 34. Os isolados 7, 11, 16, 21 e 38 formaram as maiores colônias, quanto ao diâmetro e os outros se apresentaram em posições intermediárias. Entretanto, as diferenças observadas não permitiram qualquer agrupamento dos isolados relacionando-os à sua origem. WASTIE & SANKAR (1970) e TAN (1978) encontraram igualmente diferenças de crescimento micelial entre isolados porém não efetuaram qualquer agrupamento, devido à grande variabilidade encontrada.

4.1.2. Efeito de substrato sobre as dimensões dos conídios

Os resultados evidenciaram a influência exercida pelo substrato sobre comprimento e largura de conídios de *Colletotrichum* sp. , independentemente do isolado (Tabela 5). Para ambas as dimensões, os conídios formados sobre folhas de seringueira se apresentaram menores que os formados em meio artificial de aveia ou batata. Por outro lado, não ocorreu diferença de tamanho entre os conídios formados sobre os dois meios artificiais.

Pela análise estatística, foi demonstrado não existir interação significativa entre isolados e substratos. Com relação ao comprimento dos conídios, evidenciou-se não haver diferença entre os quatro isolados, independentemente do substrato. Quanto à largura, observaram-se diferenças, sendo os isolados 4 e 10, em média, mais estreitos que os outros dois, 16 e 37.

Tabela 4 - Diâmetro (mm) de colônias de *Colletotrichum* sp. aos seis dias desenvolvimento a 24° C. Média de 3 repetições. São Paulo, 1990.

Isolado	Aveia-ágar	BDA	Média geral
1	36,67	42,67	39,67 abcd
2	37,00	37,00	37,00 abc
3	43,00	50,00	46,50 d
4	34,00	35,67	34,83 ab
6	32,00	31,67	31,83 a
7	73,00	76,00	74,50 e
8	30,33	37,67	34,00 ab
10	39,67	48,33	44,00 cd
11	66,33	69,00	67,67 e
15	37,33	44,33	40,83 bcd
16	70,00	63,33	66,87 e
17	41,67	41,00	41,34 bcd
18	37,67	45,00	41,34 bcd
21	69,00	63,00	66,00 e
25	41,67	45,00	43,34 cd
26	35,67	42,00	38,84 abcd
27	37,67	42,67	40,17 abcd
28	35,67	38,67	37,17 abc
30	41,33	50,00	45,67 cd
32	36,67	40,00	38,34 abc
33	40,33	43,00	41,67 bcd
34	37,00	37,00	37,00 abc
36	37,00	43,33	40,17 abcd
37	38,67	41,67	40,17 abcd
38	72,33	67,33	69,83 e
41	37,33	41,00	39,17 abcd
42	40,00	50,00	45,00 cd
43	37,00	40,33	38,67 abcd
44	27,67	40,00	33,84 ab

Médias : Aveia: 42,89 m BDA: 46,44 n

*OBS: Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si, segundo teste de Tukey a 1%.

Tabela 5 - Dimensões (μm) de conídios de quatro isolados de *Colletotrichum* sp., desenvolvidos em três substratos . Média de 4 repetições cada uma com 30 réplicas. São Paulo, 1989.

	Isolados	Aveia	Batata	Folha	Média geral
Comprimento	4	13,56	13,43	11,38	12,79
	10	13,04	11,26	11,53	11,94
	16	13,03	12,77	11,90	12,57
	37	12,63	12,38	12,86	12,62
	Média	13,08 A	12,46AB	11,92 B	
Largura	4	2,79	3,17	2,71	2,89 a
	10	3,09	2,76	2,65	2,83 a
	16	3,13	3,32	3,18	3,21 b
	37	3,83	3,09	2,66	3,19 b
	Média	3,21D	3,08 D	2,80 C	

*OBS: Médias seguidas pela mesma letra, respectivamente minúsculas na coluna e maiúscula nas linhas, não diferem significativamente entre si, segundo teste de Tukey a 1%.

Sendo os estudos para identificação de espécie de *Colletotrichum* sp., neste trabalho, desenvolvidos com 29 a 32 isolados, o presente ensaio se realizou com quatro isolados, procedentes de regiões bastante distintas - Pontes e Lacerda, MT, Porto Feliz, Registro e Garça, SP - considerando-se a possibilidade de diferentes respostas aos substratos comparados.

As chaves mais comuns para classificação de espécies do gênero *Colletotrichum* têm como critério fundamental, as dimensões médias dos conídios e outras características morfológicas dos mesmos (ARX, 1957; SUTTON, 1980). ARX (1957), dando ênfase às características morfológicas para a classificação, salientou a importância em se examinar *Colletotrichum* desenvolvido em plantas vivas, para a determinação das espécies e também, se possível, em cultura pura. Entretanto, admite ter examinado, ao elaborar sua chave, diversas espécies em herbário. SUTTON (1980) ressaltou a necessidade de relacionar os caracteres morfológicos de conídios produzidos em cultura pura, a pequenas diferenças morfológicas entre aqueles produzidos sobre tecido vivo, para determinar se tais diferenças seriam consistentes. Entretanto, na chave de classificação que desenvolveu, descreveu características morfológicas de organismos produzidos em BDA. De acordo com os resultados do presente ensaio, o substrato onde são produzidos os conídios pode introduzir uma variação considerável na determinação de espécie. BURGER (1921), ao concluir que havia diferenças entre isolados de *C. gloeosporioides*, também

observou que estes eram afetados em características de crescimento e tamanho de esporo, pelo meio de cultivo do fungo.

4.1.3. Morfologia de conídios e identificação da espécie

Os conídios de todos os isolados apresentaram-se eretos, de forma oval, elíptica ou cilíndrica, com extremidades arredondadas ou ligeiramente afiladas (tabela 6). Nos isolados 10 e 15, alguns dos conídios apresentaram forma semelhante a halteres, constituindo porém um número muito pequeno na massa observada, nos diversos campos do microscópio. Não ocorreu formação de estrutura especializada, como escleródio ou clamidosporo, quer no material que constou do presente ensaio, quer em cultura pura, ao longo dos outros ensaios que compuseram este trabalho.

As dimensões dos conídios produzidos em folha são apresentadas na tabela 7, onde se constata que os conídios tiveram variação de 7,8 a 14,4 μm x 2,7 a 4,2 μm .

Segundo a chave das espécies, desenvolvida por ARX (1957), conídios elipsóides ou cilíndricos, com extremidades arredondadas ou afiladas, variando de 12 a 19 μm de comprimento x 4 a 5 μm de largura, em massa conidiana avermelhada e ausência de escleródios ou clamidosporos intercalares em cultura pura, são característicos da espécie *C.gloeosporioides* (*G.cingulata*).

As características morfológicas apresentadas pelos conídios dos isolados estudados são bastante próximas daquelas descritas por ARX (1957) para identificar a espécie *C. gloeosporioides*. A divergência constante em quase todos os isolados relaciona-se à medida da largura dos conídios, que em diversos casos não atingiu a média de 4 μm . Entretanto, considerada a influência do substrato sobre as dimensões dos conídios, discutida em 4.1.2., admite-se enquadrar todos os isolados envolvidos no presente estudo, como pertencendo à espécie *C. gloeosporioides*. Essa decisão é reforçada ao se aplicar a chave de classificação proposta por SUTTON (1980), que caracteriza essa espécie por conídios medindo de 9 a 24 μm x 3,5 a 4 μm .

Tabela 6 - Características morfológicas qualitativas dos conídios de *Colletotrichum* sp., produzidos em folha de *Hevea brasiliensis*. São Paulo, 1988.

