

**Morfologia e patogenicidade de *Colletotrichum*  
*coccodes* em frutos de tomate e plantas de batata**

**MARIA HELENA DIÓGENES COSTA**

**2006**

**MARIA HELENA DIÓGENES COSTA**

**Morfologia e patogenicidade de *Colletotrichum  
coccodes* em frutos de tomate e plantas de batata**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Fitopatologia, para a obtenção do título de "Mestre".

**Orientador**

**Prof. Dr. Ludwig H. Pfenning**

LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2006

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca Central da UFLA**

Costa, Maria Helena Diógenes

Morfologia e patogenicidade de *Colletotrichum coccodes* em frutos de tomate e plantas de batata / Maria Helena Diógenes Costa. -- Lavras : UFLA, 2006.  
84 p. : il.

Orientador: Ludwig H. Pfenning.  
Dissertação (Mestrado) – UFLA.  
Bibliografia.

1. Antracnose. 2. Black dot. 3. Epidemiologia. 4. Solanáceas. 5. *Colletotrichum coccodes*. 6. Batata. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD- 635.6429423

**MARIA HELENA DIÓGENES COSTA**

**Morfologia e patogenicidade de *Colletotrichum  
coccodes* em frutos de tomate e plantas de batata**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Fitopatologia, para a obtenção do título de "Mestre".

**APROVADA em 17 de janeiro de 2006**

**Prof. Dr. Nelson Sidney Massola Júnior**

**ESALQ/USP**

**Prof. Dr. Edson Ampélio Pozza**

**UFLA**

**Prof. Dr. José da Cruz Machado**

**UFLA**

**Prof. Dr. Ludwig Heinrich Pfenning**

**UFLA  
(Orientador)**

**LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL**

A lembrança continua viva ...

Conversas de irmão amigo, brincadeiras, a proteção fraternal, seu sorriso  
ingênuo e de constante transmissão de paz.

Bem antes da vida te roubar de mim, ela, pelo menos, me deu todos os motivos  
que são únicos e que deixaram as suas marcas registradas em minha vida. Você  
foi muito mais do que o meu amigo de fé e meu irmão camarada, você foi o meu  
anjo da guarda aqui na Terra.

Não da forma que muitos crêem ou aceitam, mas do jeito que eu acredito, sei  
que deves estar em algum lugar, bem perto a mim. E onde quer que esteja, deves  
estar pensando: "Zé", eu sabia que ia dar certo.

Ao meu amado irmão amigo  
Francisco Robson Diógenes da Costa  
*(in memoriam)*

## **OFEREÇO**

A Deus, por toda a proteção, saúde, consolo nas horas difíceis e por  
preencher minha vida de paz, esperança e amor.

Àqueles que ainda me põem no colo, mimam e jamais duvidaram de mim.

Meus amados pais, Maria da Conceição e Francisco da C. Jerônimo,  
irmão (Francisco Robério) e sobrinhos (Arthur, Cíntia, Gustavo, Ramon e  
Raphaela).

## **DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Departamento de Fitopatologia.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Prof. Dr. Ludwig H. Pfenning, pela oportunidade, amizade, compreensão e boa vontade durante nossa convivência e a todos os colegas do Laboratório de Sistemática e Ecologia de Fungos.

Aos membros da banca examinadora: Dr. Edson A. Pozza, Dr. Nelson Sidney Massola Júnior e Dr. José da Cruz Machado, por contribuírem na avaliação e correção desta dissertação.

Aos demais professores do Departamento de Fitopatologia que contribuíram para minha formação, em especial ao Prof. Dr. Mário Lúcio V. Resende, pelos ensinamentos e amizade.

Aos integrantes de minha amada república, onde tive os melhores momentos do meu mestrado: Keline, Jean, Niná, Cleilson, Tessiê, César e Lívia.

À minha turma de Mestrado: Jean Herllington, Nina, Amanda, Marcella, Élide, Dagma, Juliana, Luciana, Edson, Flávio e Fernanda.

Aos professores da graduação, Maria Nenmaura Gomes Pessoa e Fernando João, pelos ensinamentos, amizade e carinho dados a mim.

Aos amigos de infância, Alexandre Maia e Beverline P. Bezerra.

A todos os funcionários do Departamento de Fitopatologia, em especial a secretária de Pós-Graduação e amiga, Renata Kelly.

Ao Núcleo de Estudos em Fitopatologia (Nefit).

Ao amigo Flávio Henrique L. Magalhães, pela ajuda na execução das análises estatísticas.

A minhas tias, primos, avós, parentes e amigos do estado do Ceará.

## SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
CAPÍTULO 1 .....	1
1 INTRODUÇÃO.....	2
2 REFERENCIAL TEÓRICO .....	4
2.1 Doenças fúngicas do tomateiro e da batata .....	4
2.2 Classificação de <i>Colletotrichum coccodes</i> .....	5
2.3 Morfologia de <i>Colletotrichum coccodes</i> .....	5
2.4 Distribuição geográfica.....	6
2.5 Plantas hospedeiras e sintomatologia.....	6
2.6 Epidemiologia da antracnose no tomate .....	8
2.7 Epidemiologia de “black dot” na batata.....	9
2.8 Influência da temperatura no progresso de doenças .....	10
3 REFERÊNCIAS BIBLOGRÁFICAS .....	12
CAPÍTULO 2 .....	17
1 RESUMO.....	18
2 ABSTRACT.....	19
3 INTRODUÇÃO.....	20
4 MATERIAL E MÉTODOS .....	21
4.1 Local e realização do experimento .....	21
4.2 Obtenção de isolados e coleção .....	21
4.3 Estudo das características culturais e morfológicas .....	22
4.3.1 Índice de velocidade de crescimento micelial sob diferentes temperaturas	22
4.3.2 Coloração das colônias e formação de setores.....	23
4.3.3 Dimensões, formato e pigmentação dos conídios e observação de esclerócios e setas .....	24
4.4 Seleção de isolados .....	24
4.4.1 Esporulação de <i>Colletotrichum coccodes</i> .....	24
4.4.2 Determinação da germinação de conídios .....	24
4.4.3 Patogenicidade em frutos .....	25
5 RESULTADOS .....	26
5.1 Características culturais e morfológicas.....	26
5.1.1 Índice de velocidade de crescimento micelial sob diferentes temperaturas	26
5.1.2 Coloração das colônias, observação de microesclerócios, setas e formação de setores.....	29
5.1.3 Dimensões, formato e pigmentação dos conídios .....	29
5.2 Bioensaio.....	33
6 DISCUSSÃO .....	35
7 CONCLUSÕES.....	38
8 REFERÊNCIAS BIBLOGRÁFICAS .....	39

<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>41</b>
<b>1 RESUMO</b> .....	<b>42</b>
<b>2 ABSTRACT</b> .....	<b>43</b>
<b>3 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>44</b>
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>46</b>
4.1 Local e realização do experimento .....	46
4.2 Preparo do inóculo.....	46
4.3 Obtenção dos frutos e métodos de inoculação .....	46
4.4 Avaliação .....	47
<b>5 RESULTADOS</b> .....	<b>48</b>
5.1 Influência da temperatura na incidência e desenvolvimento de lesões .....	48
<b>6 DISCUSSÃO</b> .....	<b>52</b>
<b>7 CONCLUSÕES</b> .....	<b>55</b>
<b>8 REFERÊNCIAS BIBLOGRÁFICAS</b> .....	<b>56</b>
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	<b>59</b>
<b>1 RESUMO</b> .....	<b>60</b>
<b>2 ABSTRACT</b> .....	<b>61</b>
<b>3 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>62</b>
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>64</b>
4.1 Isolados e obtenção do inóculo.....	64
4.2 Obtenção das mudas.....	64
4.3 Inoculação das plantas.....	64
4.4 Análise de dados.....	65
<b>5 RESULTADOS</b> .....	<b>66</b>
5.1 Avaliação visual dos sinais ou sintomas da doença e re-isolamento de <i>C. coccodes</i> .....	66
5.2 Influência de <i>C. coccodes</i> sobre o comprimento de raízes, tubérculos e altura de plantas de batata inoculadas.....	68
<b>6 DISCUSSÃO</b> .....	<b>75</b>
<b>7 CONCLUSÕES</b> .....	<b>78</b>
<b>8 REFERÊNCIAS BIBLOGRÁFICAS</b> .....	<b>79</b>
<b>ANEXOS</b> .....	<b>82</b>

## RESUMO

COSTA, M.H.D. **Morfologia e patogenicidade de *Colletotrichum coccodes* em frutos de tomate e plantas de batata.** 2006. 84p. Dissertação (Mestrado em Agronomia / Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

*Colletotrichum coccodes* (Wallr.) S.J. Hughes é um patógeno de plantas da família Solanaceae, bem estudado em outros países, onde pode causar danos consideráveis nas plantações de tomate e batata. No Brasil, embora existam registros sobre sua ocorrência, não há informações sobre a biologia e a distribuição do fungo. Neste trabalho foram conduzidos ensaios visando a caracterização morfológica e biológica, testes de patogenicidade em frutos destacados de tomate e um estudo do progresso temporal de “black dot” em plantas de batata. Os estudos foram realizados no Departamento de Fitopatologia da UFLA, em Lavras, MG. Cinco isolados de *C. coccodes*, mais três isolados das espécies *C. lindemuthianum*, *C. gloeosporioides* e *C. acutatum* foram usados para o estudo morfológico. No bioensaio, apenas os isolados de *C. coccodes* foram usados. Isolados de *C. coccodes* apresentaram morfologia uniforme e crescimento ótimo entre 20°C e 21°C. Diferenciaram-se das demais espécies estudadas pela produção abundante de esclerócios, formato e dimensões dos conídios e aspecto visual das colônias. Os isolados apresentaram esporulação que variava entre  $1 \times 10^5$  e  $1 \times 10^6$  conídios/mL. Na germinação de conídios, os isolados CML 69, CML 71 e CML 302 apresentaram maiores índices. No teste de patogenicidade, todos os isolados comportaram-se da forma similar. Os isolados CML 69, CML 71 e CML 302, foram os selecionados para os demais estudos. Testes de patogenicidade foram feitos com frutos de tomate maduros, nas temperaturas de 10°C, 15°C, 20°C, 25°C e 30°C. Estruturas do patógeno foram depositadas sobre a superfície dos frutos, feridos ou não. A temperatura influenciou significativamente ( $P=0,05$ ) no desenvolvimento de lesões em frutos de tomate. Os isolados apresentaram diferentes pontos de máximo desenvolvimento da doença variando entre 21,4°C e 30°C. Frutos inoculados, porém não feridos, não desenvolveram a doença, mostrando que o fungo necessita de uma injúria para que possa penetrar e causar danos. Para o progresso temporal do “black dot” em plantas de batata, mudas com 20 dias de idade tiveram suas raízes imersas em uma suspensão de  $1 \times 10^6$  conídios/mL, por 20 segundos. Vasos foram acondicionados em casa de vegetação e avaliações feitas semanalmente a partir do sétimo dia, medindo a altura da planta, o comprimento de raiz e de tubérculo e observando o aparecimento de sintomas. O patógeno foi re-isolado das partes avaliadas a cada avaliação, por 12 semanas. Os sinais do patógeno e o re-isolamento dos isolados foram observados a partir dos 14 dias. As plantas testemunhas não apresentaram sinais ou sintomas da doença em nenhuma das avaliações. Os tubérculos apresentaram redução da qualidade visual e redução de peso. As raízes foram as primeiras a manifestar sintomas da doença. Plantas testemunhas diferiram dos demais tratamentos a partir da quarta semana. A reprodução de sinais e sintomas em frutos de tomate e de “black dot” em plantas de batata mostra que *C. coccodes* pode infectar e causar danos nessas culturas sob condições brasileiras.

---

\* Comitê de orientação: Ludwig H. Pfenning – UFLA (Professor orientador)  
Edson Ampélio Pozza - UFLA (Co-orientador).

## ABSTRACT

COSTA, M.H.D. **Morphology and pathogenicity of *Colletotrichum coccodes* in fruits of tomato and plants of potato.** 2006. 84p. Dissertation (Master in Agronomy/Plant Pathology) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

*Colletotrichum coccodes* (Wallr.) S.J. Hugher is a pathogen of the family Solanaceae. This pathogen is well known in other countries where it can cause considerable losses in plantations of tomato and potato. In Brazil, where reports of outbreaks caused by this fungal species can be found in literature, there is almost no information available on the biology and distribution of this pathogen. In this study we conducted a morphological and biological characterization of *C. coccodes*, pathogenicity assays on detached tomato fruits and a study on the temporal progress of black dot in potato plants. Five isolates of *C. coccodes*, and one isolate of each of the species *C. lindemuthianum*, *C. gloeosporioides* and *C. acutatum* were included in the morphological characterization. In the bioassay, only isolates of *C. coccodes* were used. Isolates of *C. coccodes* presented uniform morphology and best growth rates at 20 and 21°C. The species can easily be separated from the other based on the abundant production of sclerotial bodies, shape and dimensions of conidia and visual aspect of colonies. The spore production varied from  $10^5$  to  $10^6$  conidia mL<sup>-1</sup>. Isolates CML 69, CML 71 and CML 302 presented the best germination rates of conidia and were therefore selected to be used in the subsequent trials. Pathogenicity assays were made by using ripe tomato fruits that after inoculation were incubated at 10°C, 15°C, 20°C, 25°C and 30°C. Structures of the pathogen were deposited on the surface of the fruits, both with and without wounding. The temperature significantly ( $P \leq 0.05$ ) influenced the development of lesions on tomato fruits. The maximum lesion development varied among isolates in the range of 21.4°C to 30 °C. No lesion was observed on inoculated but unwounded fruits, showing that the fungus do not penetrate the intact cuticle. In the assays on temporal progress of black dot in potato plants, 20 day old plantlets had their roots dipped in a spore suspension,  $10^6$  conidia . mL<sup>-1</sup>, during 20 seconds and were then placed in a greenhouse. Evaluations were made weekly, starting from the seventh day after inoculation regarding plant height, root and tuber length, as well as typical disease symptom development. The pathogen was re-isolated from the plant sites evaluated during the entire assessment period of 12 weeks, with typical *C. coccodes* colonies starting to appear from plant tissues re-isolated 14 days after the inoculation of the fungus. No symptoms have been observed in control plants during the evaluation period. The tubers of inoculated plants had their size reduced and a bad visual quality. Roots evidenced disease symptoms first. Control plants began to present significant statistical differences for the variables analyzed, when compared with the inoculated plants, after the fourth week of evaluation. The reproduction of symptoms of anthracnose and black dot in tomatoes and potato plants, respectively, under controlled conditions shows that *C. coccodes* has the potential to infect and to cause losses in field conditions of Brazil.

---

\* Advising Committee: Ludwig H. Pfenning – UFLA (Adviser)  
Edson Ampélio Pozza - UFLA (Co-adviser).

## **CAPÍTULO 1**

***Colletotrichum coccodes*, PATÓGENO DE SOLANÁCEAS**

## 1 INTRODUÇÃO

*Colletotrichum coccodes* (Wallr.) Hughes é um patógeno cosmopolita capaz de causar doença em diversas espécies de plantas hospedeiras, particularmente da família Solanaceae. É o agente causal do “black dot” (pontos pretos) em batata e antracnoses, doenças caracterizadas por lesões profundas e delimitadas nos tecidos, em tomate e pimentão.

O fungo é considerado um patógeno de solo e está distribuído em várias áreas de produção dessas solanáceas por todo o mundo (Johnson & Miliczky, 1993). A sua ocorrência cresceu nos últimos anos e diversos relatos demonstraram a incidência e danos que este patógeno vem causando nessas espécies culturais em vários países (Andrison et al., 1998; Tsrer & Johnson, 2000; Cullen et al., 2002; Fagbola & Abang, 2004). Os prejuízos causados por este patógeno resultam tanto na redução direta da qualidade e quantidade do fruto de tomate como no aumento dos custos de produção e da pós-colheita nos casos em que as infecções latentes não foram detectadas durante o cultivo. Além disso, reduz a qualidade de tubérculos, tanto para semente quanto para consumo. Quando a batata semente é afetada, representa importante fonte de inóculo causando redução na produção em até 30% (Dillard, 1992; Less & Hilton, 2003; Glais & Andrison, 2004; Glais et al., 2004).

Doenças causadas por *C. coccodes* foram caracterizadas por pesquisadores de diversos países. Variáveis relacionadas à temperatura, período de molhamento, horas de exposição à luz, meio de cultura, sobrevivência do patógeno em restos culturais e em solo, estudos de caracterização morfológica, molecular, patogênicas e outras variáveis importantes são encontradas na literatura (Chesters & Hornby, 1965; Barksdale, 1967; Hornby, 1968; Farley, 1972; 1976; Sutton, 1980; Dillard, 1992; 1988; Less & Hilton, 2003; Glais &

Andrivon, 2004; Glais et al., 2004). No Brasil, as referências estão restritas a citações da ocorrência desse patógeno em catálogos, sem que haja maiores informações do seu comportamento em nossas condições ambientais e de cultivo (Reifschneider et al., 1983; Siqueira et al., 1985; Mendes et al., 1998).

A falta de informações sobre o patossistema *C. coccodes* em Solanáceas no Brasil torna difícil a diagnose de doenças causadas por este patógeno. Vale ressaltar que, embora haja medidas de controle já descritas para o gênero *Colletotrichum*, estas podem variar de acordo com a espécie. No caso da espécie *C. coccodes*, a principal medida de controle é a sua exclusão, visto que o mesmo produz esclerócios como mecanismo de sobrevivência. Uma vez estabelecido na área, o fungo pode sobreviver por muitos anos, causando prejuízos em vários ciclos de culturas de solanáceas ou outra hospedeira (Blakeman & Hornby, 1966; Farley, 1976; Dillard, 1990; Cullen et al., 2002).

Visando obter informações sobre a morfologia e a patogenicidade de *Colletotrichum coccodes*, este trabalho teve como objetivos gerais fazer a caracterização morfológica e biológica de alguns isolados de *Colletotrichum coccodes*, estudar o progresso da antracnose em frutos de tomate em diferentes condições de temperatura e métodos de inoculação e estudar o progresso de “black dot” em plantas de batata sob condições brasileiras.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Doenças fúngicas do tomateiro e da batata

A produção mundial de tomate, nos últimos 10 anos, teve um crescimento considerável, colocando o Brasil entre os maiores produtores. Já na safra de 2003, a produção chegou a 3,6 milhões de toneladas, tornando-o a hortaliça de maior produção no país (Agrianual, 2006).

Essa cultura é fortemente influenciada pela ocorrência de pragas e doenças. Dentre estas, aquelas causadas por fungos são responsáveis pelo maior número de doenças no tomateiro, com destaque para o tombamento de mudas (*Pythium* spp., *Rhizoctonia solani* e *Phytophthora* spp.), pinta preta (*Alternaria solani*), requeima (*Phytophthora infestans*), septoriose (*Septoria lycopersici*), murcha de fusário (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*) e antracnoses causadas por *Colletotrichum* spp. (Mendes et al., 1998). As antracnoses no tomateiro podem ser causadas pelas espécies *C. coccodes*, *C. gloeosporioides* e *C. dematium*. A distinção e a identificação correta dessas espécies é relevante, já que influenciam no tipo de medida a ser adotada para prevenção ou controle da doença, visto que espécies desse gênero podem ter comportamentos distintos, mesmos sob condições similares de cultivo ou armazenamento.

