

ARMANDO TAKATSU

ENGENHEIRO AGRÔNOMO. PROFESSOR ASSISTENTE DO DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA GERAL. INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS DA UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA.

ESTUDOS SÔBRE OS AGENTES CAUSAIS DAS ANTRACNOSES DOS FRUTOS DE PIMENTÃO (*Capsicum annuum* L.), BERINJELA (*Solanum melongena* L.) E JILÓ (*Solanum gilo* RADDJ) QUE OCORREM NOS NÚCLEOS RURAIS DO DISTRITO FEDERAL.

TESE APRESENTADA À ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA "LUIZ DE QUEIROZ" DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO PARA A OBTENÇÃO DO TÍTULO DE DOUTOR EM AGRONOMIA

PIRACICABA

Estado de São Paulo - Brasil

1970

À minha espôsa

e aos meus filhos

dedico.

ÍNDICE

<u>Itens</u>	<u>Especificações</u>	<u>Página</u>
1.	Introdução	1
2.	Revisão bibliográfica	3
3.	Materiais	6
3.1.	Plantas hospedeiras utilizadas	6
3.2.	Meios de cultura utilizados	6
3.3.	Corantes utilizados	7
3.4.	Linhagens dos fungos coletados inicialmente para o estudo	7
4.	Métodos	11
4.1.	Preparo de meios de cultura	11
4.2.	Isolamento dos fungos	12
4.3.	Manutenção das culturas	12
4.4.	Preparo de inóculos	13
4.5.	Estudos sôbre as características culturais	13
4.6.	Estudos sôbre as características morfológicas	13
4.7.	Testes de patogenicidade	14
4.8.	Obtenção de setas	16
4.9.	Influência da temperatura "in vitro" sôbre o crescimento de <u>Colletotrichum gloeosporioides</u>	16
4.10.	Etiologia da antracnose das Solanáceas causada por <u>Colletotrichum gloeosporioides</u> .	16
5.	Resultados	19
5.1.	Características culturais	19
5.2.	Caracteres morfológicos	20
5.3.	Testes de patogenicidade	30
5.4.	Formação de setas	34
5.5.	Influência da temperatura "in vitro" sôbre o crescimento de <u>Colletotrichum gloeosporioides</u>	38
5.6.	Etiologia da antracnose das Solanáceas causada por <u>Colletotrichum gloeosporioides</u> .	41
6.	Discussões	44
7.	Resumo e conclusões	62
8.	Summary	65
9.	Bibliografia citada	66
10.	Agradecimentos	69

Estudos sôbre os agentes causais das antracnoses dos frutos do pimentão (Capsicum annuum L.), berinjela (Solanum melongena L.) e jiló (Solanum gilo Raddi) que ocorrem nos núcleos rurais do Distrito Federal.

1. INTRODUÇÃO

Durante o levantamento de doenças que ocorrem nas culturas de hortaliças dos núcleos rurais do Distrito Federal efetuado entre o ano de 1967 a 1968 (Takatsu, 1968) foi assinalada a importância das antracnoses dos frutos de pimentão, berinjela e jiló, causando muitas vezes enormes prejuízos.

A doença se manifesta nos frutos nas épocas úmidas em qualquer estágio de desenvolvimento, causando lesões circulares deprimidas de diâmetros variáveis (Figura nº 1). Se no campo, êstes fungos causam danos consideráveis, durante o armazenamento e transporte podem se desenvolver mais intensamente, inutilizando grande parte dos frutos ou reduzindo o seu valor comercial.

Sendo uma doença pouco conhecida nos grandes centros hortícolas, pouco se estudou sôbre a sua etiologia e não existem praticamente dados experimentais para o seu contrôle.

Segundo os trabalhos de Walker (1952) e Chupp e Sherf (1960), existem vários estudos efetuados separadamente sôbre os agentes causais das antracnoses do pimentão e berinjela, classificando-os como espécies distintas. Entretanto, Sudo, Ribeiro e Robbs (1966) e Galli e colaboradores (1968), baseando-se nas observações de campo e de laboratório, acreditam ser estas moléstias, inclusive a do jiló, causadas pelo fungo da mesma espécie ou variedade fisiológica, não existindo porém dados experimentais para comprovar esta hipótese.

Ocorrem ainda nestas plantas hospedeiras, outras espécies do gênero Colletotrichum que desenvolvem sôbre os frutos feridos ou debilitados as quais, provavelmente não são patogênicas, porém podem ser confundidas muitas vezes como agentes causais importantes da antracnose destas plantas.

Por outro lado, a antracnose do tomateiro (Lycopersicon esculentum Mill), apesar de não ter sido observada nas

culturas do Distrito Federal, os dados existentes na literatura sôbre as características do seu agente causal (morfologia e caracteres biológicos) se identificam ou são muito semelhantes com os da antracnose do pimentão, berinjela e jiló, podendo , muito provavelmente, ser estas doenças causadas por um mesmo patógeno.

Diante destas circunstâncias, o presente trabalho teve por finalidade obter informações sôbre os seguintes aspectos:

a) Se os agentes causais das antracnoses do pimentão, berinjela e jiló são fungos da mesma espécie ou variedade fisiológica.

b) Identificação das espécies do gênero Colletotrichum que ocorrem frequentemente nos frutos debilitados ou feridos e muitas vêzes confundidas como espécies patogênicas importantes.

c) Correlação entre os agentes causais das antracnoses das plantas acima citadas com o do tomateiro.

d) Informações adicionais para a melhor compreensão da etiologia da doença.



Figura nº 1: Frutos de pimentão, berinjela e jiló com lesões de antracnose coletados no campo.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

As antracnoses das Solanáceas foram relatadas desde os fins do século passado por diversos pesquisadores (segundo Higgins, 1926; Walker, 1952 e von Arx, 1957), existindo, conforme a revisão bibliográfica abaixo, várias espécies classificadas como sendo os seus agentes causais.

Averna Saccá (1917), relata a ocorrência de vários organismos causadores de antracnose das Solanáceas: Colletotrichum nigrum Ell. & Halst. em pimentão, C.melongena Averna em berinjela, C.lycopersici Karsten e C.phomoides (Sacc.) Chester em tomateiro e C.solanicolum O'Gara em batatinha, apresentando ainda as suas características morfológicas e os sintomas causados.

Higgins (1926), descreve a ocorrência de várias espécies dos gêneros Colletotrichum, Gloeosporium e Glomerella em frutos do pimentão e outras partes desta planta, apresentando as suas características morfológicas e sintomatológicas. As espécies descritas neste trabalho são: Gloeosporium piperatum Ell. & Ever., Colletotrichum nigrum Ell. & Halst., Colletotrichum sp, Glomerella piperata (Ston.) Shrenk & Spaul. e Glomerella sp. Descreve ainda neste trabalho, as observações histológicas da doença desde a germinação dos esporos até a colonização dos tecidos pelos micélios.

Higgins (1930) relata a ocorrência de podridão dos frutos maduros de pimentão causada aparentemente por Vermicularia capsici Sydow, organismo ativamente parasítico, podendo infectar tanto os frutos verdes como os maduros. Em frutos verdes, entretanto, o fungo permanece dormente, desenvolvendo-se a podridão assim que êstes começarem a amadurecer.

Unamuno (1930) descreve como espécie nova em pimentão o fungo Gloeosporium capsici, apresentando as suas características morfológicas.

Fulton (1947), trabalhando com os tomateiros cultivados em casa de vegetação, conclui que seus frutos são suscetíveis à infecção pelo fungo Colletotrichum phomoides (Sacc.) Chester, desde aos 10 dias de idade até a maturidade quando inoculados sem ferimento, sendo que esta suscetibilidade é cres

cente em função da idade dos frutos. Em frutos verdes, entretanto, a infecção permanece latente até a maturação quando então, desenvolve as lesões típicas.

Kendrick e Walker (1947) relatam que entre quase uma centena e meia de isolados de Colletotrichum phomoides coletados de diversas localidades podiam reconhecer cerca de 14 tipos de características culturais distintos em meio de batata - dextrose-agar. Descrevem ser o organismo patogênico importante somente nos frutos maduros, frisando ainda que necessita de ferimento para haver a infecção. Relatam ainda que o fungo pode infectar as folhagens, causando sintomas inconspícuos, sem nenhum dano mensurável, não só em tomateiros, como também em mudas de pimentão e berinjela.

Walker (1952), considera existir vários fungos causadores de antracnose que infectam inúmeros produtos de plantas estocadas, inclusive o pimentão e berinjela e ~~que~~ muitos deles, em pesquisas posteriores poderão ser considerados sinônimos. Por outro lado, julga não ser inconcebível que espécies distintas tenham larga gama de hospedeiros.

Quanto à antracnose do tomateiro, descreve como uma doença que aparece em forma de podridão dos frutos maduros, sendo encontrada principalmente em áreas produtoras de tomates para conservas. Relata que o agente causal descrito como Gloeosporium phomoides por Saccardo em 1878 e reclassificado por Chester em 1891 como Colletotrichum phomoides é um fungo bastante variável, tanto nas características culturais como na formação de setas. Considera não ser possível indicar com certeza a gama de hospedeiros deste patógeno, pois vários fungos causadores de antracnose em pimentão, berinjela e outras plantas têm mostrado ser patogênicos ao tomate, nos quais, as diferenças morfológicas são mínimas ou ausentes. Conclui ainda que, com estudos compreensíveis poderão estas espécies ser reduzidas a sinônimos ou pelo menos, às raças fisiológicas dentro desta espécie.

Von Arx (1957), efetuando uma ampla revisão bibliográfica e trabalhos experimentais sobre os fungos do gênero Colletotrichum e Gloeosporium, reformulou os conceitos aplicados para a classificação destes fungos baseando-se especialmen

te nos caracteres morfológicos. Desta maneira, foram reduzidas para somente 13 espécies básicas, algumas formas divergentes e variedades especializadas dentro do gênero Colletotrichum, invalidando a denominação Gloeosporium.

Segundo esta classificação, os agentes causais das antracnoses das Solanáceas relatadas na literatura compreendem apenas três espécies, Colletotrichum gloeosporioides Penz. (forma básica da fase conidial de Glomerella cingulata (Ston.) Schr. & Spaul., C. atramentarium (Berk. & Br.) Taub. e C. dematium (Pers. & Fr.) Grove, sendo as outras denominações, sinônimos destas formas básicas.

Smith e Crossan (1958), relatam que os frutos maduros de pimentão são parasitados por vários fungos da família Melanconiaceae e, entre êles, o Colletotrichum piperatum (Ell. & Ever.) Ell. & Halst. e Colletotrichum capsici (Syd.) Butl. & Bisby são geralmente endêmicos nas regiões produtoras de pimentão.

Chupp e Sherf (1960) descrevem que a antracnose do pimentão, apesar de ser conhecida desde 1890, face às divergências encontradas na literatura torna-se duvidoso aceitar qualquer conclusão. Sobre a antracnose da berinjela, descrevem que o fungo causador desta moléstia é encontrada em tôdas as zonas temperadas e atribuem ao fungo Colletotrichum melongena (Ell. & Halst.) Avena. Relatam ainda que não está determinada com segurança se êste fungo é distinto do agente causal da antracnose do tomateiro, considerando que as características biológicas são quase idênticas.

Sudo, Ribeiro e Robbs (1966), relatam a ocorrência da antracnose do jiló na região produtora carioca-fluminense e atribuem ao fungo Colletotrichum gloeosporioides Penz., considerando ser esta moléstia uma das principais doenças fúngicas desta cultura. Descrevem ainda que, o mesmo fungo pode afetar também o pimentão e a berinjela.

Galli e colaboradores (1968), descrevem as antracnoses das Solanáceas como sendo causadas por Colletotrichum piperatum (Ell. & Ever.) Ell. & Halst., Colletotrichum capsici (Syd.) Butl. & Bisby e Colletotrichum melongena (Ell. & Halst) Avena, de ocorrências generalizadas, podendo causar danos de

até 100% nos frutos das culturas de jiló, pimentão e berinjela, "damping-off" nas sementeiras e lesões de pouca monta nas folhas. Consideram ainda ser muito provável que êstes fungos pertençam à mesma espécie, tendo como fase perfeita a Glomerella cingulata (Ston.) Spauld. & Schr.

3. MATERIAIS

3.1. Plantas hospedeiras utilizadas

Em todos os experimentos efetuados foram utilizadas as variedades normalmente em cultivo nos núcleos rurais do Distrito Federal.

Estas variedades foram:

Pimentão (Capsicum annuum): Casca dura.

Berinjela (Solanum melongena): Meia comprida preta.

Jiló (Solanum gilo): Redonda de Sta. Gertrudes.

Tomate (Lycopersicon esculentum): Sta. Cruz.

3.2. Meios de cultura utilizados

Para o cultivo das linhagens isoladas, foram utilizadas, conforme a finalidade, um dos seguintes meios de cultura:

3.2.1. Meio de aveia: Aveia em flocos (100 g), agar (20g) e água destilada (1000 ml).

3.2.2. Meio de pimentão: Pimentão maduro (200 g), agar (20g) e água destilada para completar 1000 ml.

3.2.3. Meio de batata-dextrose-agar: Batata descascada (200 g), dextrose (20 g) e água destilada para completar 1000 ml.

3.2.4. Caldo de pimentão: Pimentão maduro (200 g) e água destilada para completar 1000 ml.

3.2.5. Caldo fraco de pimentão: Polpa de pimentão verde (20g) e água destilada (1000 ml).

3.2.6. Extrato de solo: Terra fina de solo cultivado (50g) e água destilada (1000 ml).

3.3. Corantes utilizados

Para a observação das características morfológicas e tipos de coloração foram utilizados, conforme a finalidade, um dos seguintes corantes:

Lactofenol azul: Fenol (20g), ácido láctico (20 ml), Glicerina (40 ml), água destilada (20 ml) e azul de algodão (100 mg).

Safranina: Safranina (250 mg), álcool 95% (10ml) e água destilada (100 ml).

3.4. Linhagens dos fungos coletados inicialmente para o estudo

As linhagens isoladas para o presente estudo foram obtidos de diferentes hospedeiros e localidades, conforme está apresentado no quadro nº 1.

QUADRO Nº 1: Relação das linhagens de fungos coletados

Número da linhagem	Hospedeiro	Local da coleta
1	Berinjela	Taguatinga
2	Idem	Idem
3	Berinjela	Taguatinga
4	Idem	Riacho Fundo
5	Idem	Gama
6	Idem	Fazenda Água Limpa
7	Idem	Idem
8	Jiló	Gama
9	Idem	Vargem Bonita
10	Idem	Sobradinho
11	Idem	Rio Preto
12	Idem	Taguatinga
13	Idem	Idem
14	Idem	Vargem da Bênção
15	Idem	Riacho Fundo

(continua)

(quadro nº 1 - continuação)

Número da linhagem	Hospedeiro	Local da coleta
16	Idem	Fazenda Água Limpa
17	Idem	Taguatinga
18	Pimentão verde	Idem
19	Idem	Idem
20	Idem	Sobradinho
21	Idem	Gama
22	Idem	Idem
23	Idem	Idem
24	Idem	Fazenda Água Limpa
25	Pimentão maduro	Taguatinga
26	Idem	Vargem Bonita
27	Idem	Vargem da Bênção
28	Pimentão	Riacho Fundo
29	Idem	Fazenda Água Limpa
30	Idem	Idem
31	Jiló	Idem
32	Berinjela	Vargem Bonita
33	Pimentão verde	Taguatinga
34	Berinjela	Fazenda Água Limpa
35	Mangueira	Granja do Torto
36	Idem	Vargem da Bênção
37	Idem	Idem
38	Idem	Granja do Torto
39	Idem	Riacho Fundo
40	Idem	Idem
41	Abacateiro	Granja do Torto
42	Idem	Idem
43	Idem	Taguatinga
44	Idem	Vargem da Bênção
45	Idem	Granja do Torto
46	Idem	Núcleo Bandeirante
47	Idem	Taguatinga
48	Idem	Mercado (Proc. desconhecida)
49	Mamão	Idem
50	Idem	Idem

(continua)

(quadro nº 1 - continuação)

Número da linhagem	Hospedeiro	Local da coleta
51	Idem	Fazenda Água Limpa
52	Idem	Idem
53	Idem	Vargem Bonita
54	Pimentão maduro	Idem
55	Idem	Fazenda Água Limpa
56	Idem	Idem

Dada a impossibilidade de se trabalhar com todos os isolados, foram êstes agrupados quanto a sua morfologia, planta hospedeira e procedência de forma a poder selecionar os isolados representativos.

As linhagens selecionadas para o estudo estão relacionadas no quadro nº 2.