Isolado	Eixo longitudinal	Forma	Extremidades
1	ereto	oval	arredondada
2	ereto	elíptica	arredondada
3	ereto	cilíndrica	arredondada
4	ereto	cilíndrica	arredondada
5	ereto	elíptica	afilada
6	ereto	elíptica	afilada
7	ereto	cilíndrica	arredondada
8	ereto	elíptica	arredondada
10	ereto	elíptica	arredondada
11	ereto	cilíndrica	arredondada
15	ereto	elíptica	afilada
16	ereto	cilíndrica	arredondada
17	ereto	elíptica	afilada
18	ereto	cilíndrica	arredondada
21	ereto	cilíndrica	arredondada
25	ereto	elíptica	afilada
26	ereto	elíptica	arredondada
27	ereto	elíptica	arredondada
28	ereto	elíptica	afilada
30	ereto	elíptica	arredondada
31	ereto	oval	afilada
32	ereto	elíptica	afilada
33	ereto	elíptica	afilada
34	ereto	elíptica	arredondada
35	ereto	elíptica	afilada
36	ereto	elíptica	afilada
37	ereto	elíptica	afilada
38	ereto	cilíndrica	arredondada
41	ereto	cilíndrica	arredondada
42	ereto	cilíndrica	arredondada
43	ereto	elíptica	arredondada
44	ereto	oval	afilada

Tabela 7 - Dimensões (μm) de conídios de *Colletotrichum* sp., produzidos em folha de *Hevea brasiliensis*; média de 30 repetições. São Paulo, 1989.

Isolado	Comprimento	(s)*	Largura	(s)*
01	07,8	(1,1)	3,3	(0,8)
02	11,9	(1,1)	3,5	(0,7)
03	12,2	(1,2)	3,4	(0,6)
04	11,3	(1,5)	2,9	(0,6)
05	12,3	(1,3)	2,8	(0,5)
06	14,2	(1,3)	3,6	(0,9)
07	13,2	(0,9)	3,5	(0,7)
08	12,7	(1,5)	2,9	(0,4)
10	11,4	(1,3)	2,7	(0,5)
11	11,1	(1,3)	4,2	(0,8)
15	12,2	(1,4)	3,1	(0,5)
16	13,7	(1,7)	3,3	(0,5)
17	13,2	(1,5)	2,8	(0,3)
18	12,1	(1,6)	2,8	(0,4)
21	12,1	(1,5)	3,6	(0,6)
25	12,8	(1,9)	3,2	(0,5)
26	13,2	(1,2)	3,3	(0,7)
27	12,0	(2,3)	3,1	(0,6)
28	12,0	(1,5)	2,7	(0,3)
30	14,4	(2,0)	3,6	(0,6)
31	09,4	(1,5)	3,7	(0,9)
32	11,1	(1,6)	2,7	(0,4)
33	12,4	(1,4)	3,0	(0,7)
34	12,7	(1,5)	3,2	(0,8)
35	12,2	(1,8)	2,8	(0,4)
36	11,8	(1,1)	2,9	(0,6)
37	12,3	(1,6)	2,8	(0,2)
38	11,7	(1,4)	3,9	(0,9)
41	13,6	(1,3)	3,1	(0,6)
42	11,3	(1,1)	3,3	(0,7)
43	12,9	(1,3)	2,7	(0,4)
44	13,2	(1,5)	2,7	(0,2)

*(s) : desvio padrão

4.2. Incidência de *Colletotrichum gloeosporioides* e outros fungos sobre sementes de seringueira

A amostra analisada apresentou incidência bastante alta de *Colletotrichum gloeosporioides*, sendo de 41,7 e 42%, respectivamente, nas sementes inteiras e cortadas ao meio (Tabela 8).

Tabela 8 - Incidência (%) dos gêneros de fungos detectados em sementes de *Hevea brasiliensis* pelo método do papel-de-filtro com assepsia. São Paulo, 1989.

Gêneros de fungos	% de incidência	
	Sementes inteiras	Meias sementes
<i>Colletotrichum</i>	41,7	42,0
<i>Alternaria</i>	5,0	2,0
<i>Botryodiplodia</i>	13,3	32,0
<i>Cephalosporium</i>	25,0	24,0
<i>Cladosporium</i>	25,0	34,0
<i>Fusarium</i>	48,3	42,0
<i>Helminthosporium</i>	8,3	6,0
<i>Pestalotia</i>	0,0	2,0
<i>Phoma</i>	10,0	2,0
<i>Phomopsis</i>	25,0	46,0
<i>Rhizoctonia</i>	0,0	2,0
Total	201,6	234,0

Na identificação da espécie de *Colletotrichum*, que foi baseada na descrição de KULSHRESTHA *et alii* (1976), observaram-se as setas curtas sobre os acérvulos e conídios de extremidades arredondadas, características de *C. gloeosporioides*.

As sementes examinadas no presente trabalho foram coletadas em seringal que apresentava sintomas de antracnose na parte aérea das plantas e

o isolamento do fungo, feito a partir das sementes, forneceu o isolado identificado pelo número 11 na tabela 1. *C. gloeosporioides* foi anteriormente detectado em sementes de seringueira, por Chee¹, em 1976 (URBEN *et alii*, 1982).

No teste de sanidade das sementes, introduziu-se uma técnica modificada de plaqueamento, ao lado da convencional, plaqueando-se sementes cortadas ao meio, no sentido longitudinal, com o objetivo de se facilitar as leituras ao microscópio estereoscópico, dado o tamanho grande apresentado pelas sementes de seringueira. No caso de *C. gloeosporioides*, praticamente não ocorreu diferença entre as leituras das sub-amostras submetidas às duas técnicas.

Além de *Colletotrichum*, outros dez gêneros fúngicos foram detectados. Em diversos deles, observaram-se diferenças acentuadas de incidência, pelas duas técnicas, possivelmente devido a distintos níveis de umidade absorvida pelas sementes utilizadas nas respectivas sub-amostras. Destacam-se, entre eles, alguns gêneros de fungos patogênicos à seringueira, como *Botryodiplodia* (BROOKS, 1916), *Fusarium* (Barat², citado por SACCAS, 1959), *Helminthosporium* (YOUNG, 1954) e *Alternaria* (CARDOSO *et alii*, 1986).

Botryodiplodia theobromae foi relatado anteriormente sobre sementes de seringueira (Srivastava³, citado por NEERGAARD, 1979; URBEN *et alii*, 1982; Chee, citado por URBEN *et alii*, 1982). Segundo Richardson⁴, essa espécie de fungo afeta a viabilidade de sementes de *Hevea* sp. (URBEN *et alii*, 1982). *Phomopsis heveae*, citado como indutor de morte descendente de caule, foi detectado na Índia em sementes de seringueira procedentes da Malásia (Srivastava⁵, citado por NEERGAARD, 1979). No presente trabalho, incidência relativamente alta de *Phomopsis* sp. foi constatada, em valores de 25 e 46%, respectivamente, sobre sementes inteiras e meias sementes.

¹ CHEE, K.H. Microorganisms associated with rubber (*Hevea brasiliensis* Muell. e Arg.). Kuala Lumpur, Rubber Res. Inst. of Malaysia, 1976. 78p.

² BARAT, H. Études de la Division de Phytopathologie au cours de l'année, 1930. Laboratoire de Cryptogamie. Bull. Econ. Indochine. N. S., 34: 779B-96B. 1931

³ SRIVASTAVA, S.N.S. Seed rot of *Hevea brasiliensis* caused by *Botryodiplodia theobromae*. Indian Phytopath. 17: 172-7, 1964.

⁴ RICHARDSON, M.J. An annotated list of seed-borne diseases. 3 ed. London, CAB, 1979.

⁵ SRIVASTAVA, S.N.S. Two fungal infections of *Hevea* seeds. Current Science, 25: 157-8, 1956.

4.3. Incidência de *Colletotrichum gloeosporioides* em látex

Foi observada a formação de grande quantidade de acérvulos, de coloração alaranjada, contendo conídios de *Colletotrichum gloeosporioides*.