A produção de batata no Brasil, no ano de 2003, foi de aproximadamente 3 milhões de toneladas (Agrianual, 2006). Esta cultura, no entanto, sofre perdas significativas na produtividade provocadas por doenças fúngicas, como a mancha de alternaria (*Alternaria solani*), requeima (*Phytophthora infestans*), rizoctoniose (*Rhizoctonia solani*), sarna pulverulenta (*Spongospora subterranea*), podridão seca (*Fusarium solani*) e “black dot”

(*C. coccodes*). Esta doença tem como principais sinais a produção de microesclerócios em diferentes partes da planta, bem como amarelecimento da folhagem, podridão em raízes, ataque ao caule e, eventualmente, morte prematura da planta (Dillard, 1992).

## **2.2 Classificação de *Colletotrichum coccodes***

*Colletotrichum coccodes* é a fase anamorfa de um ascomiceto da ordem Phyllachorales, cuja fase sexuada não é conhecida ou descrita até o momento. O fungo possui diferentes sinônimos chegando a uma lista de aproximadamente 15 nomes (von Arx, 1957; McIntyre & Rusanowski, 1975; Dillard, 1992). Dentre esses, podem-se destacar com maior uso *Colletotrichum atramentarium* (Berk. & Br.) Taubenh. e *Colletotrichum phomoides* (Sacc.) Chester.

## **2.3 Morfologia de *Colletotrichum coccodes***

Características *in vitro* – o fungo cresce com facilidade em vários meios de cultura, embora a esporulação dependa do substrato, sendo maior em meio V8. Microesclerócios pretos, de 100-500µm de diâmetro, são produzidos em grande quantidade. Há uma intensa produção de setas septadas, pigmentadas, pontiagudas e de comprimento aproximado de 80 a 350µm. Os conídios são retos, fusiformes, hialinos, asseptados, com as extremidades obtusas, de 16-24 x 2,5-4,5µm de dimensão e formam uma massa de aparência amarelo a rosada. Há indícios de que o pH influencia na coloração das colônias em meio de cultura (Dillard, 1988, Tsrer (Lahkim) & Johnson, 2000).

Características *in vivo* – esclerócios pretos, de 100-500µm de diâmetro, são produzidos no tecido do hospedeiro. No solo, podem sobreviver por longos períodos (Dillard, 1988). Acérvulos são observados no caule, raízes e frutos da

planta hospedeira e são de forma delgada, de 200-300 $\mu$ m de diâmetro, produzindo setas septadas com suas extremidades agudas. Conidióforos desenvolvem-se em uma camada palissádica, de cor sub-hialina, cilíndricos, de comprimento de 10-30 $\mu$ m (Dillard, 1992; Tsrer (Lahkim) & Johnson, 2000).

#### **2.4 Distribuição geográfica**

*Colletotrichum coccodes* pode ser observado em diversos países, causando doença, principalmente, em culturas da família das solanáceas. O patógeno foi relatado em batata nos Estados Unidos, Chile, Europa, Austrália, África do Sul, Índia e Israel e em tomate nos Estados Unidos, Canadá e alguns países da Europa, como a França (Thirumalachar, 1967; Stevenson et al., 1976; Barkdoll & Davis, 1992; Johnson, 1994; Andrivon et al., 1998), mesmo sendo considerado um parasita fraco de baixa habilidade de competição na sua fase saprofítica.

No Brasil, *C. coccodes* ocorre em campos de batata, tomate e pimentão causando sintomas em raízes, tubérculos, folhas, frutos e caules. Esse fungo não foi citado na literatura brasileira até o momento, como um patógeno de grande importância econômica (Siqueira et al., 1985; Mendes et al., 1998).

#### **2.5 Plantas hospedeiras e sintomatologia**

Os sintomas da doença causada por *C. coccodes* variam de acordo com a época de infecção, órgãos infectados, hospedeiros e condições ambientais favoráveis ao desenvolvimento da doença. Quanto ao processo de infecção é importante conhecer os fatores que o influenciam para que estratégias efetivas de controle sejam desenvolvidas.

Em tomateiro, os sintomas são conhecidos como antracnose e o patógeno pode infectar frutos verdes e maduros, sendo possível acontecer infecção latente em frutos verdes armazenados sob baixa temperatura. Em frutos maduros, a infecção desse patógeno resulta numa lesão circular, deprimida, com escurecimento central (Tu, 1980; Dillard, 1989). Com o desenvolvimento da antracnose, acérvulos formam-se nas camadas externas do tecido do hospedeiro e formam conídios envoltos por um material mucilaginoso e úmido, composto de glicoproteínas, polissacarídeos, enzimas (invertase, poligaracturonase, celulase e pectinaliase) e vários outros componentes que ajudam no processo de penetração e infecção do patógeno. A matriz mucilaginosa que envolve estes conídios inibe a germinação prematura e o ressecamento destes, protegendo-os, também, contra a luz ultravioleta (UV) e os efeitos tóxicos de fenóis dos hospedeiros (Lopez, 2001). Produção de microesclerócios nas raízes é observada, conhecida também como “black dot” das raízes. Plantas de tomateiro ainda podem exibir sintomas de amarelecimento da folhagem e, eventualmente, morte prematura de planta (Dillard & Cobb, 1997).

Na batata, pode ser observada a formação de esclerócios em diferentes partes da planta. Sintomas da doença incluem o amarelecimento da folhagem, podridão em raízes, ataque ao caule e, eventualmente, morte prematura da planta. Esclerócios se desenvolvem externa e internamente nos tecidos do caule causando decadência e morte destes e nas raízes, bem como nos estolões e tubérculos filhos (Stevenson et al., 2001). Um resumo com as principais espécies hospedeiras que são afetadas por *C. coccodes*, de acordo com a literatura, os órgãos infectados e os trabalhos nos quais aparecem descritos encontram-se na Tabela 1.

**TABELA 1:** Plantas hospedeiras de *Colletotrichum coccodes* e órgão vegetal infectado

<b>Planta hospedeira</b>	<b>Órgão infectado</b>	<b>Referência</b>
<i>Solanum esculentum</i>	Fruto, folha, raiz e caule	Barksdale, 1967; Stevenson et al., 1976; Dillard, 1987; Raid & Pennypacker, 1987; Tsrer & Johnson, 2000; Lopez, 2001; Redman & Rodriguez, 2002.
<i>Solanum tuberosum</i>	Raiz, caule, tubérculo, folha e estolão	Dickson, 1926; Barkdoll & Davis, 1992; Johnson, 1994; Andrivon et al., 1997; Dillard e Cobb, 1997; Johnson et al., 1997; Tsrer & Johnson, 2000; Lopez, 2001.
<i>Glycine max</i>	Caule	Riccione & Conca, 1998
<i>Capsicum annuum</i>	Fruto	Dillard, 1992
<i>Fragaria</i> spp.	Fruto	Maas & Howard, 1985
<i>Malus domestica</i>	Fruto	Maas & Howard, 1985
<i>Chrysanthemum</i> spp.	Raiz	Chesters & Hornby, 1965
Diversas ervas daninhas	Folha e raiz	Raid & Pennypacker, 1987

## 2.6 Epidemiologia da antracnose no tomate

O fungo infecta frutos de tomate verdes e maduros. A infecção inicial dos tecidos do hospedeiro é conhecida como infecção intramural subcuticular que forma estruturas de infecção a partir do crescimento do apressório que penetra a cutícula. Essa estrutura pode continuar avançando ou parar nesse estágio de desenvolvimento resultando em uma infecção latente (Fulton, 1948). Infecções latentes são comuns em frutos verdes e a superação destas infecções é relativa à condição fisiológica do tecido do tomate. À medida que ocorre a superação dessa latência, há diminuição da turgescência das paredes da célula, sugerindo que a nutrição do fungo envolve degradação enzimática de materiais

poliméricos da parede (Dillard, 1992). Essa fase de infecção inicial é assintomática, o que dificulta a prevenção da doença, pois, frutos infectados são tidos como sadios (Dillard, 1989). Lesões em frutos podem ser observadas de 5 a 6 dias após a infecção, em temperaturas favoráveis. O aumento da antracnose no tomate está frequentemente associado à alta pluviosidade durante a estação de crescimento da planta. A irrigação excessiva também pode contribuir para o aumento da incidência e severidade da antracnose do tomate (Barksdale, 1967).

## **2.7 Epidemiologia de “black dot” na batata**

Na batateira, *C. coccodes* infecta todos os órgãos da planta, causando uma doença conhecida como “black dot”. Esse termo refere-se à produção abundante de microesclerócios pretos nos tubérculos, estolões, raízes e caule, abaixo e acima do solo. Além disso, o fungo causa podridões em órgãos subterrâneos e amarelecimento da folhagem. A invasão do tecido cortical causa degradação da periderme, declínio rápido nas plantas com descoloração dos tubérculos, danos na qualidade visual e redução em campo. *C. coccodes* pode também causar podridão em caules e tubérculos (Dillard, 1992).

Há evidências de que o fungo seja introduzido no solo, a partir de tubérculos ou frutos contaminados, onde se estabelece e, eventualmente, serve como inóculo, permanecendo em futuras colheitas (Tsrer (Lahkim) & Johnson, 2000). O fungo pode sobreviver no solo como estrutura de resistência conhecida como esclerócio, permanecendo viável por muitos anos e mantendo a sua capacidade de germinar logo que hajam condições adequadas e plantas hospedeiras suscetíveis. Pode existir em níveis não detectáveis no solo até o estabelecimento de um novo plantio, permitindo que o patógeno se multiplique a níveis detectáveis (Lees & Hilton, 2003) Infecção aérea pode, eventualmente,

levar a uma infecção do solo. Há relatos sugerindo que conídios possam sobreviver por mais de 52 semanas no solo (Farley, 1976).

*C. coccodes* pode também ocorrer em associação com outros patógenos de solo, como *Rhizoctonia*, *Fusarium* e *Verticillium*. Esta combinação aumenta significativamente as perdas em campos de produção (Tsrer (Lahkim) & Hazanovsky, 2001; Johnson & Miliezry, 1993). Solos com texturas grossas, deficientes de nitrogênio, mal drenados e sob alta temperatura favorecem a multiplicação e sobrevivência de *C. coccodes* (Stevenson et al., 2001).

Outra via de transmissão é pelo ar com potencial de causar infecção foliar, ou em regiões áridas, especialmente quando ajudada pelo uso de irrigação por aspersão e ventos fortes, este também pode ser introduzido em novas áreas durante tempestades de areia (Stevenson et al., 1976; Johnson, 1991; Mohan et al., 1992; Andrivon et al., 1997).

## **2.8 Influência da temperatura no progresso de doenças**

Dados relacionados à temperatura ótima para o progresso da doença são de suma importância, principalmente no que diz respeito à armazenagem de frutos na fase pós-colheita. A temperatura é uma variável limitante ao progresso temporal de antracoses já bem estudada por diversos pesquisadores (Fulton 1948; Farley, 1972; Dillard, 1988, 1989; Silveira et al., 2001). Em estudos conduzidos por Dillard (1989), nos Estados Unidos, foi observado que a temperatura influencia significativamente à infecção e o desenvolvimento da doença em frutos de tomate, quando inoculados com *C. coccodes*. Esses frutos apresentavam maiores lesões e severidade de doença em temperaturas na faixa de 28°C, enquanto que, em frutos mantidos à temperatura de 16°C e acima de 32°C, a severidade da doença foi reduzida ou simplesmente não havia a produção de sintomas. Esses dados assemelham-se aos observados em

temperatura ótima para esporulação e germinação de conídios de *C. coccodes* em estudo “*in vitro*”, por este mesmo autor.

Para o efeito da temperatura no patossistema *C. coccodes* x batata, Glais-Varlet et al. (2004) estudaram o crescimento *in vitro* e a infectividade de *C. coccodes* em tubérculos de batata nas temperaturas de 5°C, 10°C e 15°C, mais temperatura ambiente de 22°C e observaram que batatas inoculadas com suspensão de conídios ou com discos de ágar contendo micélio do patógeno depositados a 5mm de profundidade no tubérculo, desenvolviam sintomas típicos do “black dot” em todas as temperaturas testadas quando mantidos por 41, 82 e 103 dias, embora a temperatura de 5°C tenha favorecido o desenvolvimento de sintomas menores. Isso mostra que batatas semente, mesmo armazenadas sob baixas temperaturas, estão expostas à contaminação por *C. coccodes* e o desenvolvimento de sintomas, além de poderem disseminar a doença em campos onde esta ainda não existe (Glais-Varlet et al., 2004).

Sintomas típicos de “black dot” aparecem nas condições de armazenamento entre 5°C e 15°C, com frequência (Glais & Andrivon, 2004). Isso já foi observado quando tubérculos de batata, inoculados com *C. coccodes* a baixas temperaturas, manifestavam os sintomas típicos da doença, após algumas semanas (Mooi, 1959). Embora temperaturas mais baixas contribuam para o desenvolvimento mais lento da doença, é importante o cuidado com as mesmas, visto que estas podem estar agindo diretamente no favorecimento de doenças em campo e em armazenamento, causadas por *C. coccodes*.

Para o Brasil e demais países da América Latina, não foram encontradas publicações sobre a morfologia, biologia, epidemiologia de *C. coccodes* ou o controle das doenças causadas por esse patógeno em solanáceas.

### 3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIFANUAL. **Anuário da agricultura brasileira**. 10.ed. São Paulo: FNP Consultoria & Agroinformativos, 2006. 520p.

ANDRIVON, D. et al. Distribution and fungicide sensitivity of *Colletotrichum coccodes* in French potato-producing areas. **Plant Pathology**, Oxford, v.46, p.722-728, 1997.

ANDRIVON, D. et al. Colonization of roots, stolons, tubers and stems of various potato (*Solanum tuberosum*) cultivars by the Black-dot fungus *Colletotrichum coccodes*. **Plant Pathology**, Oxford, v.47, p.440-445, 1998.

BARKDOLL, A.W.; DAVIS, J.R. Distribution of *Colletotrichum coccodes* in Idaho and variation in pathogenicity on potato. **Plant Disease**, St Paul, v.76, n.2, p.131-135, 1992.

BARKSDALE, T.H. Light-induced in vitro of *Colletotrichum coccodes* causing tomato anthracnose. **Phytopathology**, v.57, p.1173-1175, 1967.

BLAKEMAN, J.P. ; HORNBY, D. The persistence of *Colletotrichum coccodes* and *Mycosphaerella ligulicola* in soil, with special reference to sclerotia and conidia. **Transactions of the British Mycological Society**, v.49, p.227-240, 1966.

CHESTERS, C.G.C.; HORNBY, D. Studies on *Colletotrichum coccodes*. I. The taxonomic significance of variation in isolates from tomato roots. **Transactions of the British Mycological Society**. v.48, p.573-581, 1965.

CULLEN, D.W. et al. Detection of *Colletotrichum coccodes* from soil and potato tubers by conventional and quantitative real-time PCR. **Plant Pathology**, Oxford, v.51, p.281-292, 2002.

DICKSON, B.T. The "black dot" disease of potato. **Phytopathology**, v.16, p.23-40, 1926.

DILLARD, H.R. **Tomato anthracnose**. Cornell Cooperative Extension. Vegetable crops fact sheet. p. 735-770. 1987.

DILLARD, H.R. Influence of temperature, pH, osmotic potential, and fungicide sensitivity on germination of conidia and growth from sclerotia of *Colletotrichum coccodes* in vitro. **Phytopathology**, v.78, p.1357-1361, 1988.

DILLARD, H.R. Effect of temperature, wetness duration, and inoculum density on infection and lesion development of *Colletotrichum coccodes* on tomato fruit. **Phytopathology**, v.79, p.1063-1066, 1989.

DILLARD, H.R. Survival of *Colletotrichum coccodes* in New York. **Phytopathology**, v.80, p.1026, 1990.

DILLARD, H.R. *Colletotrichum coccodes*: the pathogen and its hosts. In: BAILEY, J.A.; JEGGER, M.J. (Ed.). **Colletotrichum**: biology, pathology and control. Wallingford, UK: CAB International, 1992. p.225-236.

DILLARD, H.R.; COBB, A.C. Disease progress of Black dot on tomato roots and reduction in incidence with foliar applied fungicides. **Plant Disease**, St Paul, v.81, p.1439-1442, 1997.

DILLARD, H.R.; COBB, A.C. Survival of *Colletotrichum coccodes* in infected tomato tissue and in soil. **Plant Disease**, St Paul, v.82, p.235-238, 1998.

FAGBOLA, O.; ABANG, M.M. *Colletotrichum circinans* and *Colletotrichum coccodes* can be distinguished by DGGE analysis of PCR-amplified 18S rDNA fragments. **African Journal of Biotechnology**, v.3, p.195-198, 2004.

FARLEY, J.D. A selective medium for assay of *Colletotrichum coccodes* in soil. **Phytopathology**, v.62, p.1288-1293, 1972.

FARLEY, J.D. Survival of *Colletotrichum coccodes* in soil. **Phytopathology**, v.66, p.640-641, 1976.

FULTON, J.P. Infection of tomato fruits by *Colletotrichum phomoides*. **Phytopathology**, v.38, p.235-246, 1948.

GLAIS, I.; ANDRIVON, D. Deep sunkun lesions – an atypical symptom on potato tubers caused by *Colletotrichum coccodes* during storage. **Plant Pathology**, Oxford, v.53, p.254, 2004.

GLAIS-VARLET, I.; BOUCHEK-MECHICHE, K.; ANDRIVON, D. Growth in vitro and infectivity of *Colletotrichum coccodes* on potato tubers at different temperatures. **Plant Pathology**, Oxford, v.53, p.398-404, 2004.

HORNBY, D. Studies on *Colletotrichum coccodes* III. Some properties of the fungus in soil and in tomato roots. **Transactions of the British Mycological Society**, v.51, p.541-553, 1968.

JOHNSON, D.A. Effect of foliar infection caused by *Colletotrichum coccodes* on yield of Russet Burbank potato. **Plant Disease**, St Paul, v.78, n.11, p.1075-1078, 1994.

JOHNSON, D.A.; MILIEZKY, E.R. Effects of wounding and wetting duration on infection of potato foliage by *Colletotrichum coccodes*. **Plant Disease**, St Paul, v.77, n.1, p.13-17, 1993a.

JOHNSON, D.A.; MILIEZKY, E.R. Distribution and development of black dot, *Verticillium* wilt, and powdery scab on Russet Burbank potatoes in Washington State. **Plant Disease**, St Paul, v.77, n.1, p.74-79, 1993b.

JOHNSON, D.A.; ROWE, R.C.; CUMMINGS, T.F. Incidence of *Colletotrichum coccodes* in certified potato seed tubers planted in Washington State. **Plant Disease**, St Paul, v.81, n.10, p.1199-1202, 1997.

JOHNSTON, S.A. Evaluation of fungicides for the control of foliar and fruit diseases of processing tomatoes. **Fungicide and Nematicide Tests**, v.46, p.179, 1991.

LEES, A.K.; HILTON, A.J. Black dot (*Colletotrichum coccodes*): an increasingly important disease of potato. **Plant Pathology**, Oxford, v.53, p.3-12, 2003.

