CARACTERIZAÇÃO PATOGÊNICA E SEROLÓGICA DE
Colletotrichum graminicola (Ces.) Wils. (*sensu* Arx, 1957)
DO TRIGO E RESISTÊNCIA VARIETAL EM
Triticum aestivum L.

MARIA ANGÉLICA PIZZINATTO GERALDI

Orientador: Dr. HIROSHI KIMATI

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

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Setembro, 1981

A
meus pais e
meu esposo,

D E D I C O.

A G R A D E C I M E N T O S

A autora expressa seus agradecimentos

Ao Prof. Dr. HIROSHI KIMATI pela sugestão do assunto, valiosa orientação e amizade.

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

Ao Pq.C. OSVALDO PARADELA FILHO, Chefe da Seção de Microbiologia Fitotécnica do Instituto Agronômico, pelas facilidades concedidas para o término deste trabalho.

À Profa. Dra. ELOCY MINUSSI pelo fornecimento de sementes.

Ao colega PABLO GUZMÁN VARGAS pela colaboração na instalação e condução dos experimentos, e também na obtenção das fotografias.

Aos Profs. Dr. CLÉLIO LIMA SALGADO e Dr. TASSO LEO KRÜGNER pela revisão dos originais e sugestões apresentadas.

A todos que, direta ou indiretamente, colaboraram para a realização deste trabalho.

ÍNDICE

	Página
RESUMO	v
SUMMARY	vii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	2
2.1. Taxonomia e nomenclatura	2
2.2. Serologia	4
2.3. Resistência varietal	8
3. MATERIAIS E MÉTODOS	10
3.1. Inoculação cruzada	10
3.1.1. Isolados utilizados	10
3.1.2. Patogenicidade de isolados de <i>Colletotrichum</i> do trigo, milho, sorgo e cana-de-açúcar em trigo . .	11
3.1.3. Patogenicidade de um isolado de <i>Colletotrichum</i> do trigo em trigo, milho, sorgo, aveia, centeio e ce- vada	12
3.2. Influência da concentração do inóculo na reação de cul- tivares de trigo	12
3.3. Reação de cultivares de trigo a um isolado de <i>Colleto- trichum graminicola</i> do trigo	13
3.4. Caracterização serológica de <i>C. graminicola</i> do trigo .	14
3.4.1. Preparação do antissoro	14
3.4.2. Preparação dos antígenos para reações serológicas.	15
3.4.3. Testes serológicos	15
4. RESULTADOS	17
4.1. Inoculação cruzada	17
4.1.1. Patogenicidade de isolados de <i>Colletotrichum</i> do trigo, milho, sorgo e cana-de-açúcar em trigo . .	17
4.1.2. Patogenicidade de um isolado de <i>Colletotrichum</i> do trigo em trigo, milho, sorgo, aveia, centeio e ce- vada	18
4.2. Influência da concentração do inóculo na reação de cul- tivares de trigo	21

4.3. Reação de cultivares de trigo a um isolado de <i>Colletotrichum graminicola</i> do trigo	22
4.4. Caracterização serológica de <i>C. graminicola</i> do trigo.	23
4.4.1. Titulação do antissoro e do antígeno	23
4.4.2. Comparação serológica de isolados de <i>Colletotrichum</i> do trigo, cana-de-açúcar, milho e sorgo . .	26
5. DISCUSSÃO	29
6. CONCLUSÕES	34
LITERATURA CITADA	35

CARACTERIZAÇÃO PATOGÊNICA E SEROLÓGICA DE *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wils. {sensu Arx, 1957} DO TRIGO E RESISTÊNCIA VARIETAL EM *Triticum aestivum* L.

MARIA ANGÉLICA PIZZINATTO GERALDI

Orientador: HIROSHI KIMATI

RESUMO

A taxonomia e nomenclatura de *Colletotrichum graminicola* (Ces) Wils. {sensu Arx, 1957}, agente causal da Antracnose do trigo, foram discutidas baseando-se nos resultados obtidos em testes serológicos e de inoculação cruzada.

Nos testes de dupla difusão em gel ágar em lâminas evidenciou-se que o isolado de *C. graminicola* de trigo é serologicamente distinto dos isolados de cana-de-açúcar e sorgo, ou seja, respectivamente das *formae speciales sacchari* e *sorghii* de *C. graminicola*.

As inoculações cruzadas realizadas em casa de vegetação, através da imersão de plântulas em suspensões de esporos de isolados de *C. gra-*

minicola de diferentes gramíneas hospedeiras mostraram que o trigo só é infectado pelo isolado congênial, que por sua vez é patogênico também às cultivares de centeio e cevada testadas. Em vista desses resultados e de observações de outros autores sugere-se a designação de *forma specialis secalis*, para os isolados de *C. graminicola* de trigo, centeio e cevada.

Estudou-se ainda o efeito da utilização de diferentes concentrações de inóculo de *C. graminicola* na reação de quatro cultivares de trigo, não sendo observada qualquer diferença na manifestação dos sintomas da doença nas plantas inoculadas.

Finalmente inocularam-se dezessete cultivares de trigo com um isolado congênial de *C. graminicola*, das quais apenas a cultivar CNT 8 mostrou-se resistente.

PATHOGENICAL AND SEROLOGICAL CHARACTERIZATION OF *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wils. {sensu Arx, 1957} FROM WHEAT AND VARIETAL RESISTANCE IN *Triticum aestivum* L.

MARIA ANGÉLICA PIZZINATTO GERALDI

Adviser: HIROSHI KIMATI

SUMMARY

Taxonomy and nomenclature of the causal agent of wheat Anthracnose, *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wils. {sensu Arx, 1957} were discussed, based on the results obtained from serological and cross inoculation tests.

The double diffusion tests in agar gel showed clearly that the wheat isolate of *C. graminicola* is serologically distinct from those from sugar cane (f. sp. *sacchari*) and sorghum (f. sp. *sorghii*).

Cross inoculations were made under greenhouse conditions by the immersion of seedlings in conidial suspensions of *C. graminicola* isolated from different gramineous hosts. The results showed that wheat is

infected only by the congenial isolate. The wheat isolate was also pathogenic to the tested rye and barley cultivars. Taking into account these results and the observations of other authors, it is suggested the designation of *forma specialis secalis* to the isolates of *C. graminicola* from wheat, rye and barley.

The effect of utilization of different inoculum concentrations of *C. graminicola* in the reaction of four wheat cultivars was also studied. There were no differences in the symptomatology expressed by the inoculated seedlings.

Among seventeen wheat cultivars that were inoculated with a congenial isolate of *C. graminicola* only the CNT 8 was resistant.

