

**FITOPATOLOGIA**

**BRASILEIRA**

BRAZILIAN PHYTOPATHOLOGY

Vol. 20  
Junho/95

**2**

ISSN 0100-4158

FITOPATOLOGIA BRASILEIRA  
v.20, n.2, JUN 1995.



422 - 81

**SOCIEDADE BRASILEIRA DE FITOPATOLOGIA**

# IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES DE *PHYTOPHTHORA* PATOGÊNICAS À *HEVEA*\*

ÁLVARO F. DOS SANTOS<sup>1</sup>; KIYOSHI MATSUOKA<sup>2</sup>; ACELINO C. ALFENAS<sup>2</sup> & L.A. MAFFIA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centro de Pesquisa Agroflorestral da Amazônia Ocidental - EMBRAPA, Cx. Postal 319, 69011-970, Manaus-AM.

<sup>2</sup>Dept<sup>o</sup> de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, 36570-000, Viçosa-MG.

(Aceito para publicação em 12/12/94)

SANTOS A.F. dos; MATSUOKA, K.; ALFENAS, A.C. & MAFFIA, L.A. Identificação de espécies de *Phytophthora* patogênicas à *Hevea*. Fitopatol. bras. 20: 151-159. 1995.

## RESUMO

Morfofisiologicamente e por meio eletroforese de proteína, 29 isolados de *Phytophthora*, obtidos de seringueira em pólos baianos, foram enquadrados taxonomicamente na espécie *P. capsici* (= *P. palmivora* MF4). Estudaram-se comparativamente estes isolados e outros de *P. palmivora* MF1 e de *P. citrophthora*, também de seringueira. Observou-se maior crescimento micelial e produção de comparativamente estes isolados e outros de *P. palmivora* MF1 e de *P. citrophthora*, também de seringueira. Observou-se maior crescimento micelial e produção de esporângios em meio cenoura-ágar a 25-30°C, maior esporulação na presença de luz e produção de esporângios caducos, exceto para *P. citrophthora*. Os isolados de *P. capsici* apresentaram pedicelos

longos e esporângios elipsóides ou obovóides. Encontraram-se tipos de ontogenia de esporângios umbelado (todos os isolados de *P. capsici*), simpodial (*P. palmivora*) e irregular (*P. citrophthora*). Apenas o isolado de *P. palmivora* e um de *P. capsici* formaram clamidosporos. Os isolados de *P. capsici* e de *P. palmivora* foram heterotálicos, formando anterídios anfígenos. Os isolados de *P. capsici* pertenceram ao grupo A<sup>1</sup> de compatibilidade e o de *P. palmivora* ao A<sup>2</sup>. O isolado de *P. citrophthora* não formou anterídio ou oogônio. Observou-se estreita similaridade entre os padrões eletroforéticos dos isolados de *P. capsici*.

Palavras-chave: Seringueira, *Phytophthora*, *Hevea*.

## ABSTRACT

### Identification of *Phytophthora* species that infect *Hevea* sp.

According to morphophysiological characteristics and protein electrophoretic patterns, 29 isolates of *Phytophthora* from rubber trees growing in the Bahia State were accommodated to *P. capsici* (= *P. palmivora* MF4). A comparative physiological study of these *P. capsici* isolates was carried out with other species, *P. palmivora* MF1 and *P. citrophthora*, obtained from *Hevea* plants. The best mycelial growth and sporangium production were obtained when isolates were grown in carrot-agar at 25-30°C. Light increased sporulation and the production of deciduous sporangia. The isolates of *P. capsici* produced long pedicels and either ellip-

soid or obvoid sporangia. Three types of sporangium ontogeny were found: umbellate (all isolates of *P. capsici*), sympodial (*P. palmivora*), and irregular (*P. citrophthora*). Chlamydospores formation was observed in the isolate of *P. palmivora* and in only one isolate of *P. capsici*. The isolates of *P. capsici* and *P. palmivora* were heterothallic, with amphigynous antheridia. The isolates of *P. capsici* belong to the mating type A1, whereas the isolate of *P. palmivora* to A2. The isolate of *P. citrophthora* did not produce either antheridia or oogonia. The isoenzymatic patterns of all isolates of *P. capsici* were very similar.

\* Parte da Dissertação de Doutorado do 1º autor, apresentada à Universidade Federal de Viçosa.