LOPEZ, A.M.Q. Taxonomia, patogênese e controle de espécies do gênero *Colletotrichum*. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. Passo Fundo, v.9, p.291-338, 2001.

MAAS, J.L.; HOWARD, C.M. Variation of several anthracnose fungi in virulence to strawberry and apple. **Plant Disease**, St Paul, v.69, p.164-166, 1985.

MCINTYRE, G.A.; RUSANOWSKI, C. Scanning electron microscope observations of the development of sporophores of *Colletotrichum atramentarium* on infected potato periderm. **American Potato Journal**, v.52, p.269-275, 1975.

- MENDES, M.A.S. et al. **Fungos em plantas no Brasil**. Brasília: Embrapa-SPI, 1998. 555p.
- MOHAN, S.K. et al. Infection of aerial parts of potato plants by *Colletotrichum coccodes* and its effects on premature vine death and yield. **American Potato Journal**, v.69, p.547-559, 1992.
- MOOI, J.C. A skin necrosis occurring on potato tubers affected by black dot (*Colletotrichum atramentarium*) after exposure to low temperatures. **European Potato Journal**, v.2, p.58-68, 1959.
- RAID, R.N.; PENNYPACKER, S.P. Weeds as host for *Colletotrichum coccodes*. **Plant Disease**, St Paul, v.71, n.7, p.643-646, 1987.
- REDMAN, R.S.; RODRIGUEZ, R.J. Characterization and isolation of an extracellular serine protease from the tomato pathogen *Colletotrichum coccodes*, and its role in pathogenicity. **Mycological Research**, v.12, p.1427-1434, 2002.
- REIFSCHNEIDER, F.J.B.; SIQUEIRA, C.B.; CORDEIRO, C.M.T. **Índice de doenças de hortaliças no Brasil, bactérias e fungos**. Brasília: EMBRAPA/CNPH, 1983. 155p.
- SILVEIRA, N.S.S. et al. Influência da temperatura, período de molhamento e concentração de inóculo de fungos na incidência de podridões pós-colheita em frutos de tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.26, p.33-38, 2001.
- SIQUEIRA, C.B.; REIFSCHNEIDER, F.J.B.; CORDEIRO, C.M.T. **Índice de doenças de hortaliças no Brasil, bactérias e fungos**. Brasília: EMBRAPA/CNPH, 1985. v.2, 89p.
- STEVENSON, W.R.; GREEN, R.J.; BERGESON, G.B. Occurrence and control of potato black dot root rot in Indiana. **Plant Disease Reporter**, v.60, n.3, p.248-251, 1976.
- STEVENSON, W.R. et al. **Compendium of potato diseases**. 2.ed. St. Paul MS: APS, 2001. 106p.
- SUTTON, B.C. **The coelomycetes**. CMI Kew, 1980. 696p.
- THIRUMALACHAR, M.J. Pathogenicity of *Colletotrichum atramentarium* on some potato varieties. **American Potato Journal**, v.44, p.241-244, 1967.

TSROR (LAHKIM), L.; JOHNSON, D.A. *Colletotrichum coccodes* on potato. In.: PRUSKY, D.; FREEMAN, S.; DICKMAN, M.B. (Ed.). ***Colletotrichum host specificity, pathology, and host-pathogen interaction***. St. Paul, MN: APS, 2000. p.362-373.

TSROR (LAHKIM), L.; HAZANOVSKY, M. Effect of co-inoculation by *Verticillium dahliae* and *Colletotrichum coccodes* on disease symptoms and fungal colonization in four potato cultivares. **Plant Pathology**, Oxford, v.50, p.483-488, 2001.

TU, J.C. The ontogeny of the sclerotia of *Colletotrichum coccodes*. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.58, p.631-636, 1980.

VON ARX, J.A. Die arten der Gattung *Colletotrichum* Cda. **Phytopathologische Zeitschrift**, v.29, p.413-468, 1957.

## **CAPÍTULO 2**

### **CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E BIOLÓGICA DE** *Colletotrichum coccodes*

## 1 RESUMO

COSTA, M.H.D. Caracterização morfológica e biológica de *Colletotrichum coccodes*. In:\_\_\_\_\_. **Morfologia e patogenicidade de *Colletotrichum coccodes* em frutos de tomate e plantas de batata**. 2006. Cap. 2. p. 17-40. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) -Universidade Federal de Lavras, Lavras.

*Colletotrichum coccodes* (Wallr.) S.J. Hughes é o agente etiológico de doenças como “antracnose” e “black dot” em solanáceas em diversos países. No Brasil, o fungo também é registrado como patógeno de solanáceas, entretanto há apenas registros em catálogos. O objetivo dessa parte do trabalho foi realizar um estudo comparativo das características morfológicas das espécies *C. coccodes*, *C. gloeosporioides*, *C. acutatum* e *C. lindemuthianum* e das características biológicas de *C. coccodes*. Os isolados foram obtidos da Coleção Micológica de Lavras (CML) do Departamento de Fitopatologia da UFLA. Foram avaliadas taxa de crescimento micelial, coloração das colônias, formação de setores, setas e esclerócios, a forma, coloração e dimensões de conídios bem como a taxa de germinação e esporulação dos conídios. Testes de patogenicidade de *C. coccodes* foram conduzidos com frutos destacados de tomate. Os isolados de *C. coccodes* apresentaram morfologia similar entre si. A taxa de crescimento foi uniforme dentro de cada temperatura testada, mantendo seu ponto de máximo crescimento entre 20°C e 21°C. Em geral, os isolados apresentaram esporulação que variava entre  $1 \times 10^5$  e  $1 \times 10^6$  conídios/mL. Verificou-se uma diferença na porcentagem de germinação de conídios, submetidos há vários tempos de avaliação. Os conídios dos isolados CML 69, CML 71 e CML 302 germinaram mais rapidamente. No teste de patogenicidade, todos os isolados comportaram-se de forma igual; frutos apenas inoculados com água não desenvolveram sintomas. As espécies estudadas podem ser diferenciadas por marcadores morfológicos.

---

\* Comitê de orientação: Ludwig H. Pfenning – UFLA (Professor orientador)  
Edson Ampélio Pozza – UFLA (Co-orientador).

## 2 ABSTRACT

COSTA, M.H.D. Morphological and biological characterization of *Colletotrichum coccodes*. In:\_\_\_\_. **Morphology and pathogenicity of *Colletotrichum coccodes* in fruits of tomato and plants of potato.** 2006. Chapter 2. p. 17-40. Dissertation (Master in Agronomy/Plant Pathology) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

*Colletotrichum coccodes* (Wallr.) S.J. Hughes is the etiologic agent of diseases in Solanaceae such as anthracnose and black dot in several countries. In Brazil, the fungus is also reported as a pathogen of *Solanum* species, however only in catalogues. The objective of this work was to compare the morphological and biological characteristics of *Colletotrichum* species, *C. coccodes*, *C. gloeosporioides*, *C. acutatum* and *C. lindemuthianum*. The isolates were obtained from the Coleção Micológica de Lavras (CML) of the Plant Pathology Department, UFLA. The variables assessed were growth rate and coloration of the colony, production of sectors, setae and sclerotia, shape, color and dimensions of conidia, sporulation and germination rate. Pathogenicity of *C. coccodes* was assessed on detached tomato fruits. The isolates of *C. coccodes* had typical morphology with very small variation. The colony growth rate had little variation under each tested temperature, being 20°C and 21°C the ones of maximum colony growth rate. Usually, the sporulation rate ranged from  $10^5$  to  $10^6$  conidia . mL<sup>-1</sup>. We observed that isolates CML 69, CML 71 and CML 302 had faster emission of the germination tube than the majority of the tested isolates. In the pathogenicity assay all strains induced typical symptoms, but only on inoculated plants. The control plants remained without symptoms during the whole evaluation period. The fungal species studied can easily be differentiated by morphological markers.

---

\* Advising Committee: Ludwig H. Pfenning – UFLA (Adviser)  
Edson Ampélio Pozza – UFLA (Co-adviser).

### 3 INTRODUÇÃO

*Colletotrichum coccodes* é um fitopatógeno bem conhecido em países da Europa (Fagbola & Abang, 2004; Glais & Andrivon, 2004), EUA (Dillard, 1992), Reino Unido (Less & Hilton, 2003). Em frutos de tomate, causa antracnoses no campo ou em pós-colheita, além de apodrecimento de raízes, amarelecimento da folhagem e morte prematura da planta. Outras espécies de *Colletotrichum* também ocorrem em tomate, como *C. gloeosporioides* e *C. dematium* (Mendes et al., 1998). Em plantas de batata, somente a espécie *C. coccodes* é patogênica, causando uma doença conhecida como “black dot”, assim chamada, por produzir microesclerócios pretos em abundância em tecidos da planta. Caracterização morfológica (Dillard, 1988; Glais et al., 2004), caracterização molecular (Cullen et al., 2002; Fagbola et al., 2004), caracterização patogênica (Barkdoll & Davis, 1992; Andrivon et al., 1998) e formas de sobrevivência (Farley, 1976) foram estudados por diversos pesquisadores em outros países. Apesar disso, não há publicações sobre o comportamento de populações e isolados de *C. coccodes* no Brasil, seu potencial como um patógeno e os fatores responsáveis por influenciar o desenvolvimento de antracnoses em frutos de tomate e de “black dot” em plantas de batata. A literatura está restrita a citações da ocorrência desse patógeno em catálogos, sem informações do seu comportamento em nossas condições ambientais (Reifschneider et al., 1983; Siqueira et al., 1985; Mendes et al., 1998).

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi realizar um estudo comparativo das características culturais e morfológicas das espécies *C. coccodes*, *C. gloeosporioides*, *C. acutatum* e *C. lindemuthianum*, além de identificar diferenças na agressividade entre isolados de *C. coccodes* por meio de bioensaio em tomates na pós-colheita.

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Local e realização do experimento**

Os estudos das características culturais, morfológicas, teste de germinação de conídios, esporulação em meio de cultura e bioensaio para a seleção dos isolados mais agressivos foram realizados no Laboratório de Sistemática e Ecologia de Fungos do Departamento de Fitopatologia/Universidade Federal de Lavras, MG, durante o primeiro semestre de 2005.

### **4.2 Obtenção de isolados e coleção**

Os isolados foram obtidos de material vegetal infectado de batata e tomate, proveniente de amostras recebidas na Clínica Fitossanitária/DFP da Universidade Federal de Lavras e mantidos na BOD em condições e substrato adequados até a conclusão do experimento. Isolados representativos estão depositados na Coleção Micológica de Lavras (CML) como material de referência (Tabela 1).

**TABELA 1:** Isolados utilizados neste experimento, código de depósito na CML e espécies vegetais de onde foram isolados.

<b>Código na CML</b>	<b>Espécie</b>	<b>Substrato</b>
CML 69	<i>C. coccodes</i>	<i>Solanum tuberosum</i>
CML 71	<i>C. coccodes</i>	<i>Solanum tuberosum</i>
CML 205	<i>C. coccodes</i>	<i>Solanum tuberosum</i>
CML 302	<i>C. coccodes</i>	<i>Solanum esculentum</i>
CML 353	<i>C. coccodes</i>	<i>Solanum tuberosum</i>
CML 335	<i>C. lindemuthianum</i>	<i>Phaseolus vulgaris</i>
CML 460	<i>C. gloeosporioides</i>	<i>Capsicum annuum</i>
CML 461	<i>C. acutatum</i>	<i>Capsicum annuum</i>

### 4.3 Estudo das características culturais e morfológicas

Para estudo das características culturais e da morfologia de *C. coccodes*, *C. gloeosporioides*, *C. acutatum* e *C. lindemuthianum*, foram observados, em meio MA 2%, taxa de crescimento micelial, coloração das colônias, dimensões, formato e pigmentação de conídios, presença de setas, formação de setores e observação de estruturas como microesclerócios (Dillard, 1988).

#### 4.3.1 Índice de velocidade de crescimento micelial sob diferentes temperaturas

Discos de meio com micélio dos isolados foram recortados das margens de colônias com 8 dias de crescimento e transferidos para placas contendo meio MA 2% (extrato de malte e ágar) e incubados em BOD nas temperaturas de 10°C, 15°C, 20°C, 25°C e 30°C, com fotoperíodo de 12 horas de luz negra, até que as colônias alcançassem o diâmetro máximo das placas. A taxa de crescimento micelial foi avaliada a cada 24 horas, com a primeira avaliação após

um dia a inoculação. Foi usado, para tanto, o índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM).

$$\text{IVCM} = \sum (\mathbf{D} - \mathbf{D}_a) / \mathbf{N}$$

D = diâmetro médio da colônia

Da = diâmetro médio da colônia no dia anterior

N = número de dias da avaliação

Usou-se o delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições para cada isolado, sendo cada repetição constituída de uma placa. Os dados foram submetidos à análise de variância. A variável isolado, quando significativa no teste F, foi comparada, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade e, para temperatura, foram ajustados modelos de regressão, avaliando-se a temperatura ótima que favorecia o máximo crescimento micelial, para cada um dos isolados. As análises foram feitas pelo programa SISVAR 4.6, 2003.

#### **4.3.2 Coloração das colônias e formação de setores**

Para avaliação da coloração das colônias e formação de setores, foram utilizadas as mesmas placas do ensaio anterior. Após o término das leituras de crescimento micelial, fizeram-se observações visuais da coloração das colônias e de formação de setores.

### **4.3.3 Dimensões, formato e pigmentação dos conídios e observação de esclerócios e setas**

Após as avaliações dos itens 4.3.1 e 4.3.2, as mesmas culturas foram usadas para o preparo de lâminas para medir o comprimento e a largura de 100 conídios escolhidos ao acaso e a observação do formato e da pigmentação dos mesmos.

Placas foram obtidas com cultura pura, como descrito no item 4.3.1. As observações de estruturas, como setas e esclerócios, foram realizadas após o oitavo dia de crescimento da colônia, durante um período de 60 dias. Estas estruturas foram observadas com auxílio de um microscópio de luz.

## **4.4 Seleção de isolados**

### **4.4.1 Esporulação de *Colletotrichum coccodes***

Foram adicionados 10mL de água destilada e autoclavada em placas contendo culturas puras de *C. coccodes*, crescidas em meio V-8 com oito dias de crescimento. O conteúdo dessas placas foi filtrado com o auxílio de gaze dupla. Uma alíquota dessa suspensão foi transferida para uma câmara de Newbauer com a finalidade de determinar a concentração de conídios. Esse ensaio foi montado em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições por isolado.

### **4.4.2 Determinação da germinação de conídios**

Para a observação da germinação de conídios de *C. coccodes* usou-se uma suspensão de conídios com concentração de  $1 \times 10^6$  conídios/mL depositada em lâminas escavadas com dois poços e mantidas dentro de uma

placa de Petri contendo papel de filtro umedecido e incubadas a 25°C. Três lâminas foram usadas para cada isolado e as avaliações foram feitas após 12, 18, 24 e 48 horas, período no qual os conídios do patógeno estavam germinados (Dillard, 1989).

#### **4.4.3 Patogenicidade em frutos**

Para testar a patogenicidade e a agressividade dos isolados CML 69, CML 71, CML 205, CML 302 e CML 353, foram utilizados, para cada um, 6 frutos de tomate maduros. Os frutos foram submetidos à lavagem em água corrente, desinfestados superficialmente pela imersão em álcool 50% por 1 minuto e NaClO 0,05% por 1 minuto e enxaguados em água esterilizada, inoculados com discos de ágar com estruturas do patógeno, retirados da margem de colônias com 8 dias de crescimento. A inoculação se deu em frutos com e sem ferimentos. Para cada isolado testado, foi utilizada uma bandeja plástica com esponja umedecida contendo os frutos suspensos sobre superfícies plásticas, evitando, assim, que os frutos tivessem contato direto com a água. As bandejas foram envoltas por uma camada de filme de PVC, com o objetivo de se criar uma câmara úmida por um período de 24 horas. Em seguida, foi retirada a câmara úmida e estas foram mantidas por um período de 5 dias em temperatura ambiente. Após esse período, o diâmetro médio das lesões foi medido em centímetros.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Características culturais e morfológicas

#### 5.1.1 Índice de velocidade de crescimento micelial sob diferentes temperaturas

Na análise de variância, para verificar as diferenças de crescimento entre os isolados sob as diferentes temperaturas testadas e a interação mútua entre isolados e temperatura, foram verificadas diferenças significativas, de acordo com o teste de F ( $P \leq 0,05$ ), para todas as fontes de variação (Tabela 1A). Para o crescimento médio dos isolados dentro de cada temperatura, foi observado que eles apenas não diferiram em IVCm sob a temperatura de 10°C. Sob as demais temperaturas, essas diferenças foram observadas, mesmo quando se consideravam apenas as espécies de *C. coccodes*, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade (Tabela 2).

**TABELA 2:** Índice de velocidade de crescimento micelial (cm/dia) de isolados de *Colletotrichum* spp. sob diferentes temperaturas.

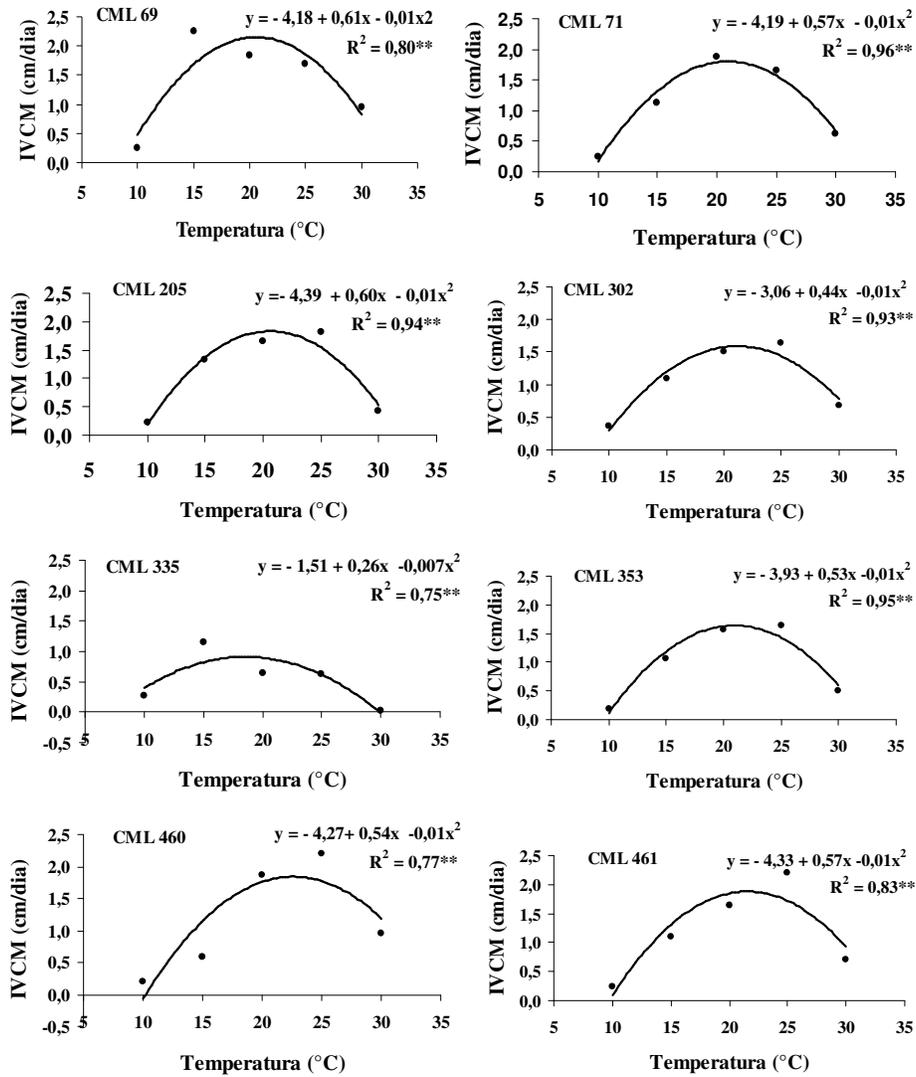
Isolados	Temperaturas				
	10°C	15°C	20°C	25°C	30°C
<b>CML 69</b>	0,24 a*	2,25 d	1,83 c	1,70 b	0,94 d
<b>CML 71</b>	0,25 a	1,12 b	1,88 c	1,64 b	0,61 c
<b>CML 205</b>	0,23 a	1,33 c	1,64 b	1,81 c	0,42 b
<b>CML 302</b>	0,36 a	1,09 b	1,50 b	1,64 b	0,68 c
<b>CML 353</b>	0,19 a	1,06 b	1,56 b	1,64 b	0,49 b
<b>CML 335</b>	0,27 a	1,14 b	0,65 a	0,62 a	0,02 a
<b>CML 460</b>	0,20 a	0,58 a	1,86 c	2,20 d	0,96 d
<b>CML 461</b>	0,23 a	1,09 b	1,64 b	2,20 d	0,71 c

\* Médias seguidas da mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5 % de probabilidade.