1. INTRODUÇÃO

A cultura do trigo pode ser colocada entre as culturas mais prejudicadas economicamente, devido à incidência de um considerável número de diferentes doenças. Entre tais doenças pode-se enquadrar a Antracnose, que, apesar de ser confundida sintomatologicamente com as doenças Giberela e Mal do Pé, é relatada como incitadora de consideráveis prejuízos nos trigos do sul do Brasil (LUZZARDI *et alii*, 1976). Apesar disso, tem-se observado que poucos trabalhos vêm sendo realizados em consideração ao fungo *Colletotrichum graminicola*, agente causal da Antracnose do trigo, bem como em busca de fontes de resistência.

O presente trabalho visa trazer uma contribuição à taxonomia de fungos do gênero *Colletotrichum* de esporos falcados que afetam Gramíneas, dando ênfase à diferenciação patogênica e serológica de isolados de trigo, milho, sorgo e cana-de-açúcar. E ainda, tendo em vista que o uso de cultivares resistentes é um dos métodos mais importantes, senão o ideal, de controle de doenças de plantas, procura-se conhecer a reação de algumas cultivares de trigo ao *Colletotrichum graminicola*, através de inoculações com um isolado congênial.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Taxonomia e nomenclatura

O fungo causador da Antracnose do trigo é classificado como *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wils. (CHESTER, 1947; DICKSON, 1956). Tal classificação baseia-se em WILSON (1914), que sob esse nome incluiu onze sinônimos (exclusive *Colletotrichum falcatum* da cana-de-açúcar) de fungos morfológicamente semelhantes ocorrendo em Gramíneas. Mais tarde, ARX (1957), em sua revisão taxonômica sobre o gênero *Colletotrichum*, ampliou a sinonímia para cerca de 36 nomes (inclusive *Colletotrichum falcatum* da cana-de-açúcar), adotando como critério a morfologia conidial e mantendo a mesma nomenclatura por uma questão de prioridade.

Essa classificação, meramente morfológica, pode levar a inferências fitopatológicas errôneas, quanto ao espectro de hospedeiros do patógeno, pois, desde 1911, existem relatos de especialização fisiológica desse fungo aos hospedeiros (TARR, 1962).

LE BEAU (1950) estudou a patogenicidade de 593 isolados de

Colletotrichum de dezoito espécies de Gramíneas em cana-de-açúcar e sorgo, concluindo que existiam três grupos distintos de isolados conforme suas patogenicidades a essas duas plantas hospedeiras. Ou seja, os isolados de cana-de-açúcar compreendiam um grupo que era altamente patogênico à cana-de-açúcar e raramente ao sorgo. Enquanto que, os isolados de sorgo, "Johnson grass", "Sudan grass", *Erianthus* e sorgo vassoura abrangiam um segundo grupo que não era patogênico à cana-de-açúcar, mas que o era sobre o sorgo. O terceiro grupo compreendeu poucos isolados de outras Gramíneas, os quais não foram patogênicos à cana-de-açúcar e ao sorgo.

Enfatizando esse importante ponto de vista fisiológico e epidemiológico, MESSIAEN *et alii* (1959) relataram que, na França, um isolado de *Colletotrichum* do milho não infectou *Sorghum* spp, cana-de-açúcar ou centeio, mas era patogênico somente ao milho. Baseando-se nesses resultados, adotaram a nomenclatura *Colletotrichum graminicola* f.sp. *zeae* para isolados de *C. graminicola* do milho, conforme já era usual na nomenclatura de outros fungos fitopatogênicos, como *Fusarium oxysporum* e *Puccinia graminis*. Além disso, os últimos autores sugeriram ainda a validade de se criar *formae speciales sorghi*, *sacchari* e *secalis*, respectivamente para isolados de *Colletotrichum* de sorgo, de cana-de-açúcar e de centeio.

Nos Estados Unidos, resultados semelhantes com inoculações cruzadas foram obtidos por DALE (1963). Nessas inoculações, o isolado de *Colletotrichum* do milho não infectou *Sorghum* spp, ao passo que um isolado de *Colletotrichum* de *Sorghum vulgare* também não infectou folhas de milho.

KIMATI (1975), trabalhando no Brasil com isolados de *Colletotrichum* da cana-de-açúcar, do milho e do sorgo, apresentou evidências auxa-

nográficas, serológicas e patogênicas para a distinção sugerida por MES - SIAEN *et alii* (1959).

Com referência ao *C. graminicola* do trigo, causador de recentes epifitias de Antracnose nos trigais gauchos (LUZZARDI *et alii*, 1976) , poucos estudos dessa natureza têm sido feitos.

Relatos de inoculação cruzada indicam que isolados de *Colletotrichum* do trigo eram incapazes de infectar colmos de cana-de-açúcar (Edger ton, 1911), citado por ABBOTT (1938), plântulas de milho (WHEELER *et alii* , 1974; MINUSSI, 1977) e plantas de cana-de-açúcar e de sorgo (MINUSSI, 1977).

Por outro lado, o trigo não é infectado por isolados de *Colletotrichum* do milho (ZWILLENBERG, 1959; WILLIAMS e WILLIS, 1963; WHEELER *et alii*, 1974; MINUSSI, 1977), da cana-de-açúcar e do sorgo (MINUSSI, 1977). Este último autor relata ainda que, os isolados de *C. graminicola* do trigo e do sorgo podem ser distinguidos de *C. falcatum* da cana-de-açúcar por serem auxoautotróficos, e sugere a denominação *C. graminicola* f. sp. *tritici* para os isolados de *Colletotrichum* do trigo.

2.2. Serologia

Testes serológicos são cada vez mais apreciados pelos micologistas devido a sua aplicação na taxonomia, classificação e identificação de fungos (SEELIGER, 1968). Efetivamente, pode-se notar a importância flagrante que vem assumindo a serologia também na Micologia Fitopatológica , principalmente, onde não existe distinção morfológica aparente,

Uma análise dos trabalhos serológicos com fungos do gênero *Fusarium* mostra a utilidade da serologia na distinção taxonômica, não só ao nível de espécies (MADHOSINGH, 1964 a), como também de *formae speciales* (TEMPEL, 1957; BUXTON *et alii*, 1961), e mesmo de raças fisiológicas (BUXTON *et alii*, 1961; MORTON e DUKES, 1966).

MADHOSING (1964 a) comparando serologicamente, através de testes de dupla difusão em ágar, três espécies do gênero *Fusarium* (*F. oxysporum*, *F. moniliiforme* e *F. solani*), observou reações cruzadas entre elas, em adição a linhas de precipitação específicas a cada uma delas. Verificou ainda que as relações serológicas eram mais estreitas entre *F. oxysporum* e *F. moniliiforme*, do que entre estas e *F. solani*.

Comparações serológicas entre *Fusarium oxysporum* f.sp. *lupini* e *F. oxysporum* f. sp. *pisi* foram realizadas por TEMPEL (1957), o qual observou precipitações específicas entre os antissoros e antígenos preparados para cada uma dessas *formae speciales*, relatando ainda a presença de linhas de precipitação que representavam componentes antigênicos comuns aos antígenos desses dois isolados.