QUADRO Nº 2: Relação das linhagens de fungos selecionadas para o estudo

Número da linhagem	Hospedeiro	Procedência	Caracteres particulares
2	Berinjela	Taguatinga	Acérvulos sem setas, conídios em bastonete
5	Idem	Gama	Idem
6	Idem	Faz.A.Limpa	Idem
7	Idem	Idem	Acérvulos com setas abundantes, conídios falcados.
8	Jiló	Gama	Acérvulos sem setas, conídios em bastonete
12	Idem	Taguatinga	Idem
15	Idem	Riacho Fundo	Idem
17	Idem	Taguatinga	Escleródios no substrato, acérvulos com setas abundantes, conídios em bastonete

(continua)

(quadro nº 2 - continuação)

Número da linhagem	Hospedeiro	Procedência	Caracteres particulares (morfologia)
18	Pimentão verde	Taguatinga	Acérvulos sem setas, conídios em bastonete
20	Idem	Sobradinho	Idem
23	Idem	Gama	Idem
25	Pimentão maduro	Taguatinga	Idem
27	Idem	Vargem da Bêncão	Idem
28	Pimentão verde	Riacho Fundo	Acérvulos com setas abundantes, conídios falcados.
31	Jiló	Faz. Água Limpa	Setas curtas nos acérvulos envelhecidos observados somente no material original; conídios em bastonete
34	Berinjela	Idem	Idem
35	Mangueira	Granja do Torto	Acérvulos com setas curtas pouco numerosas, conídios em bastonete.
45	Abacateiro	Granja do Torto	Acérvulos sem setas, conídios em bastonete
49	Mamoeiro	Procedência desconhecida	Acérvulos com setas curtas e pouco numerosas no material original, conídios em bastonete.
54	Pimentão	Vargem da Bêncão	Acérvulos sem setas, conídios em bastonete

4. MÉTODOS

4.1. Preparo de meios de cultura

4.1.1. Meio de pimentão

O pimentão maduro passado em liquidificador com 200 ml de água foi fervido em fogo brando durante 15 minutos. A seguir, foi separado o caldo, coando-se em pano de flanela e completado o volume a um litro com a água destilada. Após a correção da acidez em torno de pH 6 a 6,5 com a solução de NaOH 1N., foi adicionado o agar e esterilizado a uma atmosfera de pressão (110°C) durante 30 minutos.

4.1.2. Caldo de pimentão

O preparo deste meio de cultura constou das mesmas operações para o preparo do meio de pimentão, diferindo somente pela ausência do agar.

4.1.3. Caldo fraco de pimentão

Num Erlenmeyer contendo 200 ml de água destilada, foi colocado 4 gramas de polpa de pimentão verde e esterilizado a meia atmosfera de pressão (105°C) durante 30 minutos.

4.1.4. Extrato de solo

Em 200 ml de água destilada foram diluídas 10 g de terra fina seca colhida de um solo cultivado. O preparado foi filtrado em algodão e o caldo obtido deixado em repouso durante aproximadamente 24 horas para permitir o assentamento das partículas maiores no fundo, aproveitando-se assim o sobrenadante. O líquido assim obtido foi depois esterilizado em autoclave a meia atmosfera de pressão durante 30 minutos e deixado novamente em repouso durante 3 a 4 dias afim de sedimentar as substâncias coloidais precipitadas durante a esterilização. A parte sobrenadante foi retirada assêticamente, obtendo-se assim um extrato de coloração amarela transparente.

4.1.5. Meio de aveia e de batata-dextrose-agar

Quanto a estes meios foram preparados pelos métodos de Riker e Riker (1936).

4.2. Isolamento dos fungos

Para o isolamento dos agentes causais da antracnose das plantas em estudo, foram coletados os materiais afetados de diferentes locais, tomando-se pelo menos cinco amostras de cada tipo e por campo. Afim de estudar a correlação entre os fungos congêneres, foram coletados também de outras plantas em que ocorrem a antracnose como os da mangueira, abacateiro e ma moeiro.

Cada amostra coletada foi colocada em saco plástico novo, etiquetado e enviado ao laboratório. Após minucioso exa me, os patógenos foram isolados, seguindo-se a seguinte técnica: Com o auxílio de uma micro-agulha, manuseando-se o mate - rial sob o microscópio estereoscópico, foram retiradas peque - nas porções das massas de conídios acumulados sôbre os acérvu - los, livres de corpos estranhos visíveis e transferidas para as placas de petri contendo o meio de pimentão (item 4.1.1.) , efetuando-se em cada placa de 15 a 20 pontos de inoculação. A pós esta operação, foi adicionada uma pequena gota (uma alça) de solução de antibiótico em cada ponto de inoculação, conten - do aproximadamente 20 ug de penicilina G sódica, sulfato de es treptomicina e cloranfenicol por mililitro de água estéril. As placas foram incubadas durante três dias, para depois, as colo - nias serem repicadas para os tubos de ensaio contendo o mesmo meio de cultura. Por meio dêste método, foram obtidos isola - mentos praticamente puros da ordem de 70 a 80% em relação ao número de sementeira efetuada nas placas.

Nos casos em que as frutificações não estavam sufi - cientemente desenvolvidas para esta operação, os materiais fo - ram mantidos em câmara úmida durante 24 a 48 horas em tempera - tura ambiente, em cujo período os conídios se formaram abundan - temente sôbre os acérvulos.

4.3. Manutenção das culturas

A manutenção das culturas a curto prazo foram fei - tas em tubos de ensaio com meio de pimentão e para o longo pra - zo em água estéril pelo método de Castelani (segundo Figueire - do, 1968).

Em meios de aveia ou batata-dextrose-agar, as ocor - rências de variações são relativamente frequentes, razão pela

qual não são apropriadas para esta finalidade.

4.4. Preparo de inóculos

Para a obtenção de inóculos, os fungos foram cultivados em placa de petri com meio de aveia (item 3.2), utilizando-se as culturas com mais de 10 dias de idade.

Em casos de inoculação com fermento, as estruturas obtidas sobre o meio de cultura (micélios e conídios ou escleródios) foram utilizadas diretamente, transferindo-as para os pontos de inoculação.

Para a obtenção de suspensão de esporos livres de outras estruturas, utilizadas para a inoculação foliar e nos frutos sem fermento por meio de pulverizações, assim como para o estudo da germinação dos conídios em lâminas ou na superfície do fruto, foi adotada a seguinte técnica: em tubos de cultura, coloca-se uma camada de mais ou menos um centímetro de espessura de algodão no terço superior do tubo o qual é fechado com algodão normalmente. Todo o conjunto é esterilizado e, a seguir, com assepsia, a suspensão preparada com a cultura acima é transferida para o tubo onde o filtro de algodão retém o micélio e resíduos do meio, sendo que os esporos passam com facilidade (Carvalho, 1966).

4.5. Estudos sobre as características culturais

Cada uma das linhagens selecionadas para o estudo foram cultivadas em placas de petri contendo o meio de aveia, efetuando-se as observações diariamente durante o seu período de desenvolvimento e a final, aos 15 dias depois da inoculação.

4.6. Estudos sobre as características morfológicas

Foram efetuados estudos morfológicos de cada uma das linhagens selecionadas para o estudo, analisando-se as seguintes estruturas: conídios, acérvulos, setas e apressórios formados após a germinação.

4.6.1. Conídios

Com os conídios obtidos de culturas de duas semanas de idade desenvolvidas em meio de aveia foram preparados os esfregaços em lâminas e coloridos com safranina (item 3.3.2.) du

rante um minuto. Após a montagem em bálsamo de Canadá foram analisados em microscópio.

A análise das dimensões foram feitas medindo-se pelo menos 100 conídios de cada cultura.

4.6.2. Acérvulos

Para o estudo das formas dos acérvulos, cada uma das linhagens selecionadas para o estudo foram inoculadas em frutos de pimentão verdes ou maduros através de ferimentos feitos com a lâmina de barbear. Os frutos assim inoculados foram mantidos em condições ambientais de laboratório durante 10 a 15 dias até a formação de grandes quantidades de acérvulos com abundantes frutificações. Posteriormente, estas estruturas foram cortadas à mão livre sob o microscópio estereoscópico e montados em lâminas com lactofenol azul (item 3.3.1.), fechando-se os bordos das lamínulas com a Cola Isopor S da ISOPOR Indústria e Comércio S.A.

4.6.3. Apressórios formados após a germinação

Para a análise dos apressórios formados após a germinação, os conídios foram postos a germinar em lâminas, colocando-se uma gota de suspensão destes conídios em caldo fraco de pimentão e mantidas em câmara úmida asséticamente, utilizando-se para isso, as placas de petri esterilizadas contendo uma porção de algodão embebida em água.

Após 24 horas de incubação a 28°C, foram coloridos com safranina, montados em bálsamo de Canadá e observados em microscópio.

4.7. Testes de patogenicidade

4.7.1. Inoculação cruzada nos frutos

Foram utilizadas para êste ensaio, frutos verdes de pimentão, berinjela e jiló recém colhidos. Utilizou-se também frutos maduros de pimentão e tomate, conforme as exigências do ensaio.

4.7.1.1. Inoculação sem fermento

Neste ensaio foram utilizados 25 frutos de cada uma das espécies hospedeiras para cada uma das linhagens a serem

testadas, pulverizando-se com a suspensão de conídios que contém aproximadamente 100 mil unidades por mililitro. Esta contagem de esporos foi feita através de uma câmara hematómetr^{ica} comum.

Os frutos assim inoculados foram mantidos em câmara úmida à temperatura ambiente (entre 23 a 28°C aproximadamente) até o início do aparecimento de sintomas, depois dos quais, deixados em condições de umidade ambientais.

A leitura foi feita 15 dias após a inoculação, conservando-se em laboratório para a posterior observação os frutos que não apresentaram os sintomas.

4.7.1.2. Inoculação com ferimento

Para êste ensaio foram utilizados 5 frutos para cada material inoculando-se uma pequena porção de inóculo retirada da cultura em placa de petri com a agulha de platina em ferimentos feitos previamente com a lâmina de barbear comum. Em cada fruto foram feitas 4 a 5 inoculações, sendo o tamanho dos ferimentos de aproximadamente 5mm de comprimento e 4mm de profundidade no sentido horizontal, isto é, sob a cutícula.

Os frutos assim inoculados foram mantidos em condições ambientais de laboratório e a leitura efetuada depois de 10 dias, conservando-se ainda para a posterior observação, os frutos que não apresentaram o desenvolvimento de sintomas.

4.7.2. Inoculação foliar

O ensaio de inoculação foliar foi feita em mudas de pimentão, berinjela, jiló e tomate de duas semanas de idade cultivadas em vasos de 15 cm de diâmetro aproximadamente, compondo a cada parcela com 4 repetições, inclusive as testemunhas.

As plantas assim preparadas foram pulverizadas com suspensões de esporos contendo aproximadamente 50 mil conídios por mililitro e mantidas cobertas com sacos plásticos durante 48 horas em local levemente sombreado. Após êste período em que foi mantida em condição de câmara úmida, foram deixadas em condições ambientais naturais até o aparecimento de sintomas, efetuando-se a leitura 15 dias após a inoculação.

4.8. Obtenção de setas

Afim de verificar a formação de setas nos acérvulos em laboratório, foram testados vários tratamentos em frutos de pimentão, berinjela, jiló e tomate inoculados com as linhagens patogênicas nº 5, 15 e 18 isoladas respectivamente das lesões dos frutos de berinjela, jiló e pimentão em cujos acérvulos não haviam setas e nº 31 e 34 isoladas respectivamente dos frutos de jiló e berinjela, em cujas lesões originais foram observadas a presença destas estruturas.

Os elementos utilizados nas combinações de cada um dos tratamentos foram: câmara úmida, condições naturais de laboratório, choques de baixa temperatura e condições do meio ambiente externo.

4.9. Influência da temperatura "in vitro" sobre o crescimento de *Colletotrichum gloeosporioides*.

Este ensaio teve por finalidade verificar o comportamento do crescimento "in vitro" em relação às diferentes temperaturas entre as linhagens de *Colletotrichum gloeosporioides* que possuem diferentes níveis de patogenicidade sobre as Solanáceas. Assim sendo, não constaram deste experimento as espécies *C. dematium* (linhagens nº 7 e 28) e *C. atramentarium* (linhagem nº 17).

Os fungos em estudo foram cultivados em placas de petri contendo o meio de aveia e incubados nas temperaturas de 10, 15, 20, 25, 30 e 35°C, tendo em cada tratamento, cinco repetições.

A leitura foi efetuada 7 dias após a inoculação medindo-se os diâmetros das colônias.

4.10. Etiologia da antracnose das Solanáceas causada por *Colletotrichum gloeosporioides*.

Estes experimentos tiveram por finalidade obter algumas informações sobre a etiologia da antracnose das Solanáceas (pimentão, berinjela, jiló, e tomate) causada pelas linhagens altamente patogênicas de *C. gloeosporioides*. Desta maneira, não constaram destes ensaios as espécies *C. dematium* e *C. atramentarium*, assim como as formas menos patogênicas de *C. gloeosporioides*, visto que estas são patógenos de frutos maduros

ou de tecidos debilitados, de pequena importância para estas culturas.

4.10.1. Temperaturas ideais para a ocorrência de infecção e desenvolvimento de sintomas

As linhagens utilizadas para este ensaio foram as de nº 5, 15 e 18, obtidas respectivamente das lesões dos frutos novos de berinjela, jiló e pimentão, testando-se por meio de inoculação sem ferimento como foi descrito no item 4.7.1.1. em frutos de pimentão verdes e mantendo-os nas temperaturas de 20, 25, 30 e 35°C com 5 repetições em cada tratamento.

A leitura foi efetuada 10 dias após a inoculação.

4.10.2. Influência da umidade na germinação

Utilizou-se para este ensaio, a cultura nº 15, testando-se 4 tratamentos, tanto em lâminas, como em frutos, (frutos verdes de pimentão), ambos em câmara úmida com a umidade relativa do ar a 100% da sua capacidade. Estes tratamentos foram: I- Gota de suspensão de conídios em caldo fraco de pimentão (item 4.1.3.) esparramadas sobre a lâmina ou superfície do fruto; II- A mesma suspensão acima esparramada sobre a lâmina ou fruto e seca antes de os colocar em câmara úmida; III- Gotas de suspensão de conídios em água destilada estéril esparramada sobre a lâmina ou fruto; IV- A mesma suspensão na lâmina ou fruto seca antes de os colocar em câmara úmida.

Os materiais assim preparados foram mantidos a 28°C durante 24 horas, após o qual, foram examinados em microscópio.

4.10.3. Tempo necessário para a ocorrência da germinação e infecção.

4.10.3.1. Ensaio em lâminas

Este ensaio foi feito, seguindo-se as mesmas técnicas descritas no ítem 4.6.3. utilizadas para a análise dos apressórios, estudando-se a germinação em água estéril, extrato de solo, caldo fraco de pimentão e caldo de pimentão (item 4.1.)

A cultura utilizada foi a linhagem nº 15 obtida da lesão do fruto de jiló.

As observações foram feitas de hora em hora até completar 8 horas, espaçando-se depois para 10, 12, 16, 18 e 24

horas.

4.10.3.2. Ensaio em frutos

Foram utilizados os frutos de pimentão verde, nos quais, pequenas gotas de suspensão de esporos em água estéril ou extrato de solo foram colocadas sobre as suas superfícies e mantidas em câmara úmida e em temperatura ambiente (entre 23 a 28°C). As observações foram efetuadas nos mesmos intervalos descritos no ítem acima, estendendo-se ainda para 36, 48, 60 e 72 horas. As primeiras 5 observações foram feitas seguindo-se o método de fita adesiva transparente que consiste no seguinte: aderir firmemente a fita adesiva (Fita Durex) transparente sobre o ponto inoculado, tendo-se o cuidado de secar anteriormente as gotas de água que permanecem sobre a superfície do fruto; desprender cuidadosamente a fita e cortar uma secção de aproximadamente 1 cm de lado da área em que está aderida as estruturas e montar em lactofenol azul, cobrindo-se com uma lamínula. O material assim preparado é observado ao microscópio.

Nas observações posteriores, secou-se primeiramente a superfície do fruto como nas primeiras observações e a seguir, retirou-se do ponto de inoculação a cutícula bem fina com 5mm de lado aproximadamente, utilizando-se para isto, uma lâmina de barbear e manuseando-se os materiais sob o microscópio estereoscópico.

Foram inoculados paralelamente os frutos de berinjela, jiló e tomate afim de verificar a possível variação no aparecimento de sintomas nestes materiais.

5. RESULTADOS

5.1. Características culturais

As características culturais dos fungos selecionados para o estudo estão apresentadas no quadro nº 3.

QUADRO Nº 3: Características culturais dos isolados em meio de aveia(1).

Nº da cultura	Coloração	Tipo do micélio	Escleródios	Esporulação	Estromas	Setas	Hospedeiro
2	C ⁽²⁾	Sc	Aus	p	p	Aus	berinjela
5	C	Sc	Aus	p	p	Aus	berinjela
6	C	Sc	Aus	p	p	Aus	berinjela
7	CE	Sup	Aus	Ab	Ab	Ab(3)	berinjela
8	C	Sc	Aus	p	p	Aus	jiló
12	C	Sc	Aus	p	p	Aus	jiló
15	C	Sc	Aus	p	p	Aus	jiló
17	P	Sup	Ab	r	Aus	Ab(4)	jiló
18	C	Sc	Aus	p	p	Aus	pimentão verde
20	C	Sc	Aus	p	p	Aus	pimentão verde
23	C	Sc	Aus	p	p	Aus	pimentão verde
25	L	Sc	Aus	Ab	p	Aus	pimentão maduro
28	CE	Sup	Aus	Ab	Ab	Ab(3)	pimentão verde
31	C	Sc	Aus	p	p	Aus(5)	jiló
34	C	Sc	Aus	p	p	Aus(5)	berinjela
35	C	Cot	Aus	p	p	r	mangueira
45	L	Sc	Aus	Ab	p	r	abacateiro
49	L	Sc	Aus	Ab	p	r	mamoeiro
54	L	Sc	Aus	Ab	p	Aus	pimentão maduro

(1) Observação feita 15 dias após a inoculação

(2) Abreviações. Colorações: C=cinza, CE=cinza escura, P=preta, L=alaranjada; Tipo de micélio: Cot=cotonoso, Sc=semi cotonoso, Sup=superficial; Outras características:

Aus=ausentes, p=pouca, r=raras, Ab=abundantes.

