

## MÉTODOS DE INOCULAÇÃO DE *Colletotrichum fragariae* EM MORANGUEIRO

Maria Aparecida de Souza Tanaka<sup>1,4\*</sup>; Francisco Antonio Passos<sup>2</sup>; Juarez Antonio Betti<sup>1</sup>; Regina Célia de Matos Pires<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Centro de Fitossanidade - IAC, C.P. 28 - CEP: 13001-970 - Campinas, SP.

<sup>2</sup>Centro de Horticultura - IAC.

<sup>3</sup>Centro de Ecofisiologia e Biofísica - IAC.

<sup>4</sup>Bolsista CNPq.

\*Autor correspondente <[matanaka@cec.iac.br](mailto:matanaka@cec.iac.br)>

RESUMO: A antracnose do morangueiro, causada por *Colletotrichum fragariae* Brooks, é uma das mais importantes doenças da cultura. Além dos rizomas, o fungo causa lesões em estolhos, pecíolos, limbos foliares, pedúnculos e frutos. A inoculação de plantas com este patógeno é muitas vezes imprescindível em trabalhos que necessitam uniformidade de inóculo e reprodução de sintomas da doença. Isso ocorre em testes de patogenicidade, em testes de eficácia de métodos de controle, em estudos sobre a variabilidade de diferentes isolados do patógeno e em avaliação de germoplasma quanto à resistência à doença. Objetivou-se, neste trabalho, avaliar comparativamente sete métodos de inoculação de morangueiro com *C. fragariae*, descrevendo os sintomas obtidos em diferentes órgãos da planta. Sintomas foliares (mancha preta da folha) foram observados principalmente quando se utilizou pulverização do inóculo. Os métodos mais eficientes em produzir murcha e lesões nos rizomas foram: fermento e deposição de 5 mL de inóculo nos rizomas, fermento e deposição de uma gota de inóculo nos pecíolos e injeção de inóculo nos rizomas.

Palavras-chave: *Fragaria* × *ananassa*, antracnose, avaliação de doença

## INOCULATION METHODS OF *Colletotrichum fragariae* ON STRAWBERRY

ABSTRACT: The anthracnose crown rot, caused by *Colletotrichum fragariae* Brooks, is an important disease of strawberries. The fungus also damages stolons, petioles, leaf blades and fruits. The inoculation of *C. fragariae* is necessary to ensure uniformity and appearance of characteristic symptoms of the disease in pathogenicity tests, variability evaluation of different isolates, efficacy of control measures and germplasm screening for resistance. This study evaluated seven inoculation methods of *C. fragariae* on strawberry and reports symptoms observed in each case. Symptoms of black leaf spot were mainly observed when the inoculum was sprayed on the plants. The best methods to reproduce wilting and crown rot were: 5 mL of inoculum placed on wounded crowns, a drop of inoculum placed on wounded petioles and crown injection.

Key words: *Fragaria* × *ananassa*, anthracnose, disease evaluation

### INTRODUÇÃO

A antracnose do morangueiro, causada por *Colletotrichum fragariae* Brooks, é uma das mais importantes doenças da cultura, podendo ser limitante, por reduzir drasticamente o estande e a produção (Brooks, 1931; Smith & Black, 1990; Howard et al., 1992; Maas, 1998). As plantas doentes evidenciam-se por murchamento e seca progressiva, ocasionando falhas nos canteiros. A sua ocorrência é comum em plantas de qualquer idade, porém é particularmente grave na época de transplante das mudas (Mena et al., 1974; Maas & Galletta, 1989; McInnes et al., 1992).

Embora os sintomas mais característicos ocorram nos rizomas, vários outros órgãos da planta podem ser afetados, o que torna a doença bastante complexa (Horn & Carver, 1963; Paulus, 1990; Maas, 1998). Nos estolhos e pecíolos, as lesões são marrons, alongadas e deprimidas, onde, em condições de alta umidade, formam-se massas de coloração rósea, constituídas pelos esporos

do fungo. Pode haver o estrangulamento dos estolhos e, conseqüentemente, a morte das mudas ainda sem raízes para se sustentar. Nos pedúnculos muito afetados ocorre a seca da região acima da lesão (Carvalho & Cardoso, 1964; Tanaka et al., 1997). Nas folhas podem ocorrer manchas pequenas, escuras e circulares (mancha preta da folha), que constituem fonte de inóculo e muitas vezes passam despercebidas (Howard & Albregts, 1983; Howard et al., 1992; Tanaka et al., 1996).