Quando consideraram-se apenas os isolados de *C. coccodes*, pôde-se observar uma variação média de crescimento micelial dentro de uma mesma temperatura, de 1,186 cm/dia. Isso ocorreu quando se observou os valores de crescimento dos isolados CML 69 e CML 353 que foram de 2,25 e 1,06 cm/dia na temperatura de 15°C.

Esse crescimento, quando comparado com o de outras espécies de *Colletotrichum*, mostra que, apenas para a espécie *C. lindemuthianum* (CML 335), isolados de *C. coccodes* não foram semelhantes, tendo um crescimento maior e bem distinto. Para as espécies *C. gloeosporioides* (CML 460) e *C. acutatum* (CML 461), essa diferença não pôde ser observada, para as temperaturas estudadas. A exceção foi a temperatura de 25°C, para a qual apresentaram índices de crescimento de 2,20 e 2,20 cm/dia, respectivamente, bem maiores aquelas observadas para os isolados de *C. coccodes* (Tabela 2).

Modelos de regressão foram feitos para a variável temperatura para cada um dos isolados estudados. Equações quadráticas evidenciam pontos de máxima velocidade de crescimento micelial de 20,57°C; 20,90°C; 20,59°C; 21,15°C e 20,93°C para os isolados CML 69, CML 71, CML 205, CML 302 e CML 353 e de 18,56°C; 22,62°C e 21,55°C para os isolados CML 335, CML 460 e CML 461, respectivamente (Figura 1: a-h).



**FIGURA 1:** Efeito da temperatura no crescimento micelial de espécies do gênero *Colletotrichum*.

### **5.1.2 Coloração das colônias, observação de microesclerócios, setas e formação de setores**

Todas as colônias de *C. coccodes* produziram microesclerócios em abundância, dando um aspecto de colônias escuras, embora formasse micélio aéreo branco. As colônias apresentaram aspecto uniforme entre elas, com uma leve diferenciação para o isolado CML 302 que mostrou um micélio aéreo branco rosado. A espécie *C. acutatum* (CML 461) não produziu microesclerócios nem setas, mas foi bem caracterizada por produzir um micélio aéreo branco bem denso. *C. gloeosporioides* (CML 460) formou micélio aéreo escuro e produziu poucas setas e microesclerócios. *C. lindemuthianum* (CML 335) também mostrou micélio aéreo escuro, produção abundante de setas, mas, em nenhum momento, formou microesclerócios. Setores foram frequentes nos isolados de *C. coccodes*, mas não foram observados para as demais espécies (Tabela 3).

A morfologia ajudou bastante para o reconhecimento de *C. coccodes*, em relação às demais espécies. A produção abundante de esclerócios, característica marcante desta espécie, ajudou na diferenciação das demais.

### **5.1.3 Dimensões, formato e pigmentação dos conídios**

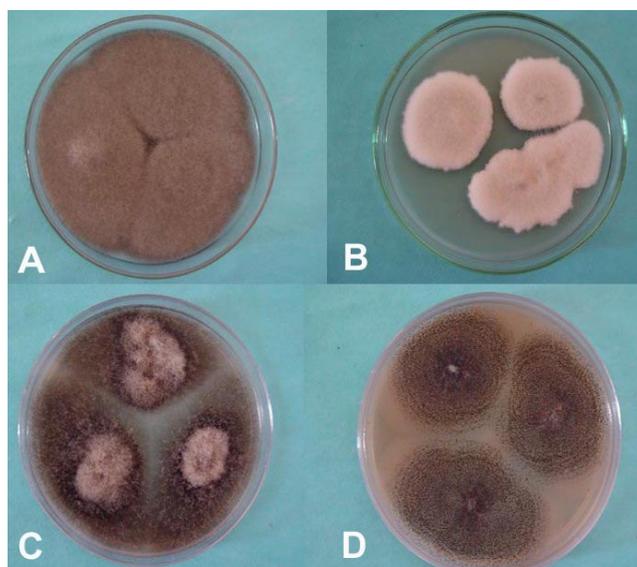
Os isolados de *C. coccodes* produziram conídios com tamanho e pigmentação uniforme, com dimensões de 16-24 x 2-4µm, sempre retos, fusiformes, hialinos, diferentes dos conídios de *C. gloeosporioides*, que se apresentaram menores, 10-18 x 3-5µm, cilíndricos, alguns com uma das extremidades obtusas e menos uniformes. Conídios de *C. lindemuthianum* foram facilmente separados daqueles de *C. coccodes*, pelo formato cilíndrico bem arredondado e por suas dimensões menores, 9-13 x 3-4,5µm. Mesmo

*C. acutatum*, que produziu conídios retos fusiformes, foi separado de *C. coccodes* pelo tamanho médio de seus conídios de 8,5-16 x 2,5-4µm. Todas as espécies produziram conídios hialinos (Tabela 3). O formato dos conídios de *C. coccodes*, tamanho e uniformidade que estes apresentaram, aliados a características de crescimento da colônia, permitiram uma diferenciação segura e eficiente dessa espécie das demais estudadas (Figura 2 e 3). Na prática, essas diferenças auxiliam na identificação do patógeno e na diagnose de uma doença (Figura 4).

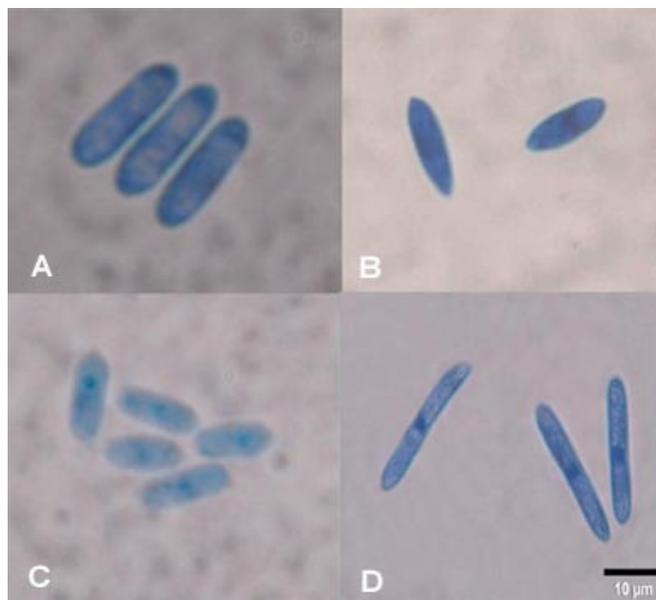
**TABELA 3:** Características relacionadas à coloração das colônias, formação de esclerócios, setas e setores, dimensões e formato dos conídios.

Isolados	Cor do micélio	esclerócios	setas	setores	Dimensões dos conídios	Formato
CML 69	Branco	++	++	+	16.5-23 x 3-4	rf
CML 71	Branco	++	++	+	17-23 x 3-4	rf
CML 205	Branco	++	++	+	16-22 x 3-4	rf
CML 302	Branco rosado	++	++	+	16-24 x 2,8-4	rf
CML 353	Branco	++	++	+	16-22 x 2,8-4	rf
CML 335	Escuro	-	++	-	9-13 x 3-4,5	c
CML 460	Escuro	+	+	-	10-18 x 3,5-5	c
CML 461	Branco	-	-	-	8,5-16 x 2,5-4	rf

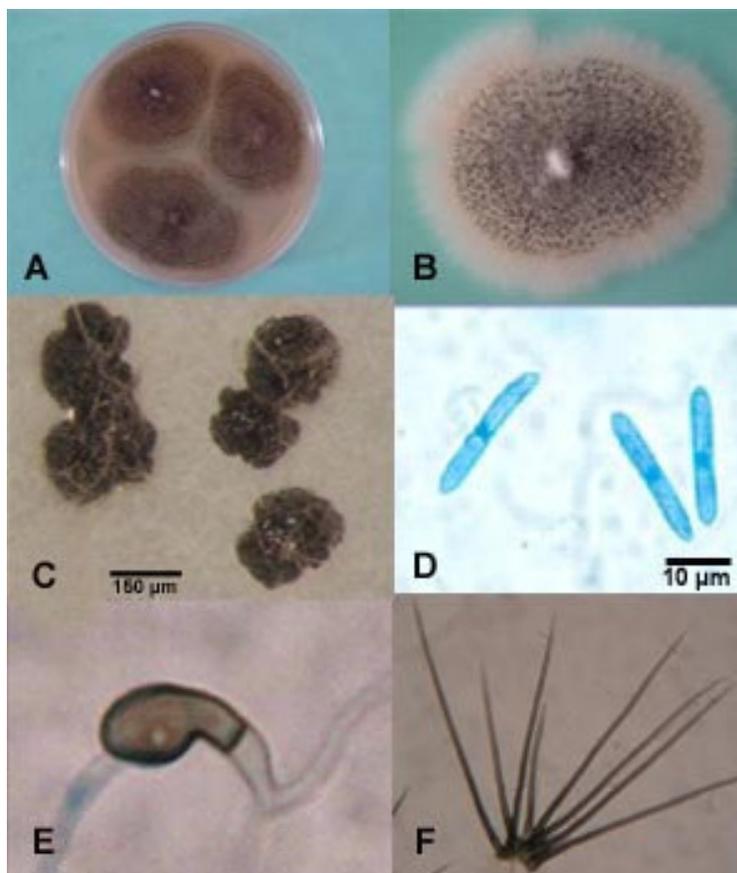
(++) produção abundante; (+) pouca produção; (-) ausência.  
rf – reto, fusiforme; c – cilíndrico.



**FIGURA 2:** Aspecto visual das colônias de *Colletotrichum*. A- *C. gloeosporioides*; B- *C. acutatum*; C- *C. lindemuthianum*; D- *C. coccodes*.



**FIGURA 3:** Conídios de espécies de *Colletotrichum*. A- *C. gloeosporioides*; B- *C. acutatum*; C- *C. lindemuthianum*; D- *C. coccodes*.



**FIGURA 4:** Marcadores morfológicos de *C. coccodes*. A- Colônia em meio V-8 com 10 dias de idade; B- detalhe do crescimento inicial da colônia; C- microsclerócios agrupados ou solitários; D- conídios; E- apressório germinando; F- setas septadas.

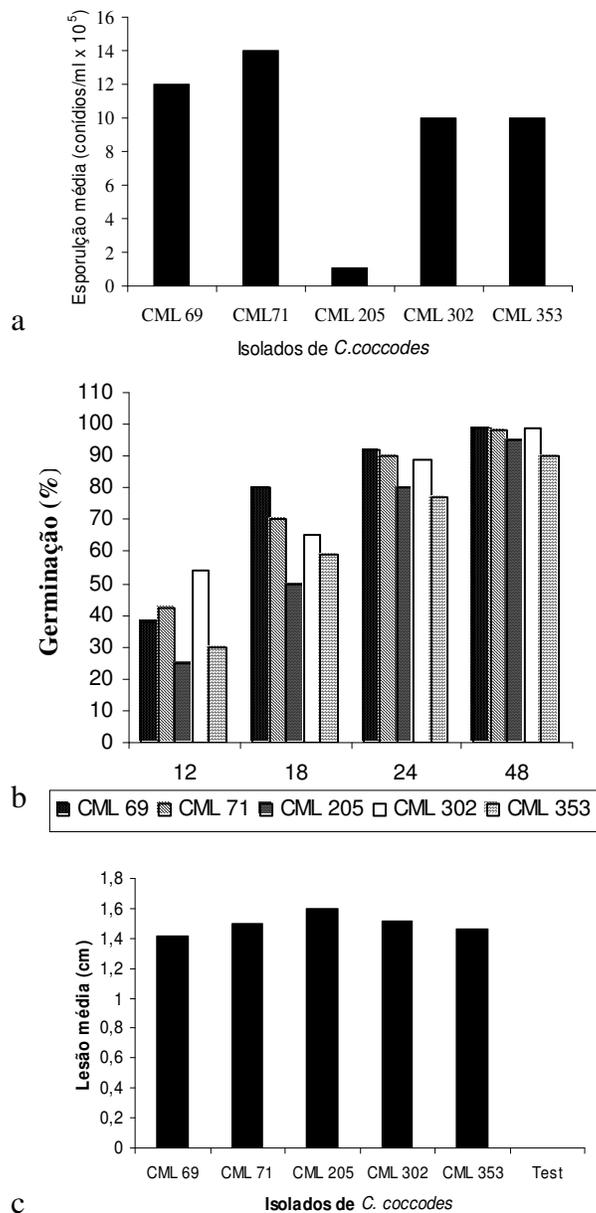
## 5.2 Bioensaio

Quanto à abundância de esporulação de *C. coccodes* em meio V-8, não houve grandes variações entre cada um dos isolados analisados nesse ensaio. Em geral, apresentaram esporulação que variou entre  $1 \times 10^5$  e  $1 \times 10^6$  conídios/mL, com exceção, do isolado CML 205, que apresentou um valor de esporulação de  $1 \times 10^3$  conídios/mL, bem menor (Figura 5-a).

Verificou-se uma diferença na porcentagem de germinação de conídios, feitas nos tempos de 12, 18, 24 e 48 horas. Os isolados CML 69, CML 71 e CML 302 apresentaram germinação mais rápida e maior em relação aos isolados CML 205 e CML 353 (Figura 5-b).

No teste de patogenicidade em frutos de tomate, não foram observadas diferenças significativas entre os isolados usados, de acordo com o teste de Tukey, a 5% de probabilidade (Figura 5-c).

Os isolados CML 69, CML 71 e CML 302 foram os escolhidos para a realização dos experimentos de teste de patogenicidade em frutos tomate e do desenvolvimento de “black dot” em plantas de batata, abordados nos próximos capítulos, por apresentarem melhores índices de germinação, esporulação e desenvolvimento de sintomas em frutos de tomate inoculados.



**FIGURA 5:** Características biológicas de *C. coccodes*. **a.** esporulação de conídios em meio V-8; **b.** germinação de conídios após diferentes tempos de avaliação; **c.** severidade da doença em frutos de tomate.

## 6 DISCUSSÃO

A morfologia observada para os conídios é semelhante àquela vista na literatura: conídios de formato reto fusiforme para *C. coccodes* e *C. acutatum* e cilíndrico para as espécies *C. gloeosporioides* e *C. lindemuthianum* (Sutton, 1980; Dillard, 1988; Lopez, 2001).

A influência da temperatura, seja para avaliação de características culturais *in vitro*, *in vivo* ou *in natura*, é bastante discutida na literatura, para muitos microrganismos (Silveira et al., 2001). Apesar disso, dados relacionados às características *in vitro* de *C. coccodes* no Brasil foram estudados apenas por Martins et al. (2000) que observaram que o maior índice de crescimento micelial de *C. coccodes*, quando cultivado em diferentes meios de cultura e temperaturas, se deu aos 25°C em meio BDA e que as temperaturas de 25°C e 30°C foram as melhores, para esporulação e germinação. Estes resultados assemelham-se a aqueles observados neste estudo, para índice de germinação de conídios, no entanto, o IVCm diferiu, tendo os isolados apresentado melhor índice de crescimento micelial entre 20,6°C e 21,2°C.

O crescimento ótimo à temperatura de 27°C foi observado em estudos realizados por Dillard (1988), que verificou, ainda, a paralisação do crescimento de um isolado de *C. coccodes* submetido à temperatura de 7°C. Ao contrário, Glais et al. (2004) verificaram que seus 13 isolados de *C. coccodes* foram capazes de crescer sob temperatura de 5°C, embora a presença do crescimento só pudesse ser observada após 10 dias. Pelos resultados aqui obtidos, o crescimento a 10°C, embora lento, variando entre 0,192 e 0,362 (cm/dia), aconteceu tanto para os isolados de *C. coccodes* quanto para os demais isolados estudados.

Mesmo que *C. coccodes* apresente uma taxa lenta de crescimento sob temperaturas baixas, existe o risco do mesmo ser capaz de infectar e desenvolver sintomas em tubérculos-semente, armazenados em câmaras resfriadas, Isso porque esse armazenamento pode durar até 8 meses, tempo suficiente para o crescimento, colonização e infecção de *C. coccodes* em batatas.

Embora, neste estudo, microesclerócios não tenham sido quantificados, ficou evidente que estes demoravam mais a aparecer e eram menos abundantes sob temperaturas de 10°C e 15°C. Esses resultados concordam com os de Glais et al. (2004) que observaram que placas mantidas sob temperatura ambiente por três dias e depois mantidas nas temperaturas de 5°C, 10°C e 15°C, só produziam microesclerócios após 29, 21 e 21 dias, respectivamente. Essa produção era observada a partir dos 21 dias, quando a pré-inoculação das placas se dava por seis dias.

Temperaturas entre 24°C e 28°C foram mais favoráveis à esporulação, germinação de esporos e crescimento em meio de cultura, em experimento realizado por Kendrick & Walker (1948). Entretanto, Dillard (1988) observou que a germinação de conídios de *C. coccodes* é favorecida a uma temperatura de 22°C, que conídios submetidos a temperaturas abaixo de 7°C têm a sua germinação inibida e temperaturas entre 19°C e 25°C induzem a germinação de quase 100% no tempo de 24 horas. Neste estudo, observou-se mais de 80% de germinação para a maioria dos isolados, depois de 24 horas, mantidos a uma temperatura de 25°C. Após 48 horas, esses índices chegaram a mais de 90%, para todos os isolados de *C. coccodes*.

Estudos anteriores, feitos com *C. coccodes in vitro*, também mostraram que a luz influencia na esporulação de diversos isolados dessa espécie. Estes esporulavam mais quando mantidos sob regime de luz permanente e, mesmo produzindo microesclerócios em luz negra, a presença de conídios não era observada (Barksdale, 1967).