Considerando-se que as amostras de látex coagulado, submetidas a exame, foram retiradas de painéis afetados pelo patógeno, não é de surpreender o resultado observado. Em sua composição, o látex contém água e nutrientes suficientes para o desenvolvimento de fungos, sendo normalmente encontrados os seguintes componentes: borracha, cinza, proteínas e amino-ácidos livres, como a lecitina, resinas ou lipóides, quebrachita e água (DIJKMAN, 1951).

Outros gêneros de fungos além de *Colletotrichum* foram observados no látex examinado, tendo sido identificados os gêneros *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium* e *Helminthosporium*. WEIR (1926) referiu-se a problemas causados por bolores desenvolvidos vigorosamente sobre látex coagulado com formalina, apontando *Penicillium*, *Aspergillus*, *Oidium*, *Trichoderma*, *Sterigmatocystis* e outros Hyphomicetes não determinados, como as formas comumente encontradas. Segundo esse autor, preocupação maior ocorria com relação aos fungos que cresciam sobre borracha manufaturada, em lâminas, provocando manchas e descoloração, destacando-se, entre estes, diversos patógenos de *H. brasiliensis*, como *Diplodia theobromae* (sin. *B.theobromae*), *Eurotium candidum*, *Fusarium* sp. e *Oidium* sp., desenvolvidos em lâminas defumadas no Oriente e na região Amazônica.

O isolamento de *Colletotrichum gloeosporioides* a partir do látex forneceu o isolado 44 relacionado na tabela 1, sendo esta a primeira constatação desse fungo em látex.

4.4. Patogenicidade de *C.gloeosporioides* a seringueira

4.4.1. Influência da região da superfície foliar na resposta à inoculação

Diante da facilidade de execução da técnica de inoculação em discos de folhas, para estudos de patogenicidade, é importante a identificação de variáveis que possam interferir nos resultados. O ensaio cujos resultados são aqui apresentados foi introduzido justamente porque, em inoculações preliminares, observou-se uma variação que foi considerada poder ser atribuída à região do limbo foliar, o que foi posteriormente confirmado.

Os resultados evidenciaram a existência de regiões de diferentes graus de suscetibilidade à infecção por *C.gloeosporioides* no limbo foliar de seringueira. Discos foliares retirados da base do folíolo mostraram-se menos suscetíveis que

os da região central ou apical. Além disso, ficou demonstrado que as inoculações efetuadas na face abaxial do folíolo foram mais bem sucedidas que as efetuadas na face adaxial (Tabela 9). Tais resultados provavelmente estão associados à maior quantidade de estômatos na face abaxial, favorecendo a penetração do fungo.

Tabela 9 - Porcentagem de lesões em discos foliares de *Hevea brasiliensis*, inoculados com *C.gloeosporioides*. Média de seis repetições. São Paulo, 1990.

Regiões do folíolo	Face abaxial	Face adaxial	Média (%)
Base	59,3	03,3	31,3 a
Centro	61,3	20,0	40,7 b
Ápice	82,7	22,7	52,7 b
Média (%)	67,8 A	15,3 B	

*OBS: Médias seguidas pela mesma letra, respectivamente minúsculas na coluna e maiúscula na linha, não diferem significativamente entre si, segundo teste de Tukey a 1%.

WASTIE (1972c), inoculando folhas de *Hevea* spp. de idades 7, 11 e 15 dias após a abertura da gema concluiu ser a página inferior mais suscetível à infecção por *C. gloeosporioides*.

SACCAS (1959) constatou que 60 a 75% dos conídios de *C.heveae* (sin. *C.gloeosporioides*) emitem tubo germinativo sem formação de apressórios e 25 a 40% formam apressórios. Os tubos germinativos portadores de apressórios são dotados de um tropismo bem característico: na face inferior das folhas, eles se dirigem para um estômato, qualquer que seja sua posição em relação a este último, às vezes descrevendo uma curva para vir a se aplicar estreitamente na superfície do orifício estomático. Na face superior das folhas, onde os estômatos são raros, o tubo germinativo com apressório se dirige verticalmente ou obliquamente para a cutícula sobre a qual a superfície plana do apressório se adere, sendo mantida por uma substância muscilaginosa.

4.4.2. Efeito de ferimento sobre infecção de ramos

Nos três clones envolvidos no ensaio, ficou demonstrada a importância da presença de ferimento para a infecção de ramos, diante do índice de doença significativamente maior (75,56%) que o índice calculado para a inoculação sem

ferimento (6,67%), conforme evidencia a tabela 10. Esses resultados diferem daqueles relatados por SACCAS (1959), ao constatar que os ramos jovens, não amadurecidos, são contaminados diretamente e que, somente para os ramos maduros, uma abertura qualquer é necessária para servir de via de entrada para a hifa de infecção.

Tabela 10 - Índices de doença (%) em ramos de *Hevea* spp. inoculados com *C.gloeosporioides* . Média de três repetições. São Paulo, 1990.

Tipo de inoculação	RRIM 600	Fx 3028	Fx 3864	Médias
Com ferimento	77,78	68,89	80,00	75,56 a
Sem ferimento	8,89	11,11	0,00	6,67 b
Média	43,34	40,00	40,00	

*OBS: Médias seguidas pela mesma letra, não diferem significativamente, segundo teste de Tukey a 1%.

Entre os clones RRIM 600, Fx 3028 e Fx 3864 não ocorreu diferença significativa de infecção nos ramos inoculados.

4.4.3. Patogenicidade de isolados a tecido foliar do clone RRIM 600

Os isolados testados apresentaram diversos graus de patogenicidade, conforme evidenciado pelas médias relacionadas na tabela 11.

Os isolados 15, 34, 43 e 44, que foram os mais patogênicos, são originários de propriedades sofrendo severos ataques de antracnose. TAN (1978) observou que os isolados mais patogênicos, em seus estudos *in vitro*, eram oriundos de localidades onde a queda secundária de folhas ocorria anualmente de forma severa. No presente estudo, não se pode generalizar esse conceito, uma vez que alguns dos isolados menos patogênicos, como 28, 18, 30, 32 e 37, também são originários de propriedades afetadas por antracnose em nível razoável de severidade. WASTIE (1972) concluiu que a severidade da doença era correlacionada com a intensidade de chuvas, suscetibilidade clonal e o padrão de troca anual de folhas. A esse conceito, TAN (1978) acrescentou ainda, o isolado do fungo como outro fator relacionado.

Tabela 11 - Porcentagem de lesões em discos foliares do clone RRIM 600 inoculados com *C.gloeosporioides*; média de 4 repetições. São Paulo, 1990.

Isolado	Porcentagem de lesões
1	53,8 abcd
3	30,0 ab
6	53,8 abcd
7	32,5 ab
8	66,3 abcd
15	89,6 d
16	57,5 abcd
17	51,3 abcd
18	17,5 ab
21	73,8 bcd
28	12,5 a
30	22,5 ab
31	53,8 abcd
32	16,3 ab
34	89,6 d
35	63,8 abcd
36	75,1 bcd
37	17,5 ab
42	65,6 bcd
43	87,5 d
44	92,3 cd

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente, segundo teste de Tukey a 1%.

4.4.4. Patogenicidade de isolados a caule do clone RRIM 600

Todos os isolados testados mostraram-se patogênicos a caule de seringueira, observando-se a formação de lesões de extensão variável, conforme ilustra a tabela 12.

Os isolados mais patogênicos foram 2, 8, 32, 37, 43 e 44, todos eles originários de locais sofrendo severo ataque de antracnose em painel, respectivamente Tabapuã, Colina, Poloni, Garça, Lucianópolis e Avaí. Os isolados 15, 16, 17, 28 e 38 foram os menos patogênicos, nas inoculações efetuadas em caule, sendo procedentes de Tupã, Registro, Barretos, Bebedouro e Matão, respectivamente. Destes, não se tem informação sobre o nível de incidência e severidade de antracnose em Registro e Barretos, sabendo-se porém que a severidade é alta em Tupã, e que em Matão, na propriedade de onde foram coletadas as folhas, a incidência e severidade parecem ser muito baixas. Diante disso, não foi possível qualquer agrupamento dos isolados associando a patogenicidade em caule verde a qualquer das características envolvidas no presente estudo, nem mesmo quanto ao local de origem.