BUXTON *et alii* (1961), realizando testes de aglutinação e de dupla difusão em ágar, com antissoros para *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* e para *F. oxysporum* f. sp. *pisi* e antígenos de 23 *formae speciales* e raças fisiológicas, conseguiram caracterizar raças de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* e de *F. oxysporum* f. sp. *pisi*.

Ainda com respeito a estudos serológicos de *Fusarium oxysporum*, MORTON e DUKES (1966) conseguiram diferenciar, serologicamente, as raças fisiológicas 1 e 2 de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*.

Dentre os ficomicetos fitopatogênicos encontra-se alguns relatos de comparações serológicas entre espécies dos gêneros *Pythium* e *Phytoph*th*thora* (MORTON e DUKES, 1967), e ainda, estudos serológicos, realizados separadamente, entre espécies de *Pythium* e de *Phytophthora* (MERZ *et alii*, 1969; KRYWIENCZYK e DORWORTH, 1980).

Assim sendo, MORTON e DUKES (1967) distinguiram, serologicamente, *Pythium aphanidermatum* de *Phytophthora parasitica* e de *P. parasitica* var. *nicotianae*, concluindo ainda que, esses dois últimos patógenos eram serologicamente muito similares.

MERZ *et alii* (1969) compararam *Phytophthora cinnamomi*, *P. arecae*, *P. citrophthora*, *P. palmivora*, *P. meadii* e *P. mexicana*, e pelos resultados obtidos sugeriram que, com exceção de *P. cinnamomi* que é serologicamente distinta das demais, todas as outras cinco espécies de *Phytophthora* fossem designadas *P. citrophthora*.

Através de testes de dupla difusão em ágar e de imunoeletroforese, KRYWIENCZYK e DORWORTH (1980) agruparam de acordo com suas relações serológicas, as seguintes espécies de *Pythium*: a) *P. aphanidermatum* e *P. butleri*; b) *P. coloratum* e *P. dissotocum*; c) *P. pyriforme* e d) *P. debaryanum*, *P. irregulare*, *P. mamillatum*, *P. sylvaticum* e *P. ultimum*.

Fomes roseus e *F. subroseus* foram comparados, serologicamente, por MADHOSINGH (1964 b), o qual constatou a existência de componentes antigênicos comuns as duas espécies, e também específicos a cada uma delas.

GOODING JR. e POWERS JR. (1965) estudaram as relações serológicas entre *Cronartium fusiforme*, *C. quercuum* e *C. ribicola*, e observaram diferença antigênica em testes interespecíficos.

AMOS e BURRELL (1967) diferenciaram, serologicamente, as oito espécies do gênero *Ceratocystis* que se seguem: *C. fagacearum*, *C. pluriannu-*
lata, *C. variospora*, *C. radicicola*, *C. pilifera*, *C. adiposa*, *C. ulmi* e *C.*
ips. Enquanto que, CARDOSO (1976) distinguiu, também serologicamente, *Cera*
*to**cystis paradoxa* de *C. fimbriata*, observando ainda diferenças antigênicas
intraespecíficas, que parecem indicar a existência de *formae speciales* des-

ses patógenos.

FIGUEIREDO (1972) demonstrou, pela primeira vez no Brasil, a aplicação da serologia na identificação de fungos fitopatogênicos trabalhan
do com *Ascochyta phaseolorum*. Diferenças serológicas entre esta espécie e
outras do gênero *Ascochyta* foram relatadas por FIGUEIREDO e NAMEKATA (1974).

TERANISHI ~~et alii~~ (1973) observaram diferenças antigênicas en
tre *Verticillium albo-atrum* e *V. dahliae*, demonstrando, mais uma vez, o
valor das técnicas serológicas na diferenciação de espécies de fungos fito-
patogênicos.

Com relação à serologia de fungos do gênero *Colletotrichum*, e
especialmente de *C. graminicola*, KIMATI (1975) demonstrou a existência de
diferenças antigênicas entre isolados da cana-de-açúcar, do milho e do sor-
go, ou seja, respectivamente entre as *formae speciales* *sacchari*, *zeae* e
sorghii do referido patógeno.

Contudo, MENTEN (1977) não detectou diferenças serológicas en
tre isolados pertencentes a diferentes raças fisiológicas de *Colletotrichum*
gloeosporioides f.sp. *cucurbitae*, demonstrando apenas a existência de compo-
nentes antigênicos comuns entre eles.

Por outro lado, isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* da manga e da cebola (*C. gloeosporioides* f. sp. *cepae*) foram comparados e distinguidos, serologicamente, por BAJUNGU (1979), através de testes de dupla difusão em ágar.

2.3. Resistência varietal

O uso de cultivares resistentes é um dos métodos mais importantes, senão o ideal, de controle de doenças de plantas. Porém, no caso da Antracnose do trigo que, segundo LUZZARDI *et alii* (1976), constituiu-se num problema sério e subestimado na triticultura do Rio Grande do Sul, não existem referências quanto a fontes de resistência a essa doença.

Portanto, a maioria dos dados encontrados refere-se à suscetibilidade de cultivares de trigo a Antracnose, ou seja, ao *C. graminicola*. Desse modo, CHESTER (1947) afirma que as cultivares Turkey, Kanred, Fultz, Harvest Queen e Marquis são altamente suscetíveis.

No Brasil, as cultivares de trigo IAS 54 e Lagoa Vermelha foram relatadas, respectivamente, como suscetível e resistente a Antracnose em condições naturais de campo (LUZZARDI *et alii*, 1976), e, segundo MEHTA (1978), a cultivar de trigo IAS 58 também é suscetível à referida doença,

Assim sendo, a obtenção de cultivares resistentes torna-se o objetivo colimado, havendo necessidade de ser desenvolvida uma metodologia de avaliação da resistência de cultivares de trigo a Antracnose. Nesse caso, deve-se considerar que fatores ambientes influem, comumente, no desenvolvimento de doenças e na expressão da resistência de populações de plantas em melhoramento (WALKER, 1965).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Inoculação cruzada

3.1.1. Isolados utilizados

Os isolados de *Colletotrichum* utilizados no presente trabalho encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1. Isolados de *Colletotrichum* utilizados, origem e concentração do inóculo.

Isolado ^{a/}	Cultivar do Hospedeiro	Procedência	Concentração do inóculo (nº conídios/ml)
T-80	IAS 54	Passo Fundo, RS	1,8.10 ⁶
M-1	Centralmex	Ribeirão Preto, SP	1,5.10 ⁶
S-25	desconhecida	Cachoeira Dourada, MG	2,2.10 ⁶
C-1	CB 41/76	Piracicaba, SP	1,2.10 ⁶

^{a/} Hospedeiros: T = trigo, M = milho, S = sorgo e C = cana-de-açúcar

3.1.2. Patogenicidade de isolados de *Colletotrichum* do trigo, milho, sorgo e cana-de-açúcar em trigo.

Neste ensaio a cultivar de trigo BH 1146 foi inoculada, separadamente, com um isolado de *Colletotrichum* do trigo (T-80), um do milho (M-1), um do sorgo (S-25) e um da cana (C-1), descritos na Tabela 1.