(3) Setas abundantes e longas tanto nos acérvulos como em meios de cultura.

(4) Setas abundantes e longas sôbre estromas e escleródios.

(5) Setas curtas e raras observadas sômente nos materiais originais.

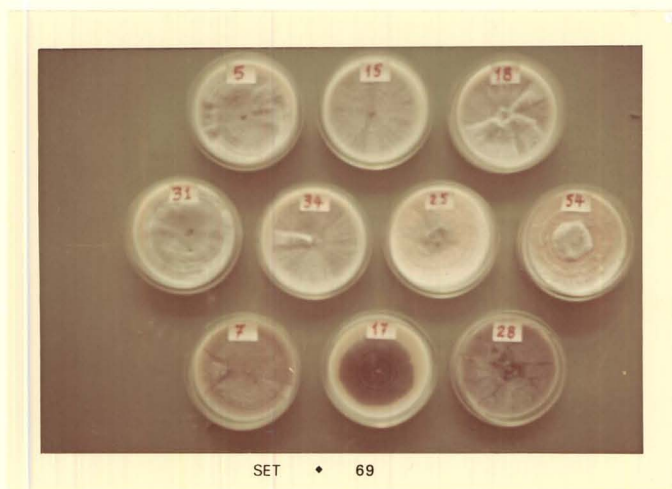


Figura nº 2: Características culturais dos principais fungos isolados das Solanáceas em estudo.

5.2. Caracteres morfológicos

5.2.1. Conídios

As formas, dimensões e tipos de coloração dos conídios estão apresentados no quadro nº 4.

QUADRO Nº 4: Formas, dimensões e tipos de coloração dos conídios das principais linhagens de fungos selecionados para o estudo.

Nº da cultura	Forma	Dimensões dos conídios em micras (1)	Tipos de Coloração(2)
2	Bastonete	2,5 a 4,3 x 10,0 a 16,5	Tipo I
5	Bastonete	2,5 a 4,5 x 12,5 a 16,0	Tipo I
6	Bastonete	3,0 a 4,8 x 9,5 a 15,5	Tipo I
7	Falcada	3,0 a 4,1 x 23,0 a 25,0	Tipo I
8	Bastonete	3,4 a 4,3 x 11,0 a 16,0	Tipo I
12	Bastonete	2,8 a 4,3 x 10,4 a 15,0	Tipo I
15	Bastonete	3,2 a 4,5 x 10,5 a 14,0	Tipo I
17	Bastonete	3,0 a 4,4 x 17,0 a 24,0	Tipo I e II
18	Bastonete	2,7 a 4,6 x 11,0 a 15,2	Tipo I
20	Bastonete	3,0 a 4,0 x 12,5 a 16,0	Tipo I
23	Bastonete	2,6 a 4,2 x 11,5 a 15,7	Tipo I
25	Bastonete	2,5 a 4,5 x 12,0 a 16,0	Tipo I
28	Falcada	3,4 a 4,0 x 22,0 a 32,0	Tipo I
31	Bastonete	2,3 a 3,8 x 10,5 a 13,2	Tipo I
34	Bastonete	3,0 a 4,0 x 10,0 a 15,0	Tipo I
35	Bastonete	4,0 a 5,0 x 15,5 a 22,0	Tipo II
45	Bastonete	4,2 a 5,0 x 13,0 a 17,0	Tipo II
49	Bastonete	4,0 a 5,0 x 13,0 a 16,5	Tipo II
54	Bastonete	2,5 a 4,2 x 9,5 a 16,0	Tipo I

(1) Referem-se às observações de pelo menos 100 conídios.

(2) Tipos de coloração em safranina. Tipo I: Coloração vermelha clara, pontilhada com grande número de granulações esbranquiçadas, podendo-se observar na maioria dos casos uma área central mais escura. Tipo II: Coloração vermelha escura uniforme, podendo-se distinguir levemente as granulações que apresentam uma tonalidade mais clara.



Figura nº 3: Tipos de coloração dos conídios em safranina. Da esquerda para a direita, tipo I e II respectivamente.

5.2.2. Acérvulos

Quanto aos acérvulos, os fungos em estudo podem ser destacados três tipos distintos:

5.2.2.1. Acérvulos normalmente sem setas e conídios em bastonete (Figura nº 4).

Compreendem as linhagens selecionadas para o presente trabalho nº 2, 5, 6, 8, 12, 15, 18, 20, 23, 25, 31, 34 e 54 isoladas das Solanáceas e ainda as linhagens nº 35, 45 e 49 isoladas respectivamente da mangueira, abacateiro e mamoeiro para estudos comparativos.

5.2.2.2. Acérvulos com grande número de setas longas e escuras e conídios em bastonete (Figura nº 7).

Nesta forma, desenvolvem-se ao lado dos acérvulos, grande número de escleródios escuros de dimensões variáveis entre 300 a 600 u (Figura nº 10). Pertence à esta forma, a linhagem selecionada nº 17 isolada do jiló.

5.2.2.3. Acérvulos com grande número de setas longas e escuras e conídios falcados (Figura nº 11).

Compreendem as linhagens nºs 7 e 28 isoladas respectivamente dos frutos de berinjela e pimentão.

Em todos êstes tipos, as dimensões e formas dos acérvulos são muito variáveis. Possuem um estroma basal constituído de células de várias formas e tamanhos, sôbre o qual se desenvolvem os conidióforos cilíndricos ou fusiformes.

Verificou-se ainda neste trabalho que estas variações são bastante acentuadas conforme as condições de umidade do meio ambiente em que os frutos inoculados são mantidos até o desenvolvimento destas estruturas de reprodução.

5.2.3. Apressórios formados após a germinação dos conídios

A formação de apressórios depois da germinação pode se dar nas extremidades dos promicélios ou ainda, diretamente nas extremidades ou nos lados dos conídios (Figs. nºs 6, 9 e 13)

As formas e dimensões dêstes apressórios apresentam certas variações mesmo entre os conídios da mesma linhagem. Nas linhagens compreendidas no primeiro grupo do item acima (5.2.2.1.), os apressórios podem ser circulares, levemente alongados ou elípticos (Figura nº 6) com um diâmetro que varia entre 5 a 7 u aproximadamente. Nas linhagens dos dois grupos seguintes (5.2.2.2. e 3.), os seus apressórios são geralmente ovalados (Figura nº 9 e 12) com 6 a 8 u de diâmetro aproximadamente.

As figuras seguintes ilustram os principais tipos morfológicos dos fungos isolados dos frutos de pimentão, berinjela e jiló para o presente trabalho.

a) Acérvulos normalmente sem setas e conídios em bastonete (Colletotrichum gloeosporioides). Figuras 4, 5 e 6.

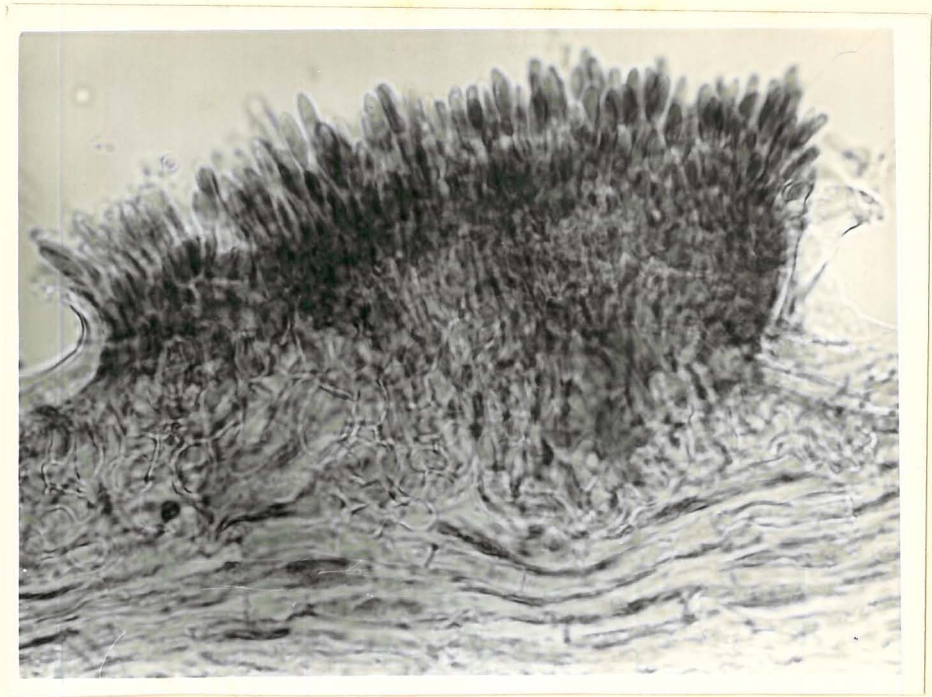


Figura nº 4: (Colletotrichum gloeosporioides). Corte transversal do acérvulo desenvolvido em fruto de pimentão verde. Aumento: 450 x aproximadamente.

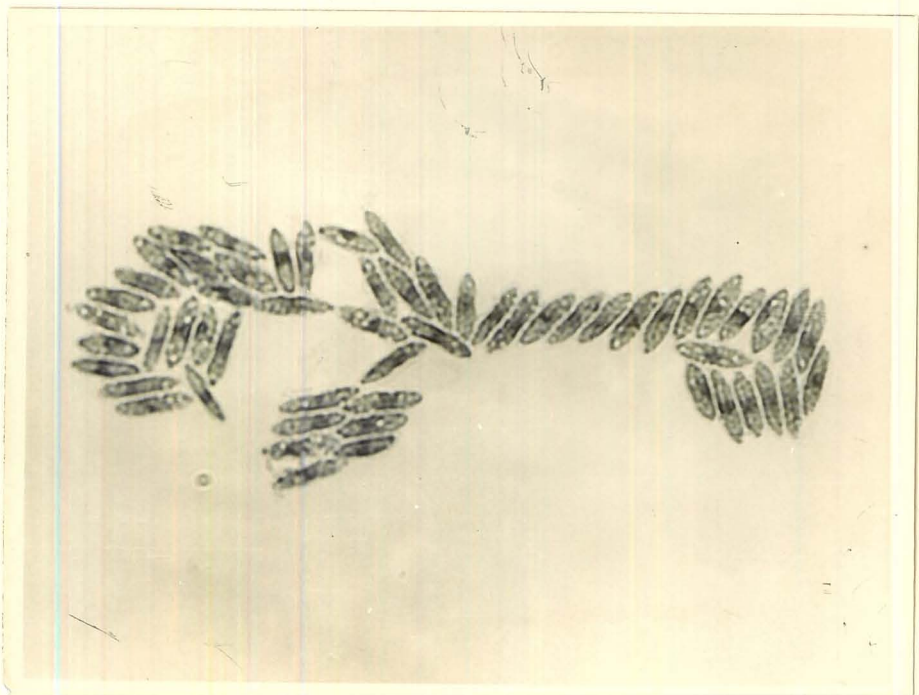


Figura nº 5: (Colletotrichum gloeosporioides). Conídios coloridos com safranina. Aumento: 600 x aproximadamente. Dimensão média dos conídios: 3,5 x 12,0 u.

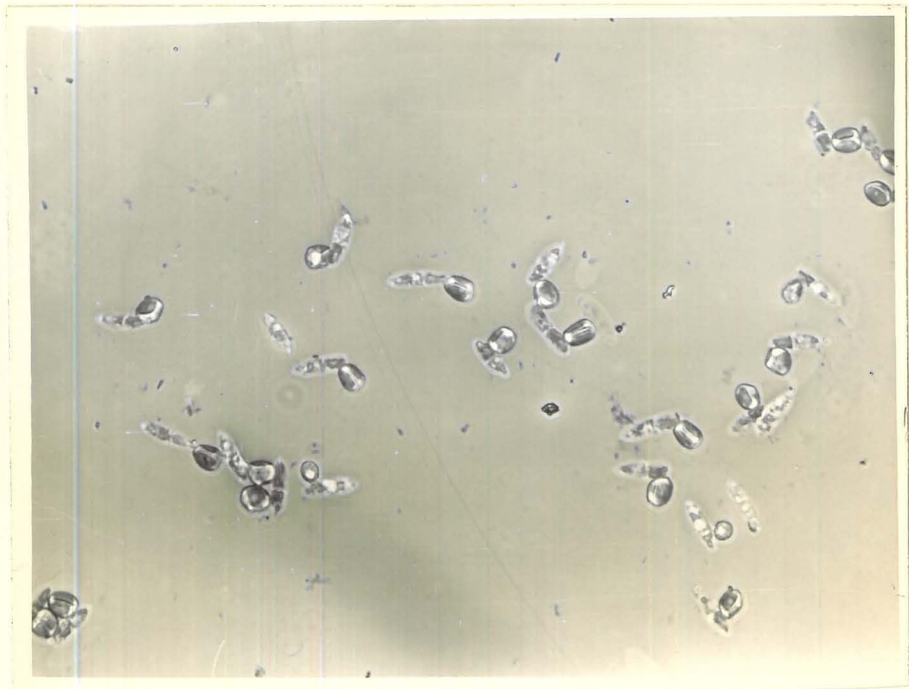


Figura nº 6: (Colletotrichum gloeosporioides). Apressórios formados após a germinação dos conídios. Aumento:500 x aproximadamente. Dimensões aproximadas dos apressórios: 5 a 7 u de diâmetro.

b) Acérvulos com grande número de setas longas e escuras e conídios em bastonete. Ao lado dos acérvulos desenvolvem-se grande número de escleródios escuros de dimensões variáveis (Colletotrichum atramentarium). Figuras nºs.7, 8, 9 e 10.

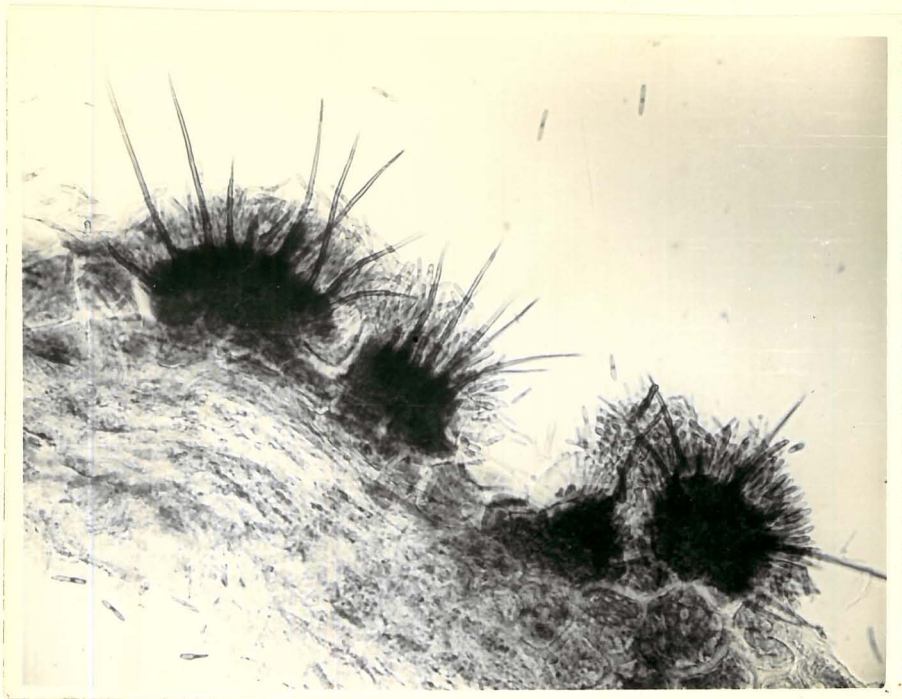


Figura nº 7: (Colletotrichum atramentarium). Corte transversal do acervulo desenvolvido em fruto maduro de pimentão. Aumento: 180 x aproximadamente.

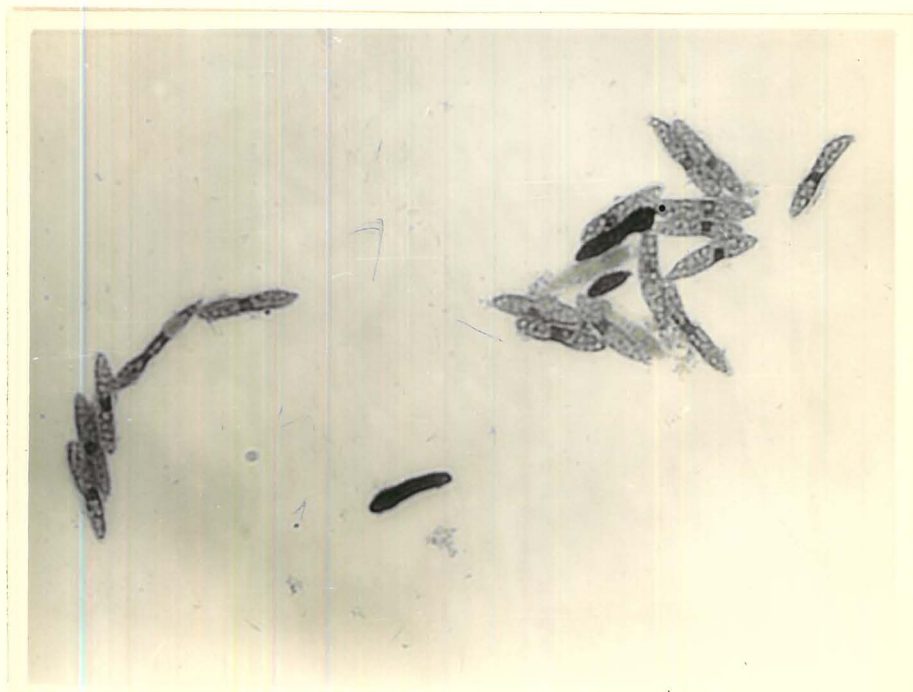


Figura nº 8: (Colletotrichum atramentarium). Conídios coloridos com safranina. Aumento: 650 x aproximadamente. Dimensão média dos conídios: 4 x 20 u.