4.4.5. Reação de clones à inoculação em folha

A análise estatística evidenciou diferenças altamente significativas entre clones, entre isolados e em alguns casos, entre interações isolados x clones. A tabela 13 contém as porcentagens médias de infecção nas variáveis envolvidas.

O clone RRIM 600 foi em média, o menos infectado de todos os clones, diferindo significativamente de IAN 873, IAN 2906, Fx 3028 e GT 1. Estes dois últimos mostraram-se os mais suscetíveis entre todos, enquanto PB 235 e Fx 3864 não diferiram significativamente de RRIM 600.

Entre os isolados, o 21 foi o mais patogênico, em média, seguido pelo isolado 30, sendo o 17, o menos patogênico. Nos clones mais suscetíveis - GT 1 e Fx 3028 - não ocorreu diferença significativa quanto à patogenicidade dos três isolados.

A técnica de inoculação de discos foliares foi usada por CHEE (1976), ao estudar a suscetibilidade de clones de *Hevea* a *M.ulei*. Em seu trabalho, o autor correlacionou tamanho de lesão formada nos discos, com área foliar infectada no campo.

Tabela 12 - Comprimento (mm) de lesões em caule verde do clone RRIM 600 inoculado com *C.gloeosporioides*. Média de 3 repetições. São Paulo, 1990.

Isolados	Comprimento de lesão
1	13,0 abcde
2	20,0 ef
3	12,0 abcde
4	15,0 bcde
7	16,0 bcde
8	18,5 de
10	9,0 abcd
11	12,0 abcde
15	6,0 ab
16	4,0 a
17	4,0 a
21	13,0 abcde
25	8,5 abcd
26	17,5 cde
27	13,5 abcde
28	4,5 a
30	11,0 abcde
32	18,5 de
33	13,5 abcde
34	13,5 abcde
36	13,0 abcde
37	20,0 ef
38	7,5 abc
41	15,0 bcde
42	16,5 cde
43	29,0 f
44	20,0 ef

Obs. Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente, segundo teste de Tukey a 1%.

Tabela 13- Porcentagem de lesões em discos foliares de *Hevea* spp. inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides*. São Paulo, 1990.

Clones	Isolados			Médias
	17	21	30	
RRIM 600	51,3 ab A	73,8 a B	22,5 a A	49,2 a
GT 1	92,5 c A	100,0 b A	96,3 c A	96,3 d
PB 235	55,0 ab A	97,8 ab B	46,3 a A	66,4 ab
IAN 873	40,0 a A	100,0 b B	85,0 bc B	75,0 bc
IAN 2906	56,3 a A	95,0 ab B	51,3 c B	67,5 bc
Fx 3028	83,8 bc A	91,3 ab A	100,0 c A	91,7 cd
Fx 3864	45,0 a A	93,8 ab B	87,5 ab A	75,4 ab
Média	60,6 A	93,1 C	69,8 B	

*OBS: Médias seguidas pela mesma letra, respectivamente minúsculas na coluna e maiúscula na linha, não diferem significativamente entre si, segundo teste de Tukey a 1%.

Os clones GT 1 e Fx 3028 apresentaram elevada suscetibilidade ao patógeno, não diferindo entre si, nem frente aos três isolados testados. Os clones RRIM 600, PB 235 e Fx 3864 não diferiram entre si e apresentaram maior suscetibilidade ao isolado 21 que aos dois outros. Os clones IAN 873 e IAN 2906 tiveram comportamento semelhante, sendo mais suscetíveis ao isolado 17 que aos outros dois.

Os isolados, por sua vez, revelaram distintos graus de virulência aos clones RRIM 600, PB 235, Fx 3864, IAN 873 e IAN 2906, sendo, em média, o isolado 21 o mais patogênico; o 30 promoveu reação intermediária e o 17 foi o menos patogênico dos três. O isolado 21 apresentou menor virulência ao clone RRIM 600, sendo o mais virulento aos clones GT 1 e IAN 873 e apresentando virulência intermediária aos outros. O isolado 30, em média com grau de patogenicidade intermediário, foi mais virulento aos clones GT 1, IAN 2906, Fx 3028 e IAN 873; promoveu reação intermediária do clone Fx 3864 e menor, do clone RRIM 600. O isolado 17 foi mais virulento aos clones GT 1 e Fx 3028 e menos virulento aos clones IAN 873, IAN 2906, Fx 3864, RRIM 600 e PB 235.

A reação dos clones, exceto GT 1 e Fx 3028, frente aos isolados utilizados no ensaio, apresenta características de resistência vertical.

PAWIROSOEMARDJO (1975) efetuou inoculação de clones em casa-de-vegetação com *C. gloeosporioides* observando diferentes intensidades de infecção, sendo 2,89% em GT 1; 11,65 em RRIM 600 e 24,69% em PB 86.

4.4.6. Reação de clones à inoculação em caule

Para avaliar a infecção no caule, a partir de inoculação por ferimento, foi medida a extensão longitudinal da lesão formada, por ser esta a característica mais representativa da mesma. Na maioria das inoculações efetuadas, a lesão mostrou discreto desenvolvimento lateral, isto é, no sentido transversal à direção dos vasos condutores. A testemunha não desenvolveu lesão.

As lesões formadas no caule verde, a partir da inoculação com *C. gloeosporioides*, tiveram extensões distintas em alguns dos clones, sem se levar em conta os isolados inoculados (Tabela 14).

Tabela 14 - Comprimento de lesões(mm) em caule verde de *Hevea spp.* inoculado com *C. gloeosporioides*. Média de 2 repetições. São Paulo, 1990.

Clone	1	2	3	8	34	Média
Fx 3028	8,5	5,0	4,5	5,0	3,0	5,2 a
GT 1	13,5	13,0	6,5	9,0	19,5	12,3 ab
IAN 873	7,5	8,0	10,5	11,0	14,0	10,2 ab
PB 235	7,0	9,5	7,0	10,5	15,0	9,8 ab
RRIM 600	11,5	25,0	15,0	22,5	13,0	17,4 b
Média	9,6	12,1	8,7	11,6	12,9	

* Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, segundo teste de Tukey a 1%.

O clone Fx 3028 foi menos infectado que o RRIM 600, que foi o mais infectado de todos. Os clones GT 1, IAN 873 e PB 235 não diferiram significativamente entre si, nem entre eles e Fx 3028 ou RRIM 600.

Nas inoculações em discos foliares, os clones RRIM 600 e Fx 3028 apresentaram reação inversa à do presente ensaio: naquele, RRIM 600 foi o clone mais resistente à infecção por *C. gloeosporioides*, enquanto Fx 3028 foi um dos mais suscetíveis, juntamente com GT 1. Em ambos os clones, observou-se a importância de ferimento sobre a formação de lesão e portanto, não se pode atribuir a diferença de reação à facilidade de penetração do patógeno através de ferimentos no caule. A observação de que pode ter ocorrido influência de patogenicidade dos isolados também não é válida, até o presente, uma vez que, entre os isolados inoculados no caule, não houve diferença estatística sobre o tamanho das lesões.

4.5. Efeito de fungicidas sobre antracnose da seringueira

4.5.1. Sensibilidade de *Colletotrichum gloeosporioides* a fungicidas *in vitro*

Os fungicidas procloraz, propiconazole e tebuconazole inibiram completamente o crescimento dos três isolados de *C. gloeosporioides* e, por essa razão, não foram incluídos na análise estatística. A tabela 15 apresenta a inibição média em relação à testemunha, verificada em cada tratamento envolvido no ensaio.