O inóculo foi desenvolvido em meio de aveia (aveia = 60 g, ágar = 12 g e água = 1000 ml) sob luz contínua de uma "Biotronette Mark III Environmental Chamber", por 12 dias a 22°C.

A inoculação dos isolados de *Colletotrichum* em trigo foi realizada segundo TIFFANY (1951) e REIS (1973). Primeiramente as sementes foram tratadas com uma solução de hipoclorito de sódio (1 parte de Q-Boa contendo 5% de cloro ativo e 3 partes de água) por 3 minutos. A seguir, estas foram colocadas em placas de Petri contendo papel de filtro umedecido, até ocorrer a germinação. As plântulas foram então imersas nas suspensões de esporos, por 5 minutos, e imediatamente plantadas em vasos de alumínio contendo areia esterilizada. Estes vasos foram mantidos em casa de vegetação, tendo a temperatura variado de 14 a 35°C.

A avaliação dos resultados foi efetuada 15 dias após a inoculação das plantas, tendo como critério a determinação da porcentagem de plantas mortas.

O delineamento deste experimento foi inteiramente casualizado e compreendeu um total de 24 vasos, com 3 repetições inoculadas e 3 repetições testemunhas por tratamento. Cada repetição era representada por 1 vaso com 10 plantas.

3.1.3. Patogenicidade de um isolado de *Colletotrichum* do trigo em trigo, milho, sorgo, aveia, centeio e cevada.

Uma cultivar de trigo (BH 1146), uma de milho (Centralmex), uma de sorgo (Sart), uma de aveia (Coronado), uma de centeio (Gayerowo) e uma de cevada (Breuns Volla) foram submetidas à inoculação do isolado T-80 descrito na Tabela 1.

As metodologias de obtenção do inóculo, inoculação e avaliação dos resultados foram semelhantes às descritas em 3.1.2.

O delineamento deste experimento foi inteiramente casualizado e constou de um total de 36 vasos, com 3 repetições inoculadas e 3 repetições testemunhas por tratamento. Cada repetição era representada por um vaso com 10 plantas.

Durante a realização deste ensaio, a temperatura na casa de vegetação variou de 23 a 33°C.

3.2. Influência da concentração do inóculo na reação de cultivares de trigo

Neste ensaio as cultivares de trigo BH 1146, IAC 5 (Maringá), IAS 54 e Jupateco foram inoculadas com o isolado T-80 de *Colletotrichum* do trigo (Tabela 1).

A obtenção do inóculo, inoculação e avaliação dos resultados, foram semelhantes às dos testes de inoculação cruzada.

A concentração do inóculo foi calibrada por diluições sucessivas, após contagem em hemocítômetro, para $1,3.10^4$, $1,3.10^5$, $1,3.10^6$ e $1,3.10^7$ conídios por mililitro.

O ensaio foi conduzido em casa de vegetação com variação de temperatura de 22 a 34°C.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 3 repetições por tratamento, sendo cada repetição representada por um vaso com 10 plantas.

3.3. Reação de cultivares de trigo a um isolado de *Colletotrichum graminicola* do trigo

Neste ensaio dezessete cultivares de trigo (CNT1, CNT 7, CNT 8, CNT 9, CNT 10, C 33, C 51 ou Vacaria, Cotiporã, Glória, IAC 5 ou Maringá, IAS 61, IAS 64, Jacuí, Mascarenhas, Nobre, PAT 19 e PAT 7219), fornecidas pelo Centro Nacional de Pesquisa de Trigo, Passo Fundo (RS), foram inoculadas com o isolado T-80 de *C. graminicola* do trigo.

As metodologias de obtenção do inóculo (conc. = $1,2.10^6$ conídios/ml), inoculação e avaliação foram semelhantes às descritas em 3.1.2.

O ensaio foi realizado em casa de vegetação, tendo a temperatura variado de 15 a 34°C.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 3 repetições inoculadas e 3 repetições testemunhas por tratamento. Cada repetição era representada por um vaso contendo 10 plantas.

3.4. Caracterização serológica de *C. graminicola* do trigo

3.4.1. Preparação do antissoro

O antissoro para um isolado de *Colletotrichum graminicola* do trigo (T-80 da Tabela 1) foi preparado num coelho, por injeções intramusculares de suspensão de esporos produzidos em meio de aveia, sob luz contínua, a 22°C durante 12 dias. Os esporos foram lavados com água destilada e centrifugados (Centrífuga Sorvall SS 4) a 10.000 rpm durante 10 minutos, por duas vezes consecutivas. As suspensões, contendo aproximadamente 10^6 conídios por ml, foram misturadas em volumes iguais com adjuvante incompleto de Freund (Difco) antes das inoculações, e passaram a ser chamadas de antígeno.

As injeções (1 a 2 ml de antígeno/aplicação) foram realizadas duas vezes por semana e as sangrias (uma por semana) começaram sete dias após o início das injeções. Efetuou-se um total de dezesseis injeções e oito sangrias.

Antes da primeira injeção foi efetuada uma sangria para a obtenção do soro normal. Para separação do soro, o sangue foi coagulado em condições de 5°C, por uma noite e, em seguida, centrifugado como no caso do antígeno. Ao soro foi adicionado "merthiolate" (etilmercuritiosalicilato de sódio) a 1%, na proporção 1/100 (v/v), e a sua conservação foi feita em congelador.

3,4,2. Preparação dos antígenos para reações serológicas

Os antígenos para reações serológicas foram preparados através da maceração, em almofariz, de esporos produzidos em meio de aveia. Como na preparação do antígeno para inoculação do coelho, os esporos foram previamente lavados com água destilada e centrifugados duas vezes consecutivas. Aos conídios macerados foram adicionados 10 a 20 ml de salina tamponada (NaCl 0,85%, K_2HPO_4 - KH_2PO_4 0,01M a pH 7,2) e "merthiolate" a 1% na proporção de 1/100 (v/v).

A conservação desses antígenos foi feita em congelador.

Os isolados de *Colletotrichum* utilizados na preparação de antígenos para reações serológicas encontram-se na Tabela 1.

3,4,3. Testes serológicos

Para a realização dos testes serológicos foi utilizada a técnica de dupla difusão em gel-ágar de Ouchterlony, em lâminas, segundo os trabalhos de FIGUEIREDO (1972) e de KIMATI (1975).