Figura nº 9: (Colletotrichum atramentarium). Apressórios formados após a germinação dos conídios. Aumento: 500 x aproximadamente. Dimensões aproximadas dos apressórios: 6 a 8 u de diâmetro.

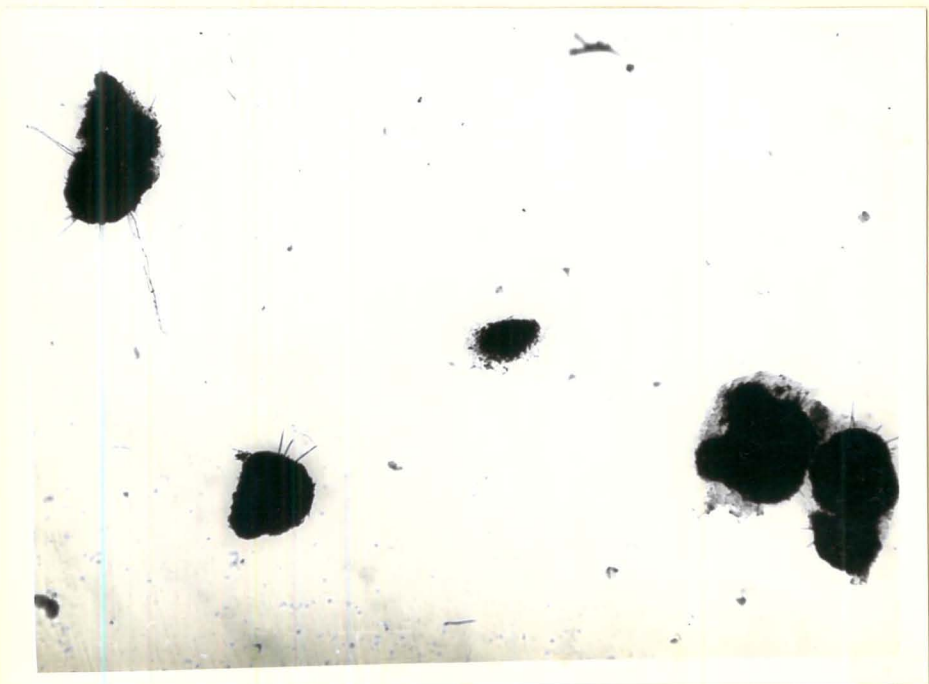


Figura nº 10: Escleródios desenvolvidos em meio de aveia. Aumento: 40 x aproximadamente. Dimensões aproximadas dos escleródios: 300 a 600 u de diâmetro.

c) Acérvulos com grande número de setas longas e escuras e conídios falcados (Colletotrichum dematium). Figuras nºs 11, 12 e 13.



Figura nº 11: (Colletotrichum dematium). Corte transversal do acérvulo desenvolvido em fruto maduro de pimentão. Aumento: 300 x aproximadamente.



Figura nº 12: (Colletotrichum dematium). Conídios coloridos com safranina. Aumento: 600 x aproximadamente. Dimensões aproximadas dos conídios: 3,5 x 24,0 u.

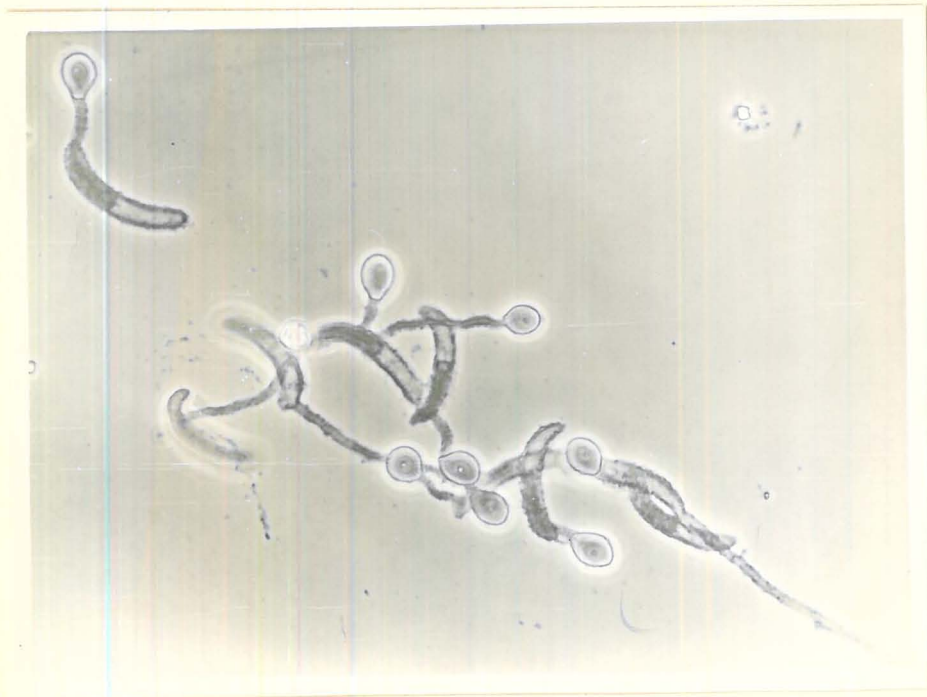


Figura nº 13: (Colletotrichum dematium). Apressórios formados após a germinação dos conídios. Aumento: 500 x a proximadamente. Dimensões aproximadas dos apressórios: 6 a 8 u de diâmetro.

5.3. Testes de patogenicidade

5.3.1. Inoculação cruzada nos frutos

5.3.1.1. Inoculação sem fermento

Em ensaio de inoculação dos frutos sem fermento foram obtidos os seguintes dados apresentados no quadro abaixo. (1).

QUADRO Nº 5: Resultados das inoculações sem fermento com as linhagens selecionadas para o estudo em diversos frutos hospedeiros discriminados abaixo (2).

Nº da cultura	Pimentão verde	Pimentão maduro	Berinjela	Jiló	tomate maduro
2	+++ (3)	+++	+++	+++	+++
5	+++	+++	+++	+++	+++
6	+++	+++	+++	+++	+++
7	+	++	+	-	+++
8	+++	+++	+++	+++	+++
12	+++	+++	+++	+++	+++
15	+++	+++	+++	+++	+++
17	-	-	-	-	-
18	+++	+++	+++	+++	+++
20	+++	+++	+++	+++	+++
23	+++	+++	+++	+++	+++
25	+	+++	+	+	+++
28	+	++	+	+	+++
31	+++	+++	+++	+++	+++
34	+++	+++	+++	+++	+++
35	-	-	-	-	-
45	-	-	-	-	-
49	-	-	-	-	-
54	+	+++	+	+	+++
Test.	-	-	-	-	-

(1): Os resultados de cada parcela representam a média de 25 frutos testados.

(2): Leitura efetuada 15 dias após a inoculação.

(3): (-) Sem sintomas, (+) houve penetração mas não a colonização. Esta leitura foi efetuada após o amadurecimento ou envelhecimento dos frutos, (++) pequenas lesões deprimidas de até 5 mm de diâmetro, (+++) lesões numerosas, deprimidas, com mais de 5 mm de diâmetro, atingindo-se na maioria mais de 3 cm.

5.3.1.2. Inoculação com fermento

Em ensaio de inoculação dos frutos com fermentos foram obtidos os seguintes resultados apresentados no quadro nº 6(1).

QUADRO Nº 6: Resultados das inoculações com fermento com as linhagens selecionadas para o estudo em diversos frutos hospedeiros discriminados abaixo (2).

Nº da cultura	Pimentão verde	Pimentão maduro	Berinjela	Jiló	Tomate maduro
2	+++ (3)	+++	+++	+++	+++
5	+++	+++	+++	+++	+++
6	+++	+++	+++	+++	+++
7	+	+++	+	+	+++
8	+++	+++	+++	+++	+++
12	+++	+++	+++	+++	+++
15	+++	+++	+++	+++	+++
17	+	+++	++	+	+++
18	+++	+++	+++	+++	+++
20	+++	+++	+++	+++	+++
23	+++	+++	+++	+++	+++
25	+	+++	+	+	+++
28	+	++	+	+	+++
31	+++	+++	+++	+++	+++
34	+++	+++	+++	+++	+++
35	-	-	-	-	++
45	-	-	-	-	+++
49	-	-	-	-	+++
54	+	+++	+	+	+++
Test.	-	-	-	-	-

(1): Os resultados de cada parcela representam uma média de 5 frutos testados com 5 a 6 pontos de inoculação cada um.

(2): Leitura efetuada 15 dias após a inoculação.

(3): (-) Não desenvolvimento do inóculo com a reação de defesa da planta, (+) Lesões atípicas restritas ao ponto de inoculação, (++) Formação de pequena lesão circular levemente deprimida de até 1 cm de diâmetro, (+++) Formação de lesões circulares ou ovaladas e deprimidas maiores do que 1 cm de diâmetro, atingindo na maioria dos casos mais de 4 cm com a formação de grande número de acérvulos cobertos com uma massa alaranjada de conídios.

As figuras seguintes mostram os aspectos do resultado da inoculação cruzada obtidos com as linhagens altamente patogênicas de Colletotrichum gloeosporioides selecionadas para o estudo em frutos de pimentão, berinjela e jiló. As linhagens utilizadas foram os nºs 2, 5 e 6 isoladas de berinjela ; nºs 8, 12 e 15 de jiló e nºs 18, 20 e 23 de pimentão verde.



Figura nº 14: Aspecto do resultado da inoculação cruzada com as linhagens altamente patogênicas de Colletotrichum gloeosporioides em frutos verdes de pimentão.

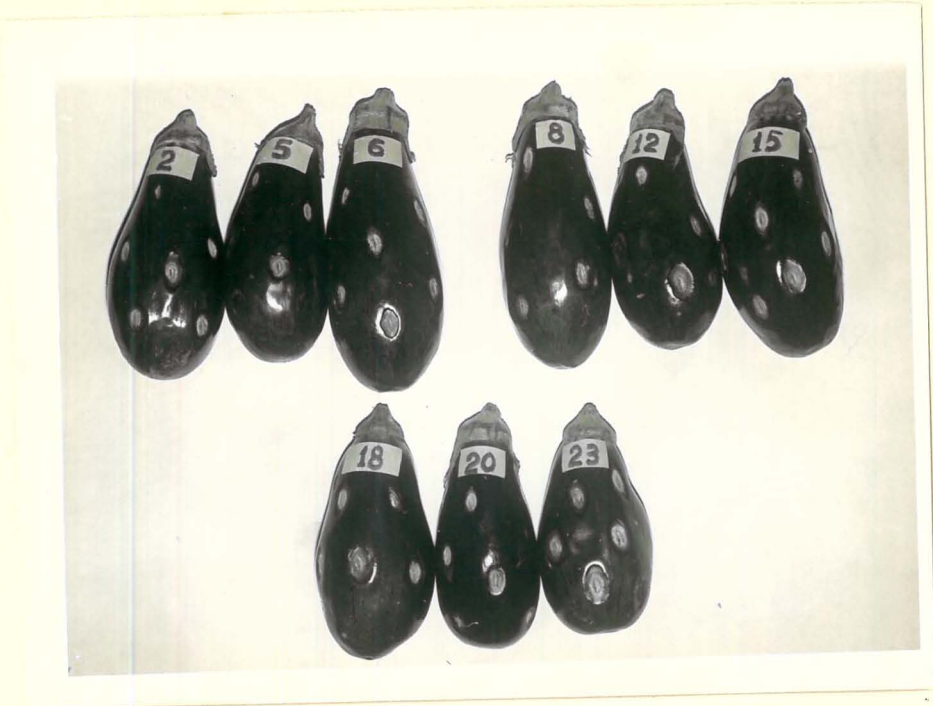


Figura nº 15: Aspecto do resultado da inoculação cruzada com as linhagens altamente patogênicas de Colletotrichum gloeosporioides em frutos de berinjela.

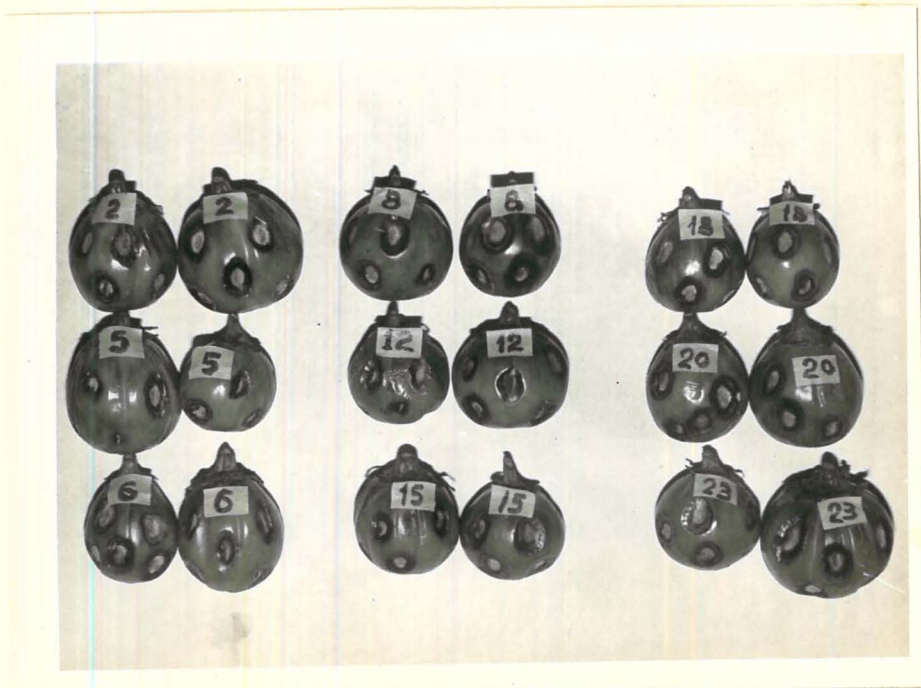


Figura nº 16: Aspecto do resultado da inoculação cruzada com as linhagens altamente patogênicas de Colletotrichum gloeosporioides em frutos de jiló.

5.3.2. Inoculação foliar

No ensaio de inoculação foliar realizado conforme a técnica descrita no item 4.7.2. foram obtidos os seguintes resultados apresentados no quadro nº 8(1).

QUADRO Nº 8: Resultados da inoculação foliar com as principais linhagens selecionadas para o estudo nas plantas hospedeiras discriminadas abaixo.

Nº da cultura	Pimentão	Berinjela	Jiló	Tomate
5	++(2)	++	++	++
7	+	+	-	+
15	++	++	++	++
17	+	+	+	+
18	++	++	++	++
25	++	+	++	++
31	++	++	++	++
35	-	-	-	-
45	-	-	-	-
49	-	-	-	-
54	+	+	++	++
Test.	-	-	-	-

(1) Os resultados de cada parcela representam uma média de 4 repetições.

(2) (-) sem sintomas, (+) pequenas manchas esparsas nas fôlhas velhas, (++) pequenas manchas esparsas nas fôlhas adultas.

5.4. Formação de setas

Em todos os tratamentos efetuados conforme as técnicas descritas no item 4.8., as linhagens sem setas nos materiais originais nº 5, 15 e 18 isoladas respectivamente das lesões dos frutos de berinjela, jiló e pimentão permaneceram sem setas e as linhagens com setas nos materiais originais nº 31 e 34 isoladas respectivamente dos frutos de jiló e berinjela não formaram mais estas estruturas apresentando-se em cada trata -

mento os mesmos sintomas nos frutos e também as mesmas características morfológicas.

Os tratamentos aplicados foram:

I - Em câmara úmida constante.

II - Em condições ambientais naturais de laboratório.

III - Em câmara úmida durante os primeiros 5 dias seguidas de condições ambientais naturais de laboratório até o fim do experimento.

IV - Em câmara úmida durante os primeiros 5 dias, seguidas de condições de temperatura a 5°C durante mais 5 dias e mantida novamente em câmara úmida até o fim do experimento.

V - Em câmara úmida durante os primeiros 5 dias seguidas de condições de temperatura a 5°C durante mais 5 dias e por fim em condições naturais de laboratório.

VI - Em câmara úmida, expondo-se aos raios do sol da manhã durante 2 horas por dia.

VII - Em condições naturais de laboratório, expondo-se aos raios do sol da manhã durante 2 horas por dia.

VIII - Em câmara úmida durante os primeiros 5 dias, em condições de temperatura a 5°C por mais 5 dias e novamente em câmara úmida, porém, expondo-se diariamente aos raios do sol da manhã durante 2 horas neste último período.

IX - Em condições naturais de laboratório durante os primeiros 5 dias, seguidas de condições de temperatura a 5°C e novamente em condições naturais de laboratório, expondo-se porém diariamente aos raios do sol da manhã durante 2 horas neste último período.

X - Em condições naturais de laboratório durante os primeiros 5 dias e depois em meio ambiente externo até o fim do experimento.

As duas figuras seguintes ilustram respectivamente os aspectos do acérvulo com setas de uma linhagem altamente patogênica de Colletotrichum gloeosporioides encontrada em frutos coletados no campo e o acérvulo sem setas da mesma linhagem inoculada nos frutos em laboratório.