Resultados obtidos neste experimento mostram o quanto isolados de *C. coccodes* podem se adaptar a diversas temperaturas, tanto aquelas encontradas para o armazenamento de tubérculos, como aquelas para a produção de solanáceas em campo. A ampla faixa de adaptabilidade dessa espécie explica sua ocorrência nas mais variadas condições ambientais, causando doenças em países de clima temperado e tropical.

## 7 CONCLUSÕES

1. *Colletotrichum coccodes* cresce e esporula em meio MA 2% e V-8, satisfatoriamente.
2. Os isolados, de maneira geral, apresentam uniformidade quanto ao tamanho de conídios, presença de microesclerócios, formato e pigmentação dos mesmos.
3. A presença abundante de microesclerócios e setas formadas por isolados de *C. coccodes*, aliada a conídios que têm formato reto fusiforme, muito característicos, torna inequívoca a sua distinção de outras espécies como *C. gloeosporioides*, *C. acutatum* e *C. lindemuthianum*.
4. Os conídios de *C. coccodes* requerem, aproximadamente, 24 horas para que apresentem índices de germinação superiores a 70%.
5. Os isolados de *C. coccodes* apresentam ponto máximo de crescimento micelial muito uniforme, entre temperaturas de 20,6°C e 21,2°C.
6. Os isolados de *C. coccodes* apresentam uniformidade quanto à agressividade em frutos de tomate feridos.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRIVON, D. et al. Colonization of roots, stolons, tubers and stems of various potato (*Solanum tuberosum*) cultivars by the Black-dot fungus *Colletotrichum coccodes*. **Plant Pathology**, Oxford, v.47, p.440-445, 1998.
- BARKDOLL, A.W.; DAVIS, J.R. Distribution of *Colletotrichum coccodes* in Idaho and variation in pathogenicity on potato. **Plant Disease**, St. Paul, v.76, n.2, p.131-135, 1992.
- BARKSDALE, T.H. Light-induced in vitro of *Colletotrichum coccodes* causing tomato anthracnose. **Phytopathology**, v.57, p.1173-1175, 1967.
- CULLEN, D.W. et al. Detection of *Colletotrichum coccodes* from soil and potato tubers by conventional and quantitative real-time PCR. **Plant Pathology**, Oxford, v.51, p.281-292, 2002.
- DILLARD, H.R. Influence of temperature, pH, osmotic potential, and fungicide sensitivity on germination of conidia and growth from sclerotia of *Colletotrichum coccodes* in vitro. **Phytopathology**, v.78, p.1357-1361, 1988.
- DILLARD, H.R. Effect of temperature, wetness duration, and inoculum density on infection and lesion development of *Colletotrichum coccodes* on tomato fruit. **Phytopathology**, v.79, p.1063-1066, 1989.
- DILLARD, H.R. *Colletotrichum coccodes*: the pathogen and its hosts. In: BAILEY, J.A.; JEGER, M.J. (Ed.). **Colletotrichum**: biology, pathology and control. Wallingford, UK: CAB International, 1992. p.225-236.
- FAGBOLA, O.; ABANG, M.M. *Colletotrichum circinans* and *Colletotrichum coccodes* can be distinguished by DGGE analysis of PCR-amplified 18S rDNA fragments. **African Journal of Biotechnology**, v.3, p.195-198, 2004.
- FARLEY, J.D. Survival of *Colletotrichum coccodes* in soil. **Phytopathology**, v.66, p.640-641, 1976.
- FERREIRA, D.F. **SISVAR 4.6** - Sistema de análises estatísticas. Lavras: UFLA, 2003. Software.
- FULTON, J.P. Infection of tomato fruits by *Colletotrichum phomoides*. **Phytopathology**, v.38, p.235-246, 1948.

GLAIS, I.; ANDRIVON, D. Deep sunkun lesions – an atypical symptom on potato tubers caused by *Colletotrichum coccodes* during storage. **Plant Pathology**, Oxford, v.53, p.254, 2004.

GLAIS-VARLET, I.; BOUCHEK-MECHICHE, K.; ANDRIVON, D. Growth in vitro and infectivity of *Colletotrichum coccodes* on potato tubers at different temperatures. **Plant Pathology**, Oxford, v.53, p.398-404, 2004.

KENDRICK, J.B.; WALKER, J.C. Anthracnose of potato. **Phytopathology**, v.38, p.247-260, 1948.

LEES, A.K.; HILTON, A.J. Black dot (*Colletotrichum coccodes*): an increasingly important disease of potato. **Plant Pathology**, Oxford, v.53, p.3-12, 2003.

LOPEZ, A.M.Q. Taxonomia, patogênese e controle de espécies do gênero *Colletotrichum*. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v.9, p.291-338, 2001.

MARTINS, M.F. et al. Efeito da temperatura e de meios de cultura no crescimento, esporulação e germinação de conídios de *Colletotrichum coccodes*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.25, p.391-392, 2000. Suplemento.

MENDES, M.A.S. et al. **Fungos em plantas no Brasil**. Brasília: Embrapa-SPI, 1998. 555p.

REIFSCHNEIDER, F.J.B.; SIQUEIRA, C.B.; CORDEIRO, C.M.T. **Índice de doenças de hortaliças no Brasil, bactérias e fungos**. Brasília: EMBRAPA/CNPH, 1983. 155p.

SILVEIRA, N.S.S. et al. Influência da temperatura, período de molhamento e concentração de inóculo de fungos na incidência de podridões pós-colheita em frutos de tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.26, p.33-38, 2001.

SIQUEIRA, C.B.; REIFSCHNEIDER, F.J.B.; CORDEIRO, C.M.T. **Índice de doenças de hortaliças no Brasil, bactérias e fungos**. Brasília: EMBRAPA/CNPH, 1985. v.2, 89p.

SUTTON, B.C. **The coelomycetes**. CMI Kew, 1980. 696p.

## **CAPÍTULO 3**

### **PATOGENICIDADE DE *Colletotrichum coccodes* EM FRUTOS DE TOMATE**

## 1 RESUMO

COSTA, M.H.D. Patogenicidade de *Colletotrichum coccodes* em frutos de tomate In:\_\_\_\_\_. **Morfologia e patogenicidade de *Colletotrichum coccodes* em frutos de tomate e plantas de batata.** 2006. Cap. 3. p. 41-58. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

A antracnose, no tomateiro, pode ser causada por várias espécies do gênero *Colletotrichum*. Como importante fitopatógeno, destaca-se *Colletotrichum coccodes* (Wallr.) S.J. Hughes. Esse fungo é de importância crescente nos campos de produção da Europa, Estados Unidos, Canadá e Austrália. No Brasil, no entanto, essa espécie é apenas registrada em catálogos e não há maiores informações sobre sua distribuição em território nacional. Baseado na hipótese de que *C. coccodes* é agente etiológico da antracnose em frutos de tomate e que a temperatura é um fator limitante para o desenvolvimento dessas doenças, fez-se o estudo do progresso da antracnose em diferentes condições de temperatura (10°C, 15°C, 20°C, 25°C e 30°C) e métodos de inoculação em frutos maduros de tomate. Os isolados CML 69, CML 71 e CML 302, usados neste estudo, foram selecionados em bioensaio anterior. A inoculação foi realizada por meio de deposição de discos de ágar contendo estruturas do patógeno sobre a superfície de frutos feridos e não feridos, acondicionados em bandejas que foram levadas a câmaras de crescimento sob as diferentes temperaturas. A temperatura influenciou significativamente ( $P=0,05$ ) no desenvolvimento de lesões em frutos de tomateiro. Foram constatadas diferenças significativas nos valores de severidade da doença entre os isolados para as diferentes temperaturas. Os isolados apresentaram ponto de máximo desenvolvimento da doença em temperaturas diferentes, variando entre 21,4°C a 30°C. Essa observação sugere que o patógeno tenha uma ampla faixa de adaptabilidade. Frutos não feridos e inoculados não desenvolveram a doença, mostrando que essa espécie necessita de uma injúria para que possa se instalar e causar danos.

---

\* Comitê de orientação: Ludwig H. Pfenning – UFLA (Professor orientador)  
Edson Ampélio Pozza – UFLA (Co-orientador).

## 2 ABSTRACT

COSTA, M.H.D. Pathogenicity of *Colletotrichum coccodes* in fruits of tomato. In: \_\_\_\_\_. **Morphology and pathogenicity of *Colletotrichum coccodes* in fruits of tomato and plants of potato.** 2006. Chapter 3. p. 40-58. Dissertation (Master in Agronomy/Plant Pathology) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

Anthrachnose of tomato can be caused by several species of *Colletotrichum*. Among them, *Colletotrichum coccodes* (Wallr.) S.J. Hughes is considered an important plant pathogen of growing interest in Europe, United States, Canada and Australia. In Brazil, however, this species is reported in plant disease indexes with insufficient documentation of both, the fungus and disease occurrence. We formulated the hypothesis that *C. coccodes* is an etiologic agent of disease in tomato fruits, and that the temperature is a limiting factor in the disease development. The progress of the anthracnose was evaluated under laboratory conditions at 10, 15, 20, 25 e 30 °C using two different inoculation methods, with and without wounding. Isolates CML 69, CML 71 and CML 302, were selected from a previous trial mentioned in the preceding chapter. Agar plugs containing fungal structures were placed on the surface of wounded and unwounded tomato fruits. After the inoculation, fruits were maintained in trays inside a growth chamber at the above mentioned temperatures. The development of lesions on tomato fruits was influenced by temperature ( $P \leq 0.05$ ). Significant statistical differences in disease severity were observed within both isolates and temperatures. The maximum lesion size was observed between 21.4°C and 30°C. This observation indicates that the pathogen is well adapted to changes in temperature. Otherwise, this fungus cannot penetrate directly the fruit tissue since no lesion was observed on unwounded fruits. Thus, the fungus needs an opened site to penetrate and colonize the inner part of the fruit.

---

\* Advising Committee: Ludwig H. Pfenning – UFLA (Adviser)  
Edson Ampélio Pozza – UFLA (Co-adviser).

### 3 INTRODUÇÃO

Embora a antracnose no tomateiro possa ser causada por várias espécies do gênero *Colletotrichum*, destacam-se, como principais responsáveis por esse sintoma, as espécies *Colletotrichum coccodes* e *C. gloeosporioides*. A distinção e a identificação corretas dessas espécies são relevantes, pois influenciam no tipo de prática a ser adotada para prevenção ou controle da doença, visto que espécies desse gênero podem ter comportamentos distintos, mesmo sob condições similares de cultivo ou armazenamento. Dentre estas espécies, *Colletotrichum coccodes* (Wallr.) S.J. Hughes mostra-se bastante expressivo, visto que relatos sobre o seu aparecimento e danos provocados vêm aumentando em diversos países, causando problemas em culturas, principalmente da família das solanáceas (Fagbola & Abang, 2004; Cullen et al., 2002; Tsrer & Johnson, 2000; Andrivon et al., 1998; Dillard, 1988; Hornby, 1968).

*C. coccodes* é considerado um patógeno de solo e está distribuído em várias áreas de produção dessas solanáceas por todo o mundo (Johnson & Miliczky, 1993). Os prejuízos causados por este patógeno resultam tanto na redução direta da qualidade e quantidade do fruto de tomate como no aumento dos custos de produção e na fase de pós-colheita.

Os sintomas da doença causada por *C. coccodes* variam de acordo com os órgãos infectados, planta hospedeira, época de infecção e condições ambientais favoráveis ao desenvolvimento da doença. Em tomateiro, os sintomas nos frutos são conhecidos como antracnose. O patógeno pode infectar tomates verdes e maduros, sendo possível acontecer infecção latente em frutos armazenados sob baixa temperatura. Em frutos maduros, a infecção por esse fungo resulta numa lesão circular, deprimida, com escurecimento central

(Dillard, 1989; Tu, 1980). Com o desenvolvimento da antracnose, formam-se acérvulos nas camadas externas do tecido do hospedeiro os quais produzem conídios que são envolvidos por um material mucilaginoso e úmido, composto de glicoproteínas, polissacarídeos e enzimas (invertase, poligaracturonase, celulase e pectinase). O aumento da antracnose no tomate está freqüentemente associado à alta pluviosidade durante a fase de crescimento da planta. Irrigação excessiva também pode contribuir para o aumento da incidência e severidade da antracnose do tomate (Barksdale, 1967).

Conforme estudos realizados por pesquisadores de diversos países, variáveis, como temperatura, período de molhamento, horas de exposição à luz, tipo de hospedeiro e sobrevivência do patógeno em restos culturais e em solo sob forma de estruturas de resistência, interferem na incidência e na severidade da doença causada por *C. coccodes* (Less & Hilton, 2003; Nitzan et al., 2002; Dillard, 1988; Andrivon et al., 1998; Dillard & Cobb, 1998; Andrivon et al., 1997; Sanogo et al., 1997; Johnson & Miliezky, 1993; Dillard, 1989; Davis et al., 1988; Barksdale, 1967; Chesters & Hornby, 1965; Fulton, 1948; Colquhoun, 1941).

No Brasil, a importância da realização de estudos sobre o patossistema *C. coccodes* x tomateiro se justifica na medida em que existem apenas registros em catálogos (Kurozawa, & Pavan, 2005; Lopez, 2001; Mendes et al., 1998; Siqueira et al., 1985; Reifschneider et al., 1983). Entretanto, não há informações sobre morfologia, patogenicidade e variabilidade genética das populações. Portanto, este trabalho teve como objetivo avaliar o progresso da doença em frutos de tomate, em diferentes temperaturas e métodos de inoculação no Brasil.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Local e realização do experimento

O estudo da epidemiologia da antracnose causada por *C. coccodes* em frutos de tomate, sob diferentes temperaturas, foi realizado no Laboratório de Sistemática e Ecologia de Fungos do DFP/Universidade Federal de Lavras, MG, durante os meses de maio e junho de 2004.

### 4.2 Preparo do inóculo

Placas de petri com meio V-8 foram usadas para produzir o inóculo de *C. coccodes*. Essas foram mantidas por 8 dias e incubadas a  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ , sob regime de luz negra.

### 4.3 Obtenção dos frutos e métodos de inoculação

Frutos de tomateiro da cultivar Santa Clara, produzidos em sistema orgânico, no estágio de maturação vermelho, foram desinfestados superficialmente pela imersão em álcool 50% por 1 minuto e NaClO 0,05% por 1 minuto. Em cada fruto, foram marcados dois pontos equidistantes na região equatorial, onde foram efetuados ferimentos de aproximadamente três milímetros de profundidade. Frutos de tomate foram aclimatados a temperaturas de  $10^{\circ}\text{C}$ ,  $15^{\circ}\text{C}$ ,  $20^{\circ}\text{C}$ ,  $25^{\circ}\text{C}$  e  $30^{\circ}\text{C}$ , durante 5 horas em incubadora do tipo BOD antes da inoculação. Em seguida, esses frutos foram retirados da BOD e inoculados com isolados de *C. coccodes*, previamente selecionados no bioensaio (CML69, CML 71 e CML 302), por meio da deposição de disco de ágar com

micélio do patógeno (3mm) em frutos com e sem ferimento. Após esta inoculação, os frutos foram mantidos em câmara úmida por 24 horas e incubados nas mesmas temperaturas já mencionadas, durante todo o período de avaliação. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial (3 x 5 x 2) + testemunha adicional, representando três isolados de *C. coccodes*, cinco temperaturas e duas formas de inoculação mais 2 testemunhas inoculadas com água em frutos com e sem ferimento, com 4 repetições, sendo cada repetição constituída pela média das observações de dois frutos.

#### **4.4 Avaliação**

A avaliação do progresso da doença foi realizada após 7 dias, por meio da medição do diâmetro médio de cada lesão. Como apenas os frutos inoculados com ferimento desenvolveram sintomas, a análise estatística levou em consideração apenas os tratamentos com frutos feridos.

Os dados foram submetidos à análise estatística utilizando-se o procedimento GLM do sistema estatístico SAS<sup>®</sup> (SAS Institute, 1992). Nas análises de variâncias, foram determinados os efeitos dos isolados de *C. coccodes*, das cinco temperaturas testadas, da interação entre isolados e temperatura e dos contrastes de interesse. Os testes de comparações de médias, quando necessários, foram realizados pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ). As comparações entre o tratamento controle (testemunha) e os outros tratamentos originados das combinações entre isolados e temperaturas foram realizadas utilizando-se o teste de Dunnett ( $P \leq 0,05$ ). No caso da temperatura, modelos de regressão lineares e quadráticos foram ajustados para avaliação do ponto de máxima severidade da doença.

## 5 RESULTADOS

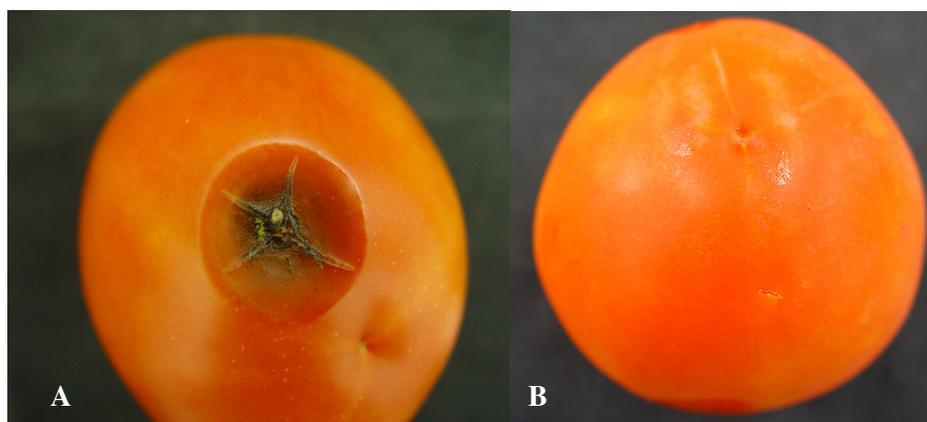
### 5.1 Influência da temperatura na incidência e desenvolvimento de lesões

Frutos não feridos e inoculados com isolados de *C. coccodes* não apresentaram incidência de podridão nas cinco temperaturas testadas, por esse motivo, a análise estatística apresenta apenas dados de frutos inoculados com ferimento.

Frutos feridos e inoculados com isolados de *C. coccodes* desenvolveram sintomas típicos da antracnose, os quais não foram observados nos tratamentos em que não havia a inoculação (Figura 1).

De acordo com o teste de Dunnet, os frutos com ferimentos, inoculados apenas com água, só não diferiram dos tratamentos com frutos inoculados e submetidos à temperatura de 10°C. Para os demais tratamentos, essa diferença foi significativa, a 5% e 1% de probabilidade (Tabela 1).

A temperatura influenciou significativamente ( $P=0,05$ ) o desenvolvimento de lesões em frutos de tomateiro causadas por isolados de *C. coccodes* (Figura 2). Foram constatadas diferenças significativas nos valores de severidade da doença entre os isolados para as diferentes temperaturas, bem como verificada a interação significativa entre fungos e temperaturas (Tabela 2A).



**FIGURA 1:** Teste de patogenicidade em frutos de tomate. A: Fruto ferido e inoculado com *C. coccodes*; B: fruto ferido e não inoculado.