A inoculação de plantas com *C. fragariae* é muitas vezes imprescindível, em trabalhos que necessitam uniformidade de inóculo e reprodução de sintomas característicos da doença, como, por exemplo, em testes de patogenicidade e de variabilidade de diferentes isolados (Smith, 1986; Smith & Black, 1990), avaliação de eficácia de métodos de controle (Smith, 1987), efeito das condições ambientais sobre a manifestação dos sintomas (Smith & Black, 1987) e, principalmente, avaliação de germoplasma quanto à resistência ao patógeno (Delp & Milholland, 1980; 1981; Smith & Spiers, 1982; Smith et al., 1990).

Embora alguns métodos de inoculação de *C. fragariae* sejam relatados em diversos trabalhos de pesquisa, a falta de uniformidade entre eles pode levar a diferentes resultados. Além disso, evidencia-se a existência de controvérsia quanto à necessidade de se efetuar ferimento para haver infecção. Enquanto Brooks (1931), Smith & Black (1985; 1990) e Batta et al. (1989) consideram essa prática imprescindível, Delp & Milholland (1980; 1981), concluem como sendo desnecessária e alertam para a possibilidade da presença de ferimento levar a uma quebra de resistência da planta.

Na prática, constata-se que a grande diversidade de sintomas da antracnose pode dificultar a escolha do método e a interpretação dos resultados. Os métodos descritos na literatura nem sempre apresentam a mesma eficiência na reprodução de cada tipo de sintoma e, dependendo do objetivo do trabalho, seria conveniente poder eleger o mais adequado. E isso só será possível com base em resultados comparativos de vários métodos.

Há necessidade, portanto, que se avaliem diferentes métodos de inoculação, com e sem ferimento, visando verificar a sua eficiência na obtenção de sintomas e viabilidade prática para utilização em trabalhos de pesquisa. Nesse sentido, desenvolveu-se o presente trabalho, com o objetivo de comparar sete métodos de inoculação de morangueiro com *C. fragariae*, descrevendo os sintomas obtidos em diferentes órgãos da planta.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, sendo as plantas provenientes de matrizes básicas da cultivar Campinas (IAC-2712), cultivadas individualmente em vasos com diâmetro de 15 cm e capacidade para 1,5 litro de substrato, constituído por mistura de solo e esterco curtido de curral, na proporção de 3:1, esterilizado em autoclave. Em cada método foram inoculadas oito plantas.

O isolado de *C. fragariae* utilizado foi obtido de rizoma de morangueiro dessa mesma cultivar, que apresentava lesão típica de antracnose ("chocolate"), proveniente do município de Piedade, SP. A sua patogenicidade foi comprovada pela inoculação em plantas das cultivares Campinas, AGF-80, Sequoia e Chandler.

O inóculo foi preparado a partir de culturas puras desenvolvidas em meio de aveia (farinha de aveia 40 g, agar 20g, água destilada 1000 mL), durante sete dias a 28 °C, no escuro. Foram utilizados dois tipos de inóculo: suspensão ajustada para a concentração de  $1,5 \times 10^6$  conídios/mL e discos de cultura (micélio mais conídios), de 0,3 cm de diâmetro, retirados dos bordos das colônias.

Foram testados os seguintes métodos de inoculação: 1) pulverização das plantas com suspensão

de conídios; 2) deposição de 5 mL de inóculo sobre ferimento no rizoma, efetuado com estilete; 3) pulverização de plantas cujos pecíolos foram feridos por punção de agulha fina (hipodérmica); 4) deposição de uma gota de inóculo sobre ferimento nos pecíolos, utilizando agulha acoplada a seringa hipodérmica; 5) injeção de inóculo no rizoma; 6) deposição de discos de cultura do fungo sobre os pecíolos, sem ferimento; 7) deposição de discos de cultura sobre os pecíolos, previamente feridos por punção de agulha hipodérmica. Nos métodos 3, 4, 6 e 7, as inoculações foram efetuadas no terço inferior dos pecíolos, em número de quatro por planta, e localizados na parte mediana da planta. Nos tratamentos testemunha utilizaram-se água destilada esterilizada e discos de meio de aveia.