Os fungicidas apresentaram efeitos diferenciados para cada isolado e dose. Assim sendo, foram comparadas as médias de inibição entre fungicidas e isolados, para cada dose separadamente.

Nas três doses em que os fungicidas foram testados, destacou-se os efeito inibitório superior de anilazin e penconazole sobre os três isolados. O penconazole foi um dos fungicidas mais inibitórios, promovendo um nível intermediário de inibição dos três isolados, a 10 ppm, e inibição total a partir de 100 ppm. Esses resultados se assemelham aos obtidos por HASHIM (1985) que, através da mesma técnica, observou que propiconazole, procloraz e penconazole foram os fungicidas mais inibitórios ao crescimento micelial de *C. gloeosporioides*.

Os fungicidas mancozeb e tiofanato metílico foram inferiores na inibição do crescimento dos isolados. A 10 ppm de ingrediente ativo, o benomil se colocou entre os menos eficientes, juntamente com os dois últimos mencionados e nas doses maiores, mostrou um efeito intermediário.

A diferenciação entre os isolados, quanto à sensibilidade, ocorreu com maior frequência na dose de 1000 ppm. Nesta, parece ter ocorrido um agrupamento dos fungicidas, quanto à sensibilidade do isolado 16: este foi o mais inibido dos três isolados, pelos benzimidazóis (benomil e tiofanato metílico) e por clorotalonil, enquanto foi o menos sensível aos triazóis (diniconazole, penconazole e triflumizole). O isolado 1 pareceu ter um comportamento inverso ao 16, sob esse mesmo aspecto.

Tabela 15 - Inibição (%) de crescimento micelial de três isolados de *C.gloeosporioides* em meio de BDA contendo fungicidas. Média de duas repetições. São Paulo, 1990.

Fungicida	Dose (ppm)	Isolado 1		Isolado 4		Isolado 16	
Anilazine	10	36,5	ab A	49,0	a A	37,3	a A
Benomil		14,3	d A	7,5	de A	9,8	d A
Clorotalonil		44,6	a A	29,8	bc A	35,3	ab A
Diniconazole		25,4	bcd AB	17,0	cd B	32,4	ab A
Mancozeb		19,1	cd A	2,1	e B	11,8	cd A
Penconazole		28,6	bc A	42,6	ab A	37,3	a A
Tiofanato metílico		12,7	d AB	6,4	e B	21,6	bc A
Triflumizole		28,6	bc A	25,5	c A	32,4	ab A
Anilazine	100	100,0	a A	100,0	a A	88,3	b B
Benomil		73,0	bc B	49,2	bc C	91,7	b A
Clorotalonil		56,4	d A	39,4	c A	49,1	e A
Diniconazole		82,6	b A	63,9	b A	69,6	d A
Mancozeb		25,4	e A	2,1	d B	22,6	f A
Penconazole		100,0	a A	100,0	a A	100,0	a A
Tiofanato metílico		63,5	cd AB	55,6	bc B	72,6	cd A
Triflumizole		60,3	cd A	49,2	bc A	56,9	de A
Anilazine	1000	100,0	a A	100,0	a A	100,0	a A
Benomil		79,4	cd B	68,1	c B	95,6	b A
Clorotalonil		60,3	e B	46,8	d B	94,2	b A
Diniconazole		100,0	a A	83,0	b B	86,3	c B
Mancozeb		42,9	f A	25,5	e B	30,4	e AB
Penconazole		100,0	a A	100,0	a A	95,1	bc B
Tiofanato metílico		69,9	de B	61,7	cd B	97,1	b A
Triflumizole		92,1	b A	59,6	cd B	59,8	d B

Obs . 1) Calculada pela fórmula:

$$\% \text{ inibição} = \frac{\text{diâmetro testemunha} - \text{diâmetro tratamento}}{\text{diâmetro testemunha}} \times 100$$

2) Médias seguidas pelas mesmas letras, respectivamente minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem significativamente, segundo teste de Tukey a 1%.

4.5.2. Sensibilidade de *Colletotrichum gloeosporioides* a dois benzimidazóis *in vitro*

Esse ensaio foi desenvolvido face ao comportamento diferenciado de alguns isolados, observado em numerosos ensaios preliminares e evidenciado pelo isolado 16 nos dados apresentados na tabela 15.

O exame do conjunto de dados de inibição proporcionado pelo ensaio (Tabela 16) indica a existência de dois grupos de isolados, com características distintas quanto à sensibilidade aos benzimidazóis.

Tabela 16- Inibição (%) de crescimento micelial de *C. gloeosporioides* por benzimidazóis em meio de BDA. Média de três repetições. São Paulo, 1990.

Isolados	Benomyl		Tiofanato metílico	
	100 ppm	1 000 ppm	100 ppm	1 000 ppm
1	74,0	77,3	61,7	64,1
2	97,9	100,0	99,1	100,0
4	41,6	54,3	38,5	49,5
6	39,3	55,5	36,4	55,5
7	100,0	100,0	100,0	100,0
8	51,1	59,3	51,2	52,0
10	54,2	61,8	49,1	56,0
11	93,4	92,7	94,4	96,0
15	49,8	58,0	31,8	52,0
16	94,9	97,1	97,1	96,2
18	59,8	66,5	50,4	65,1
21	94,1	99,2	97,5	97,5
30	61,5	66,9	52,7	52,0
38	100,0	100,0	100,0	100,0
43	58,6	64,1	54,9	60,3
44	57,6	55,9	54,9	62,2

Obs . 1) Calculada pela fórmula:

$$\% \text{ inibição} = \frac{\text{diâmetro testemunha} - \text{diâmetro tratamento}}{\text{diâmetro testemunha}} \times 100$$

Num dos grupos, a inibição de crescimento foi sempre acima de 90%, sendo composto pelos isolados 2, 7, 11, 16, 21 e 38. O outro grupo, formado pelos isolados 1, 4, 6, 8, 10, 15, 18, 30, 43 e 44, mostrou menor sensibilidade aos fungicidas, com percentagens de inibição situados na faixa de 31 a 77%.

Salienta-se que os isolados mais sensíveis aos benzimidazóis, exceto o de número 2, são exatamente os que apresentam maior crescimento micelial em meio de cultura sem fungicida, conforme dados da tabela 5. Observação semelhante foi relatada por IGARASHI (1984) estudando sensibilidade de *Colletotrichum* spp. , isolado de morango, ao fungicida benomil.

4.5.3. Efeito de fungicidas sobre a severidade de antracnose em painel de sangria

O ensaio permitiu identificar o fungicida tebuconazole, aplicado em intervalos quinzenais na dose de 400 ml de ingrediente ativo por 100 l água, como o mais eficiente em relação aos outros testados, para o controle de antracnose em painel (Tabela 17).

Tabela 17 - Severidade de antracnose em painel de sangria do lene RRIM 600, submetido a tratamentos fungicidas. Média de 10 repetições. São Paulo, 1990.

Tratamentos	Dose (i.a./100 l)	Frequência (dias)	% de área lesionada
Clorotalonil	500 g	7	31,6 ab
Defenoconazole	100 ml	14	33,7 ab
Diniconazole	500 g	14	38,1 ab
Procloraz	60 ml	7	41,9 b
Propiconazole	100 ml	14	37,9 ab
Tebuconazole	400 ml	14	21,8 a
Tiofanato metílico	300 ml	7	46,1 b
Tiofanato metílico + clorotalonil	400 ml	7	35,4 ab
Testemunha			46,4 b

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si, segundo teste de Tukey a 1%.

Os fungicidas clorotalonil, defenoconazole, diniconazole, propiconazole e a mistura de tiofanato metílico com clorotalonil, não diferiram significativamente de tebuconazole, mas também se mostraram estatisticamente semelhantes à testemunha. Procloraz e tiofanato metílico foram equivalentes à testemunha.