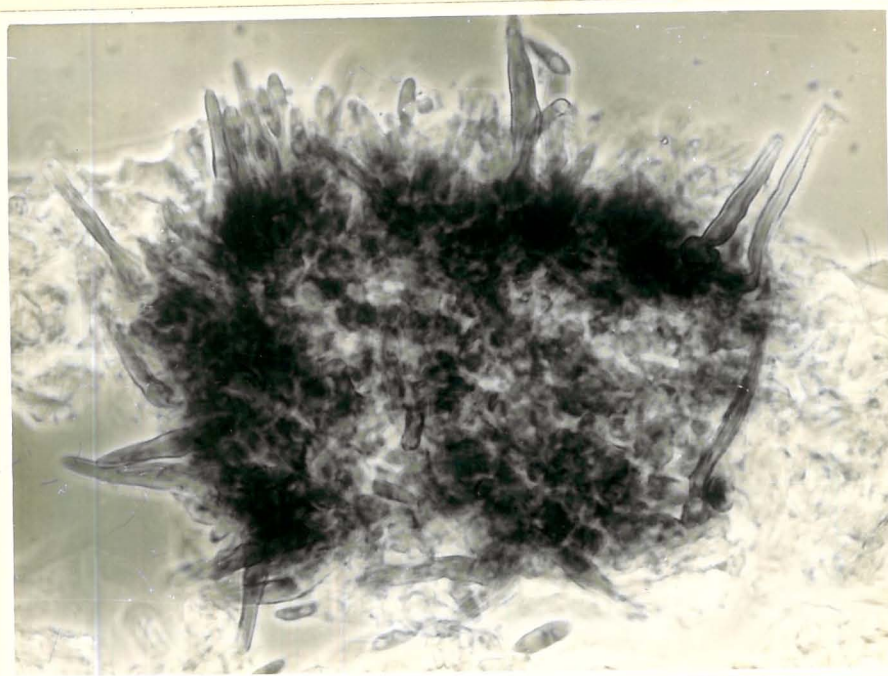


Figura nº 17: Acérvulo da linhagem altamente patogênica de Colletotrichum gloeosporioides com setas observado no material original (fruto de jiló). Aumento: 450 x aproximadamente.

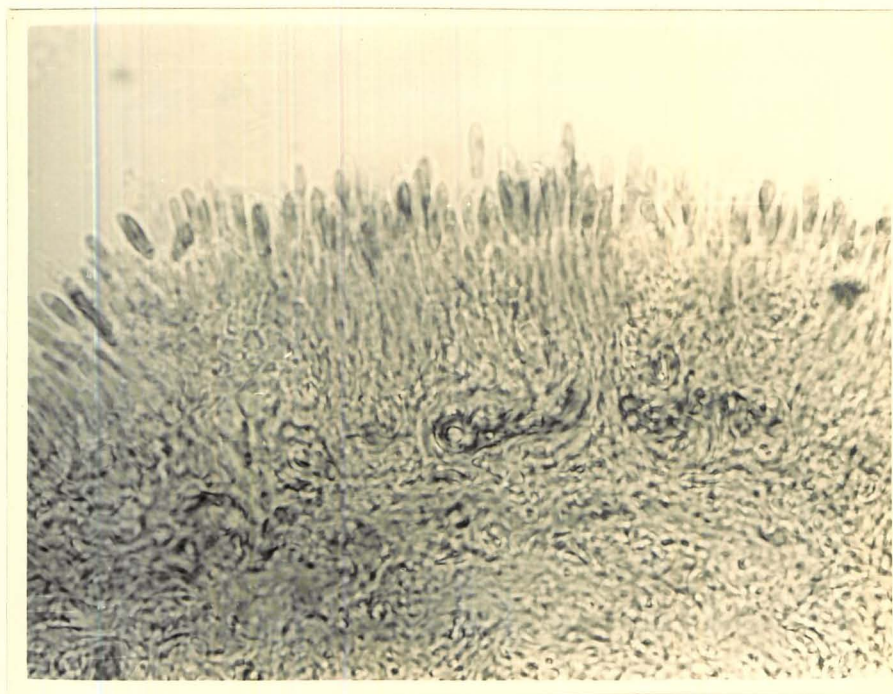


Figura nº 18: Corte transversal do acérvulo da mesma linhagem acima desenvolvido em fruto de jiló inoculado em laboratório. Aumento: 450 x aproximadamente.

QUADRO Nº 9: Espécies das linhagens selecionadas para o estudo isoladas das Solanáceas

<u>Espécie</u>	<u>Hospedeiro original</u>	<u>Linhagens</u>
<u>Colletotrichum</u> <u>gloeosporioides</u>	Berinjela	Nºs. 2, 5, 6 e 34
	Jiló	8,12,15 e 31
	Pimentão verde	18,20 e 23
	Pimentão maduro	25,27 e 54
	Mangueira	35
	Abacateiro	45
	Mamoeiro	49
<u>Colletotrichum</u> <u>atramentarium</u>	Jiló	Nº. 17
<u>Colletotrichum</u> <u>dematium</u>	Berinjela	Nº. 7
	Pimentão	28

QUADRO Nº 10: Níveis de patogenicidade das linhagens de Colletotrichum gloeosporioides selecionadas para o estudo.

Nível de patogenicidade	Linhagens	Hospedeiro original
NÍVEL I (altamente patogênica, podendo afetar os frutos de pimentão, berinjela e jiló em qualquer fase do desenvolvimento e ainda os frutos maduros de tomate)	Nºs. 2, 5, 6 e 34	Berinjela
	8,12,15 e 31	Jiló
	18,20 e 23	Pimentão
NÍVEL II (patogênica aos frutos maduros de pimentão e tomate)	Nºs. 25, 27 e 54	Pimentão maduro
NÍVEL III (patogênica aos frutos maduros de tomate quando inoculados com ferimento)	Nº. 35	Mangueira
	45	Abacateiro
	49	Mamoeiro

5.5. Influência da temperatura "in vitro" sobre o crescimento de Colletotrichum gloeosporioides

Os crescimentos obtidos em diferentes temperaturas testadas conforme a técnica descrita em item 4.9 estão apresentados no quadro nº 11. Cada um dos dados representa uma média dos diâmetros de cinco colônias que compõe a parcela.

QUADRO Nº 11: Crescimento "in vitro" das linhagens de Colletotrichum gloeosporioides em diferentes temperaturas (1)

Nº da linhagem	10°C	15°C	20°C	25°C	30°C	35°C
5	12,0(2)	14,5	34,0	50,0	50,0	2,5
15	11,5	14,0	32,5	50,5	51,0	3,0
18	11,5	15,5	32,0	49,5	50,0	3,0
25	11,0	14,0	35,0	59,0	64,0	4,0
31	12,0	13,5	33,5	55,5	51,5	3,5
35	6,5	10,5	35,0	56,5	58,5	13,0
45	11,0	12,5	42,0	73,0	85,0	48,0
49	10,0	10,5	44,0	80,0	83,0	55,0
54	11,5	14,5	35,0	60,0	64,0	4,5

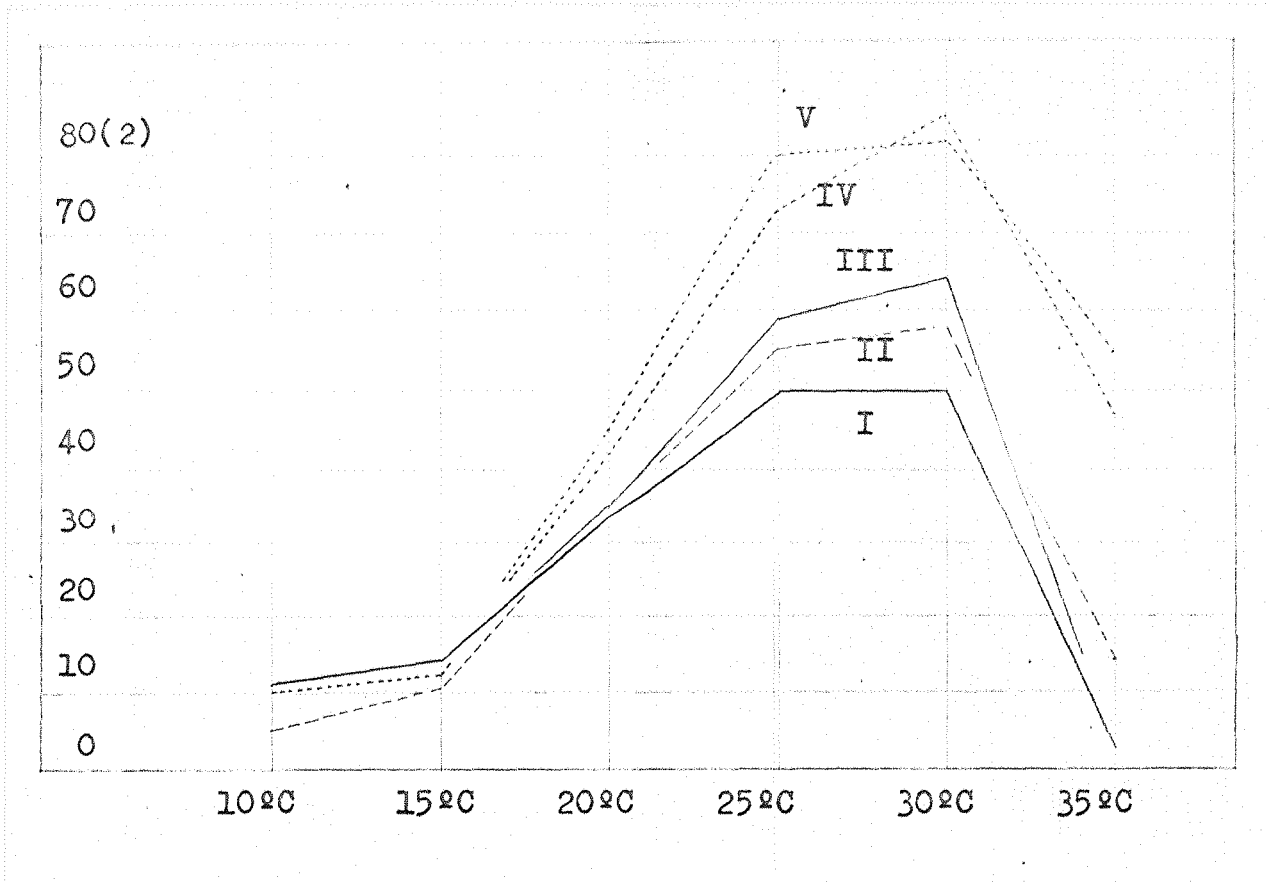
(1) Leitura efetuada 7 dias após a inoculação em placas.

(2) Diâmetro em centímetros

QUADRO Nº 12: Taxa média diária de crescimento das linhagens de Colletotrichum gloeosporioides em placas de petri dentro da faixa ótima de desenvolvimento.

Nº de linhagem	Taxa de crescimento	Nº da linhagem	Taxa de crescimento
5	7 cm	35	8 cm
15	7 cm	45	12 cm
18	7 cm	49	12 cm
25	9 cm	54	9 cm
31	7 cm		

QUADRO Nº 13: Gráfico do crescimento das linhagens de Colletotrichum gloeosporioides em placas de petri nas diferentes temperaturas (1)



I - Linhagens nº 5, 15, 18 e 31, altamente patogênicas aos frutos de pimentão, berinjela e jiló

II - Linhagem nº 35, isolada da mangueira

III - Linhagens nº 25 e 54, isoladas de pimentão maduro

IV - Linhagem nº 49, isolada do abacateiro

V - Linhagem nº 45, isolada do mamoeiro

(1) Leitura efetuada 7 dias após a inoculação

(2) Diâmetro das colônias em centímetros.

5.6. Etiologia da antracnose das Solanáceas causada por Colletotrichum gloeosporioides

5.6.1. Temperaturas ideais para a ocorrência de infecção e desenvolvimento de sintomas

Os dados obtidos neste ensaio efetuado conforme a técnica descrita no ítem 4.10.1 estão apresentados no quadro nº 14(1)

QUADRO Nº 14: Desenvolvimento de sintomas nos frutos de pimentão verdes e de tomate maduros inoculados com as linhagens altamente patogênicas de Colletotrichum gloeosporioides e mantidos em diferentes temperaturas

<u>Nº das linhagens</u>	<u>Pimentão</u>			<u>Tomate</u>		
	5	15	18	5	15	18
Temperaturas						
20°C	++(2)	+++	++	++	++	+++
25°C	+++	+++	+++	+++	+++	+++
30°C	+++	+++	+++	+++	+++	+++
35°C	-	-	-	-	-	-

(1) Os resultados de cada parcela representam uma média de cinco frutos inoculados.

(2) (-) Sem sintomas, (++) Pequenas lesões de até 5 mm de diâmetro, (+++) Lesões numerosas de mais de 5 mm de diâmetro, atingindo-se muitas vezes mais de 3 cm.

5.6.2. Influência da umidade na germinação dos conídios

Os dados obtidos neste ensaio efetuado segundo as técnicas descritas no ítem 4.10.2. estão apresentados no quadro nº 15.

QUADRO Nº 15: Germinação dos conídios das linhagens altamente patogênicas de Colletotrichum gloeosporioides em 24 horas sob diferentes tratamentos (1)

Materiais	Tratamentos			
	I	II	III	IV
Em lâminas	+(2)	-	-	-
Em frutos	+	-	+	-

(1) Tratamentos - I = Gota de suspensão de conídios em caldo fraco de pimentão sôbre lâmina ou superfície do fruto e mantida em câmara úmida. II = Mesma suspensão acima em lâmina ou sôbre a superfície do fruto, sêca antes de ser colocada em câmara úmida. III = Gotas de suspensão de conídios em água destilada estéril sôbre a lâmina ou superfície do fruto e mantida em câmara úmida. IV = A mesma suspensão sêca antes de se colocar em câmara úmida.

(2) Germinações: (+) = Conídios germinados, (-) = Conídios não germinados.

5.6.3. Tempo necessário para a ocorrência de germinação e penetração nos tecidos do hospedeiro

5.6.3.1. Ensaio em lâminas

Os resultados obtidos neste ensaio efetuado segundo as técnicas descritas no ítem 4.10.3.1. foram os seguintes:

Em água estéril não houve nenhum indício de germinação mesmo depois de 24 horas de incubação à temperatura ambiente.

Em extrato de solo, a germinação observada no mesmo espaço de tempo foi somente de 1 a 2%, podendo-se observar em alguns casos, a formação de apressórios.

Em caldo fraco de pimentão, muitos conídios tornam-se bicelulados dentro de 3 a 4 horas e o início da formação de promicélios nas extremidades ou nos lados dêstes conídios em germinação foi observado entre 4 a 5 horas. Em alguns conídios, a formação de apressórios pode-se dar diretamente sem a formação de promicélios. Em 8 horas, inúmeros apressórios formados diretamente nos conídios ou nas extremidades dos promicé

lios estão presentes, colorindo-se intensamente de azul de algodão adicionado ao lactofenol. Observa-se nesta fase, vários casos de anastomose entre os conídios em germinação ou entre promicélios. Em 12 horas, os apressórios são ainda hialinos, aumentando-se porém no diâmetro e aparentemente na consistência. Em 16 a 18 horas, êstes apressórios estão bem desenvolvidos e firmemente fixados à lâmina, apresentando-se uma coloração castanho escura, não se colorindo mais com azul de algodão.

Em caldo de pimentão observou-se um intenso desenvolvimento de hifas que se ramificam, formando-se um emaranhado de micélios dentro de 8 a 10 horas, não se observando a formação de apressórios, a não ser muito esporadicamente nas extremidades de algumas hifas.

5.6.3.2. Ensaio em frutos

Neste ensaio efetuado conforme a técnica descrita no item 4.10.3.2., não houve diferenças entre o tratamento feito com água estéril e extrato de solo. O início da formação de promicélios foi observado entre 5 a 6 horas e em 12 horas os apressórios estão há bem desenvolvidos colorindo-se ainda intensamente com azul de algodão. Depois de 16 a 18 horas, êstes apressórios estão firmemente fixados à cutícula apresentando-se uma coloração castanho escura. Em 36 a 48 horas, não há ainda nenhuma evidência da formação de estruturas infecciosas. Êstes apressórios, entretanto, tornam-se mais escuros. Somente depois de 60 horas foi observado o desenvolvimento de tubos de infecção através da cutícula. Nos pontos onde há grande número de apressórios aglomerados, observa-se pequenos fendilhamentos da cutícula e os micélios se desenvolvendo rapidamente para o tecido exposto. No quarto dia, observando-se ao microscópio estereoscópico pode-se notar a degeneração dos tecidos adjacentes ao ponto de infecção. No quinto a sexto dia, pequenas depressões começam a aparecer nas áreas inoculadas.

O aparecimento dêstes sintomas em berinjela, jiló e tomate se deu aproximadamente dentro do mesmo prazo observado para o pimentão.

6. DISCUSSÕES

Uma das grandes dificuldades encontradas inicialmente para a identificação das espécies de fungos isoladas de Solanáceas para o presente trabalho comparando-se com os dados existentes na literatura foi a diversidade de espécies classificadas sem levar em consideração a amplitude de hospedeiros que estas espécies poderiam afetar.

Por outro lado, a presença ou ausência de setas em determinados materiais levaram os autores a classificar como gêneros diferentes, Colletotrichum e Gloeosporium respectivamente, para as quais, não existem nenhuma prova científica serem caracteres genotípicos distintos que possam ser considerados para a caracterização de espécies ou gêneros diferentes, antes pelo contrário, estas características estão muito provavelmente na dependência de condições ambientais do meio (Ikata, 1937; Alexopoulos, 1966).