O meio gel consistiu de: 1% de ágar Difco; K_2HPO_4 - KH_2PO_4 0,01M a pH 7,2; e 0,01% de "merthiolate". Eram vertidos 4 ml de meio por lâmina de microscopia.

Orifícios de 0,25 cm de diâmetro e 0,40 cm de distância tangencial foram feitos sobre as lâminas contendo o meio gel, com o auxílio

de um Furagar. O esquema de distribuição de orifícios desse Furagar era de um hexágono inscrito num círculo de 1,25 cm de diâmetro.

A titulação do antissoro e do antígeno foi também realizada através da técnica de dupla difusão em gel-ágar, procedendo-se a diluição, em salina tamponada, por fatores de 2 (2^{-n} , n variando de 1 a 5).

A preservação das lâminas dos testes serológicos foi realizada seguindo-se a técnica de CAMPBELL *et alii* (1970): imersão em salina por 12 hs, superposição de papel de filtro, secagem por 12 hs, coloração com amido Black (solução de 90% de metanol, 10% de ácido acético e 0,1% do corante), 2 lavagens na solução descorante (solução de 90% de metanol e 10% de ácido acético) e secagem ao ar.

4. RESULTADOS

4.1. Inoculação cruzada

4.1.1. Patogenicidade de isolados de *Colletotrichum* do trigo, milho, sorgo e cana-de-açúcar em trigo.

Os resultados deste experimento de inoculação cruzada, os quais são representados pela porcentagem de plantas mortas, aos 15 dias após a inoculação, encontram-se na Tabela 2.

Tabela 2. Reação do trigo à inoculação de isolados de *Colletotrichum* do trigo, milho, sorgo e cana-de-açúcar.

Isolados <u>a/</u>	Porcentagem de plantas mortas <u>b/</u>
T-80	100
M-1	0
S-25	0
C-1	0

a/ T-80 (trigo); M-1 (milho); S-25 (sorgo) e C-1 (cana-de-açúcar)

b/ Em três repetições, cada qual representada por 1 vaso com 10 plantas, totalizando 30 plantas por tratamento.

Os isolados de *Colletotrichum* do milho (M-1), do sorgo (S-25) e da cana-de-açúcar (C-1) não foram patogênicos à cultivar BH 1146 de trigo.

Porém, o isolado do trigo (T-80) mostrou-se altamente patogênico, provocando amarelecimento nas extremidades das folhas, necrose dos colmos próximo ao nível do solo e, finalmente, a morte de todas as plantas inoculadas.

4.1.2. Patogenicidade de um isolado de *Colletotrichum* do trigo em trigo, milho, sorgo, aveia, centeio e cevada.

Os resultados obtidos neste ensaio encontram-se na Tabela 3.

Tabela 3. Reação do trigo, milho, sorgo, aveia, centeio e cevada a um isolado de *Colletotrichum* do trigo.

Hospedeiro	Cultivar	% Plantas mortas ^{a/}
Trigo	BH 1146	100
Milho	Centralmex	0
Sorgo	Sart	0
Aveia	Coronado	0
Centeio	Gayerowo	100
Cevada	Breuns Volla	100

^{a/} Total de três repetições por tratamento, cada uma representada por um vaso com 10 plantas. Avaliação aos 15 dias após a inoculação.

O isolado de *Colletotrichum* do trigo (T-80) não foi patogênico ao sorgo, milho e aveia (Figura 1). Contudo, provou ser altamente patogênico ao trigo (Figura 2), centeio e cevada, ocasionando os mesmos sintomas, já citados em 4.1.1., em todas as plantas inoculadas.

Figura 1. Reação da cultivar Coronado de aveia ao isolado T-80 de *Colletotrichum graminicola*, 15 dias após a inoculação.

Figura 2. Reação da cultivar BH 1146 de trigo ao isolado T-80 de *Colletotrichum graminicola*, 15 dias após a inoculação.

4.2. Influência da concentração do inóculo na reação de cultivares de trigo.

Os resultados deste ensaio são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Reação de cultivares de trigo a diferentes concentrações de inóculo de um isolado de *Colletotrichum* do trigo.

Concentração do inóculo (nº conídios/ml)	% Plantas Mortas <u>a/</u>			
	BH 1146	IAC 5	IAS 54	Jupateco <u>b/</u>
1,3.10 ⁴	100	100	100	100
1,3.10 ⁵	100	100	100	100
1,3.10 ⁶	100	100	100	100
1,3.10 ⁷	100	100	100	100

a/ Total de três repetições por tratamento, cada uma representada por 1 vaso com 10 plantas.

b/ Cultivares de trigo.

Não houve influência da concentração do inóculo do isolado de *Colletotrichum* do trigo (T-80) na reação das quatro cultivares de trigo inoculadas. Todas as plantas apresentavam-se mortas 15 dias após a inoculação, independentemente da concentração do inóculo do fungo à qual foram submetidas.

4.3. Reação de cultivares de trigo a um isolado de *Colletotrichum graminicola* do trigo

Os resultados obtidos neste ensaio encontram-se na Tabela 5.

Tabela 5. Reação de cultivares de trigo a um isolado de *C. graminicola* do trigo.

Cultivar	% de Plantas Mortas <u>a/</u>
CNT 1	100
CNT 7	100
CNT 8	0
CNT 9	100
CNT 10	100
C 33	100
C 51 (Vacaria)	100
Cotiporã	100
Glória	100
IAC 5 (Maringá)	100
IAS 61	100
IAS 64	100
Jacuí	100
Mascarenhas	100
Nobre	100
PAT 19	100
PAT 7219	100

a/ Total de três repetições por tratamento, cada uma representada por um vaso com 10 plantas. Avaliação aos 15 dias após a inoculação.

Somente a cultivar CNT 8 mostrou-se resistente ao isolado T-80 de *C. graminicola* do trigo (Figura 3), enquanto que, todos as demais apresentaram-se uniformemente suscetíveis (Figura 4).

4.4. Caracterização serológica de *C. graminicola* do trigo

4.4.1. Titulação do antissoro e do antígeno

Os resultados da titulação do antissoro desenvolvido contra o isolado T-80 de *Colletotrichum graminicola* do trigo e do antígeno homólogo T (do isolado T-80), realizada pela técnica de dupla difusão em gel-ágar encontram-se respectivamente nas Tabelas 6 e 7.

Tabela 6. Reação do antígeno homólogo T (do isolado T-80 de *C. graminicola*) com o antissoro T (anti T-80) diluído em salina tamponada, por fatores de $2(2^{-n})$, n variando de 1 a 5).

Diluição	Reação <u>a/</u>
Não diluído	++
1/2	+
1/4	+
1/8	-
1/16	-
1/32	-

a/ ++: 2 linhas de precipitação
 +: 1 linha de precipitação
 -: ausência de linha de precipitação.