Os resultados obtidos no ensaio com os fungicidas, exceto tebuconazole, são apenas indicativos, diante da fraca diferenciação entre os efeitos fungicidas. Deve-se levar em conta que o ensaio foi conduzido num período relativamente seco, de junho a setembro, portanto pouco favorável ao aumento da doença em painel. Considerando o potencial de controle demonstrado por propiconazole, por exemplo, através dos ensaios "in vitro", e segundo os resultados de HASHIM & RADZIAH (1987), novos ensaios devem ser realizados para melhor definição dos fungicidas e doses a serem adotados num programa de controle.

5. DISCUSSÃO GERAL

O presente trabalho foi desenvolvido diante da preocupação com as proporções que pode assumir a antracnose em seringueira face às medidas de controle que venham a ser introduzidas. Os resultados experimentais obtidos permitem a abordagem do assunto por aspectos de resistência varietal e controle químico.

A identificação da espécie do patógeno é um ponto essencial para o desenvolvimento das medidas de controle de doenças de plantas, particularmente em se tratando do gênero *Colletotrichum*. *C. crassipes* e *C. dematium*, detectados em *Hevea* spp., apresentaram infectividade muito inferior à de *C. gloeosporioides* (WASTIE & JANARDHANAN, 1970). No caso de infecção em painel de sangria, o problema é ainda mais sério, porque outros gêneros de patógenos podem causar doenças que desenvolvem sintomas indistinguíveis no campo e que, entretanto, exigem tratamentos específicos. Este é o caso de *Phytophthora* spp. causando cancro estriado do painel, que foi durante algum tempo confundido com antracnose, em seringais do Planalto Paulista. A identificação correta da doença veio posteriormente explicar a razão da ineficiência de tratamentos com fosetil-alumínio, fungicida específico para o controle de doenças causadas por ficomicetos.

É relevante a constatação do fato de se tratar de uma única espécie do patógeno, *Colletotrichum gloeosporioides*, salientando-se entretanto, a grande variabilidade verificada, concordando com as conclusões de SHEAR & WOOD (1913) e DASTUR (1920). Essa variabilidade manifestou-se nos estudos de morfologia, patogenicidade e sensibilidade a fungicidas, com especial comportamento quanto aos benzimidazóis. Além disso, os acérvulos dos isolados estudados apresentaram-se com e sem setas, confirmando-se que a presença ou ausência de setas não representa um critério para diferenciação de espécies ou formas especializadas de *C. gloeosporioides*.

A grande variabilidade encontrada entre isolados de *C. gloeosporioides*, sob os diversos aspectos abordados, não permitiu qualquer agrupamento que pudesse sugerir uma especialização desse patógeno, quando associado a seringueira. Entretanto, a variação em patogenicidade deve ser continuamente estudada, por constituir um importante fator para a seleção de clones para resistência (TAN, 1978).

A detecção de *C. gloeosporioides* em sementes e látex evidencia a importância destes como meios de disseminação do patógeno e manutenção do ciclo epidemiológico da doença. Embora não se disponha, até o presente, de dados sobre a estimativa de prejuízos causados pela doença em painel de sangria, pode-se estabelecer que o controle da mesma deve ser efetuado, diante das implicações epidemiológicas do látex como substrato para o patógeno. Esse controle pode ser adequadamente efetuado, com resultados satisfatórios, através de pulverizações fungicidas no painel de sangria.

Os clones estudados no presente trabalho são os atualmente recomendados para o plantio na região Sudeste do país. Pelos resultados observados, o RRIM 600, plantado em larga escala no Estado de São Paulo, apresenta menor suscetibilidade à antracnose da folha, porém revela-se o mais suscetível à doença quando esta é avaliada em caule. A importância de ferimento em caule, para o aumento da doença, acentua a preocupação quanto à antracnose de painel, o qual é constantemente submetido a cortes durante a operação de sangria. Nesse sentido, esforços devem ser direcionados visando a diminuição do inóculo presente na cultura; o aumento do vigor da árvore para reduzir a severidade da doença e promover rápida regeneração dos tecidos; e o desenvolvimento de fungicidas sistêmicos eficientes, com capacidade de penetração, translocação e estabilidade nos tecidos lenhosos do caule.

Evidenciou-se, no estudo de sensibilidade aos benzimidazóis, a grande importância em se realizar um estudo prévio da sensibilidade do isolado, ao se pretender efetuar tratamento com benzimidazóis para o controle de antracnose. Essa é uma forma de se racionalizar o uso de fungicidas, tanto sob o ponto de vista de eficiência, como de poluição ambiental e economicidade. Por outro lado, a avaliação da sensibilidade dos isolados aos benzimidazóis introduziu uma explicação para os resultados discordantes observados em dois ou mais ensaios de controle de antracnose por fungicidas desse grupo. Os resultados do ensaio que visou o controle da doença são discordantes dos relatados por WASTIE (1969), que obteve melhor controle da doença com clorotalonil, e por HASHIM & RAZDIAH (1987), que detectou eficiência de captafol e potencial de controle de propiconazole, penconazole e procloraz. Entretanto, esses autores avaliaram o efeito dos produtos sobre a doença ocorrendo na folhagem das plantas, enquanto no presente estudo, a avaliação foi efetuada sobre o painel de sangria. Neste trabalho ficou demonstrada a diferença de suscetibilidade das plantas à infecção em tecido foliar e de caule.

6. CONCLUSÕES

O desenvolvimento do trabalho, considerados todos os aspectos abordados, permitiu concluir que:

- os fungos do gênero *Colletotrichum*, isolados de diversas partes de seringueira (*Hevea* spp.) pertencem à espécie *C. gloeosporioides* (sensu ARX, 1957);
- existe grande variabilidade entre isolados de *C. gloeosporioides* de seringueira, quanto a morfologia, patogenicidade a folhas e caule e sensibilidade a fungicidas;
- presença de ferimentos em caules e ramos verdes inoculados é altamente favorável ao aumento de severidade de antracnose, causada por *C. gloeosporioides*;
- o clone RRIM 600 apresenta menor suscetibilidade à antracnose em tecido foliar e maior suscetibilidade em painel de sangria, quando comparado a outros sete clones recomendados para a região Sudeste do país;
- os isolados estudados mostraram-se sensíveis aos fungicidas, tendo seu crescimento micelial completamente inibido por penconazole, procloraz, propiconazole e tebuconazole, a partir de 10 ppm, e por anilazin, a partir de 100 ppm;
- pulverizações de painel de sangria com tebuconazole a 400 ml/100 l água, em intervalos de duas semanas, reduzem a severidade de antracnose.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AGRIOS, G.N. Plant pathology . San Diego, Academic Press, 1988 903p.
2. AINSWORTH, G.C.(ed). Ainsworth & Birsby's Dictionary of the Fungi 6 ed. Kew, Commonwealth Mycological Institute, 1971. 663p.
3. ANDES, J.O. & KEITH, G.W. Variability of *Glomerella cingulata* (Stonem.) S.&vS. from apples. *Phytopathology*, St. Paul, **40**: 915-25, 1950.
4. ARX, J.A. von. Die Arten Der Gattung *Colletotrichum* CDA. *Phytopathology* Z., Berlin, **29**(4): 413-68, 1957.
5. BAXTER, A.P. ; WESTHUIZEN, G.C.A. van der & EICKER, A. A review of literature on the taxonomy, morphology and biology of the fungal genus *Colletotrichum*. *Phytophylatica*, Pretoria, **17**: 15-18, 1985.
6. BERGAMIN FILHO, A. & CARDOSO, C.O.N. Doenças da seringueira *Hevea brasiliensis* L. In: GALLI, F. coord. *Manual de fitopatologia*. 2 ed. Piracicaba, Agronômica Ceres, 1980. v.2, p. 459-74.
7. BROOKS, F.T. Observations on some diseases of plantation rubber in Malaya. *Ann.Appl.Biol.*, Cambridge, **2**(4): 209-27, 1916.
8. BURGER, O.F. Variation in *Colletotrichum gloeosporioides*. *J.Agric.Res.*, **20**(90): 723-36, 1921.
9. CARPENTER, J.B.& STEVENSON, J.A. A secondary leaf spot of *Hevea* rubber tree caused by *Glomerella cingulata*. *Plant Dis. Rep.*, Washington,DC, **38**(7): 494-9, 1954.
10. CARDOSO, R.M.G.; SERRA, M.E.J. & STRADIOTO, M.F. *Alternaria* sp., novo patógeno de seringueira (*Hevea* spp.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 19., Brasília, DF, 1986. *Resumos . Fitopatol. Bras.*, Brasília, **11**(2): 314, 1986.
11. CHEE, K.H. Assessing susceptibility of *Hevea* clones to *Microcyclus ulei*. *Ann.Appl.Biol.*, Cambridge, **84**:135-45, 1976.
12. CHEE, K.H.& WASTIE, R.L. The status and future prospects of rubber diseases in Tropical America . *Rev. Plant Pathol.*, Farnham Royal, SL., London, **59**(12): 541-8, 1980.
13. DASTUR, J.F. *Glomerella cingulata* (Stoneman) Spauld and V.Sch. and its conidial forms, *Gloeosporium piperatum* E. and E. and *Colletotrichum*