## INTRODUÇÃO

O ataque de *Phytophthora* spp. pode ocorrer em toda a parte aérea da seringueira (*Hevea* spp.), causando queima de brotações novas, queda prematura de folhas maduras e podridão de frutos e de caule (Santos & Pereira, 1989; Santos *et al.*, 1989). Essas espécies ocorrem em várias regiões heveícolas do mundo (Wastie, 1975; Liynage & Wheeler, 1989). No Brasil, espécies de *Phytophthora* causam danos de importância econômica apenas nos pólos baianos (Santos *et al.*, 1989), principalmente a partir de 1964 (Medeiros & Ayres, 1964).

Diferentes espécies de *Phytophthora*, como *P. meadii* Mc Rae, *P. palmivora* (Butl.), *P. botryosa* Chee, *P. citrophthora* (R. E. Sm & E. H. Sm.) Leonian, *P. nicotianae* Van Breda de Haan var. *parasitica* (Dastur) Waterhouse, *P. cactorum* (Leb & Cohn) Schroet e *P. citricola* Sawada já foram relatadas como patogênicas à seringueira, em vários países asiáticos. *P. meadii* foi inicialmente observada em seringueira na Índia (Mc Rae, 1918) e, desde então, tem sido encontrada no Sri Lanka (Dantanarayana *et al.*, 1984) e na Malásia (Chee, 1969); *P. palmivora* ocorreu em seringais na Malásia (Chee *et al.*, 1967 e Chee, 1969), no Sri Lanka (Dantanarayana *et al.*, 1984), na Índia (Thankama *et al.*, 1968) e na China (Ho *et al.*, 1984); *P. botryosa*, na Malásia (Chee, 1969) e na Tailândia (Tsao *et al.*, 1975); *P. nicotianae* var. *parasitica* foi encontrada na Índia (Edathil e George, 1976); *P. cactorum*, na China (Ho *et al.*, 1984) e *P. citricola*, no Sri Lanka (Liynage, 1989).

A etiologia e a fisiologia das espécies de *Phytophthora* patogênicas à seringueira têm sido estudadas por diversos autores em outros países (Dantanarayana *et al.*, 1984 e Liynage e Wheeler, 1989). Entretanto, trabalhos desta natureza ainda não foram realizados no Brasil (Chee e Kai-Ming, 1985), onde apenas existem relatos da ocorrência de *P. capsici* (Campelo, 1980) e *P. citrophthora* (Silveira *et al.*, 1986). Portanto, este trabalho foi desenvolvido objetivando-se identificar e caracterizar morfofisiologicamente isolados de *Phytophthora* da seringueira, oriundos de pólos heveícolas baianos.

## MATERIAIS E MÉTODOS

**Origem e manutenção dos isolados de *Phytophthora* spp.** Os isolados de *Phytophthora* spp. foram obtidos, em sua maioria, de pólos heveícolas do sudeste do Estado da Bahia (Tabela 1). No isolamento, utilizou-se o meio seletivo de Tsao e Guy (1977).

**Crescimento micelial de *Phytophthora* spp. em função da temperatura e do meio de cultura.** Discos de BDA com micélio em crescimento ativo foram transferidos para o centro de placas de Petri, contendo os meios batata-dextrose-ágar (BDA), fubá-ágar FA (17g de "corn meal" ágar Difco e 1000ml de água destilada) e cenoura-ágar modificado-CA (200g de cenoura, 15g de ágar e água destilada q.s.p. 1000ml). Incubou-se a 10, 15, 20, 25, 30 e 35°C, em escuro contínuo. Diariamente, até o 6º dia de incubação, avaliaram-se o diâmetro e o aspecto morfológico das colônias.

**Produção de esporângios de *Phytophthora* spp. em função da luz e do meio de cultura.** Placas de Petri, contendo meio BDA, CA e FA e o disco de meio com micélio de *Phytophthora* em crescimento ativo, foram distribuídas em prateleiras e submetidas à iluminação constante, fornecida por quatro lâmpadas fluorescentes, 40 watts, luz do dia, colocadas a cerca de 25cm de altura (2.000 lux). O tratamento escuro contínuo consistiu em placas de Petri envolvidas em papel alumínio, sob as mesmas condições de incubação (Urban, 1980). A avaliação foi feita após incubação por 9 dias, quantificando-se o número de esporângios formados (Santos, 1991).