Von Arx (1957), relatando que muitos fungos deixaram de se caracterizar segundo as plantas hospedeiras e o substrato de crescimento, mas sim, baseando-se somente em características morfológicas, cita como exemplos o trabalho de Hammarlund, 1954, em que o fungo Erysiphe poliphaga pode afetar 88 espécies de 33 gêneros pertencentes a 23 famílias de plantas e o de Wollemwebwer, 1917, no qual, efetuando-se uma revisão das espécies do gênero Fusarium segundo a morfologia diferenciou somente 65 espécies básicas e 55 variedades, juntando-se os restantes de mais de 550 espécies descritas anteriormente na literatura como sinônimos.

Baseando-se neste último exemplo, von Arx efetuou um amplo estudo bibliográfico e de laboratório sobre as espécies do gênero Colletotrichum e Gloeosporium e reduziu para somente 13 espécies básicas e algumas formas diferenciadas dentro do gênero Colletotrichum, invalidando a forma Gloeosporium

Para justificar a invalidação da forma Gloeosporium descreve que estudos comparativos e experimentos de infecção e cultivo não permitem separar os dois gêneros com base na presença ou ausência de setas. Citando ainda os dados de Saccardo-1884, Allescher-1903, Stoneman-1889, Southworth-1891, Shear

e Wood-1913, Kruger-1913, Hemmi-1912, e Petrak-1913 sôbre esta questão, considerou oportuno juntar os dois gêneros em um só, mantendo-se a denominação Colletotrichum devido a questão de prioridade frente ao Gloeosporium.

Desta maneira, o gênero Colletotrichum não mais se deixa caracterizar pelos acérvulos, com setas e ainda considera-se como característica para tôdas as espécies dêste gênero, os conídios unicelulares, hialinos e a formação de apressórios a partir dêstes conídios após a germinação.

Baseando-se na classificação de von Arx, os fungos isolados das Solanáceas no presente trabalho compreendem três espécies distintas: Colletotrichum gloeosporioides Penz., Colletotrichum atramentarium (Berk. & Br.) Taub. e Colletotrichum dematium (Pers & Fries) Grove.

Para a maior clareza, cada espécie será discutida sucintamente abaixo.

a) Colletotrichum gloeosporioides Penzig

Esta espécie, segundo o novo conceito, é a forma básica da fase conidial de Glomerella cingulata (Ston.) Schr. & Spaul., incluindo inúmeras raças e linhagens que deverão ser distinguidas pelas características fisiológicas, biológicas ou sexuais. Sob esta denominação compreendem mais de 750 formas classificadas anteriormente como espécies distintas.

As características morfológicas desta espécie segundo von Arx são: Acérvulos epidermais que variam tanto na cor ou no tamanho segundo o substrato, linhagens ou raça do fungo. Conídios hialinos cilíndricos medindo de 12 a 20 u por 4 a 6 u em média, levemente clavados e destacados acrógenamente do conidióforo incolor ou castanho. Estes conídios se acumulam sôbre os acérvulos em massas mucilaginosas alaranjadas ou vermelho tijolo e com menos frequência, pálidas ou castanhas. Apresórios arredondados ou levemente clavados de 5 a 8 u de diâmetro formados no promicélio ou diretamente nos conídios ou ascosporos. Inicialmente são hialinos, tornando-se mais tarde castanhos ou cinza escura.

Compreendem as linhagens selecionadas para o estudo números 2, 5, 6 e 34 isoladas de berinjela; n^{os} 18, 20 e 23 de

pimentão verde; n.ºs. 25, 27 e 54 de pimentão maduro; n.ºs. 8, 12, 15 e 31 de jiló. Compreendem ainda as linhagens n.º 35, 41 e 49 isoladas respectivamente da mangueira, abacateiro e mamoeiro para estudos comparativos (Quadro n.º 9).

Pelos dados obtidos em experimentos de inoculação cruzada (item 5.3.1.) pode-se distinguir perfeitamente três níveis de patogenicidade em relação às Solanáceas em estudo. Em primeiro lugar estão as linhagens n.º 2, 5, 6 e 34 isoladas de berinjela, n.º 8, 12, 15 e 31 de jiló, n.º 18, 20 e 23 de pimentão verde, podendo estas afetar todos estes frutos em qualquer fase do desenvolvimento. Em segundo nível estão as linhagens n.º 25, 27 e 54 isoladas de pimentão maduro que somente afetam os frutos maduros de pimentão e tomate. Em último nível estão as linhagens n.º 35, 41 e 49 isoladas respectivamente da mangueira, abacateiro e mamoeiro que afetam os frutos maduros de tomate quando inoculadas com fermento (Quadro n.º 10).

Destaca-se ainda neste experimento que as linhagens altamente patogênicas isoladas de pimentão verde (n.ºs 18, 20 e 23), berinjela (n.ºs. 2, 5, 6 e 34) e jiló (n.ºs. 8, 12, 15 e 31) não diferem entre si quanto à patogenicidade para estas plantas hospedeiras. Não diferem também tanto nas características culturais como nas morfológicas conforme pode-se verificar nos itens 5.1. e 5.2.

Estes resultados demonstram claramente que os agentes causais das antracnoses dos frutos de pimentão, berinjela e jiló que os afetam em qualquer fase dos seus desenvolvimentos pertencem à mesma variedade ou forma fisiológica da espécie Colletotrichum gloeosporioides.

Estes fungos, sobre os frutos suscetíveis, produzem manchas circulares ou elípticas deprimidas de 1 a 3 cm de diâmetro. Nestas manchas formam grandes quantidades de acérvulos e rumpentes em círculos concêntricos (Fig. n.º 4), circulares ou oblongos de dimensões variáveis, cobertas geralmente com uma massa mucilaginosa de conídios de coloração alaranjada. São estes conídios, unicelulares, hialinos de forma cilíndrica com as extremidades arredondadas ou levemente afinadas, medindo de 2,5 a 4,5 por 10 a 16 u (Fig. n.º 5). Em materiais colhidos no campo, onde as condições ambientais são bastante variáveis, os

acérvulos podem aparecer em forma de pontilhações escuras e salientes formadas de estromas avolumadas. Podem ainda, aparecer sôbre os acérvulos, pequenas setas castanho escuras, septadas ou não, medindo de 25 a 40 u de comprimento (item 5.6., fig. nº 17).

Os apressórios que se formam da germinação no promicélio ou diretamente nos conídios são arredondados ou levemente alongados, medindo de 5 a 7 u de diâmetro. São inicialmente hialinos, adquirindo-se mais tarde uma coloração castanho escura (Fig. nº 6).

As culturas em placas de petri, sôbre o meio de batata-dextrose-agar ou de aveia, apresentam inicialmente os micélios esbranquiçados bastante cotonosos. Com o crescimento da colônia, êstes micélios tornam-se mais densos e de coloração levemente acinzentada. Nestes meios de cultura são ainda muito frequentes o aparecimento de setores ou saltações com características culturais levemente diferenciadas (Fig. nº 2).

Quanto à ocorrência de setas nos materiais originais das linhagens nº 31 e 34, jiló e berinjela respectivamente, estas setas sômente foram observadas em acérvulos envelhecidos das lesões dos frutos madurecidos, colhidos das culturas abandonadas numa época de pouca precipitação pluviométrica e temperatura em declínio (fins do mês de abril a comêço do mês de maio). Em vários ensaios realizados posteriormente em laboratório (item 5.4.) não foi possível obter o desenvolvimento destas setas, apresentando nêstes experimentos, sintomas e características tanto culturais como morfológicas idênticas das linhagens que não se observou a presença de setas (Figs. 19 e 20), evidenciando-se que estas linhagens não diferem daquelas obtidas de materiais sem setas, estando ainda em concordância com as conclusões chegadas por von Arx (1957).

Esta forma altamente patogênica possui para o seu crescimento "in vitro", assim como para a infecção dos frutos e posterior desenvolvimento de sintomas, uma faixa ótima de temperatura situada entre 25 a 30°C (item 5.5., quadros nº 11 e 13).

O crescimento "in vitro" decresce abruptamente em temperaturas situadas acima de 30°C, sendo insignificante a 35°C.

A esta temperatura não foi observado nenhum caso de infecção dos frutos (item 5.6.1., quadro nº 14). Por outro lado, a 20°C o desenvolvimento de sintomas é mais lento, podendo-se deduzir que a infecção pode ocorrer mais lentamente mesmo às temperaturas situadas abaixo deste nível.

Fulton (1948) verificou que a faixa ótima de temperatura para a infecção e desenvolvimento de sintomas em frutos do tomateiro se situa entre 70° a 80°F (21° a 26°C), sendo a máxima a 90°F (32°C). Obteve ainda infecções em temperaturas inferiores até 10°C, distanciando-se entretanto, o período entre a inoculação e o aparecimento de sintomas.

Quanto à umidade, ela necessita de um filme d'água para a germinação dos conídios e desenvolvimento dos apressórios. Isto não ocorre mesmo mantendo-se a umidade relativa do ar que o envolve a 100% da sua capacidade (item 5.6.2., quadro nº15).

Além do filme d'água, um estímulo químico parece ser necessário para se dar a germinação. Em lâmina com gota de água destilada estéril não se observou nenhum caso mesmo de pois de 24 horas de incubação em temperatura ambiente, ao passo que sobre a superfície do fruto as germinações eram evidentes em 5 a 6 horas sob as mesmas condições ambientais.

Na sequência do processo de infecção dentro da faixa ótima de temperatura, a germinação dos conídios desta forma altamente patogênica de Colletotrichum gloeosporioides se dá entre 4 a 6 horas. Para o desenvolvimento de apressórios e a sua firme fixação na superfície dos frutos são necessários mais 12 a 16 horas, totalizando-se portanto, 16 a 18 horas.

Quando os esporos são postos a germinar em lâminas com caldo fraco em nutrientes, após a germinação e antes da formação de apressórios, pode ser facilmente observada e com relativa frequência a anastomose entre conídios ou entre promicélios, formando-se provavelmente hifas heterocarióticas que poderão ser um dos processos de variação entre as linhagens dentro desta espécie, semelhantemente ao fenômeno observado por Carvalho (1966) em Colletotrichum falcatum.

O desenvolvimento de estruturas infecciosas através da cutícula a partir destes apressórios se dá entre o se-

gundo e o terceiro dia e os sintomas visíveis a olho nú aparecem entre 4º a 6º dia após a inoculação.

O aparecimento destes sintomas nos frutos de berinjela, jiló e tomate se situa também dentro do período observado para o pimentão.

Esta sequência do processo de penetração e desenvolvimento de sintomas não difere basicamente dos dados obtidos por Higgins (1926) em pimentão e por Fulton (1948) em tomate.

Pela análise destes dados, pode-se deduzir que o período crítico na germinação em que a presença contínua de um filme d'água é indispensável estaria situada em torno de 16 a 18 horas, tempo este necessário para o firme estabelecimento dos apressórios na cutícula dos frutos. Provavelmente esta é a razão porque esta moléstia só ocorre nos períodos em que a alta umidade relativa do ar e chuvas prolongadas são frequentes.

As culturas nº 25, 27 e 54, linhagens isoladas dos frutos maduros de pimentão, apesar de apresentarem as mesmas características morfológicas das anteriores, é uma variedade ou forma fisiológica distinta, muito menos patogênica, que afeta os frutos de pimentão e tomate somente quando estão maduros. Quando inoculadas em frutos verdes, as lesões começam a aparecer ou desenvolver após a maturação destes.

Cultivadas sobre o meio de batata-dextrose-agar ou de aveia, formam enormes quantidades de conídios, apresentando por este motivo, uma coloração alaranjada (Fig. nº 2).

A sua taxa média de crescimento obtida em temperatura entre 25 a 30°C (faixa ótima de crescimento) em meio de aveia é de aproximadamente 9 cm por dia, diferindo portanto das linhagens anteriores que apresentam uma taxa média em torno de 7 cm diários (item 5.5., quadro nº 12). As duas formas fisiológicas, entretanto, quando inoculadas em frutos de pimentão maduro, apresentam os mesmos sintomas, sendo desta maneira, impossível distingui-las uma da outra neste substrato.

Estas duas formas podem ainda infectar os frutos maduros do tomateiro mesmo inoculando-as sem ferimento, produzindo podridões ou manchas idênticas às descritas como antracnose do tomateiro. Podem causar ainda pequenas manchas esparsas

nas folhas de pimentão, berinjela, jiló e tomateiro quando inoculadas experimentalmente (item 5.3.2.) apesar de que, no campo, mesmo em culturas severamente atacadas não foi notada a presença destes sintomas.

As linhagens nº 35, 45 e 49, isoladas respectivamente das lesões de antracnose dos frutos da mangueira, abacateiro e mamoeiro apresentam as características morfológicas quase idênticas às observadas nas linhagens anteriores e dentro das descritas para a espécie Colletotrichum gloeosporioides Penz. por von Arx. Entretanto, estas linhagens devem ser consideradas como variedades ou formas fisiológicas bem distintas daquelas descritas anteriormente. Não apresentam nenhuma evidência de patogenicidade aos frutos de pimentão, berinjela e jiló mesmo em frutos maduros inoculados com ferimentos. Diferem ainda, sensivelmente, tanto nas dimensões dos conídios, como no comportamento de crescimento em diferentes temperaturas (item, 5.2.1., quadro nº 4 e item 5.5., quadros nº 11, 12 e 13).

É interessante salientar que, nas colorações de esporos efetuados com safranina (item 5.2.1., fig. nº 3) apresentam uma nítida diferença no tipo de coloração entre as formas patogênicas e não patogênicas às Solanáceas dentro da espécie Colletotrichum gloeosporioides. Nas formas patogênicas, os conídios se colorem de um vermelho claro, pontilhados com grande número de granulações esbranquiçadas, podendo-se notar ainda, em quase todos os conídios, uma coloração vermelha mais escura na parte central. Nas formas não patogênicas (linhagens nº 35, 45 e 49, isoladas respectivamente da mangueira, abacateiro e mamoeiro para estudos comparativos), os conídios se colorem uniformemente com um vermelho escuro, podendo-se distinguir levemente as granulações que apresentam uma tonalidade mais clara.

Para se distinguir estas duas formas de coloração foi denominado Tipo de Coloração I e II em safranina respectivamente (item 5.2.1., Fig. nº 3), cuja característica não foi encontrada nenhuma citação na literatura. Esta característica, após estudos mais detalhados, poderá muito provavelmente ser utilizada para a caracterização das variedades ou para o estudo das variações que ocorrem dentro de uma espécie.

Os agentes causais das antracnoses do pimentão, be-

rinjela, jiló e tomate foram descritos por vários autores, como foi frizado anteriormente, recebendo denominações diferentes. Desta maneira, encontram-se na literatura como Gloeosporium piperatum Ell. & Ever. citado por Higgins (1926), Colletotrichum piperatum (Ell. & Ever.) Ell. & Halst. citado por Smith e Crossan (1958). Colletotrichum nigrum Ell. & Halst. citado por Saccardo (1913) e Gloeosporium capsici descrito por Unamuno (1930), tôdas estas formas descritas em pimentão; Gloeosporium melongenae Ell. & Halst. citado por von Arx (1957) e Colletotrichum melongenae descrita por Averna Saccá (1917) relatadas em berinjela; Colletotrichum gloeosporioides Penz. citado por Sudo, Ribeiro e Robbs (1966) em jiló e Colletotrichum phomoides (Sacc.) Chester em tomateiro citado por Walker (1952)

Segundo a classificação de von Arx (1957) que se baseia em características morfológicas, tôdas estas espécies passaram a ser sinônimos da forma básica Colletotrichum gloeosporioides Penz., podendo ser raças ou formas diferenciadas dentro desta espécie.

Sôbre o Gloeosporium piperatum, Higgins (1926) relata que, efetuando-se as inoculações com uma cultura isolada de um fruto de pimentão maduro parcialmente decomposto em frutos nas várias fases de desenvolvimento, com e sem fermento, resultou em pequenas infecções em frutos feridos mas nenhum em frutos intactos. Além disso, em todos os casos em que se deu a infecção, as lesões não aumentaram a não ser depois de êstes começarem a amadurecer. Durante a primavera seguinte, entretanto, as plantas crescidas em casas de vegetação ficaram severamente afetadas e, em experimentos posteriores efetuados com os isolados obtidos destas plantas comprovaram ser patogênicas aos frutos em qualquer fase do desenvolvimento.

A característica pouco patogênica (semelhante às linhagens isoladas de pimentão maduro no presente trabalho) dos primeiros isolados obtidos e o aparecimento de forma altamente patogênica (semelhante à forma fisiológica altamente patogênica analisada neste estudo) sugere uma hipótese de que Higgins estava trabalhando inicialmente com uma cultura mista ou heterocariótica com predominância quase absoluta da forma pouco patogênica. A presença de plantas jovens e vigorosas, provável-

mente, teria selecionada a forma altamente patogênica, visto que a anastomose entre os conídios ou promicélios após a germinação é relativamente frequente nestas variedades (item 5.8.1)

Smith e Crossan (1958) descrevem que o fungo Colletotrichum piperatum (Ell. & Ever.) Ell. & Halst. pode infectar os frutos verdes de pimentão mas os sintomas só começam a se desenvolver logo depois que começam a amadurecer. Esta descrição indica que se tratava de uma forma fisiológica pouco patogênica semelhante à isolada do pimentão maduro neste presente trabalho.