Após as inoculações, as plantas permaneceram em câmara úmida, proporcionada por cobertura plástica, durante 48 horas.

As avaliações foram realizadas aos 7, 15, 30 e 45 dias após as inoculações, verificando-se a presença de murcha e ou lesões nos limbos foliares, pecíolos, cálices, pedúnculos e frutos. Na última avaliação, as plantas foram arrancadas e os rizomas cortados longitudinalmente para se verificar a presença de lesões "chocolate". A severidade dos sintomas nos rizomas foi avaliada por uma escala de notas de 1 a 4, sendo 1= ausência de sintomas; 2= lesões marrom-avermelhadas atingindo menos de 25% do rizoma; 3= lesões em 25 a 50% do rizoma; 4= lesões em mais de 50% do rizoma.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi possível observar sintomas de lesões nos limbos foliares (mancha preta da folha) com maior intensidade nos métodos em que o inóculo foi pulverizado sobre as plantas (métodos 1 e 3) (TABELA 1). Isso ocorreu pelo fato do inóculo ter atingido diretamente as folhas. Este tipo de sintoma só não foi detectado nas plantas inoculadas pelo método 6, que consistiu na deposição de discos de cultura do fungo sobre os pecíolos, sem ferimento. As lesões nos cálices não foram observadas nos métodos 5 (injeção no rizoma) e 6 (discos de cultura nos pecíolos, sem ferimento). As lesões nos pecíolos ocorreram com 100% de frequência nos métodos 3 e 4, em todas as épocas de avaliação, e no método 7, nas duas últimas. No método 6, em que os discos de cultura do fungo foram colocados sobre os pecíolos, sem ferimento, bem como nos métodos 1, 2 e 5, houve menor incidência dessas lesões.

A presença de pecíolos mortos foi freqüente nas últimas avaliações, realizadas aos 30 e 45 dias após as inoculações e também ocorreu com maior intensidade nos métodos 3, 4 e 7 (TABELA 1).

Nos pedúnculos das inflorescências foram observadas lesões em todos os métodos testados, nas últimas avaliações, enquanto que, em frutos, não foram observados sintomas nos métodos 2 (ferimento no

TABELA 1 - Porcentagens de plantas de morangueiro com diferentes tipos de sintoma, após inoculação com *C. fragariae* por sete métodos.

Método	Dia após inoculação	Sintoma							
		Lesão foliar	Lesão no cálice	Lesão no pecíolo	Pecíolo morto	Lesão no pedúnculo	Lesão no fruto	Murcha	Lesão no rizoma
1. Pulverização	7	50,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	- <sup>1</sup>
	15	75,0	25,0	12,5	0,0	0,0	12,5	0,0	-
	30	75,0	37,5	12,5	0,0	12,5	12,5	12,5	-
	45	75,0	50,0	25,0	12,5	25,0	12,5	25,0	50,0
2. Fer. rizoma + 5 mL inóc.	7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-
	15	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-
	30	12,5	25,0	12,5	0,0	0,0	0,0	0,0	-
	45	12,5	25,0	25,0	12,5	12,5	0,0	100,0	100,0
3. Ferim. pec. + pulver.	7	25,0	0,0	75,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-
	15	50,0	12,5	100,0	0,0	0,0	12,5	0,0	-
	30	50,0	37,5	100,0	50,0	12,5	12,5	12,5	-
	45	50,0	50,0	100,0	50,0	25,0	12,5	50,0	50,0
4. Ferim. pec. + gota inóc.	7	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-
	15	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-
	30	12,5	12,5	100,0	62,5	12,5	12,5	50,0	-
	45	12,5	12,5	100,0	100,0	25,0	12,5	75,0	100,0
5. Injeção no rizoma	7	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-
	15	12,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-
	30	12,5	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	50,0	-
	45	12,5	0,0	12,5	12,5	12,5	0,0	100,0	100,0
6. Disco cult. pecíolos sem ferim.	7	0,0	0,0	12,5	0,0	0,0	0,0	0,0	-
	15	0,0	0,0	12,5	0,0	0,0	0,0	0,0	-
	30	0,0	0,0	25,0	12,5	0,0	0,0	0,0	-
	45	0,0	0,0	25,0	25,0	12,5	0,0	0,0	12,5
7. Disco cult. pecíolos com ferim.	7	0,0	0,0	75,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-
	15	12,5	0,0	75,0	0,0	0,0	0,0	0,0	-
	30	12,5	12,5	100,0	62,5	12,5	0,0	0,0	-
	45	12,5	12,5	100,0	75,0	25,0	0,0	25,0	37,5