**Forma de dimensão de esporângios.** A forma, comprimento e largura dos esporângios, o comprimento do pedicelo e as dimensões da papila foram registrados para cada isolado, após cultivo em meio CA sob luz contínua.

**Ontogenia de esporângios.** Foram avaliadas a caducidade, a forma e a ontogenia dos esporângios de acordo com a metodologia de Alizadeh e Tsao (1985a), ligeiramente modificada por Santos (1991).

**Produção de clamidosporos.** Adotou-se o método de cultura submersa empregado por Tsao (1971) e Alizadeh e Tsao (1985a), ligeiramente modificada por Santos (1991).

**Produção de oosporos.** Em placas de Petri contendo meio Ca, os isolados a serem testados foram pareados com os isolados P-1A e P-4-7 de *P. capsici* de pimentão, pertencentes aos grupos de compatibilidades A<sup>1</sup> e A<sup>2</sup>, respectivamente (Urban, 1980).

Avaliou-se a formação de oosporos a partir do quarto dia de incubação a 25°C, em escuro contínuo, em microscópio estereoscópico.

**Teste de patogenicidade.** Avaliou-se a patogenicidade dos isolados em estudo, sobre folíolos maduros (55-60 dias de idade) do clone Fx 3864 destacados e feridos com um conjunto de agulhas (Santos, 1991).

Na avaliação, procurou-se observar a manifestação de sintomas e a presença de esporângios sobre as lesões formadas.

**Produção de micélio e extração de proteínas intramiceliais.** Para a produção de micélio, os isolados foram cultivados conforme descrito por Alfenas *et al.* (1991).

Para a extração de proteínas, a massa micelial foi triturada em tampão Tris-HCl 0,05M, pH = 6,8, na proporção de 300mg de micélio/ml do tampão, mantido em banho de gelo, em triturador tipo Polytron. A pasta formada foi mantida a 5°C, por 12 horas, para se completar a extração de proteína. Decorrido esse período, a pasta foi centrifugada a frio, a 13.500g, por 30 minutos, e os extratos proteicos foram mantidos em tubos eppendorf a -18°C.

Estimou-se a concentração de proteína dos extratos pelo método de Bradford (Bradford, 1976).

**Eletroforese.** Para a detecção de proteínas, empregou-se o sistema descontinuo de eletroforese em géis de poliacrilamida (Alfenas *et al.*, 1991).

Após a eletroforese, os géis foram retirados das placas e coradas com uma solução de 0,1% de azul de Coomassie em solução fixadora PAGE (metanol-ácido acético-água

TABELA 1 - Origem dos isolados de *Phytophthora* spp. de Seringueira, Cacau, Berinjela e Pimentão usados neste trabalho.