**TABELA 1:** Comparações entre o tratamento controle e os outros tratamentos originados das combinações entre isolados e temperaturas realizados pelo teste de Dunnet ( $P < 0,05$ ).

Tratamentos	Teste de Dunnet ( $P < 0,05$ )
CML69 - 10 °C	0,20 <sup>ns</sup>
CML69 - 15 °C	0,87*
CML69 - 20 °C	2,09*
CML69 - 25 °C	1,03*
CML 69 - 30 °C	0,94*
CML 71 - 10 °C	0,00 <sup>ns</sup>
CML 71 - 15 °C	1,70*
CML 71 - 20 °C	1,79*
CML 71 - 25 °C	2,33*
CML 71 - 30 °C	2,10*
CML 302 - 10 °C	0,10 <sup>ns</sup>
CML 302 - 15 °C	1,19*
CML 302 - 20 °C	1,55*
CML 302 - 25 °C	1,74*
CML 302 - 30 °C	2,54*

\* Houve diferença estatística entre os tratamentos, a 5% de probabilidade

<sup>ns</sup> – Não houve diferença estatística entre o tratamento e a testemunha.

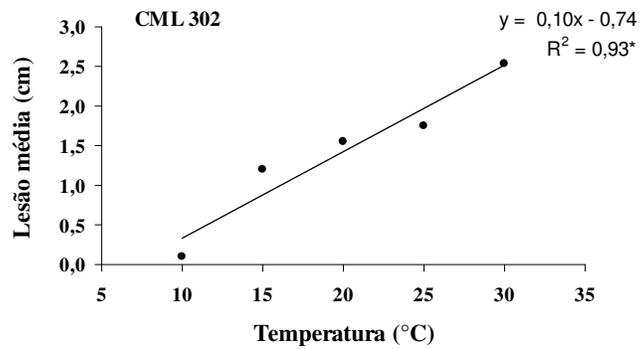
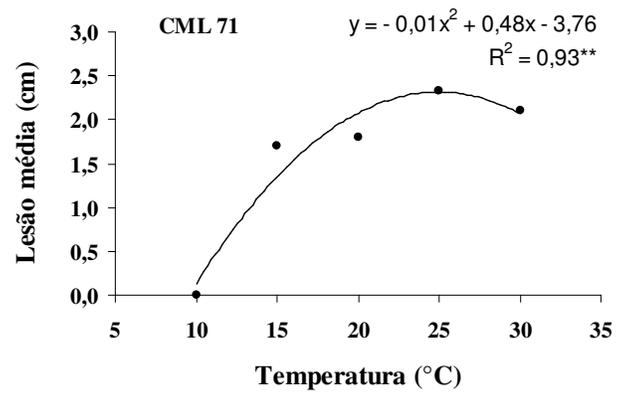
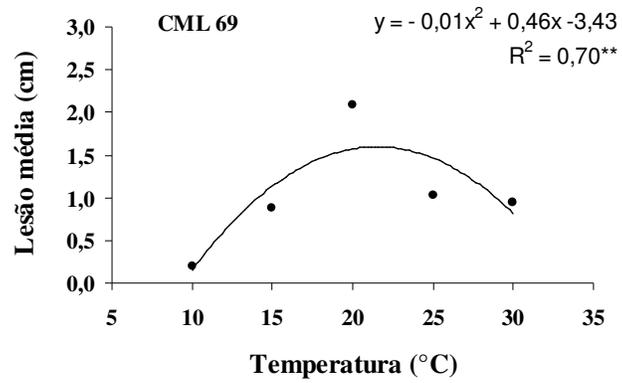
Comparação de médias feitas pelo Programa GENES evidencia que, com exceção da temperatura de 10°C, os isolados comportaram-se diferentemente, apresentando pontos de máximo desenvolvimento das lesões distintos, sob cada temperatura estudada, de acordo com o teste de Tukey, a 5% de significância (Tabela 2).

O teste de patogenicidade implicou em diferentes valores para os pontos de máxima severidade da doença, sendo de 24,84°C, 21,46°C e 30°C para os respectivos isolados CML 69, CML 71 e CML 302 (Figura 2).

**TABELA 2:** Comparação de médias das lesões de frutos de tomate feridos e inoculados com isolados de *Colletotrichum coccodes*.

Isolados	Temperaturas				
	10	15	20	25	30
CML 69	0,20 a	0,87 b	2,09 a	1,03 c	0,94 b
CML 71	0,10 a	1,70 a	1,79 ab	2,33 a	2,10 a
CML 302	0,00 a	1,19 b	1,55 b	1,74 b	2,54 a
CV =	9.35				

Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade – Média de quatro repetições.



**FIGURA 2:** Influência da temperatura na severidade de podridão em frutos de tomateiro (*Solanum esculentum*), causada por isolados de *C. coccodes*.

## 6 DISCUSSÃO

Os resultados do estudo de patogenicidade demonstraram que a temperatura influencia significativamente na infecção e no desenvolvimento de lesões em frutos pós-colheita de tomateiro causadas por isolados de *C. coccodes*.

A influência da temperatura na esporulação e a patogenicidade em frutos de tomate injuriados foram observadas para 29 isolados de *C. coccodes* que se mostraram patogênicos a esses frutos, principalmente quando estes eram expostos a intensidades maiores de luz, pois esta favorecia uma maior esporulação do fungo (Barksdale, 1967).

A inoculação de um único isolado de *C. coccodes* em frutos de tomate mostrou que o máximo desenvolvimento da lesão era observado na temperatura de 28°C e que, em temperaturas abaixo de 7°C não havia o desenvolvimento de lesões, assim como sob aquelas acima de 28°C, decresciam significativamente (Dillard, 1989). Testes de patogenicidade em frutos de tomate também foram feitos por Fulton (1948) que, inoculando *C. phomoides* em frutos maduros, observou que o melhor desenvolvimento de lesões acontecia na temperatura de 27°C. Este valor se enquadra dentro da variação entre os valores de máxima severidade da doença para os diferentes isolados aqui testados.

Outro experimento realizado com frutos de tomate e pimentão, com e sem ferimentos, inoculados com isolados de *C. coccodes*, mostrou que apenas os frutos que eram submetidos à inoculação com ferimento apresentavam lesões típicas de antracnose (Costa et al., 2005).

A influência da temperatura também pôde ser verificada em experimentos conduzidos com frutos de tomate inoculados com *Fusarium verticillioides*, *Geotrichum candidum* e *Rhizopus stolonifer*. Todos esses patógenos manifestaram podridão em frutos de tomate e tiveram seus pontos de

máxima severidade da doença na temperatura de 25°C (Silveira et al., 2001). Essa temperatura já é bem conhecida como favorável ao desenvolvimento de lesões, uma vez que a maioria dos fungos fitopatogênicos cresce e esporula com facilidade nessa faixa.

Resultados de testes de patogenicidade em frutos de tomate mostraram que os sintomas são observados mesmo quando frutos ainda estão em fase de desenvolvimento no campo. Plantas de tomate introduzidas em solo naturalmente infestado, em condições de atmosfera controlada, desenvolveram sintomas de antracnose em frutos, embora, nas parcelas onde não ocorreu chuva, os sintomas não tenham sido observados, pois, conídios de *C. coccodes* necessitam de água para iniciar o processo de germinação e infecção (Sanogo et al., 1997).

Injúrias são pré-requisitos para que o patógeno se estabeleça em frutos de tomate e possa causar lesões de antracnose. Nesse experimento, frutos não feridos, em qualquer temperatura testada, não manifestaram sintomas da doença quando inoculados com isolados de *C. coccodes*. Ao contrário do observado em experimento anterior, em que *C. phomoides*, sinônimo de *C. coccodes*, não precisava de injúrias para iniciar o processo de infecção de frutos de tomate (Fulton, 1948).

Além de frutos de tomate, tanto em campo como na fase pós-colheita, *C. coccodes* também infecta e é responsável por sintomas como “black dot” nas raízes do tomateiro, murchas e tombamento de plantas. Isso foi observado em experimento realizado nos Estados Unidos, quando a presença de *C. coccodes* em raízes de plantas de tomateiro, plantadas em solo naturalmente infestado, foi constatada aos 30 e 37 dias após o plantio, período esse que corresponde à abertura das flores. A podridão foi severa na pós-colheita, havendo produção abundante de microesclerócios em raízes. *C. coccodes* foi

isolado de 38% e 44% dos segmentos das raízes nos anos de 1993 e 1994, respectivamente (Dillard & Cobb, 1997).

Como o Brasil é um país com extensão continental, apresentando as mais diversas condições climáticas nas regiões produtoras de tomate, fica evidenciado o potencial que este fitopatógeno apresenta para os produtores dessa hortaliça. A habilidade que isolados de *C. coccodes* apresentam em incitar antracnoses em frutos pós-colheita de tomate, mostrando pontos ótimos de desenvolvimento da doença variando em até 10°C, sugere que populações desse patógeno têm uma alta variabilidade genética. Isso é preocupante na medida em que fica claro o seu potencial de adaptar-se a diferentes temperaturas.

Práticas de manejo que envolvam o controle das variáveis, tais como evitar ferimentos nos frutos durante a colheita, transporte e armazenamento, e utilizar caixas novas ou eficientemente desinfestadas, constituem medidas importantes para reduzir o número de propágulos viáveis dos patógenos causadores de podridões no ambiente de pós-colheita.

## 7 CONCLUSÕES

1. *Colletotrichum coccodes* causa antracnoses em frutos de tomate maduros, quando feridos.
2. A temperatura influencia significativamente o desenvolvimento de antracnose causada por *C. coccodes* em frutos de tomate.
3. Os isolados de *C. coccodes* apresentaram diferentes temperaturas ótimas para o desenvolvimento de antracnose, mostrando alta adaptabilidade para esse fator.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRIVON, D. et al. Distribution and fungicide sensitivity of *Colletotrichum coccodes* in French potato-producing areas. **Plant Pathology**, Oxford, 46, p.722-728, 1997.

ANDRIVON, D. et al. Colonization of roots, stolons, tubers and stems of various potato (*Solanum tuberosum*) cultivars by the Black dot fungus *Colletotrichum coccodes*. **Plant Pathology**, Oxford, v.47, p.440-445, 1998.

BARKSDALE, T.H. Light-induced in vitro of *Colletotrichum coccodes* causing tomato anthracnose. **Phytopathology**, v.57, p.1173-1175, 1967.

CHESTERS, C.G.C.; HORNBY, D. Studies on *Colletotrichum coccodes*. I. The taxonomic significance of variation in isolates from tomato roots. **Transactions of the British Mycological Society**, v.48, p.573-581, 1965.

COLQUHOUN, T.T. Black dot root rot of tomatoes. **Journal of Agriculture of South Australia**, v.44, p.572-575, 1941.

COSTA, M.H.D. et al. Patogenicidade de *Colletotrichum coccodes* em frutos de tomate (*Lycopersicon esculentum*) e pimentão (*Capsicum annum*). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.30, p.140, 2005. Suplemento.

CULLEN, D.W. et al. Detection of *Colletotrichum coccodes* from soil and potato tubers by conventional and quantitative real-time PCR. **Plant Pathology**, Oxford, v.51, p.281-292, 2002.

DAVIS, J.R. et al. *Colletotrichum coccodes* on potato foliage, the association with metribuzin, yield losses, and colonization of tubers. **American Potato Journal**, v.65, p.457-466, 1988.

DILLARD, H.R. Influence of temperature, pH, osmotic potential, and fungicide sensitivity on germination of conidia and growth from sclerotia of *Colletotrichum coccodes* in vitro. **Phytopathology**, v.78, p.1357-1361, 1988.

DILLARD, H.R. Effect of temperature, wetness duration, and inoculum density on infection and lesion development of *Colletotrichum coccodes* on tomato fruit. **Phytopathology**, v.79, p.1063-1066, 1989.

DILLARD, H.R.; COBB, A.C. Disease progress of Black dot on tomato roots and reduction in incidence with foliar applied fungicides. **Plant Disease**, St Paul, v.81, p.1439-1442, 1997.

DILLARD, H.R.; COBB, A.C. Survival of *Colletotrichum coccodes* in infected tomato tissue and in soil. **Plant Disease**, St Paul, v.82, p.235-238, 1998.

FAGBOLA, O.; ABANG, M.M. *Colletotrichum circinans* and *Colletotrichum coccodes* can be distinguished by DGGE analysis of PCR-amplified 18S rDNA fragments. **African Journal of Biotechnology**, v.3, p.195-198, 2004.

FULTON, J.P. Infection of tomato fruits by *Colletotrichum phomoides*. **Phytopathology**, v.38, p.235-246, 1948.

HORNBY, D. Studies on *Colletotrichum coccodes* III. Some properties of the fungus in soil and in tomato roots. Transactions of the British Mycological Society, v.51, p.541-553, 1968.

JOHNSON, D.A.; MILIEZKY, E.R. Effects of wounding and wetting duration on infection of potato foliage by *Colletotrichum coccodes*. **Plant Disease**, St Paul, v.77, n.1, p.13-17, 1993.

KUROZAWA, C.; PAVAN, M.A. Doenças do tomateiro. In: KIMATI, H. et al. **Manual de fitopatologia, doenças de plantas cultivadas**, 2005. v.2I, p.607-626.

LOPEZ, A.M.Q. Taxonomia, patogênese e controle de espécies do gênero *Colletotrichum*. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. Passo Fundo, v.9, p.291-338, 2001.

LEES, A.K.; HILTON, A.J. Black dot (*Colletotrichum coccodes*): an increasingly important disease of potato. **Plant Pathology**, Oxford, v.53, p.3-12, 2003.

MARTINS, M.F. et al. Efeito da temperatura e de meios de cultura no crescimento, esporulação e germinação de conídios de *Colletotrichum coccodes*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.25, p.391-392, 2000. Suplemento.

MENDES, M.A.S. et al. **Fungos em plantas no Brasil**. Brasília: Embrapa-SPI, 1998. 555p.

NITZAN, N. et al. Vegetative compatibility groups in *Colletotrichum coccodes*, the causal agent of black dot on potato. **Phytopathology**, v.92, p.827-832, 2002.

REIFSCHNEIDER, F.J.B.; SIQUEIRA, C.B.; CORDEIRO, C.M.T. **Índice de doenças de hortaliças no Brasil, bactérias e fungos**. Brasília: EMBRAPA/CNPH, 1983. v.1, 155p.

SANOGO, S. et al. Weather variables associated with infection of tomato fruit by *Colletotrichum coccodes*. **Plant Disease**, St Paul, v.81, p.753-756, 1997.

SAS Institute. **SAS technical report SAS/STAT software: changes and enhancement release 607**. Cary Nc: SAS Institute, 1992.

SILVEIRA, N.S.S. et al. Influência da temperatura, período de molhamento e concentração de inóculo de fungos na incidência de podridões pós-colheita em frutos de tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.26, p.33-38, 2001.

SIQUEIRA, C.B.; REIFSCHNEIDER, F.J.B.; CORDEIRO, C.M.T. **Índice de doenças de hortaliças no Brasil, bactérias e fungos**. Brasília: EMBRAPA/CNPH, 1985. v.2, 89p.

TSROR (LAHKIM), L.; JOHNSON, D.A. *Colletotrichum coccodes* on potato. In.: PRUSKY, D.; FREEMAN, S.; DICKMAN, M.B. (Ed.). ***Colletotrichum* host specificity, pathology, and host-pathogen interaction**. St. Paul, MN, USA: APS, 2000. p.362-373.

TU, J.C. The ontogeny of the sclerotia of *Colletotrichum coccodes*. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v.58, p.631-636, 1980.

## **CAPÍTULO 4**

### **PROGRESSO DE “BLACK DOT” EM PLANTAS DE BATATA (*Solanum tuberosum*)**

## 1 RESUMO

COSTA, M.H.D. Progresso de “black dot” em plantas de batata (*Solanum tuberosum*) In:\_\_\_\_\_. **Morfologia e patogenicidade de *Colletotrichum coccodes* em frutos de tomate e plantas de batata.** 2006. Cap. 4. p. 59-81. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

*Colletotrichum coccodes* (Wallr.) S.J. Hughes é um patógeno da batata que infecta todos os seus órgãos. O objetivo deste trabalho foi estudar o progresso temporal do “black dot” em plantas de batata, utilizando três isolados do patógeno. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com 5 repetições por avaliação. Mudanças com 20 dias de idade tiveram suas raízes imersas em uma suspensão de conídios de  $1 \times 10^6$  conídios/mL, por 20 segundos. Após a transferência das plantas para vasos contendo solo autoclavado, os mesmos foram acondicionados em casa de vegetação. Avaliações foram feitas semanalmente a partir do sétimo dia, medindo-se a altura da planta, o comprimento de raiz e de tubérculo e observando-se o aparecimento de sintomas. O patógeno foi re-isolado das partes avaliadas a cada avaliação, que se estendeu por 12 semanas. Os sinais do patógeno e o re-isolamento dos isolados foram possíveis a partir dos 14 dias para os três isolados testados. As plantas testemunhas não apresentaram sinais ou sintomas da doença em nenhuma das avaliações. As variáveis quantitativas em influência mútua com o fator tempo tiveram interação significativa de acordo com o teste de F (0,05%). No geral, os isolados CML 69 e CML 71 foram os mais agressivos. Os tubérculos não só apresentaram redução da qualidade visual como tiveram seu peso reduzido. As raízes foram as primeiras a manifestar sintomas da doença, possivelmente por representarem o local inicial da infecção. Plantas inoculadas com o isolado CML 69 tiveram o menor crescimento radicular, bem como perderam suas raízes nas últimas semanas do ensaio por podridão. Plantas testemunhas diferiram dos demais tratamentos a partir da quarta semana. A reprodução de sinais e sintomas da doença em plantas de batata mostra que *C. coccodes* pode infectar e causar “black dot”, sob condições brasileiras.

---

\* Comitê de orientação: Ludwig H. Pfenning – UFLA (Professor orientador)  
Edson Ampélio Pozza – UFLA (Co-orientador).

## 2 ABSTRACT

COSTA, M.H.D. Progress of black dot in potato plants (*Solanum tuberosum*). In: \_\_\_\_\_. **Morphology and pathogenicity of *Colletotrichum coccodes* in fruits of tomato and plants of potato**. 2006. Chapter 4. p. 58-81. Dissertation (Master in Agronomy/Plant Pathology) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

*Colletotrichum coccodes* (Wallr.) S.J. Hughes is a versatile potato pathogen since it can infect all plant organs. The objective of the present work was to assess the temporal progress of black dot in potato plants using three isolates of *C. coccodes*. The experimental design used was random blocks with five replicates. Plantlets 20 days old had their roots immersed in a spore suspension,  $10^6$  conidia . mL<sup>-1</sup>, during 20 seconds. Plants were then transferred to pots with autoclaved soil and maintained in greenhouse conditions. Plants were evaluated weekly starting from the seventh day after inoculation regarding plant height, root and tuber length, as well as typical disease symptom development. The pathogen was recovered from the plant sites evaluated during the entire assessment period of 12 weeks, with typical structures of *C. coccodes* starting to appear from plant tissues 14 days after the inoculation of the fungus. The three tested isolates were recovered. Non inoculated control plants did not develop symptoms nor re-isolations of the fungus was possible during the entire evaluation period. Quantitative variables in mutual influence with the time had significant interaction in the F test (0.05 %). Generally, the isolates CML 69 and CML 71 were the most virulent. Tubers of diseased plants had their weight and visual quality reduced. The roots were the first plant part to present symptoms, attributed to the fact that they were the initial site of infection. Plants inoculated with isolate CML 69 had a smaller root length when compared with plants inoculated with the other isolates. These plants had root rot at the end of the evaluation period. Control plants began to present significant statistical differences, in comparison with the inoculated plants, for the variables analyzed after the fourth week of evaluation. The reproduction of symptoms of black dot in potato plants under controlled conditions shows that *C. coccodes* has the potential to infect and to cause losses in field conditions of Brazil.