<sup>1</sup>Não avaliado

rizoma + 5 mL de inóculo), 5 (injeção no rizoma), 6 (blocos de micélio nos pecíolos, sem ferimento) e 7 (blocos de micélio nos pecíolos, com ferimento). Atribuiu-se a baixa intensidade de sintomas nos pedúnculos ao fato dos mesmos estarem em fase de desenvolvimento na época da inoculação e não terem sido feridos. No caso dos frutos, houve pequena incidência, pois as plantas não estavam em frutificação plena e uniforme quando as plantas foram inoculadas.

Pela TABELA 1, observa-se, ainda, que os sintomas de murcha apenas não ocorreram quando as plantas foram inoculadas pela deposição de discos de cultura fúngica sobre os pecíolos, sem ferimento (método 6). Esses sintomas foram verificados nas duas últimas avaliações e com maior intensidade nos métodos 2, 4 e 5.

As lesões no rizoma (“chocolate”), do mesmo modo que as murchas, não ocorreram no método 6 e atingiram 100% de frequência nos métodos 2, 4 e 5 (TABELA 1). Desses três métodos, apenas no de número 4 o inóculo não foi introduzido no rizoma por meio de ferimento e sim, através da deposição de gotas de inóculo sobre ferimento nos pecíolos. A sua eficiência em provocar sintoma de “chocolate” indica que o inóculo atingiu o rizoma. É oportuno esclarecer que a gota de inóculo colocada, como descrito no método 4, permaneceu localizada sobre o ferimento quando as plantas foram submetidas à câmara úmida, não escorrendo para a região da coroa da planta. A colonização dos tecidos dos pecíolos, com a conseqüente expansão das lesões a partir do ponto de

inoculação, acabou permitindo o contacto do inóculo com os rizomas, ocorrendo a sua infecção. Para todos os métodos avaliados, as plantas testemunhas não apresentaram qualquer tipo de sintoma.

As percentagens de ocorrência de plantas com lesões nos rizomas nem sempre corresponderam aos sintomas de murcha, observados na parte aérea, 45 dias após as inoculações. Isto pode ser constatado na TABELA 1, para os métodos 1, 4, 6 e 7, para os quais a percentagem de plantas com murcha foi sempre inferior à ocorrência de podridões nos rizomas. Segundo Howard et al. (1992) e Maas (1998), embora os rizomas possam apresentar podridões, os sintomas de murcha nem sempre se manifestam, dependendo da extensão da lesão e do conseqüente comprometimento dos vasos.

A maior freqüência de nota 4, que indica maior severidade de lesões "chocolate", na escala utilizada, ocorreu nos métodos 2 e 5, nos quais se inoculou diretamente o rizoma, por ferimento (TABELA 2). Nos métodos 3 (ferimento no pecíolo + pulverização), 4 (ferimento no pecíolo + gota de inóculo) e 7 (bloco de cultura no pecíolo, com ferimento) obtiveram-se 50% das plantas inoculadas com nota 4. No entanto, no método 4, as percentagens de plantas com cada nota foram proporcionalmente distribuídas com relação à severidade dos sintomas.

Comparando-se os métodos 2, 4 e 5, os mais eficientes na obtenção de lesões chocolate, o de número 4 apresenta como vantagem o baixo consumo de inóculo e facilidade de execução, principalmente em casa de vegetação. Como desvantagem, pode ser apontada a correspondência parcial entre o número de plantas murchas e aquelas com podridões "chocolate" nos rizomas, o que poderia levar a uma subestimação das plantas doentes, caso a avaliação seja efetuada apenas pelo sintoma visual da parte aérea. Este método pode ser indicado para testes de patogenicidade de isolados e comprovação da viabilidade do fungo em estudos envolvendo o seu controle.