Nº do Isolado	Espécie	Procedência *	Hospedeiro	Parte Afetada
H1	<i>Phytophthora</i> sp.	Camamu-BA	Seringueira (s)	Pecíolo
H2	<i>Phytophthora</i> sp.	Una-BA	S	Pecíolo
H3	<i>Phytophthora</i> sp.	Ituberá-BA	S	Pecíolo
H4	<i>Phytophthora</i> sp.	Camamu-BA	S	Pecíolo
H5 (P147)	<i>P. capsici</i>	DIFIP	S	Ramo
H6	<i>Phytophthora</i> sp.	Una-BA	S	Folha
H7	<i>Phytophthora</i> sp.	Una-BA	S	Pecíolo
H8 (P150)	<i>P. capsici</i>	DIFIP	S	Pecíolo
H9	<i>Phytophthora</i> sp.	Ituberá-BA	S	Pecíolo
H10	<i>Phytophthora</i> sp.	Uruçuca-BA	S	Ramo
H11	<i>Phytophthora</i> sp.	Uruçuca-BA	S	Ramo
H12	<i>Phytophthora</i> sp.	Camamu-BA	S	Pecíolo
H13	<i>Phytophthora</i> sp.	Uruçuca-BA	S	Folha
H14	<i>Phytophthora</i> sp.	Camamu-BA	S	Painel de Sangria
H15	<i>Phytophthora</i> sp.	Camamu-BA	S	Pecíolo
H16 (P158)	<i>P. palmivora</i>	DIFIP	S	Ramo
H17	<i>Phytophthora</i> sp.	Una-BA	S	Folha
H18	<i>Phytophthora</i> sp.	Una-BA	S	Pecíolo
H19	<i>Phytophthora</i> sp.	Una-BA	S	Pecíolo
H20	<i>Phytophthora</i> sp.	Ituberá-BA	S	Caule
H21	<i>Phytophthora</i> sp.	Valença-BA	S	Pecíolo
H22	<i>Phytophthora</i> sp.	Ituberá-BA	S	Ramo
H23	<i>Phytophthora</i> sp.	Ituberá-BA	S	Pecíolo
H24	<i>Phytophthora</i> sp.	Una-BA	S	Pecíolo
H25	<i>Phytophthora</i> sp.	Camamu-BA	S	Pecíolo
H26	<i>Phytophthora</i> sp.	Una-BA	S	Caule (muda)
H27	<i>Phytophthora</i> sp.	Una-BA	S	Folha (muda)
H28	<i>Phytophthora</i> sp.	Una-BA	S	Folha (muda)
H29	<i>Phytophthora</i> sp.	Una-BA	S	Folha (muda)
H30	<i>Phytophthora</i> sp.	Una-BA	S	Folha (muda)
H31	<i>Phytophthora</i> sp.	Una-BA	S	Caule (muda)
H32	<i>Phytophthora</i> sp.	Una-BA	S	Folha (muda)
H33 (P51)	<i>P. capsici</i>	DIFIP	S	-
H34 (LRS17/87)	<i>P. capsici</i>	IB	S	Muda
H35 (LRS27/87)	<i>P. citrophthora</i>	IB	S	Painel de Sangria
C-23	<i>P. capsici</i>	DIFIP	Cacaueiro	-
C-26	<i>P. palmivora</i>	DIFIP	Cacaueiro	-
P-1A'	<i>P. capsici</i>	DFP	Pimentão	-
P-4-7	<i>P. capsici</i>	DFP	Pimentão	-
b-2	<i>P. capsici</i>	DFP	Beringela	-
PH	<i>P. heveae</i>	DIFIP	Cacaueiro	-

\* DFP - Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa - Minas Gerais.

DIFIP - Divisão de Fitopatologia do Centro de Pesquisa do Cacau, CEPEC/CEPLAC, Ilhéus-Bahia.

IB - Instituto Biológico, Laboratório Regional de Sorocaba, Sorocaba-São Paulo.

45:10:45), por cerca de 12 horas no ambiente. A seguir, procederam-se a lavagens sucessivas com a mesma solução, para fixar as bandas e remover o excesso do corante. Procedeu-se, então, à secagem dos géis de acordo com Alfenas *et al.* (1991).

Os padrões proteicos foram determinados com base no número, na posição e na largura das bandas, e os valores RF foram calculados de acordo com a mobilidade de cada banda em relação ao corante da zona frontal de corrida.

## RESULTADOS

**Crescimento micelial de *Phytophthora* spp. em função da temperatura e do meio de cultura.** O crescimento mínimo aconteceu a 10°C, o máximo na faixa de 25 a 30°C (Figura 1) e nenhum crescimento a 35°C ou traços apenas nos isolados H2, H8, H17, H22 e H23. A 10°C, os isolados H23, H24 e H25 apresentaram somente traços de crescimento, razão pela qual optou-se pela sua análise separadamente (Figura 1).

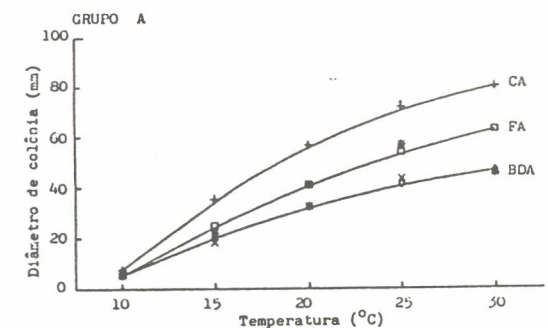
Entre os meios testados, observou-se maior crescimento das colônias em CA. Neste meio, alguns isolados apresentaram crescimento cottonoso e outros, petalóides, com pouco ou muito micélio aéreo, bordas definidas ou não. No meio FA, o crescimento foi escasso e, no BDA, o crescimento foi, em geral, raso, para a maioria dos isolados, com pouco ou muito micélio aéreo e bordas bem definidas. A morfologia das colônias do isolado H16 (*P. palmivora* MF1) foi distinta dos demais, caracterizando-se, em meio CA, por um crescimento de aspecto estrelado. O isolado H35 (*P. citrophthora*) apresentou-se cottonoso.