Figura 3. Reação da cultivar CNT 8 de trigo ao isolado T-80 de *Colletotrichum graminicola*, 15 dias após a inoculação.

Figura 4. Reação da cultivar CNT 7 de trigo ao isolado T-80 de *Colletotrichum graminicola*, 15 dias após a inoculação.

O antissoro T (anti T-80) reagiu com o antígeno homólogo T até a diluição 1/4, demonstrando possuir um título baixo.

As melhores reações serológicas foram aquelas realizadas com antissoro obtido de sangria no 30º dia após o início das injeções.

Tabela 7. Reação do antissoro T (anti T-80) com o antígeno homólogo T (do isolado T-80 de *C. graminicola*) diluído em salina tamponada, por fatores de $2(2^{-n})$, n variando de 1 a 5).

Diluição	Reação ^{a/}
Não diluído	++
1/2	+
1/4	-
1/8	-
1/16	-
1/32	-

^{a/} ++: 2 linhas de precipitação.
 +: 1 linha de precipitação.
 -: ausência de linha de precipitação.

O antígeno do isolado T-80 de *C. graminicola* do trigo teve um título baixo, pois reagiu com o antissoro T (anti T-80) apenas até a diluição 1/2.

4.4.2. Comparação serológica de isolados de *Colletotrichum* do trigo , cana-de-açúcar, milho e sorgo.

Pelos resultados obtidos nos testes de dupla difusão em gel - ágar, e apresentados na Tabela 8, nota-se que o antissoro T (anti T-80) reagiu fortemente com o antígeno homólogo T (do isolado T-80) e com menor intensidade com os antígenos C (do isolado C-1) e S (do isolado S-25), não havendo reação com o antígeno M (do isolado M-1).

Tabela 8. Reação do antissoro T (anti T-80) com os antígenos T (homólogo), C, M e S de isolados de *Colletotrichum*.

Antígeno	Reação ^{a/}
T (homólogo)	++
C	+
M	-
S	+

^{a/} ++: 2 linhas de precipitação
 +: 1 linha de precipitação
 -: ausência de linha de precipitação.

Esses resultados evidenciaram a ocorrência de antígenos comuns entre os isolados T-80, C-1 e S-25 de *Colletotrichum*, e ainda, a especificidade da reação serológica para o antígeno homólogo.

Numa das repetições desse teste de comparação serológica de isolados de *Colletotrichum* de diferentes hospedeiros substituiu-se os antígenos M (do isolado M-1) e S (do isolado S-25), respectivamente, pelos antígenos M₂ (do isolado M-2 de *Colletotrichum* do milho) e S₂ (do isolado S-2 de *Colletotrichum* do sorgo). Esses antígenos foram usados anteriormente por KIMATI (1975), e encontravam-se conservados em congelador há 24 meses. Os demais antígenos e o antissoro utilizados foram os mesmos descritos na Tabela 8.

Os resultados obtidos nessa repetição do teste de comparação serológica entre isolados de *Colletotrichum* de diferentes hospedeiros estão relacionados na Tabela 9.

Tabela 9. Reação do antissoro T (anti T-80) com os antígenos T (homólogo), C, M₂ e S₂ de isolados de *Colletotrichum*.

Antígeno	Reação ^{a/}
T (homólogo)	++
C	+
M ₂	-
S ₂	+

^{a/} ++: 2 linhas de precipitação
 +: 1 linha de precipitação
 -: ausência de linha de precipitação.

Portanto, como esses resultados estão em conformidade com os já relatados na Tabela 8, evidenciou-se pela segunda vez a existência de antígenos comuns entre isolados de *Colletotrichum* de trigo, cana-de-açúcar e sorgo, bem como, a especificidade ao antígeno homólogo.

5. DISCUSSÃO

No presente trabalho, os resultados obtidos nos testes de patogenicidade, em inoculações cruzadas, evidenciaram que o trigo não é infectado por isolados de *Colletotrichum* de milho, sorgo e cana-de-açúcar, sendo infectado somente pelo isolado do próprio trigo. Estes resultados estão em conformidade com os de ZWILLENBERG (1959), WILLIAMS e WILLIS (1963), WHEELER *et alii* (1974) e MINUSSI (1977), quanto à incapacidade de isolados de milho serem patogênicos ao trigo. Observações semelhantes com isolados de sorgo e cana-de-açúcar foram relatadas também por MINUSSI (1977).

Com relação aos testes de patogenicidade de *Colletotrichum* de trigo, este isolado não induziu qualquer sintoma de doença em milho e sorgo, concordando com os resultados obtidos por WHEELER *et alii* (1974) e MINUSSI (1977), como também foi incapaz de infectar a aveia. Contudo, o isolado mostrou-se altamente patogênico ao seu hospedeiro congênial, ou seja, ao trigo, e ainda ao centeio e à cevada. A patogenicidade de um isolado de *Colletotrichum* de trigo à cevada foi constatada também por SKOROPAD (1967).

Assim sendo, deve-se aqui ressaltar que os cereais, trigo , centeio e cevada são componentes da tribo botânica Hordeae da família Gramineae, na qual existe uma grande afinidade genética entre seus membros, indicada pela ocorrência de hibridação entre os gêneros componentes (BERRIE, 1977). Desse modo, acredita-se que, provavelmente, esta seja a razão da patogenicidade do isolado de *Colletotrichum* do trigo ao centeio e à cevada , observada neste trabalho, mesmo porque este isolado mostrou-se incapaz de infectar a aveia, que por sua vez é classificada na tribo Aveneae da famí-lia Gramineae.

Portanto, segundo WHEELER (1968), alguns fungos são capazes de parasitar um amplo espectro de plantas hospedeiras, enquanto outros são restritos a um único hospedeiro. Porém, entre esses dois extremos existem vários graus de especialização, uns se limitando a parasitar espécies vege-tais intimamente relacionadas, e outros sendo restritos a um único gênero ou família vegetal.

De acordo com a gama de hospedeiros, ARX (1957) agrupou todos os fungos do gênero *Colletotrichum* de esporos falcados, que parasitam Gramineas, na espécie *C. graminicola*, admitindo a existência de *formae speciales*. Assim sendo, MESSIAEN *et alii* (1959) sugeriram a legitimidade da existência de *formae speci*ales de *C. graminicola*, propondo então a nomencla-tura *C. graminicola* f. sp. *z*ae para o isolado de milho, e ainda, a cria-ção das *formae speciales* *sacchari*, *secalis* e *sorgh*i.

KIMATI (1975) considerou válidas as nomenclaturas *C. graminicola* f. sp. *sacchari*, *sorgh*i e *z*ae, sugeridas por MESSIAEN *et alii* (1959), enquanto que MINUSSI (1977), estendendo este ponto de vista, suge -

riu a denominação *C. graminicola* f. sp. *tritici* para o isolado do trigo. Entretanto, este último autor esclarece que, talvez, a *forma specialis tritici* fosse a mesma *secalis* proposta por MESSIAEN *et alii* (1959).