---

\* Advising Committee: Ludwig H. Pfenning – UFLA (Adviser)  
Edson Ampélio Pozza – UFLA (Co-adviser).

### 3 INTRODUÇÃO

A espécie *Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum*, cultivada no mundo inteiro, teve como centro de origem a vizinhança do lago Titicaca, próximo à atual fronteira entre o Peru e a Bolívia. Essa cultura, com o tempo, foi disseminada pela maioria das regiões tropicais e subtropicais do planeta, tornando-se a base da alimentação de muitos povos. Atualmente, a batata é considerada a quarta fonte de alimentação da humanidade, logo após o arroz, o trigo e o milho (Filgueira, 2003).

Com o aumento da produção e do consumo da batata, diversos problemas de natureza biótica surgiram, dentre esses, as doenças que culminam em perdas causadas em campos e na pós-colheita. Esse trabalho destaca “black dot”, doença caracterizada pela produção abundante de microesclerócios pretos que se desenvolvem em tubérculos, estolões, raízes e no caule de plantas de batata (Stevenson et al., 2001).

“Black dot” em plantas de batata é causado por *Colletotrichum coccodes* (Wallr.) Hughes (Fagbola & Abang, 2004) e foi considerada uma doença secundária até meados de 1990, quando surgiram relatos de sua ocorrência na África do Sul, França e Israel e de impacto econômico crescente causado por perdas na produção (Nitzan et al., 2002).

O fungo pode ser observado em diversos países, causando problemas em culturas principalmente da família Solanaceae. Em batata, foi relatado nos Estados Unidos, Chile, Europa, Austrália, Sul da África, Índia e Israel e em tomate nos Estados Unidos, Canadá e alguns países da Europa, como a França (Thirumalachar, 1967; Stevenson et al., 1976; 2001; Barkdoll & Davis 1992; Johnson, 1994; Andrivon et al., 1998).

A doença é bem caracterizada por diversos sinais e sintomas, dentre eles o desenvolvimento abundante de microesclerócios pretos na superfície de órgãos subterrâneos de plantas de batata, principalmente quando esses entram em estágio de senescência, o amarelecimento da parte aérea, podridão de raízes e, eventualmente, morte prematura da planta. O inóculo inicial do fungo pode estar no solo, em batatas semente e em partes subterrâneas e aéreas das plantas (Tsror & Johnson, 2000).

No Brasil, *C. coccodes* ocorre em campos de batata, tomate e pimentão, causando sintomas em raiz, tubérculos, folhas, frutos e caules. Esse fungo não é citado na literatura brasileira, até o momento, como um patógeno de grande importância econômica. Entretanto, devido aos numerosos registros da doença em várias partes do mundo, é considerado imperativo o estudo do patossistema no Brasil. A doença deve ser monitorada com grande atenção.

O presente estudo teve como objetivo avaliar o progresso temporal de “black dot” em plantas de batata, reproduzir e identificar os sintomas e estudar o comportamento dos isolados em condições brasileiras.

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Isolados e obtenção do inóculo**

Culturas puras de *C. coccodes*, isolados CML 69, CML 71 e CML 302, foram mantidas, por 8 dias, em meio V-8. Em seguida, 10mL de água destilada e autoclavada foram adicionados nas placas e a suspensão filtrada com o auxílio de gaze dupla. A contagem dos conídios foi feita em câmara de Newbauer, para ajuste da concentração em  $1 \times 10^6$  conídios/mL.

### **4.2 Obtenção das mudas**

Plantas de batata, cultivar Monalisa, foram obtidas por cultura de tecido no Laboratório de Cultura de Tecidos do Departamento de Fitotecnia da UFLA. Essas foram aclimatadas até que suas raízes estivessem bem desenvolvidas, com aproximadamente 20 dias de idade.

### **4.3 Inoculação das plantas**

As mudas tiveram suas raízes imersas em suspensão de conídios por 20 segundos e transferidas para vasos contendo solo autoclavado. Plantas com raízes imersas em água estéril e autoclavada foram usadas como testemunhas. A avaliação foi feita por 12 semanas consecutivas. Cinco plantas por tratamento foram avaliadas semanalmente, sendo a análise destrutiva iniciada sete dias após a inoculação. Foram registradas as alturas das plantas, o comprimento da maior raiz e o comprimento do tubérculo, incidência e observação de sintomas em diferentes partes da planta e re-isolamento do fungo. O delineamento

experimental foi em blocos ao acaso, em esquema fatorial de 4 x 12, com três isolados mais uma testemunha e 12 o número de semanas de avaliações, com 5 repetições. As plantas foram mantidas, durante todo o experimento, entre os meses de maio a julho, em casa de vegetação, com temperaturas médias de máxima e mínima de 15°C e 35°C, medidas com auxílio de um termômetro, respectivamente.

#### **4.4 Avaliação**

Foram realizados três tipos de avaliação: avaliação destrutiva das plantas, em que foram medidos altura das plantas, comprimento da maior raiz e comprimento do maior tubérculo; visualização dos sintomas ou sinais do patógeno nas raízes, caules e tubérculos e confirmação dos postulados de Koch pelo re-isolamento do patógeno das raízes, caules e tubérculos. Para essa última etapa, fragmentos escolhidos ao acaso desses órgãos foram desinfestados por imersão em álcool 50% por 1 minuto e NaClO 0,05% por 1 minuto, enxaguados em água esterilizada e, em seguida, plaqueados em meio MA 2% e mantidos em temperatura ambiente de  $\pm 22^{\circ}\text{C}$  por, aproximadamente, 8 dias.

#### **4.4 Análise de dados**

Os dados referentes à altura da planta, comprimento de raiz e comprimento do tubérculo foram submetidos à análise de variância, com auxílio do programa SISVAR e as médias de cada uma dessas variáveis comparadas pelo teste de Tukey. Modelos de regressões para essas variáveis foram criados quando as interações entre isolado x tempo eram significativas.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Avaliação visual dos sinais ou sintomas da doença e re-isolamento de *C. coccodes*

Os sintomas do patógeno foram observados aos 14, 28 e 35 dias após a inoculação em raízes, caules e tubérculos, respectivamente, exceto os isolados CML 71 e CML 302, que apresentaram esses sinais nos tubérculos somente após 49 dias. Em nenhuma das avaliações as plantas testemunhas apresentaram sinais ou sintomas da doença (Tabela 1). Microesclerócios foram produzidos em abundância nas raízes, característica típica de “black dot”, causando podridão na maioria das vezes (Figura 1 - B). Caules e tubérculos não foram afetados por podridão; somente houve produção intensa dos microesclerócios e redução do tamanho dos tubérculos para aquelas plantas inoculadas com *C. coccodes* (Figura 1 – D e F). O re-isolamento do fungo foi possível, a partir dos 7 dias, para raízes e tubérculos de todos os isolados e, aos 14 e 21 dias, para o caule dos isolados CML 71 e CML 302, respectivamente. *C. coccodes* não foi isolado de nenhuma das partes das plantas testemunhas, como se esperava (Tabela 2).

**TABELA 1:** Sintomas de “black dot” em plantas de batata.

Dias após a inoculação	Tratamentos											
	CML 69			CML 71			CML 302			Testemunha		
	ST	SR	SC	ST	SR	SC	ST	SR	SC	ST	SR	SC
7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
14	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
21	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-
28	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-
35	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-
42	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-
49	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
56	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
63	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
70	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
77	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
84	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-

ST - sintoma no tubérculo; SR - sintoma na raiz; SC - sintoma no caule  
(+) sintoma observado (-) sintoma não observado

**TABELA 2:** Re-isolamento de *Colletotrichum coccodes* de plantas de batata inoculadas.

Dias após a inoculação	Tratamentos											
	CML 69			CML 71			CML 302			Testemunha		
	RT	RR	RC	RT	RR	RC	RT	RR	RC	RT	RR	RC
7	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-
14	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
21	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
28	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
35	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
42	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
49	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
56	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
63	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
70	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
77	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
84	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-

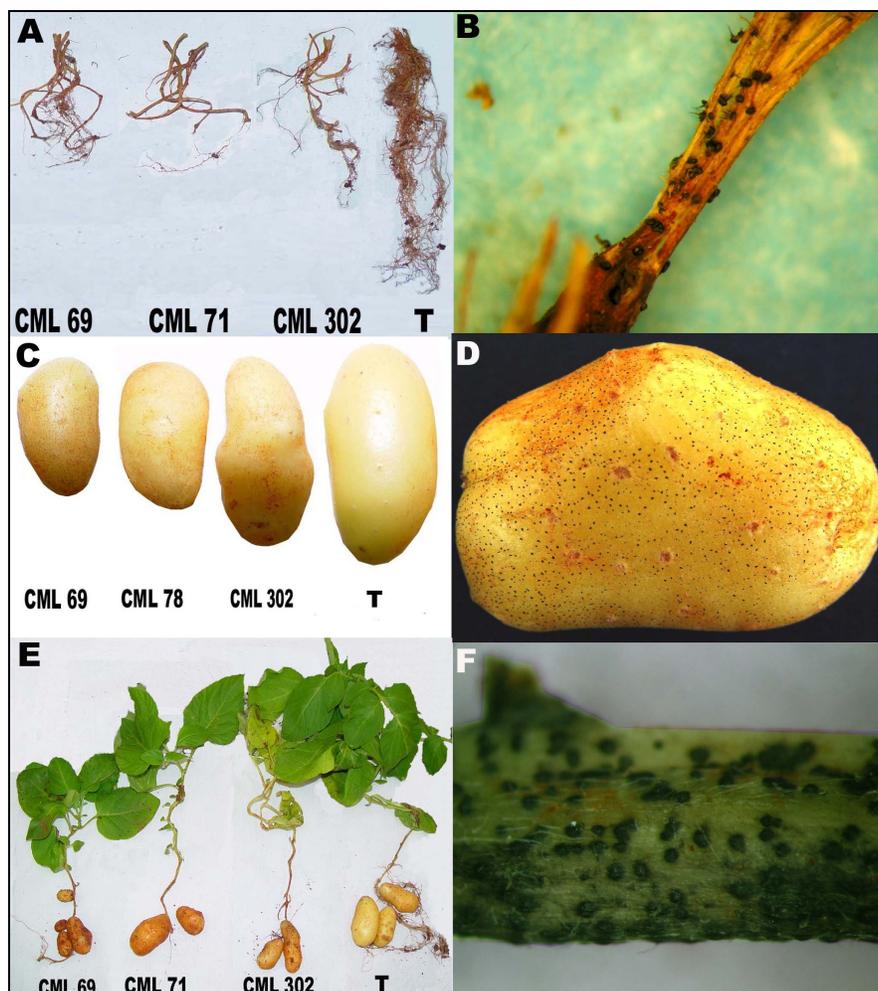
RT - re-isolamento do tubérculo; RR – re-isolamento da raiz; RC – re-isolamento do caule; (+) fungo re-isolado (-) fungo não re-isolado.

## **5.2 Influência de *C. coccodes* sobre o comprimento de raízes, tubérculos e altura de plantas de batata inoculadas.**

O efeito da inoculação de *C. coccodes* sobre as variáveis quantitativas, referentes a comprimento de raízes e tubérculos e altura de plantas de batata foi significativo, assim como as interações entre isolados e tempos de avaliação (Tabela 3A, 4A e 5A). Os tubérculos não somente apresentaram perdas qualitativas, devido à intensa produção de microesclerócios em sua superfície, como tiveram seus comprimentos reduzidos pela inoculação de plantas com *C. coccodes*. Essa redução não foi observada em plantas testemunhas, que desenvolveram tubérculos sadios e maiores que os dos demais tratamentos (Figura 1 - C). Essa diferença só foi observada a partir da quarta semana de avaliação (Tabela 3).

As raízes foram as primeiras a manifestar os sintomas da doença, possivelmente por representarem o local inicial da infecção. Embora *C. coccodes* tenha sido re-isolado desde a primeira semana de avaliação, a observação do sintoma pôde ser feita somente a partir dos 14 dias de inoculação. Plantas inoculadas com o isolado CML 69 tiveram o menor crescimento radicular e perderam suas raízes nas últimas semanas de avaliação, em decorrência de podridões (Tabela 4). No geral, plantas testemunhas apresentaram raízes maiores e mais abundantes que as demais plantas inoculadas com *C. coccodes* (Figura 1 - A).

A altura das plantas foi influenciada pelos isolados testados. A partir da quinta semana, foi possível diferenciar os efeitos do patógeno sobre o crescimento vegetativo de plantas de batata, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade (Tabela 5). Plantas testemunhas cresceram mais vigorosas, atingiram médias de altura superiores e não desenvolveram sintomas de amarelecimento na folhagem (Figura 1 - E).



**FIGURA 1:** Estudo de “black dot” em plantas de batata. A: comprimento de raiz; B: sintoma na raiz; C: comprimento dos tubérculos; D: sintoma no tubérculo; E: altura de plantas; F: sintoma no caule.

**TABELA 3:** Comprimento em centímetro dos tubérculos de plantas de batata inoculadas com *Colletotrichum coccodes*

Dias após a inoculação	Tratamentos			
	CML 69	CML 71	CML 302	Testemunha
7	1,0 a	1,4 a	1,4 a	2,0 a
14	1,4 a	1,8 a	1,8 a	2,4 a
21	2,0 a	2,2 a	2,8 a	2,6 a
28	2,4 ab	2,6 ab	2,2 a	3,4 b
35	2,8 a	2,8 a	3,4 a	3,2 a
42	3,0 a	4,0 ab	3,6 a	4,8 b
49	4,4 a	3,8 a	4,2 a	5,6 b
56	4,4 ab	3,4 a	4,8 b	6,0 c
63	4,6 a	5,4 ab	4,8 a	6,2 b
70	5,2 b	4,0 a	6,0 b	7,2 c
77	5,0 a	4,6 a	5,0 a	7,8 b
84	5,4 a	4,6 a	5,4 a	8,8 b

\*Médias seguidas da mesma letra, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

**TABELA 4:** Comprimento em centímetro das raízes de plantas de batata inoculadas com *Colletotrichum coccodes*

Dias após a inoculação	Tratamentos			
	CML 69	CML 71	CML 302	Testemunha
7	10,6 a	10,6 a	8,6 a	11,0 a
14	11,2 a	11,0 a	11,4 a	13,0 a
21	11,6 a	10,4 a	10,0 a	12,2 a
28	8,6 a	8,2 a	9,2 a	12,4 b
35	9,8 ab	8,8 a	10,8 ab	14,0 b
42	11,2 a	10,0 a	11,6 a	13,8 a
49	10,0 a	8,0 a	9,4 a	15,4 b
56	12,8 ab	8,6 a	14,8 b	20,0 c
63	10,2 a	14,6 ab	15,6 b	20,8 c
70	3,8 a	7,4 a	21,6 b	25,8 b
77	6,0 a	18,8 b	17,6 b	29,4 c
84	1,4 a	12,8 b	17,6 b	34,2 c

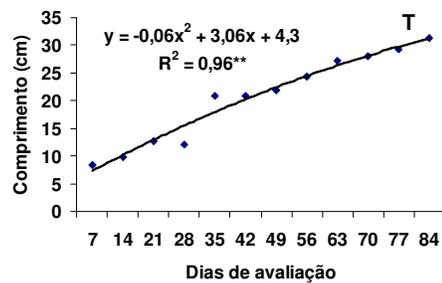
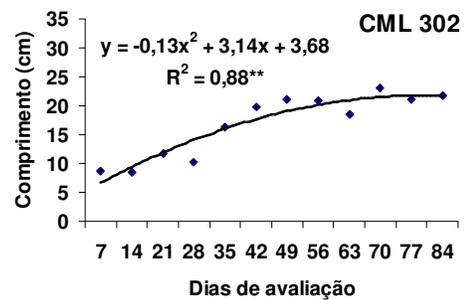
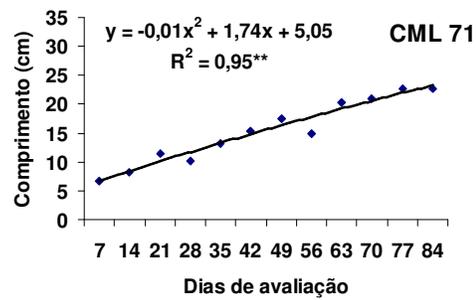
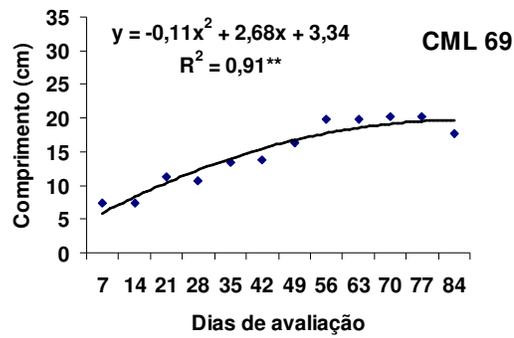
\*Médias seguidas da mesma letra, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

**TABELA 5:** Altura, em centímetro, das plantas de batata inoculadas com *Colletotrichum coccodes*.

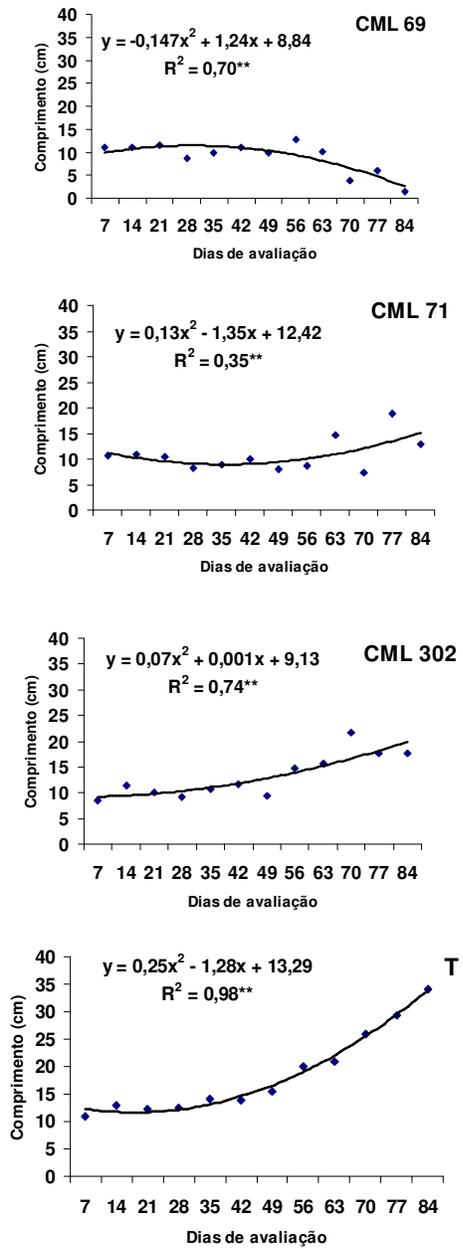
Dias após a inoculação	Tratamentos			
	CML 69	CML 71	CML 302	Testemunha
7	7,4 a	6,8 a	8,6 a	8,4 a
14	7,4 a	8,2 a	8,4 a	9,8 a
21	11,2 a	11,4 a	11,8 a	12,6 a
28	10,6 a	10,2 a	10,2 a	12,0 a
35	13,4 a	13,2 a	16,2 a	20,8 b
42	13,8 a	15,4 a	19,8 b	20,8 b
49	16,4 a	17,6 ab	21,0 bc	22,0 c
56	19,8 b	15,0 a	20,0 bc	24,4 c
63	19,8 a	20,4 a	18,4 a	27,2 b
70	20,2 a	21,0 a	23,0 a	28,0 b
77	20,2 a	22,6 a	21,0 a	29,2 b
84	17,6 a	22,6 b	21,8 b	31,4 c