**Produção de esporângios de *Phytophthora* spp. em função da luz e do meio de cultura.** A presença de luz estimulou a produção de esporângios. Quanto aos meios de cultura, obtiveram-se as maiores produções de esporângios no CA.

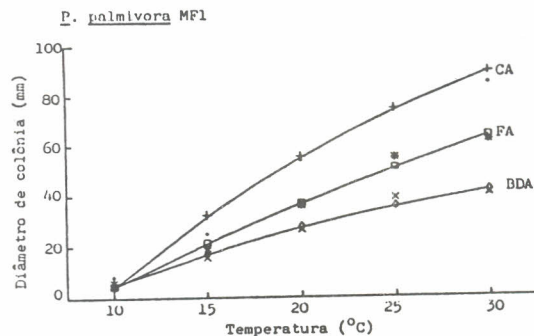
No meio CA, sob luz contínua, foram detectados dois grupos de isolados: um compreendendo os de baixa esporulação (isolados H1, H3, H4, H6 e H34) e os de alta esporulação (destaque para H13, H17 e H21).

**Forma e dimensão de esporângios.** Na Tabela 2, apresentam-se as dimensões de esporângios dos 34 isolados de *Phytophthora* obtidos de seringueira. Em meio CA, todos produziram esporângios caducos e papilados. Dentre as características morfológicas examinadas, o comprimento do pedicelo foi a mais útil para o agrupamento inicial dos isolados. O isolado H16 (*P. palmivora* MF1) foi o único que apresentou pedicelo curto, em média 1,76µm de comprimento. Os esporângios eram ovóides ou esféricos, com relação comprimento/largura de 1,37.

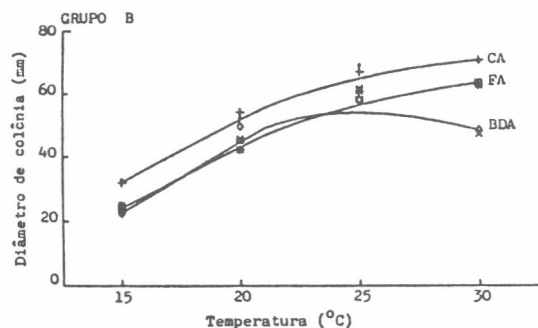
Nos demais 33 isolados, observaram-se pedicelos longos, chegando a atingir 79,6µm de comprimento. Geralmente, apresentaram esporângios elipsóides ou obovóides com base conoidal e, algumas vezes, piriformes. Na maioria destes isolados, encontraram-se esporângios bipapilados e de formas distorcidas. O tamanho era variável, sendo a relação média de comprimento/largura de 1,36 a 2,02. Alguns dos isolados produziram micélio aéreo em abundância; em algumas regiões desse micélio, ocorriam dilatações de hifas, já relatadas por Newhook *et al.*, 1978. Estas dilatações foram mais comuns no meio de CA sob luz contínua.



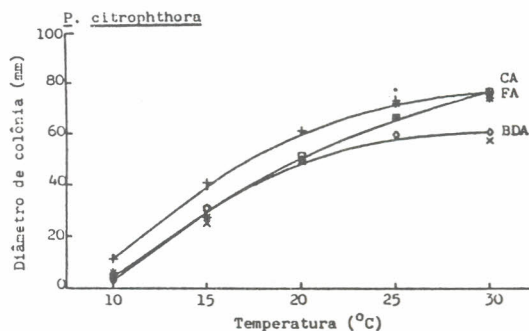
$$\begin{aligned} \text{BDA} - \hat{y} &= -34,7938 + 4,66665 T - 0,0648471 T^2 & R^2 &= 0,98 \\ \text{FA} - \hat{y} &= -44,9999 + 5,71055 T - 0,06987 T^2 & R^2 &= 0,98 \\ \text{CA} - \hat{y} &= -68,7362 + 8,93717 T - 0,132164 T^2 & R^2 &= 0,99 \end{aligned}$$