A obtenção de sintomas em pecíolos e em rizomas foi mais freqüente nos métodos que utilizaram ferimento, indicando que esse procedimento favoreceu a infecção e confirmando as observações de Brooks (1931). No entanto, Smith & Spiers (1982), Smith (1986), Delp & Milholland (1980; 1981) consideraram não ser imprescindível a ocorrência de ferimento. Batta et al. (1989) constataram que a suscetibilidade dos tecidos dos pecíolos está relacionada com a sua idade e que em pecíolos maduros, o aparecimento de sintomas somente é conseguido com a utilização de ferimento. Presume-se, portanto, que a presença de ferimento, além de garantir maior uniformidade de sintomas, pode evitar possíveis escapes.

O método 4 (ferimento nos pecíolos e deposição de uma gota de inóculo) apresentou correlação entre a incidência de lesões nos pecíolos e nos rizomas, além

de ser tão eficiente em provocar podridão de rizoma quanto os métodos 2 e 5, nos quais o inóculo foi introduzido diretamente nos rizomas, com ferimento (TABELA 1). Embora Delp & Milholland (1980) e Smith & Black (1985) tenham verificado que alguns genótipos podem apresentar resistência nos pecíolos, mas não nos rizomas, trabalhos mais recentes demonstraram que cultivares que apresentam resistência nos pecíolos, também são resistentes à podridão do rizoma (Smith et al., 1990; Howard et al., 1992), corroborando com os resultados do presente trabalho.

Uma vez que a fase mais destrutiva da doença está associada à podridão do rizoma, e que a avaliação baseada apenas na reação dos pecíolos pode não ser totalmente segura, num programa de seleção de plantas resistentes à doença, de acordo com Smith et al. (1990), o inóculo deve ser diretamente introduzido no rizoma, para identificar as plantas realmente resistentes. Ao contrário de Delp & Milholland (1980), que consideraram que a inoculação por ferimento do rizoma deve ser evitada por ser muito severa e haver o risco de descarte de materiais resistentes, Smith & Black (1985) e Smith et al. (1990) preconizam o seu uso, ressaltando que os genótipos mais resistentes sobrevivem a este tipo de inoculação e que, portanto, a resistência não é quebrada. Embora, segundo Howard et al. (1992) exista relação entre a suscetibilidade dos tecidos dos pecíolos e os dos rizomas, os métodos que envolvem ferimento no rizoma, por serem mais rigorosos e eliminarem as plantas com menor resistência, garantem, ainda, segurança na seleção de genótipos que, eventualmente, possam apresentar resistência nos pecíolos, mas não nos rizomas.

TABELA 2 - Porcentagens de plantas de morangueiro com notas de 1 a 4, para severidade dos sintomas de Chocolate nos rizomas, provocadas pelos antes métodos de inoculação testados, aos 45 dias após inoculação.

Método	Nota (severidade) <sup>1</sup>			
	1	2	3	4
1. Pulverização	25,0	37,5	25,0	12,5
2. Ferimento no rizoma + 5 mL de inóculo	0,0	12,5	12,5	75,0
3. Ferimento no rizoma + pulverização	0,0	25,0	25,0	50,0
4. Ferimento no pecíolo + gota de inóculo	0,0	12,5	37,5	50,0
5. Injeção no colo	0,0	12,5	12,5	75,0
6. Bloco de cultura no pecíolo s/ ferimento	12,5	75,0	12,5	0,0
7. Bloco de cultura no pecíolo c/ ferimento	0,0	37,5	12,5	50,0

<sup>1</sup>Nota 1 = ausência de sintomas; 2 = lesões marrom-avermelhadas atingindo menos de 25% do rizoma; 3 = lesões em 25 a 50% do rizoma; 4 = lesões em mais de 50% do rizoma.

Por esse motivo, numa primeira seleção, dependendo do número de plantas, recomenda-se a utilização dos métodos 3 ou 4, que foram eficientes quanto à obtenção de lesões nos pecíolos. O método 3, por ser menos trabalhoso, é mais viável quando se utilizam grandes populações de plantas. A partir dessa primeira seleção, as plantas consideradas resistentes devem ser inoculadas pelos métodos 2 (ferimento no rizoma e deposição de 5mL de inóculo) ou 5 (injeção no rizoma).

### AGRADECIMENTO

À FAPESP, pelo auxílio financeiro concedido (parte de trabalho referente ao Processo 96/ 09480-8).