Quanto ao Colletotrichum nigrum Ell. & Halst., segundo a descrição de Saccardo (1913), morfológicamente difere do Gloeosporium piperatum Ell. & Ever. devido aos acérvulos escuros e presença de setas.

O Index of Plant Diseases in the United States (1960) registra que este fungo tem sido confundido com Gloeosporium piperatum e muitas vezes citado como sinônimo ou relatado como agente causal da antracnose comum. Afirma entretanto que, as suas características evidenciam ser um organismo distinto daquele e não o agente causal primário da antracnose do pimentão

Segundo Bastos Cruz, Figueiredo e Abrahão (1964), Colletotrichum nigrum pode afetar tanto as hastes, fôlhas como os frutos. Nos frutos produzem manchas deprimidas escuras e frutificações em círculos concêntricos, distinguindo-se do Gloeosporium sp, o qual, forma massas rosadas nas lesões constituídas por aglomerados de esporos do fungo.

Ciferri (1929) descreve o Colletotrichum nigrum (Ell. & Halst.) como o agente causal da podridão zonada do fruto, doença mais danosa e comumente encontrada em pimentão, podendo destruir em condições favoráveis, até 75% da produção. Relata ainda que a mancha dos frutos de pimentão causada por Gloeosporium piperatum Ell. & Ever. é pouco disseminado, podendo-se encontrar associado com o primeiro, sendo de pequena importância econômica.

Constatando-se que ocorrem duas variedades ou formas fisiológicas morfológicamente semelhantes porém diferentes na patogenicidade conforme os resultados obtidos neste trabalho e, ainda, pelos dados de Higgins (1926) e de Smith e Cros-

san (1958), estas duas formas não são de ocorrência recente, considerando-se também que, na forma altamente patogênica podem aparecer acérvulos com setas ou em forma de pontilhações escuras em determinadas condições ambientais, não se pode concluir pelos dados acima se a forma descrita como Colletotrichum nigrum Ell. & Halst. é realmente distinta das formas fisiológicas estudadas neste trabalho.

Ciferri, provavelmente, descreveu como Colletotrichum nigrum a variedade ou a forma fisiológica altamente patogênica e como Gloeosporium piperatum, a forma menos patogênica que somente afeta os frutos maduros de pimentão.

Quanto à espécie Gloeosporium capsici descrita por Unamuno (1933) como uma nova espécie em pimentão caracterizada pelo acérvulo largo, amarelo esbranquiçado, com conídios cilíndricos ou levemente curvados, hialinos ou amarelados, arredondados nas pontas ou afinados em um dos lados, medindo de 18 a 23 u por 6 a 7,5 u, apesar de, aparentemente ser uma forma distinta, pelo menos pelas suas dimensões dos conídios muito maiores, devido à escassez de dados é impossível discutir aqui a sua correlação com as formas aqui estudadas.

Sobre os fungos Gloeosporium melongena Ell. & Halst 1891, Gloeosporium melongena Saccardo, 1916 e Colletotrichum melongena Libik, 1928, citados von Arx (1957) não foi possível encontrar nenhuma publicação detalhada que possam caracterizá-los.

Averna Saccá (1917) relata a antracnose da berinjela como uma grave doença desta cultura e descreve o agente causal como Colletotrichum melongena Averna com as seguintes características nos frutos: manchas irregulares de 1 a 3 cm de diâmetro, com margens salientes, cobertas com pontuações hemisféricas, azeitonadas ou pretas. Conídios cilíndricos com ápices arredondadas, medindo-se de 2,5 a 3,0 u por 5,7 a 11,4 u. Formam ainda nos acérvulos, setas alongadas de côr castanho clara com ápice quase sempre arredondada.

Esta descrição não difere das características observadas em berinjela da qual foi isolada a linhagem nº 34 deste trabalho e demonstrada, posteriormente, ser idêntica à forma fisiológica altamente patogênica que afeta também o pimentão e o

jiló (item 5.3.1.).

Shupp e Sherf (1960) citam como Colletotrichum melongena (Ell. & Halst.) Averna, considerando os autores Ellis e Halsted e Averna Saccá provavelmente por questão de prioridade.

O agente causal da antracnose do jiló relatado por Sudo, Ribeiro e Robbs (1966), descrito como Colletotrichum gloeosporioides Penz. que pode afetar também o pimentão e a berinjela, é sem dúvida a mesma forma ou variedade fisiológica altamente patogênica estudada neste presente trabalho .

A antracnose do tomateiro, segundo Walker (1952), é uma doença que aparece principalmente em forma de podridão dos frutos maduros em áreas produtoras de tomates para conservas. O seu agente causal descrito como Gloeosporium phomoides por Saccardo em 1878 e reclassificado por Chester em 1891 como Colletotrichum phomoides, é um fungo bastante variável, tanto nas características culturais, como na formação de setas e considera não ser possível indicar ainda com certeza a gama de hospedeiros deste patógeno, pois vários fungos causadores de antracnose em pimentão, berinjela e outras plantas têm mostrado ser patogênicos ao tomate, no quais, as diferenças morfológicas são mínimas ou ausentes. Conclui ainda que, com estudos comparativos, poderão estas espécies ser reduzidas a sinônimos ou pelo menos, às raças fisiológicas dentro desta espécie.

Pelos resultados obtidos nos itens 5.3.1.1. pode-se verificar que as duas variedades ou formas fisiológicas de Colletotrichum gloeosporioides patogênicas às Solanáceas em estudo, assim como a espécie Colletotrichum dematium podem causar lesões típicas de antracnose nos frutos maduros de tomate mesmo inoculados sem ferimento.

Quando inoculados com ferimento (item 5.3.1.2.), todos os fungos testados produziram lesões típicas de antracnose. Estes fungos compreendem além dos acima citados, as linhagens nº 35, 45 e 49 isoladas respectivamente da mangueira, abacateiro e mamoeiro pertencentes à espécie Colletotrichum gloeosporioides e a linhagem nº 17 isolada de jiló pertencente à espécie Colletotrichum atramentarium.

Baseando-se nestes resultados de infecção dos frutos com ferimentos, pode-se considerar que os frutos maduros do tomateiro atuam de certo modo como um meio de cultura inespecífica, não podendo ser utilizado como meio de distinção de fungos diferenciados. O mesmo poderá ser dito para muitos frutos maduros de outras espécies vegetais.

Provavelmente este é um dos motivos porque vários autores têm encontrado grandes variações nos isolados obtidos das lesões de antracnose do tomateiro. Assim, Kendrik e Walker (1948) relatam que, dos 147 isolados obtidos de infecções naturais dos frutos do tomateiro, somente alguns apresentaram as características dos acérvulos e dos conídios descritos por Chester. Descrevem ainda que cerca de 14 tipos de características culturais francamente distintos podiam ser reconhecidos. Um dos tipos descritos como Cp-1, pelas suas características descritas (estromas relativamente grandes ou escleródios uniformemente distribuídos sobre a superfície do agar e os esporos com tamanho médio de 3,9 x 18,0 u somente formando muito esparsamento no meio de agar) não difere da linhagem nº 17 isolada de jiló neste presente trabalho, pertencente à espécie Colletotrichum atramentarium.

Swank (1950) conclui que a espécie Colletotrichum phomoides é constituída de muitas raças, diferindo na patogenicidade, abundância de escleródios, coloração das colônias, taxa de crescimento e outras características.

Schmitthener (1952), trabalhando com linhagens de Colletotrichum phomoides, C.lagenarium e Glomerella cingulata em testes de inoculação em várias variedades de tomate, conseguiu distinguir facilmente oito linhagens patogênicas aos frutos maduros, apresentando cada uma destas, aparências distintas. Entre estas oito, quatro eram do tipo Colletotrichum phomoides, dois do tipo C.lagenarium e dois do tipo Glomerella cingulata.

Fulton (1948) demonstrou que o fungo Colletotrichum phomoides pode penetrar através da cutícula dos frutos, tanto verdes como maduros, ficando entretanto em latência nos frutos verdes até iniciar a maturação.

Kendrik e Walker (1948), entretanto, não obtiveram

nenhuma infecção nos frutos do tomateiro, a não ser através de ferimentos.

Algumas das características descritas por êstes autores sôbre as linhagens dos fungos utilizados (dimensões dos conídios entre 3 a 4,6 u por 13,8 a 23 u e a presença de setas esparsamente nas culturas em placa de petri e ainda a incapacidade de infectar os frutos através da cutícula) assemelham-se às linhagens estudadas neste trabalho n^{os} 35, 45 e 49 isoladas respectivamente da mangueira, abacateiro e mamoeiro que afetam somente os frutos maduros de tomate quando inoculados com ferimento, podendo-se admitir uma hipótese de que êstes autores não trabalharam com as linhagens realmente patogênicas.

Êstes resultados encontrados na literatura e os obtidos no item 5.3.1.2., levam à conclusão de que a espécie citada na literatura como Colletotrichum phomoides não é uma forma definida cuja classificação tem sido baseada na capacidade de se desenvolver num substrato pouco específico que é o fruto maduro do tomateiro, não se podendo identificar com determinadas formas ou variedades fisiológicas de Colletotrichum gloeosporioides. Pode-se no entanto, considerar como agentes causais da antracnose do tomateiro as linhagens de Colletotrichum gloeosporioides isoladas das Solanáceas no presente trabalho, não só a forma fisiológica altamente patogênica que afeta os frutos de pimentão, berinjela e jiló em qualquer fase do desenvolvimento, como também a forma menos patogênica isolada de pimentões maduros.

Estas duas formas apresentam as características morfológicas dentro das descritas por Saccardo para o agente causal da antracnose do tomateiro e a de patogenicidade e outras características biológicas dêste mesmo organismo descritas por Fulton (1948), podendo penetrar através da cutícula dos frutos sem ferimento e produzir os sintomas típicos de antracnose.

A não ocorrência nas culturas do Distrito Federal, provavelmente se deve ao fato de que estas são cultivadas com estaqueamentos, considerando-se que esta moléstia é de ocorrência frequente nas culturas extensivas destinadas para conservas, conforme frisamos os autores Fulton (1947), Kendrik e Walker (1947) e Walker (1952).

A espécie Colletotrichum gloeosporioides, dentro do novo conceito de von Arx, como foi frizado anteriormente, é a forma básica da fase conidial de Glomerella cingulata e incluem inúmeras raças e linhagens que deverão ser distinguidas pelas características fisiológicas, biológicas ou sexuais.

As linhagens desta espécie isoladas das Solanáceas no presente trabalho, como se pode concluir pelas análises efetuadas, compreendem duas formas fisiológicas distintas, a primeira altamente patogênica que afeta os frutos de pimentão, berinjela e jiló em qualquer fase do desenvolvimento e a outra que afeta os frutos maduros de pimentão, as quais, estão muito provavelmente identificadas com estas plantas hospedeiras.

Entretanto, para se determinar em nível de variedade ou raça fisiológica definida seria necessário um amplo trabalho experimental de infecções cruzadas com maior número possível de formas descritas em pelo menos nos principais grupos representativos de plantas relatadas como hospedeiras desta espécie.

Von Arx (1957) procurou distinguir algumas formas diferenciadas no seu trabalho, denominando-as formas divergentes. Entre estas, entretanto, não consta nenhuma forma identificada com as Solanáceas como as encontradas neste presente trabalho.

b) Colletotrichum atramentarium (Berkeley & Broome) Taubenhau.

Sob esta denominação compreendem aproximadamente 15 formas classificadas anteriormente como espécies distintas que apresentam segundo von Arx, as seguintes características morfológicas: formação de escleródios escuros no substrato afetado, de tamanhos variáveis entre 200 a 600 u de diâmetro, lisos ou cobertos com setas. Acérvulos com setas de tamanhos variáveis e conídios cilíndricos com extremidades arredondadas, medindo de 16 a 24 u por 3 a 5 u.

A esta espécie pertence a linhagem selecionada para o estudo nº 17, isolada das pequenas lesões necróticas do fruto verde de jiloeiro.

Em experimentos posteriores (item 5.3.1.2.) foram demonstrados que quando inoculados com ferimentos em frutos

verdes de pimentão, berinjela e jiló, podem desenvolver pequenas manchas irregulares ao redor do ponto de infecção, enquanto que, em frutos maduros de pimentão e tomate, formam lesões ou podridões típicos de antracnose.

Nestas lesões aparecem inúmeros acérvulos erumpentes, escuros cobertos com uma massa esbranquiçada ou levemente alaranjada de conídios e com numerosas setas de coloração escura que sobressaem desta massa de conídios. Os conídios são hialinos, cilíndricos, com as extremidades arredondadas ou afinadas, unicelulares, medindo de 4 a 5 u por 18 a 25 u (fig. nº 7 e 8). Formam ainda pequenos escleródios escuros, lisos ou com setas de 300 a 500 u de diâmetro nos tecidos do hospedeiro afetado. (fig. nº 10).

Os conídios germinados em gotas sôbre lâminas desenvolvem inicialmente pequenos promicélios, em cujas extremidades formam os apressórios circulares ou ovalados, medindo de 5 a 7 u de diâmetro. Estes apressórios podem também, em alguns casos, formar diretamente dos conídios sem a formação de promicélios (fig. nº 9).

Em meio de batata-dextrose-agar ou de aveia, inicialmente, o micélio é esbranquiçado e superficial. Dentro de 5 a 6 dias, começam a aparecer os escleródios em zonas concêntricas, os quais são hialinos no começo, tornando-se escuro e consistente após o envelhecimento. Os micélios superficiais tornam-se pouco evidentes, enquanto que a superfície tóda é coberta com êstes escleródios (Fig. nº 2). A formação de conídios é muito rara nestas condições. Efetuando-se uma raspagem superficial dos escleródios em formação, isto é, na fase hialina com uma lâmina bem fina, aparecem dentro de 24 a 48 horas, inúmeros estromas com setas e cobertos com uma massa levemente alaranjada de conídios ao lado de novos escleródios em formação.

Segundo Dickson (1926), esta forma foi inicialmente descrita como Vermicularia atramentaria por Berkeley e Broome, em 1850, encontrada sôbre hastes de Solanum tuberosum L.. Mais tarde, Taubenhau, 1916, estudando as espécies de Vermicularia atramentaria do New York Botanical Garden, concluiu que o fungo fica melhor situado como Colletotrichum e reclassificou-o, denominando Colletotrichum atramentarium.

Esta espécie é muito conhecida como agente causal da dactrose ou enegrecimento das hastes da batatinha (Dickson, 1926), Defago e Gasser (1943) e Chupp (1964)

Averna Saccá (1917) havia descrito a mesma doença, atribuindo ao fungo Colletotrichum solanicolum O'Gara.

O'Gara, entretanto, já em 1915, examinando a cultura de Colletotrichum atramentarium cedido por Taubenhause, havia reconhecido ser o mesmo fungo descrito como C. solanicolum (Dickson, 1926).

Em tomateiro é citado como agente causal da murcha e podridão de raízes (Blair e Mc Neil, 1957; Hochapfel, 1940; Chupp e Sherf, 1960; e Jakubczyk, 1964).

Colletotrichum atramentarium é ainda citado muitas vezes como Colletotrichum phomoides, segundo von Arx (1957). Realmente, inoculando-se em frutos maduros e incubados em câmara úmida, desenvolvem em muitos casos, lesões típicas de antracnose com grande número de acérvulos, a maioria dos quais sem setas. Fenômeno como este, ocorrido no campo, pode perfeitamente ser confundido com as lesões de antracnose causada pelo fungo conhecido como Colletotrichum phomoides, o qual, segundo a classificação atual de von Arx, pertence à espécie Colletotrichum gloeosporioides.

Esta espécie é ainda relatada por Muller (1935) como agente causal da antracnose dos frutos de berinjela.

Na descrição de von Arx, Colletotrichum atramentarium é um organismo polífago muito disseminado, afetando principalmente as plantas de batatinha (Solanum tuberosum) e como parasitas de tecidos debilitados encontrados em ramos de muitas plantas, sobretudo nas espécies dos seguintes gêneros: Solanum, Dahlia, Brassica, Cucurbita e Clematis.

Devido a estas características, é provável que o fungo se encontre em estado generalizado nas culturas de Solanáceas sem contudo causar danos de importância. Alguns sintomas de degeneração de tecidos das raízes, hastes, folhas ou frutos frequentemente observados no campo, cujas causas são desconhecidas poderão estar associadas a esta espécie de fungo.

c) Colletotrichum dematium (Persoon & Fries) Grove

A espécie Colletotrichum dematium compreende aproximadamente 90 formas anteriormente classificadas como espécies distintas. Desta maneira, ela é formada de várias raças ou variedades, a maioria das quais saprófitas, apresentando-se as seguintes características morfológicas segundo a descrição de von Arx: Acérvulos epidermais geralmente elevados em forma de pústulas escuras desenvolvidos em círculos concêntricos. São geralmente ricamente cobertos de setas duras e septadas. Conídios hialinos, unicelulares, falcados ou fusiformes, geralmente ponteados nos ápices, medindo de 22 a 30 u por 3,5 a 4,0 u.

Nesta espécie compreendem as linhagens selecionadas para o estudo nº 7 e 8, isoladas respectivamente dos frutos de berinjela e pimentão.

Em ensaios de inoculação efetuados em laboratório (item 5-3) foi comprovado que estas linhagens podem causar infecções nos frutos maduros de pimentão e de tomate, mesmo inoculando-os sem ferimento, produzindo lesões ou manchas típicas de antracnose. Quando inoculados com ferimentos em frutos verdes, aparecem somente pequenas manchas necrosadas ao redor dos pontos de inoculação. Estas manchas, entretanto, aumentam de tamanho assim que os frutos começam a amadurecer formando-se grandes áreas necróticas deprimidas e cobertas com as frutificações do patógeno.