Baseando-se então na semelhança sintomatológica da Antracnose em trigo, centeio e cevada (DICKSON, 1956); nos resultados obtidos nas inoculações de centeio e cevada com o isolado de *Colletotrichum* do trigo; e na classificação botânica desses três cereais (BERRIE, 1977), chega-se a um im passe quanto à nomenclatura do isolado de trigo, principalmente, pelo fato de que ela deverá ser estendida aos isolados de *Colletotrichum* de centeio e cevada. Ou seja, deveria-se acatar e estender a sugestão de MESSIAEN *et alii* (1959) denominando-o *C. graminicola* f. sp. *secalis*, devido a sua capacidade de parasitar o centeio além do trigo, ou de acordo com MINUS SI (1977) designá-lo *C. graminicola* f. sp. *tritici*.

Embora não se dispondo de isolados de *Colletotrichum* de centeio e cevada para a realização de testes de patogenicidade em inoculações cruzadas, acredita-se que seria mais conveniente adotar a nomenclatura *C. graminicola* f. sp. *secalis* para o isolado do trigo, e estendê-la para os isolados de centeio e cevada, desde que MESSIAEN *et alii* (1959) propuseram a *forma specialis secalis* baseando-se na não patogenicidade de um isolado de milho ao centeio, e também por uma questão de prioridade.

Considerando-se o resultado obtido na inoculação do isolado de *Colletotrichum* de trigo em aveia admite-se que, provavelmente, o isolado de aveia deve tratar-se de uma *forma specialis* de *C. graminicola* distin ta daquela que parasita o trigo, o centeio e a cevada, já que a especificidade dos isolados de *Colletotrichum* aos seus hospedeiros congêneros encontra-se devidamente confirmada.

Quanto à caracterização serológica do isolado de *Colletotrichum* do trigo, os resultados obtidos evidenciaram a existência de componentes antigênicos de esporos que são comuns aos isolados de trigo, sorgo e cana-de-açúcar, bem como a especificidade do antissoro de *C. graminicola* do trigo ao antígeno homólogo.

Acredita-se que a inexistência de reação entre o antígeno do isolado de *Colletotrichum* do milho e o antissoro do isolado do trigo seja devido aos títulos baixos de ambos.

Mesmo assim pode-se dizer que os resultados dos testes serológicos são acompanhados daqueles de diferenciação auxanográfica de isolados de *Colletotrichum* de cana-de-açúcar, milho e sorgo (KIMATI, 1975) e de isolados de sorgo e trigo (MINUSSI, 1977), bem como confirmam as diferenças patogênicas entre isolados de trigo, cana-de-açúcar e sorgo encontradas neste trabalho.

No teste de reação de cultivares de trigo a um isolado congênial de *C. graminicola* observou-se apenas uma cultivar resistente (CNT 8) dentre as dezessete testadas. Talvez tenha-se obtido este resultado devido à drasticidade do método de inoculação empregado. Isto porque, no experimento sobre a influência da concentração do inóculo de *C. graminicola* na reação de quatro cultivares de trigo, não se detectou qualquer alteração na manifestação da doença, em decorrência das diferentes concentrações de inóculo utilizadas. Contudo, segundo WALKER (1965), a utilização de uma alta ou baixa concentração de inóculo pode acarretar, respectivamente, a perda de germoplasmas resistentes ou a manutenção de escapes suscetíveis, sendo por isso considerada um importante fator na seleção de cultivares resistentes.

No entanto, acredita-se que esta metodologia de inoculação tenha sido satisfatória, pois, confirmou em casa de vegetação a alta suscetibilidade da cultivar IAS 54 ao *C. graminicola*, constatada anteriormente por LUZZARDI *et alii* (1976), em condições naturais de campo, enquanto que a cultivar CNT 8 mostrou-se resistente.

Portanto, a cultivar CNT 8 de trigo, que apresenta resistên-cia às raças fisiológicas de *Puccinia graminis tritici* predominantes no Bra-sil (COELHO, 1978), poderá ser utilizada em futuros trabalhos de melhoramento visando resistência ao *Colletotrichum graminicola*.

6. CONCLUSÕES

Do presente trabalho podem ser tiradas as seguintes conclusões:

1. Os isolados de *Colletotrichum* do milho, sorgo e cana-de-açúcar testados não foram patogênicos ao trigo.
2. O isolado de *Colletotrichum* do trigo testado não se mostrou patogênico ao milho, ao sorgo e à aveia, mas foi patogênico ao centeio e à cevada.
3. Os isolados de *Colletotrichum* do trigo, centeio e cevada foram vistos como uma *forma specialis* da espécie *C. graminicola*, e denominados *Colletotrichum graminicola* f. sp. *secalis*.
4. *C. graminicola* f. sp. *secalis* (*C. graminicola* do trigo) foi distinguido serologicamente de *C. graminicola* f. sp. *sacchari* (*C. falcatum*) e de *C. graminicola* f. sp. *sorghii*.
5. A cultivar de trigo CNT 8 mostrou-se resistente ao isolado de *C. graminicola* f. sp. *secalis* testado.

LITERATURA CITADA

- ABBOTT, E.V., 1938. Red Rot of Sugarcane. U.S.Dept. Agr. Tech. Bul. 641. 96 p.
- AMOS, R.E. e R.G. BURRELL, 1967. Serological differentiation in *Ceratocystis*. Phytopathology. Worcester, 57:32-34.
- ARX, J.A. von, 1957. Die arten der gattung *Colletotrichum* Cda. Phytopathologische Zeitschrift. Berlin, 29:413-468.
- BAJUNGU, H.E., 1979. Caracterização Patogênica, Serológica e Fisiológica de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. {sensu ARX, 1957} f. sp. *cepae* n.c. Piracicaba, ESALQ/USP, 35 p. (Dissertação de Mestrado).
- BERRIE, A.M.M., 1977. An Introduction of the Botany of the Major Crop Plants. Glasgow, Heyden & Son Ltd. 220 p.
- BUXTON, E.W., W. CULBRETH e R.G. ESPOSITO, 1961. Serological separations of forms and physiologic races of pathogenic *Fusarium oxysporum*. Phytopathology. Baltimore, 51:575.
- CAMPBELL, D.A., J.S. GARVEY, N.E. CREMER e D.H. SUSSDORF, 1970. Methods in Immunology. New York, W.A. Benjamin Inc. 454 p.