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BATTA, Y.; NOURRISSEAU, J.G.; CLERJEAU, M. Methods of control anthracnose infection of strawberry. **Acta Horticulturae**, n.265, p.591-594, 1989.
- BROOKS, A.N. Anthracnose of strawberry caused by *Colletotrichum fragariae* n. sp. **Phytopathology**, v.21, p.739-744, 1931.
- CARVALHO, P.C.T.C.; CARDOSO, C.O.N. Nota sobre a antracnose dos estolões e podridão do rizoma de morangueiro, causada por *Colletotrichum fragariae* Brooks. **Anais da ESALQ**, v.21, p.275-278, 1964.
- DELP, B.R.; MILHOLLAND, R.D. Evaluating strawberry plants for resistance to *Colletotrichum fragariae*. **Plant Disease**, v.64, p.1071-1073, 1980.
- DELP, B.R.; MILHOLLAND, R.D. Susceptibility of strawberry cultivars and related species to *Colletotrichum fragariae*. **Plant Disease**, v.65, p.421-424, 1981.
- HORN, N.L.; CARVER, R.G. A new crown rot of strawberry plants caused by *Colletotrichum fragariae*. **Phytopathology**, v.53, p.768-770, 1963.
- HOWARD, C.M.; ALBREGTS, E.E. Black leaf spot phase of strawberry anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides* (= *C. fragariae*). **Plant Disease**, v.67, p.1144-1146, 1983.
- HOWARD, C.M.; MAAS, J.L.; CHANDLER, C.K.; ALBREGTS, E.E. Anthracnose of strawberry caused by the *Colletotrichum* complex in Florida. **Plant Disease**, v.76, p.976-981, 1992.
- MAAS, J.L. (Ed.) **Compendium of strawberry diseases**. 2.ed. St. Paul: The American Phytopathological Society, 1998. 98p.
- MAAS, J.L.; GALLETTA, G.L. Germplasm evaluation for resistance to fungus-incited diseases. **Acta Horticulturae**, n.265, p.461-472, 1989.
- McINNES, T.B.; BLACK, L.L.; GATTI, J.M. Disease-free plants for management of strawberry anthracnose crown rot. **Plant Disease**, v.76, p.260-264, 1992.
- MENA, A.J.; De GARCIA, E.P.; GONZALEZ, M.A. Presencia de la antracnosis de la frutilla en la Republica Argentina. **Revista Agronomica del Noroeste Argentino**, v.11, p.307-312, 1974.
- PAULUS, A.O. Fungal diseases of strawberry. **Hort Science**, v.25, p.885-889, 1990.
- SMITH, B.J. Pathogenic variation among *Colletotrichum fragariae* isolates. **Phytopathology**, v.76, p.1134-1135, 1986.
- SMITH, B.J. Greenhouse evaluation of fungicides for control of strawberry anthracnose-crown rot. **Phytopathology**, v.77, p.643-644, 1987.
- SMITH, B.J.; SPIERS, J.M. Evaluation techniques for screening strawberry seedlings for resistance to *Colletotrichum fragariae*. **Plant Disease**, v.66, p.559-561, 1982.
- SMITH, B.J.; BLACK, L.L. Screening strawberry plants for resistance to *Colletotrichum fragariae*. **Phytopathology**, v.75, p.503-504, 1985.
- SMITH, B.J.; BLACK, L.L. Resistance of strawberry plants to *Colletotrichum fragariae* affected by environmental conditions. **Plant Disease**, v.71, p.834-837, 1987.
- SMITH, B.J.; BLACK, L.L. Morphological, cultural, and pathogenic variation among *Colletotrichum* species isolated from strawberry. **Plant Disease**, v.74, p.69-76, 1990.
- SMITH, B.J.; BLACK, L.L.; GALLETTA, G.J. Resistance to *Colletotrichum fragariae* in strawberry affected by seedling age and inoculation method. **Plant Disease**, v.74, p.1016-1021, 1990.
- TANAKA, M.A.S.; BETTI, J.A.; KIMATI, H. Doenças do morangueiro (*Fragaria X ananassa* Duch.). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A. REZENDE, J.A.; CAMARGO, L.E.A. (Ed.) **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v.2, p.556-571.
- TANAKA, M.A.S.; PASSOS, F.A.; BETTI, J.A. Mancha preta da folha, causada por *Colletotrichum fragariae*, em viveiros de morangueiro em São Paulo. **Summa Phytopathologica**, v.22, p.143-147, 1996.

Recebido em 06.09.00