Semelhante resultado chegou Higgins (1930), descrevendo o fungo como organismo ativamente parasítico, podendo a infecção ocorrer em ambos os frutos, verdes ou maduros, sendo que, em frutos verdes, a infecção permanece dormente até que os frutos começam a amadurecer.

No campo, as antracnoses causadas por esta espécie são frequentemente observadas, principalmente nos frutos de pimentão e berinjela injuriadas mecânicamente durante os tratamentos culturais ou pelos insetos ou ainda, queimados pelos raios do sol, formando grandes manchas escuras e irregulares. Sobre estas lesões encontram-se grande número de acérvulos superficiais escuras cobertas com uma massa branca de conídios e numerosas setas escuras septadas que sobressaem daquelas. (fig. nº 11). Medem estas setas de 5 a 6 u de diâmetro por um comprimento que

podem atingir mais de 250u. Os conídios são unicelulados, hialinos e falcados, medindo de 3 a 4 u por 22 a 32 u (fig. nº12)

Os esporos germinados em gotas sôbre lâminas desenvolvem inicialmente um pequeno promicélio de comprimentos variáveis e os apressórios circulares ou elípticos de 6 a 7 u de diâmetro formam-se nas extremidades destas estruturas (fig.13)

Em placa de petri, sôbre o meio de batata-dextrose-agar ou de aveia desenvolve inicialmente um micélio esbranquiçado e superficial. Com o crescimento da colonia, começa a surgir a partir do centro um grande número de pontuações escuras que são os estromas que se cobrem com uma massa de conídios e setas. Aparecem frequentemente nestes meios de cultura vários setores ou saltações, apresentando algumas variações nas características culturais.

A ocorrência desta forma de fungo foi inicialmente descrita em hastes de batatinha (Solanum tuberosum) como Sphaeria dematium por Persoon em 1801. Mais tarde, passou por reclassificação, denominando-se Vermicularia dematium (Persoon) Fries, 1849 e Colletotrichum dematium (Pers. & Fries) Grove, segundo Chupp (1964).

Averna Saccá (1917) cita a ocorrência desta forma em tomateiro e o descreve como Colletotrichum lycopersici Karsten.

Como patógeno de pimentão é citado como Vermicularia capsici Sydow, 1913, segundo von Arx (1957).

Butler e Bisby (1931) descreve como Colletotrichum capsici (Syd.) Butler & Bisby o agente causal da antracnose do pimentão que afeta principalmente as hastes e às vêzes os frutos.

Segundo Higgins (1932), as culturas de fungos morfológicamente similares à Vermicularia capsici isoladas de inúmeras plantas hospedeiras testadas experimentalmente em frutos de pimentão provaram ser não patogênicas ou senão, fracos parasitas de ferimentos nesta planta hospedeira.

Entretanto, a ocorrência de doenças causadas por Colletotrichum capsici em outras espécies de plantas são citadas por vários autores. Ramakrishnan (1941) em Carthamus tinctorius; Saksena (1960) em Pilea mucosa; Saksena e Singh (1960)

em Tagetes erecta; Tanden e Agniltotri (1961) em Pothos scandens, Dracena sp e Acalypha indica.

Segundo a classificação de von Arx, tôdas estas formas acima descritas passaram a pertencer à espécie Colletotrichum dematium (Pers. & Fr.) Grove, compreendendo ainda nesta espécie, várias formas ou variedades, a maioria das quais saprófitas largamente disseminadas sôbre os colmos, fôlhas carnosas, cascas de cebola, trepadeiras, ramos, frutos e outras estruturas de plantas em declínio biológico.

Entretanto, von Arx, considerando ser necessário que as formas patogênicas sejam descritas suscintamente, diferenciou três formas parasíticas mais ou menos especializadas: Colletotrichum dematium f. truncata (Schw.) von Arx, C. dematium f. spinaciae (E. & H.) von Arx e C. dematium f. circinans (Berk) von Arx.

Colletotrichum dematium encontrada em Solanáceas como as linhagens estudadas neste trabalho, assim como as descritas por Higgins (1926), Smith e Crossan (1958), Chupp (1964) e outros, são sem dúvida formas dotadas de patogenicidade e, assim sendo, segundo o sistema de classificação de von Arx, podem ser mais uma forma parasítica diferenciada, uma vez que, as três formas classificadas não são patogênicas às Solanáceas. Seria entretanto, para isso, um amplo trabalho experimental de infecções cruzadas afim de determinar a gama de hospedeiros, os hospedeiros mais suscetíveis, assim como as variações existentes entre as formas patogênicas às Solanáceas.

7. RESUMO E CONCLUSÕES

No presente trabalho, foram feitos estudos sôbre os agentes causais das antracnoses dos frutos de pimentão (Capsicum annuum L.) berinjela (Solanum melongena L.) e jiló (Solanum giló Raddi) que ocorrem nos núcleos rurais do Distrito Federal, procurando-se obter as informações sôbre os seguintes aspectos:

a) Se os agentes causais das antracnoses do pimentão, berinjela e jiló são fungos da mesma espécie ou variedade fisiológica.

b) Identificação das espécies do gênero Colletotrichum que ocorrem frequentemente nos frutos debilitados ou feridos e muitas vezes confundidas como espécies patogênicas importantes.

c) Correlação entre os agentes causais das antracnoses das plantas acima citadas com o do tomateiro (Lycopersicon esculentum Mill.).

d) Informações adicionais para a melhor compreensão da etiologia destas doenças.

Para a obtenção destas informações, os trabalhos foram executados em três etapas. Na primeira foram feitos os estudos morfológicos das linhagens de fungos selecionadas como amostras representativas segundo a sua procedência, plantas hospedeiras e aspectos morfológicos. Na segunda etapa, estudou-se os níveis de patogenicidade destas linhagens selecionadas nas plantas hospedeiras acima citadas, incluindo-se também o tomateiro. Com base nos resultados obtidos, foram examinadas, na terceira fase, as condições de temperatura e umidade, assim como o tempo necessários para a ocorrência da infecção e desenvolvimento de sintomas para a forma altamente patogênica.

Baseando-se nos resultados obtidos foram tiradas as seguintes conclusões:

1. Os fungos isolados das Solanáceas no presente trabalho compreendem três espécies distintas: Colletotrichum gloeosporioides Penz., Colletotrichum atramentarium (Berk. & Br.) Taub. e Colletotrichum dematium (Pers. & Fries) Grove.

2. Entre a espécie Colletotrichum gloeosporioides ocorrem duas formas fisiológicas distintas. A primeira, altamente patogênica que pode afetar os frutos de pimentão, berinjela e jiló em qualquer fase do desenvolvimento e a segunda, que desenvolve em frutos maduros de pimentão. Estas duas formas entretanto, apresentam as mesmas características morfológicas e sintomatológicas quando inoculados em frutos de pimentão maduros.

3. Os danos severos de antracnose dos frutos de pi-

mentão, berinjela e jiló, observados no Distrito Federal, são causados pela forma fisiológica altamente patogênica de Colletotrichum gloeosporioides citada no item acima.

4. As espécies Colletotrichum atramentarium e C. dematium, assim como a forma pouco patogênica de Colletotrichum gloeosporioides isolada de pimentão maduro são patógenos de frutos maduros ou de tecidos debilitados.

5. As linhagens de Colletotrichum gloeosporioides isoladas do mamoeiro, abacateiro e mangueira para estudos comparativos, são formas fisiológicas distintas daquelas que afetam os frutos de pimentão, berinjela e jiló, não apresentando nenhum indício de patogenicidade nestas plantas hospedeiras.

6. As duas formas fisiológicas de Colletotrichum gloeosporioides patogênicas às Solanáceas estudadas neste trabalho podem ser consideradas também como agentes causais da antracnose do tomateiro. Penetram através da cutícula intacta dos frutos e produzem manchas ou podridões típicas da moléstia.

7. Para a forma altamente patogênica de Colletotrichum gloeosporioides considerada nos itens acima, a faixa ótima de temperatura para o crescimento "in vitro", assim como para a ocorrência da infecção e colonização dos frutos se situa entre 25 a 30°C. A infecção dos frutos pode ocorrer ainda em temperaturas situadas abaixo de 25°C, distanciando-se porém o espaço entre a inoculação e o aparecimento de sintomas. Acima de 30°C, entretanto, a sua atividade decresce abruptamente, sendo praticamente nula a 35°C.

8. Quanto à umidade, este mesmo fungo necessita de um filme d'água sobre os seus conídios inoculados em frutos para ocorrer a germinação e formação de apressórios.

9. Nestas condições de temperatura e umidade ideais o tempo necessário para a germinação dos conídios e a formação de apressórios que se fixam firmemente na cutícula dos frutos se situa entre 16 a 18 horas.

8. SUMMARY

In the present work studies were made on the causal agent of antracnoses of pimento (Capsicum annuum L.), egg-plant (Solanum melongena L.) and jilo (Solanum gilo Raddi) occurring in the Federal District of Brazil.

In these studies aspects of morphology and pathogenicity levels of the causal agents and ethiology of the diseases were involved.

According to the results obtained, the following conclusions may be draught:

The fungi isolated from Solanaceae were: Colletotrichum gloeosporioides Penz., C.a. atramentarium (Berk. & Br.) Taub. and C. dematium (Pers. & Fr.) Grove.

In C. gloeosporioides two distinct physiological forms were found. One highly pathogenic, which may affect the fruits of pimento, egg-plant and jilo in all phases of their development. The other develops in the rippened pimento fruits. These two forms, however, presents the same morphological and symptomatological characteristics when inoculated on the rippened pimento fruits. Consequently, it is impossible to distinguish from one to another when they are developed in this host substract.

The severe damages of antracnoses of pimento, egg-plant and gilo fruits observed in Fedefal District of Brazil are caused by higly pathogenic form of C. gloeosporioides.

C. atramentarium, C. dematium and the less pathogenic forms of C. gloeosporioides isolated from rippened pimento fruits are pathogens of weakened tissues or rippened fruits.

The forms of C. gloeosporioides isolated from papaya (Carica papaya L.) avocado (Persea spp) and mango (Mangifera indica L.) for comparative studies are distinct physiological forms from those which affect the pimento, egg-plant and jilo fruits. They are not pathogens on these host plants.

The two physiological forms of C. gloeosporioides pathogenic to Solanaceae related above may be also considered as a causal agent of antracnose of tomato (Lycopersicum esculentum Mill.). They penetrate throw intact cuticule of

fruits and produce typical rot symptoms of the disease.

For the highly pathogenic form of C.gloeosporioides considered in this work, the optimal temperature range for growth "in vitro" and occurrence of infection and colonization of fruit tissues was from 25 to 30°C. The infection of fruits may also occur at temperatures below 25°C; however the time required for symptoms development increased as the temperatures were lowered. Above 30°C, on the other hand, their activity decreased sharply, being reduced to a minimal at 35°C with no infection occurring in the fruits at this temperature.

Under optimal temperature and moisture conditions, the time required for successful germination and aplanospore formation was between 16 to 18 hours.

8. BIBLIOGRAFIA CITADA

- ALEXOPOULOS, C.J., 1966. Introductory Mycology.
John Wiley & Sons, Inc., N.Y.
- AVERNA SACCÁ, R., 1917. As moléstias cryptogâmicas das plantas hortícolas. Boletim da Agricultura do Estado de São Paulo, 18: 121 a 134.
- BUTLER, E.J. e C.R.BISBY, 1932. The fungi of India. Imperial Council of Agric. Res. Sci. Monograph. I. Abstr. B. A., 7:14220, 1932.
- CARVALHO, P.C.TÔRRES, 1966. Estudos sôbre variabilidade e heterocariose em Physalospora tucumanensis Speg. (Colletotrichum falcatum Went). Tese para o concurso de livre docência. Mimeografada.
- CHUPP, C., 1964. Some Colletotrichum on potato and tomato. Mycologia, LVI(3):393-397.
- CHUPP, C. e A.F.SHERF, 1960. Vegetable diseases and their control. Ronald Press Company, N.Y.
- CIFERRI, R., 1929. Phytopathological survey of Santo Domingo. The journal of the Department of Agriculture of Por

to Rico 14:1-44.

- CRUZ, B.P.BASTOS, M.B.FIGUEIREDO e J.ABRAHÃO, 1964. Doenças constatadas pela Secção de Fitopatologia Geral do Instituto Biológico no quadriênio 1960-63. O Biológico, 30:157-168.
- DEFAGO, G. e R.GASSER, 1943. La dartrose de la pomme de terre. Ber. Schweiz Bot.Gaz. 53 a: 480-499 Abstr. B.A. 22: 10021.
- DICKSON, B.T., 1926. The black dot disease of potato. Phytopathology, 16(1):23-40.
- FIGUEIREDO, M.B., 1967. Aplicação do método de Castelani para a conservação de fungos fitopatogênicos. Revista da Sociedade Brasileira de Fitopatologia 1:79-81.
- FULTON, J.P., 1948. Infection of tomato fruits by Colletotrichum phomoides Phytopathology, 38:235-246.
- GALLI, F. e COLABORADORES, 1968. Manual de Fitopatologia. Ed. Ceres, S.P.
- HAMMARLUND, K., 1945. Beitrage zur Revision einiger imperfecten Mehltau Arten Erysiphe polyphaga nov. sp. Bol. Notizer, 1945: 101-108. Abstr. B.A. 20:16006, 1946.
- HIGGINS, B.B., 1926. Antracnose of pepper (*Capsicum annuum* L.) Phytopathology, 16:333-345.
- _____, __., 1930. A pepper fruit rot new to the United States. Georgia Agric.Exp.Sta.Bull., 162. Abstr. B.A. 5:22795, 1931.
- _____, __., 1932. Further studies on ripe rot (Vermicularia capsici) of pepper. Phytopathology, 22(1):12.
- INDEX OF PLANT DISEASES IN UNITED STATES, 1960. Agricultural Hand-Book nº 165 Crop Research Division. Agricultural Research Service. U.S.Dept. of Agriculture.
- IKATA, S., 1937. The function and formation of setae on some antracnose fungi. Japan J.Botany, VIII(4):100. Abstr. R.A.M.Vol. XVI: , 1937.
- KENDRIK Jr., J.B. e J.C.WALKER, 1948. Antracnose of tomato. Phytopathology, 38:247-260.

- MAC NEIL, B.H., 1957. Colletotrichum atramentarium in field to matoes. Plant Disease Reporter, 41(12):1032.
- MULLER, A.S., 1953. Lista preliminar das doenças criptogâmicas das plantas cultivadas em Minas Gerais. Boletim da Agricultura do Estado de Minas Gerais, 8(2):74.
- RIKER, A.J. e REGINA S. RIKER, 1936. Introduction to Research on Plant Diseases. John S. Swift Co.
- SACCARDO, P.A., 1913. Colletotrichum nigrum Ell. & Halst. Silloge Fungorum Vol. XXII: 1203.
- SAKSENA, H.K. e B.B. SINGH, 1959. Blight of marigold (Tagetes erecta) caused by Colletotrichum capsici (Syd.) B. & B.. Plant Disease Reporter 43(6):670-673.
- SAKSENA, H.K., 1960. Blight of Pilea mucosa caused by Colletotrichum capsici. Plant Disease Reporter, 44(9) 697.
- SCHMITTHENER, H.F., 1952. Pathogenic variation of Colletotrichum phomoides and related tomato fruit rot fungi. Phytopathology, 42(1):18.
- SMITH, R.W. e D.F. CROSSAN, 1958. The taxonomy, etiology and control of Colletotrichum piperatum (E. & E.) E. & H, and Colletotrichum capsici (Syd.) B. & B. Plant Disease Reporter, 42(10):1099-1103.
- SUDO, S., R.L.D. RIBEIRO e C. ROBBS, 1966. Principais doenças fúngicas do jiló (Solanum gilo Raddi) na região produtora carioca fluminense. Revista da Olericultura VI:90-93.
- SWANK, Jr., G., 1950. Variation of monosporous isolates and reisolates of Colletotrichum phomoides. Phytopathology 40(1):27.
- TAKATSU, A., 1968. Levantamento qualitativo de verão das principais doenças de hortaliças que ocorrem nos núcleos rurais do Distrito Federal. Revista da Sociedade Brasileira de Fitopatologia, II:208-214.
- TANDON, R.N. e V.P. AGNILTOTRI, 1961. Pathological studies of Colletotrichum capsici (Syd.) Butl. & Bisby causing leaf spot of Pothos scandens Wall. Proc. Natl. Acad. Sci. India Sect. B., 31(1):16-21. Abstr. B.A. Vol. 36:86435, 1961.

- UNAMUNO, L.M., 1933. Notas micológicas VI: Algumas espécies novas ou pouco conhecidas da microflora espanhola. Bol. Soc. Spanh. Hist. Nat. XXXIII (6-7): 221-235. Abst. R.A.M.
- VON ARX, 1957. Die Arten der Gattung Colletotrichum Cda. Phytopath. Zeitschr. 29:413-468.
- WALKER, J.C., 1952. Diseases of Vegetables Crops. McGraw-Hill Book Company, N.Y.



AGRADECIMENTOS

Ao Prof. PAULO DE CAMPOS TÔRRES DE CARVALHO pela orientação e estímulo.

Aos Professores FERDINANDO GALLI, GILBERTO DE FREITAS e WLADIMIR LOBATO PARAENSE pelos estímulos, críticas e facilidades concedidas.

A todos aquêles que direta ou indiretamente colaboraram nos trabalhos desta tese.