- CARDOSO, R.M.G., 1976. Diferenciação Serológica entre Espécies de *Ceratocystis*. Campinas, UNICAMP, 49 p. (Tese de Doutorado).
- CHESTER, K.S. 1947. Nature and Prevention of Plant Diseases. 2nd ed. Philadelphia, The Blakiston Company. 525 p.
- COELHO, E.T., 1978. Testes de resistência de cultivares de trigo às raças fisiológicas de ferrugem do colmo *Puccinia graminis tritici*. In: Anais da IX Reunião Anual Conjunta de Pesquisa de Trigo - 1977. Londrina, p. 63.
- DALE, J.L., 1963. Corn Anthracnose. Plant Disease Reporter. Beltsville, 47:245-249.
- DICKSON, J.G., 1956. Diseases of Field Crops. New York, McGraw Hill Book Co. Inc. 517 p.
- FIGUEIREDO, M.B., 1972. Estudos fisiológicos e sorológicos sobre o fungo *Ascochyta phaseolorum* Sacc. e sobre a doença por ele causada em berinjela (*Solanum melongena* L.) e em outras plantas cultivadas. Piracicaba, ESALQ/USP, 130 p. (Tese de Doutorado).
- FIGUEIREDO, M.B. e T. NAMEKATA, 1974. *Ascochyta phaseolorum* Sacc. e outros fungos do gênero *Ascochyta*. I- Sorologia e sua aplicação na sistemática. Arquivos do Instituto Biológico. São Paulo, 41:67-93.
- GOODING Jr., G.V. e H.R. POWERS Jr., 1965. Serological comparison of *Cronartium fusiforme*, *C. quercuum*, and *C. ribicola* by immunodiffusion tests. Phytopathology. Worcester, 55:670-674.
- KIMATI, H., 1975. Taxonomia, Esporulação e Patogenicidade de *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wils. {Sensu ARX, 1957}. Piracicaba, ESALQ/USP, 103 p. (Tese de Livre-Docência).

- KRYWIENCZYK, J. e C.E. DORWORTH, 1980, Serological relationships of some fungi of the genus *Pythium*. Canadian Journal of Botany. Ottawa, 58:1412-1417.
- LE BEAU, F.J., 1950. Pathogenicity studies with *Colletotrichum* from different hosts on sorghum and sugar cane. Phytopathology. Lancaster, 40: 430-438.
- LUZZARDI, G.C., E.M. REIS e C.R. PIEROBON, 1976, Epifítia de *Colletotrichum graminicola* (Cesati) G.W. Wilson nos triguais do sul do Brasil, em 1975. In: VIII Reunião Anual Conjunta de Pesquisa de Trigo, Ponta Grossa, 4 (Sanidade):144-147.
- MADHOSINGH, C., 1964(a). A serological comparison of three *Fusarium* species. Canadian Journal of Botany. Ottawa, 42:1143-1146.
- MADHOSINGH, C., 1964(b). A serological comparison of isolates of *Fomes roseus* and *Fomes subroseus*. Canadian Journal of Botany. Ottawa, 42:1677-1683.
- MENTA, Y.R., 1978, Doenças do Trigo e seu Controle. São Paulo, Editora Agronômica Ceres Ltda., 190 p.
- MENTEN, J.O.M., 1977. Morfologia, Patogenicidade e Serologia de *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cucurbitae* (BERK et MONT.) n. comb. e Resistência em Melancia (*Citrullus vulgaris* SHRAD) e Pepino (*Cucumis sativus* L.). Piracicaba, ESALQ/USP, 141 p. (Dissertação de Mestrado).
- MERZ, W.G., R.G. BURRELL e M.E. GALLEGLY, 1969, A serological comparison of six heterothallic species of *Phytophthora*. Phytopathology. Worcester, 59:367-370.

- MESSIAEN, C.M., R. LAFON e P. MOLOT, 1959. Nécrose de racines, parasitaire du maïs. Annales des Epiphyties. Paris, 4:441-474
- MINUSSI, E., 1977. Taxonomia e Esporulação de *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wils. (Sensu ARX, 1957) e Patogenicidade em Sorgo *Sorghum bicolor* (L.) Moench. Piracicaba, ESALQ/USP, 78 p. (Tese de Doutorado).
- MORTON, D.J. e P.D. DUKES, 1966. Serological differentiation of race 1 from race 2 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Plant Disease Reporter. Beltsville, 50:444-445.
- MORTON, D.J. e P.D. DUKES, 1967. Serological differentiation of *Pythium aphanidermatum* from *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* and *P. parasitica*. Nature. London, 587:923.
- REIS, E.M., 1973. Efeito da concentração do inóculo de *Colletotrichum dematium* f. *truncata* (Schw.) Von Arx na reação de variedades de soja (*Glycine max* (L.) Merr.). Piracicaba, ESALQ/USP, 48 p. (Dissertação de Mestrado).
- SEELIGER, H.P.R., 1968. Serology as an aid to taxonomy. In: AINSWORTH, G.C. e A.S. SUSSMAN, Eds. The Fungi, an advanced treatise. New York, Academic Press, Vol. III, p. 597-624.
- SKOROPAD, W.P., 1967. Effect of temperature on the ability of *Colletotrichum graminicola* to form appressoria and penetrate barley leaves. Canadian Journal of Plant Science. Ottawa, 47:431-434.
- TARR, S.A.J., 1962. Diseases of Sorghum, Sudan Grass and Broom Corn. Oxford, The University Press. 380 p.
- TEMPEL, A., 1957. Serological studies on *Fusarium oxysporum* Schl. emend Sn. et H. Nature. London, 180:1483.

- TERANISHI, J., M.B. FIGUEIREDO, R.M.G. CARDOSO e T. NAMEKATA, 1973. The value of serological techniques for the differentiation between *Verticillium albo-atrum* Reink e Berth. and *V. dahliae* Kleb. Arquivos do Instituto Biológico. São Paulo, 40:45-51.
- TIFFANY, L.H., 1951. Delayed sporulation of *Colletotrichum* on soybean. Phytopathology. Lancaster, 41:975-985.
- WALKER, J.C., 1965. Use of environmental factors in screening for disease resistance. Annual Review of Phytopathology. Palo Alto, 3:197-208.
- WHEELER, B.E.J., 1968. Fungal Parasites of Plants. In: AINSWORTH, G.C. e A.S. SUSSMAN, Eds. The Fungi, and advanced treatise. New York, Academic Press, Vol. III, p. 179-210.
- WHEELER, H., D.J. POLITIS e C.G. PONELEIT, 1974. Pathogenicity, host range, and distribution of *Colletotrichum graminicola* on corn. Phytopathology. Saint Paul, 64:293-296.
- WILLIAMS, L.E. e G.M. WILLIS, 1963. Disease of corn caused by *Colletotrichum graminicolum*. Phytopathology. Worcester, 53:364-365.
- WILSON, G.W., 1914. The identity of the anthracnose of grasses in the United States, Phytopathology. Baltimore, 4:106-112.
- ZWILLENBERG, H.H.L., 1959. *Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wils. auf mais und verschiedenen anderen pflanzen. Phytopathologische Zeitschrift. Berlin, 34:417-425.