- nigrum* E. and Hals., on chillies and *Carica papaya*. Ann.Apl.Biol., Cambridge, 6, 245-68, 1920.
- 14.DICKMAN, M. B.; PATIL, S. S. & KOLATTUKUDY, P. E. Effects on organophosphorous pesticides on cutinase activity and infection of papayas by *Colletotrichum gloeosporioides*. Phytopathology, St.Paul, 73(8): 1209-14, 1983.
 - 15.DIEBACK. Rubber Res. Inst.Malaysia Plant.Bull., Kuala Lumpur, (90): 107-11, 1967.
 - 16.FERRAZ, J.F.P. Utilização de métodos de taxonomia numérica no estudo das relações fenéticas de isolamento de *Colletotrichum* e de *Gloeosporium*. Garcia de Orta, Sér.Estud.Agron.,Lisboa, 9(1/2):197-212, 1982.
 - 17.FROST, R.R. Setae formation in *Colletotrichum* spp. Nature, London, 201: 730-1, 1964.
 - 18.GASPAROTTO, L. & TRINDADE, D.R. Antracnose de seringueira. Manaus, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, 1981.2p. (Comunicado técnico nº 18)
 - 19.GASPAROTTO, L.; TRINDADE, D.R. & SILVA, H.M. Levantamento da incidência de doenças em seringueira (*Hevea brasiliensis*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 16., BELÉM, 1983. Resumos. Fitopatol.Bras., Brasília, 8(3): 137, 1983.
 - 20.GLOEOSPORIUM. Rubber Res. Inst. Malaya Plant. Bull., Kuala Lumpur, (97): 110-3, 1968.
 - 21.HASHIM, I. Control of *Colletotrichum* secondary leaf fall of *Hevea* rubber with fungicides.Original submetido ao J. Rubber Res. Inst. Malaysia, Kuala Lumpur, 33: 1985 (datilografado).
 - 22.HASHIM, I. & RAZDIAH, N.Z. Fogging with fungicides to control *Colletotrichum* secondary leaf fall of *Hevea* rubber in Malaysia. J. Nat. Rubber Res., Kuala Lumpur, 2(4): 231-45, 1987.
 - 23.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 Queiroz" / USP).
 - 24.INFORMAÇÕES ECONÔMICAS, São Paulo, Instituto de Economia Agrícola, v. 20, n.3, 1990.
 - 25.INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS. Anuário estatístico - mercado da borracha. Brasília, 1988. 73p.

26. KAISER, N.J. & LUCKEZIC, F.L. Occurrence, sporulation and pathogenicity studies with *Glomerella cingulata* associated with crown rot of boxed bananas. *Mycologia*, New York, **58** : 397- 405, 1966.
27. KULSHRESTHA, D.D.; MATHUR, S.B. & NEERGAARD, E. Identification of seed-born species of *Colletotrichum*. *Friesia*, Copenhagen, **40**: 116-25, 1976.
28. LANGFORD, M.H. *Hevea* diseases of the Amazon valley . Belém, IAN, 1953. 28p. (IAN Boletim Técnico, 27).
29. LIM, T.M.; RADZIAH, N.Z. & ABDUL AZIZ, S.A.K. Rubber leaf disease control; a case for mechanisation. In: RUBBER RESEARCH INSTITUTE OF MALAYSIA PLANTER'S CONFERENCE, Kuala Lumpur, Malaysia, 1981.
30. MESSIAEN, C.M. Sur quelques anthracnoses des plantes cultivées. *Ann. Epiphyt.*, Paris, **3**: 285-99, 1955.
31. NEERGAARD, P. *Seed pathology*. Ed. rev. London, Mac Millan Press Ltd., 1979. 2v.
32. NEW NAMES for old diseases and pests. *Rubber Res Inst. Malaya Plant. Bull.*, Kuala Lumpur (**109**): 111- 2, 1970.
33. ONG, S.H. Breeding for disease resistance. In: RUBBER RESEARCH INSTITUTE OF MALAYSIA. *Short Course in Hevea Breeding*. Kuala Lumpur, 1980. 13p.
34. ONG, S.H.; TAN, A.M. & CHEE, K.H. Breeding for resistance against *Hevea* leaf diseases. In: WORKSHOP ON INTERNATIONAL COLLABORATION IN HEVEA BREEDING AND COLLECTION AND ESTABLISHMENT OF MATERIALS FROM THE NEOTROPICS. Kuala Lumpur, 1977, 9p..
35. PAWIROSOEMARDJO, S. Leaf anatomy of some *Hevea* clones relative to intensity of attack by *Colletotrichum gloeosporioides*. *Menara Perk*, Indonésia, **43**(4): 201-204, 1975.
36. POPULER, C. Les épidémies de l'oïdium de l'hévéa et la phénologie de son hôte dans le monde. Bruxelles, INEAC, 1972. 368 p. (INEAC, série Scientifique, 115).
37. RAMAKRISHNAN, T.S. & RADHAKRISHNA PILLAY, P.N. Secondary leaf spot (anthracnose of *Hevea brasiliensis*) caused by *Glomerella cingulata*(Stonen.) S. & V.S. *Rubber Board Bull.*, Índia, **5**: 85-7, 1961.
38. RAMAKRISHNAN, T.S. & RADHAKRISHNA PILLAY, P.N. Secondary leaf fall caused by *Glomerella cingulata* (Stonen) S. & V.S. *Gloeosporium alborubrum* Petch. *Rubber Bulletin*, Índia, **6**: 74-8, 1962.