\*Médias seguidas da mesma letra, na linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

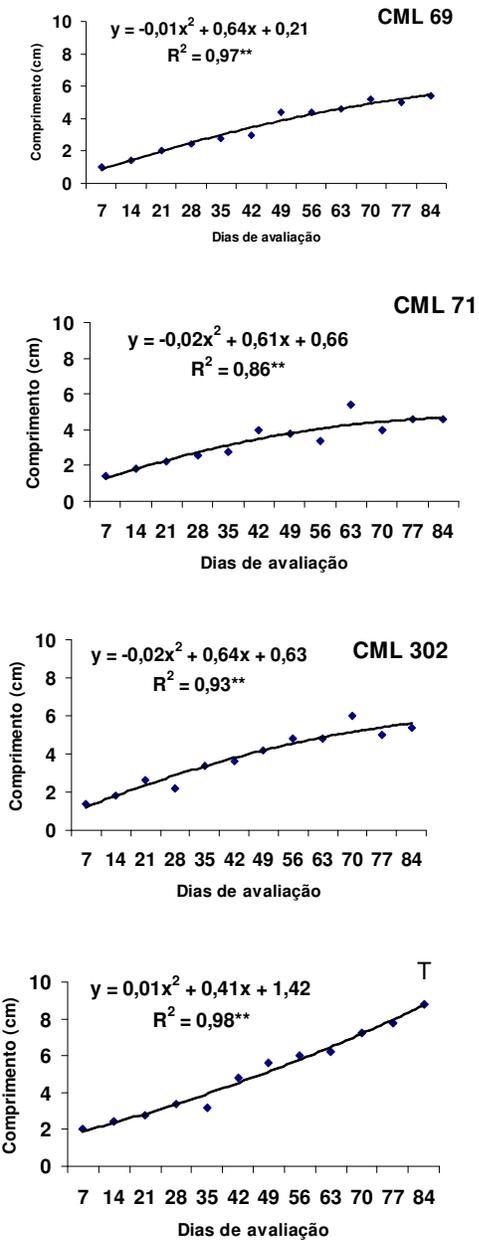
As variáveis comprimento de raiz, comprimento de tubérculo e altura de planta, em influência mútua com o fator tempo, tiveram interações significativas, de acordo com a análise de variância feita para cada uma delas. Para essa interação, modelos de regressão quadráticos foram construídos (Figuras 1, 2 e 3). Na análise, observou-se que o  $R^2$  calculado para o comprimento de raízes foi o menor, com valores de 0,7039; 0,353; 0,7453 para os tratamentos CML 69, CML 71, CML 302, respectivamente.



**FIGURA 2:** Altura de plantas de batata inoculadas com isolados de *C. coccodes*



**FIGURA 3:** Comprimento da maior raiz de plantas de batata inoculadas com isolados de *C. coccodes*



**FIGURA 4:** Comprimento do maior tubérculos de plantas de batata inoculadas com isolados de *C. coccodes*

## 6 DISCUSSÃO

O “black dot”, nos tubérculos de batata infectados por *C. coccodes*, causa uma redução na qualidade da casca, resultando na rejeição do produto por parte do consumidor. A infecção pode também causar limitação na produção e na perda de peso dos tubérculos no armazenamento (Andrivon et al., 1998). Assim como foi observado neste estudo, as plantas de batata que não foram inoculadas com isolados de *C. coccodes* tiveram os maiores comprimentos de tubérculos e raízes diferindo significativamente dos demais tratamentos.

Todas as partes subterrâneas das plantas de batata foram susceptíveis à infecção por *C. coccodes*. Esses resultados também foram observados por pesquisadores da França (Glais et al., 2004; Andrivon et al., 1998), Reino Unido (Less & Hilton, 2003), Estados Unidos (Raid & Pennypacker, 1987; Johnson et al., 1997) e Israel (Tsrer, 2004; Nitzan et al., 2002). Artigos anteriores sugerem que raízes, estolões, caules e tubérculos filhos foram colonizados pelo crescimento interno de micélio, desenvolvido em batatas sementes infectadas, pelo contato de partes saudáveis com fragmentos infectados (Andrivon et al., 1998).

Estudos sobre a incidência de *C. coccodes* em batata-semente certificada plantada no estado de Washington (EUA) evidenciaram transmissão para partes áreas ainda livres desse patógeno, por meio de tubérculos contaminados (Johnson et al., 1997). A mesma constatação foi feita por Tsrer (Lahkim) et al. (1999), quando observaram que a introdução de *C. coccodes* no solo se deu por meio de batata-semente contaminada. Tubérculos contaminados podem levar a uma infecção precoce da planta.

Embora, neste experimento, não tenha sido verificado o peso dos tubérculos, percebeu-se que esses tinham o seu tamanho reduzido para todas as

plantas inoculadas com isolados de *C. coccodes*. Experimento anterior mostra que tubérculos com mais de 60% de infecção, causada por *C. coccodes*, perderam, em média, 10% de peso fresco após 18 semanas de armazenamento, enquanto tubérculos com 0% a 1% de infecção perderam somente 5%. Esse fato se deve a danos na periderme, que levam ao aumento da permeabilidade da casca. A redução no peso dos tubérculos podia ser observada logo que esses eram colhidos (Hunger & McIntyre, 1979).

A ausência de sinais e sintomas não significa que não haja infecção das plantas por *C. coccodes*, como foi constatado em vários experimentos conduzidos no Reino Unido, em campos naturalmente ou artificialmente infestados (Read & Pennypacker, 1987).

A inoculação artificial da folhagem da batata com *C. coccodes* foi apresentada como causa de significantes perdas no campo no estado de Washington, EUA. Em experimentos de campo nos anos de 1991, 1992 e 1993, Johnson (1994) notou perdas de 7%, 12% e 11% no campo, respectivamente, para a cultivar Russett Burbank. Em dois experimentos em casa de vegetação, as perdas foram de 32% e 19%, respectivamente. Tsrer (Lahkim) et al. (1999) observaram significantes reduções no campo de 22% a 30%, em cinco cultivares plantadas sob inoculação artificial no solo.

Quando a batata semente infectada foi plantada em vasos mantidos em casa de vegetação, sintomas iniciais foram observados nas raízes, caules e estolões 2, 8 e 8 semanas após o plantio, respectivamente (Andrivon et al., 1998). Para os valores aqui observados, esse aparecimento foi visto na segunda, quarta e quinta semanas, para as raízes, caules e tubérculos. Esse rápido desenvolvimento de sintomas nas raízes tem levado à especulação de que esse órgão supre o local inicial da infecção (Komm & Stevenson, 1978). Recentes experimentos têm apontado que ambas as plantações de batata sementes, não inoculadas e plantadas em solos infestados e batatas-sementes infectadas

plantadas em solo sem *C.coccodes*, em casa de vegetação, resultaram em uma rápida infecção de todas as partes subterrâneas das plantas (Komm & Stevenson, 1978; Tsrer (Lahkim) & Johnson, 2000).

Além da contaminação pelo solo ou batata-semente, é possível, ainda, que esta possa ocorrer a partir da parte aérea, que pode, eventualmente, levar a uma infecção do solo. Plantas inoculadas a partir de raízes desenvolveram os sintomas do amarelecimento na parte aérea, a partir da sexta semana de avaliação (Farley, 1976). Neste estudo, mesmo sendo observados alguns casos de amarelecimento da folhagem, não foi possível comprovar a transmissão do mesmo para partes aéreas.

Trabalhos sobre infecção foliar causada por *C. coccodes* (Andrivon et al., 1997; Johnson, 1991; Mohan et al., 1992; Stevenson et al., 1976) mostraram que este pode, também, ser classificado como um patógeno de parte aérea com um potencial para causar infecção foliar e se espalhar via conídios, em regiões áridas, especialmente quando ajudado pelo uso de irrigação por aspersão e ventos fortes.

Vale ressaltar que *C. coccodes* pode existir em níveis não detectáveis no solo até o estabelecimento de um novo plantio, permitindo que este se multiplique a níveis detectáveis. O fungo pode sobreviver no solo como estrutura de resistência conhecida como microesclerócio, permanecendo viável por muitos anos e mantendo a sua capacidade de germinar logo que haja condições adequadas e plantas hospedeiras suscetíveis (Dillard & Cobb, 1998).

Ainda não estão claras quais as condições ambientais que favorecem o desenvolvimento da doença. Entretanto, a extensiva distribuição geográfica do patógeno e da doença sugere que a infecção no campo pode ocorrer sob um amplo espectro de condições (Less & Hilton, 2003). Nas condições climáticas do Brasil, *C. coccodes* foi capaz de infectar e causar danos em plantas de batata, confirmando a sua posição como um patógeno importante da bataticultura.

## 7 CONCLUSÕES

1. *C. coccodes* causa sintomas de “black dot” em plantas de batata sob condições brasileiras.
2. Os danos causados por esse patógeno podem ser tanto qualitativos, depreciando a parte externa dos tubérculos, como quantitativos, com a redução do tamanho dos tubérculos.
3. Sintomas característicos de “black dot” aparecem em todas as partes subterrâneas de plantas de batata.
4. O amarelecimento da folhagem foi observado principalmente em plantas inoculadas com o isolado CML 69 que, nas últimas semanas de avaliação, tiveram o tamanho de suas raízes drasticamente reduzido por causa da colonização e infecção de *C. coccodes*.
5. *C. coccodes* deve ser monitorado com grande atenção em todas as etapas da produção da batata, especificamente em batata semente.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRIVON, D. et al. Distribution and fungicide sensitivity of *Colletotrichum coccodes* in French potato-producing areas. **Plant Pathology**, Oxford, v.46, p.722-728, 1997.
- ANDRIVON, D. et al. Colonization of roots, stolons, tubers and stems of various potato (*Solanum tuberosum*) cultivars by the Black-dot fungus *Colletotrichum coccodes*. **Plant Pathology**, Oxford, v.47, p.440-445, 1998.
- BAR KDOLL, A.W.; DAVIS, J.R. Distribution of *Colletotrichum coccodes* in Idaho and variation in pathogenicity on potato. **Plant Disease**, St Paul, v.76, n.2, p.131-135, 1992.
- CHESTERS, C.G.C.; HORNBY, D. Studies on *Colletotrichum coccodes*. I. The taxonomic significance of variation in isolates from tomato roots. **Transactions of the British Mycological Society**, v.48, p.573-581, 1965.
- DILLARD, H.R.; COBB, A.C. Survival of *Colletotrichum coccodes* in infected tomato tissue and in soil. **Plant Disease**, St Paul, v.82, p.235-238, 1998.
- FAGBOLA, O.; ABANG, M.M. *Colletotrichum circinans* and *Colletotrichum coccodes* can be distinguished by DGGE analysis of PCR-amplified 18S rDNA fragments. **African Journal of Biotechnology**, v.3, p.195-198, 2004.
- FARLEY, J.D. Survival of *Colletotrichum coccodes* in soil. **Phytopathology**, v.66, p.640-641, 1976.
- FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do SISVAR para Windows versão 4.0. REUNIÃO ANUAL DE REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos, SP. **Programas e Resumos...** São Carlos, SP: UFSCar, 2000. p.235.
- FILGUEIRA, F.A.R. **Solanáceas:** agrotecnologia moderna na produção de tomate, batata, pimentão, pimenta, berinjela e jiló. Lavras: UFLA, 2003. 333p.
- FIRMAN, D.M.; ALLEN, E.J. Effects of windrowing, irrigation and defoliation of potatoes on silver scurf (*Helminthosporium solani*) disease. **Journal of Agricultural Science**, v.121, p.47-53, 1993.

GLAIS-VARLET, I.; BOUCHEK-MECHICHE, K.; ANDRIVON, D. Growth in vitro and infectivity of *Colletotrichum coccodes* on potato tubers at different temperatures. **Plant Pathology**, Oxford, v.53, p.398-404, 2004

HUNGER, R.M.; MCINTYRE, G.A. Occurrence, development, and losses associated with silver scurf and black dot on Colorado potatoes. **American Potato Journal**, v.56, p.289-306, 1979.

JOHNSON, S.A. Evaluation of fungicides for the control of foliar and fruit diseases of processing tomatoes. **Fungicide and Nematicide Tests**, v.46, p.179, 1991.

JOHNSON, D.A. Effect of foliar infection caused by *Colletotrichum coccodes* on yield of Russet Burbank potato. **Plant Disease**, St Paul, v.78, n.11, p.1075-1078, 1994.

JOHNSON, D.A.; ROWE, R.C.; CUMMINGS, T.F. Incidence of *Colletotrichum coccodes* in certified potato seed tubers planted in Washington State. **Plant Disease**, St Paul, v.81, n.10, p. 1199-1202, 1997.

KOMM, D.A.; STEVENSON, W.R. Tuber-borne infection of *Solanum tuberosum* "Superior" by *Colletotrichum coccodes*. **Plant Disease Reporter**, v.62, p.682-687, 1978.

LEES, A.K.; HILTON, A.J. Black dot (*Colletotrichum coccodes*): an increasingly important disease of potato. **Plant Pathology**, Oxford, v.53, p.3-12, 2003.

MOHAN, S.K. et al. Infection of aerial parts of potato plants by *Colletotrichum coccodes* and its effects on premature vine death and yield. **American Potato Journal**, v.69, p.547-559, 1992.

NITZAN, N. et al. Vegetative compatibility groups in *Colletotrichum coccodes*, the causal agent of black dot on potato. **Phytopathology**, v.87, p.745-750, 2002.

RAID, R.N.; PENNYPACKER, S.P. Weeds as host for *Colletotrichum coccodes*. **Plant Disease**, St Paul, v.71, n.7, p. 643-646, 1987.

STEVENSON, W.R.; GREEN, R.J.; BERGESON, G.B. Occurrence and control of potato black dot root rot in Indiana. **Plant Disease Reporter**, v.60, n.3, p.248-251, 1976.

STEVENSON, W.R. et al. **Compendium of potato diseases**. 2.ed. St. Paul MS: APS, 2001. 106p.

THIRUMALACHAR, M.J. Pathogenicity of *Colletotrichum atramentarium* on some potato varieties. **American Potato Journal**, v.44, p.241-244, 1967.

TSROR (LAHKIM), L., ERLICH, O.; HAZANOVSKY, M. Effect of *Colletotrichum coccodes* on potato yield, tuber quality, and stem colonization during spring and autumn. **Plant Disease**, St Paul, v.83, p.561-565, 1999.

TSROR (LAHKIM), L.; JOHNSON, D.A. *Colletotrichum coccodes* on potato. In.: PRUSKY, D.; FREEMAN, S.; DICKMAN, M.B. (Ed.). ***Colletotrichum* host specificity, pathology, and host-pathogen** interaction. St. Paul, MN: APS, 2000. p.362-373.

## ANEXOS

ANEXO A		Página
TABELA 1A	Análise de variância dos dados referentes a índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) de espécies de <i>Colletotrichum</i> spp. sob diferentes temperaturas.....	81
TABELA 2 A	Análise de variância para a variável lesão média da antracnose, em frutos de tomate feridos, causada por <i>Colletotrichum coccodes</i> com testemunha adicional.....	81
TABELA 3 A	Análise de variância para a variável “comprimento” de tubérculo.....	82
TABELA 4 A	Análise de variância para a variável “comprimento” de raiz.....	82
TABELA 5 A	Análise de variância para a variável “altura” de planta.....	82

**TABELA 1A:** Análise de variância dos dados referentes a índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) de espécies de *Colletotrichum* spp., sob diferentes temperaturas.

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Fc</b>	<b>Pr&gt;Fc</b>
Isolado	7	10,31	1,47	148,52	0,000*
Temperatura	4	61,50	15,37	1549,38	0,000*
Isolado x temperatura	28	14,76	0,52	53,13	0,000*
Erro	160	1,58	0,01		
<b>Total</b>	<b>199</b>	<b>88,174</b>			
<b>CV</b>	<b>9,35</b>				

Dados não transformados

**TABELA 2 A:** Análise de variância para a variável lesão média da antracnose, em frutos de tomate feridos, causada por *Colletotrichum coccodes*, com testemunha adicional.

<b>Fontes de variação</b>	<b>GL</b>	<b>Quadrado médio</b>	<b>Valor de F</b>	<b>Pr &gt; F</b>
Test. vs fatorial	1	6,82	104,39	< 0,001*
Isolados	2	1,64	25,22	< 0,001*
Temperatura	4	6,53	99,91	< 0,001*
Isolado x temperatura	8	0,88	13,54	< 0,001*
Resíduos	48	3,13		
<b>Total</b>	<b>63</b>			
<b>C.V =</b>	<b>20,216</b>			

**TABELA 3A:** Análise de variância para a variável “comprimento” de tubérculo.

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Fc</b>	<b>Pr&gt;Fc</b>
<b>Isolado</b>	3	100,68	33,56	70,13	0,00
<b>Semana</b>	11	557,78	50,70	105,97	0,00
<b>Bloco</b>	4	0,44	0,11	0,23	0,92
<b>Isolado x semana</b>	33	67,11	2,03	4,25	0,00
<b>Erro</b>	188	89,9583	0,4785		
<b>Total</b>	239	815,9833			
<b>CV(%)</b>	17,70				

**TABELA 4A:** Análise de variância para a variável “comprimento” de raiz.

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Fc</b>	<b>Pr&gt;Fc</b>
<b>Isolado</b>	3	3075,96	1025,32	119,34	0,00
<b>Semana</b>	11	1641,60	149,23	17,37	0,00
<b>Bloco</b>	4	102,80	25,70	2,99	0,02
<b>Isolado x semana</b>	33	3787,03	114,75	13,35	0,00
<b>Erro</b>	188	1615,19	8,5914		
<b>Total</b>	239	10222,60			
<b>CV(%)</b>	22,81				

**TABELA 5A:** Análise de variância para a variável “altura” de planta.

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Fc</b>	<b>Pr&gt;Fc</b>
<b>Isolado</b>	3	1201,97	400,65	79,19	0,00
<b>Semana</b>	11	7508,64	682,60	134,93	0,00
<b>Bloco</b>	4	28,51	7,12	1,40	0,23
<b>Isolado x semana</b>	33	702,77	21,29	4,21	0,00
<b>Erro</b>	188	951,08	5,0589		
<b>Total</b>	239	10392,99			
<b>CV(%)</b>	13,33				