- 39.RAO, B.S. Controlled wintering of *Hevea brasiliensis* for avoiding secondary leaf fall. In: WASTIE, R.L. & WOOD, B.J. (eds.) **Crop protection in Malaysia : proceedings of the Conference, Kuala Lumpur, 1970.** Kuala Lumpur, Incorporated Society of Planters'. 1971. p. 204-12.
- 40.RAO, B.S. Changing aspects of rubber diseases in Malaysia. **FAO Plant Prot. Bull.**, Roma, **20**: 1-8, 1972a.
- 45.RAO, B.S. Chemical defoliation of *Hevea brasiliensis* for avoiding secondary leaf fall. **Rubber Res. Inst. Malaysia**, Kuala Lumpur, **23**(3): 248-56, 1972b.
- 46.RAO, B.S. **Maladies of Hevea in Malaysia.** Kuala Lumpur, Rubber Research Institute of Malaysia, 1975. 108p.
- 47.RAO, B.S. & YUSOF AZALDIN, M. Progress towards recommending artificial defoliation for avoiding secondary leaf fall. In: **RUBBER RESEARCH INSTITUTE OF MALAYSIA, Planter's Conference, Kuala Lumpur, Malásia.Proceedings.** Kuala Lumpur, Rubber Research Institute of Malaysia , 1973. Kuala Lumpur, 1973. p. 267-80.
- 48.SACCAS, A.M. Une grave maladie des *Hevea* des terres rouges en Oubangui-Chari. **Agron.Trop.**, Maracay, **14**(4): 409-58, 1959.
- 49.SAMARAJEEWA, P.K. & LIYANAGE, A.S. Reactions of resistance and susceptible *Hevea* clones to *Colletotrichum gloeosporioides* . **J. Nat. Rubber Res.**, Kuala Lumpur, **1**(3): 187- 194, 1986.
- 50.SECONDARY leaf fall. **Rubber Res. Inst. Malaya Plant. Bull.**, Kuala Lumpur, (27): 105-9,1956.
- 51.SHEAR, C.L. & WOOD, A.K. Studies of fungous parasites belonging to the genus *Glomerella*. **USDep. Agric. Bull.**, Washington, D.C., (352): 1-110, 1913.
- 52.SILVEIRA, A.P.& CARDOSO, R.M.G. Ocorrência de *Colletotrichum gloeosporioides* em seringueira (*Hevea brasiliensis*) no Estado de São Paulo. In: **CONGRESSO PAULISTA DE FITOPATOLOGIA**, 10, Piracicaba, 1987. **Resumos. Summa Phytopathologica**, Piracicaba, **13** (1,2): 19, 1987.
- 53.SILVEIRA, A.P.; FURTADO, E.L. & LOPES, M.E.B.M. Antracnose, nova doença no painel de seringueira no Brasil. In: **REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO**, 2., São Paulo, 1989. **Resumos. Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, **56** (supl.): 32, 1989.
- 54.SUTTON, B.C. **The coelomycetes.** Kew, Commonwealth Mycological Institute, 1980. 695p.

- 55.TAN, A.M. Pathogenicity of isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* from *Hevea brasiliensis* in relation to disease severity. In: PLANT PROTECTION CONFERENCE, Kuala Lumpur, 1978. **Proceedings** . Kuala Lumpur, Rubber Research Institute of Malaysia, 1978. p. 101-6.
- 56.TAN, AM. Stem diseases and their control. In: RUBBER RESEARCH INSTITUTE OF MALAYSIA. RRIM training manual on crop protection and weed control in rubber plantation 1980. Kuala Lumpur, 1980. p.23-41.
- 57.TAN, A.M. & LOW, F.C. Phytoalexin production by *Hevea brasiliensis* in response to infection by *Colletotrichum gloeosporioides* and its effect on other fungi. In: INTERNATIONAL RUBBER CONFERENCE , Kuala Lumpur, 1975. **Proceedings** , Kuala Lumpur, Rubber Research Institute of Malaysia, 1976. v.3. p.217-27.
- 58.TEJADA, J.R. Informe preliminar sobre las enfermedades observadas en il hule *Hevea* in Guatemala. **Rev. Cafetalera**, Guatemala, **230**: 13-5, 1983.
- 59.TRINDADE, D.R. & GASPAROTTO, L. Escaldadura no caule de seringueira jovem. Manaus, EMBRAPA-CNPDS, 1982. 3p.(EMBRAPA. CNPDS. Comunicado técnico, 20).
- 60.TUITE, J. Plant pathological methods. Minneapolis, Minn., Burgess Pub. Co., 1969, 239p.
- 61.URBEN, A.F.; WETZEL, M.M.V. da S. & CICERO, S.M. Ocorrência de fungos em sementes de seringueira. **Pesqui. Agropecu. Bras.**, Brasília, **17**(11):1633-7, 1982.
- 62.WASTIE, R.L. *Gloeosporium* leaf disease of rubber in West Malaysia. **Planter**, **43** (12), 1967, 13p.
- 63.WASTIE, R.L. *Glomerella cingulata*, *Colletotrichum dematium* and *C. crassipes* on *Hevea* in West Malaysia. **FAO Plant Prot. Bull.**, Roma, **16**(1): 1-2, 1968.
- 64.WASTIE, R.L. Use of fungicides in disease control. **Plant Bull. Rubber Res. Inst. Malaysia**, Kuala Lumpur (**104**): 199-205, 1969.
- 65.WASTIE, R.L. The control of secondary leaf fall of *Hevea brasiliensis* . In:WASTIE, R.L. & WOOD, B.J., eds. **Crop protection in Malaysia**; proceedings of the Conference, Kuala Lumpur, 1970. Kuala Lumpur, Incorporated Society of Planters, 1971. p.197-203.
- 66.WASTIE, R.L. Factors affecting secondary leaf fall on *Hevea* in Malaysia. **J. Rubber Res. Inst. Malaysia**, Kuala Lumpur, **23**(3): 232-47, 1972a.

- 67.WASTIE, R.L. Secondary leaf fall of *Hevea brasiliensis* : factors affecting the production, germination and viability of spores of *Colletotrichum gloeosporioides* . Ann. Appl. Biol., Cambridge, 72(3): 273-82, 1972b.
- 68.WASTIE, R.L. Secondary leaf fall of *Hevea brasiliensis* : meteorological and other factors affecting infection by *Colletotrichum gloeosporioides*. Ann. Appl. Biol. , Cambridge, 72(3): 283-93, 1972c.
- 69.WASTIE, R.L. Nursery screening of *Hevea* for resistance to *Gloeosporium* leaf disease. J. Rubber Res.Inst. Malaysia, Kuala Lumpur, 23(5): 339-50, 1973.
- 70.WASTIE, R.L. Diseases of rubber in Brazil: report of Consultory visit in October/November 1978. Pentlandfield, Scottish Plant Breeding Station, 1978, 36p.
- 71.WASTIE, R.L. & CHEE, K.H. Problems in the chemical control of *Hevea* diseases in Malaysia. World Crops, London, 21(5): 334-9, 1969.
- 72.WASTIE, R.L.; CHEE, K.H. & LIM, T.M. Screening clones of *Hevea brasiliensis* for disease resistance - a review. Planter, Kuala Lumpur, 49:164-9, 1973.
- 73.WASTIE, R.L. & JANARDHANAN, P.S. Pathogenicity of *Colletotrichum gloeosporioides* , *C. dematium* and *C.crassipes* to leaves of *Hevea brasiliensis*.Trans.Br.Mycol. Soc., London, 54(1):150-3, 1970.
- 74.WASTIE,R.L.& SANKAR, G. Variability and pathogenicity of isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* from *Hevea brasiliensis*. Trans.Br. Mycol. Soc., London, 54(1): 117-21, 1970.
- 75.WEIR, J.R. A pathological survey of the Para rubber tree (*Hevea brasiliensis*) in the Amazon Valley. Washington, USDep.Agric. Bull., Washington, DC, (1380):1-130, 1926.
- 76.WICHERLEY, P.R. Variation in the performance of *Hevea* in Malaysia. J. Trop. Geogr., 17: 143-71, 1963.
- 77.WIMALAJEEWA, D.L.S. The incidence and economic importance of the *Gloeosporium* leaf disease of *Hevea* in Ceylon. II - A survey on the incidence of *Gloeosporium* . Rubber Res. Inst. Ceylon, Q.J., Colombo, 39(3/4): 81-4, 1963.
- 78.WIMALAJEEWA, D.L.S. Studies on the physiology of spore germination in *Gloeosporium alborubrum*. Rubber Res. Inst. Ceylon, Q.J., Colombo, 43(1/2): 4-12, 1967.
- 79.YOUNG, H.E. Bird's eye leaf spot of *Hevea* caused by *Helminthosporium heveae*. Ceylon Adv. Cir., Colombo, 51:5, 1954.