$$\begin{aligned} \text{BDA} - \hat{y} &= -25,5333 + 3,45334 T - 0,0400002 T^2 & R^2 &= 0,98 \\ \text{FA} - \hat{y} &= -33,2666 + 4,0219 T - 0,0257143 T^2 & R^2 &= 0,98 \\ \text{CA} - \hat{y} &= -65,0667 + 7,81621 T - 0,0885721 T^2 & R^2 &= 0,95 \end{aligned}$$



$$\begin{aligned} \text{BDA} - \hat{y} &= -167,689 + 18,1467 T - 0,364444 T^2 & R^2 &= 0,95 \\ \text{FA} - \hat{y} &= -84,3945 + 9,51445 T - 0,152222 T^2 & R^2 &= 0,98 \\ \text{CA} - \hat{y} &= -88,0329 + 10,7089 T - 0,18 T^2 & R^2 &= 0,99 \end{aligned}$$



$$\begin{aligned} \text{BDA} - \hat{y} &= -79,9334 + 10,0638 T - 0,178095 T^2 & R^2 &= 0,95 \\ \text{FA} - \hat{y} &= -65,1334 + 8,00954 T - 0,108572 T^2 & R^2 &= 0,98 \\ \text{CA} - \hat{y} &= -74,1999 + 10,2848 T - 0,174286 T^2 & R^2 &= 0,99 \end{aligned}$$

FIG. 1 - Crescimento micelial de *Phytophthora* sp. (Grupo A: isolados H1 a H15, H17 a H22 e H34; Grupo B: isolados H23, H24 e H25), *P. palmivora* MF1 (isolado H16) e *P. citrophthora* (isolado H35), em três meios de cultura e seis temperaturas, aos quatro dias de incubação.

TABELA 2 - Dimensões ( $\mu\text{m}$ ) de Esporângios de Isolados de *Phytophthora* spp. Obtidos de Seringueira.

Isolado	Comprimento	Largura	Relação (Compr./Larg.)	Pedicelo (Comprimento)	Abertura Poro Apical	Papila (Espessura)
H1	32,34 $\pm$ 3,81 <sup>a</sup>	20,76 $\pm$ 1,19	1,56	30,99 $\pm$ 6,33	3,60 $\pm$ 0,38	1,94 $\pm$ 0,51
H2	41,69 $\pm$ 5,52	20,83 $\pm$ 2,99	2,00	34,16 $\pm$ 8,75	3,67 $\pm$ 0,53	2,51 $\pm$ 0,39
H3	37,50 $\pm$ 4,42	21,28 $\pm$ 1,52	1,76	25,59 $\pm$ 9,31	4,29 $\pm$ 0,50	2,25 $\pm$ 0,42
H4	38,17 $\pm$ 6,13	21,93 $\pm$ 2,41	1,74	34,27 $\pm$ 7,72	4,09 $\pm$ 0,32	2,33 $\pm$ 0,49
H5	40,50 $\pm$ 3,23	22,50 $\pm$ 1,91	1,80	20,14 $\pm$ 5,44	3,20 $\pm$ 0,53	2,28 $\pm$ 0,30
H6	47,02 $\pm$ 4,18	21,78 $\pm$ 2,54	2,15	39,40 $\pm$ 11,90	3,96 $\pm$ 0,54	2,20 $\pm$ 0,32
H7	39,01 $\pm$ 4,35	22,56 $\pm$ 3,40	1,72	26,43 $\pm$ 9,37	3,14 $\pm$ 0,49	2,53 $\pm$ 0,28
H8	32,55 $\pm$ 5,42	19,38 $\pm$ 3,25	1,67	28,95 $\pm$ 8,34	2,88 $\pm$ 0,30	2,19 $\pm$ 0,46
H9	33,51 $\pm$ 2,73	21,31 $\pm$ 2,77	1,57	26,96 $\pm$ 8,21	3,31 $\pm$ 0,24	2,42 $\pm$ 0,37
H10	31,05 $\pm$ 7,53	22,80 $\pm$ 3,01	1,36	22,29 $\pm$ 6,54	3,51 $\pm$ 0,39	2,06 $\pm$ 0,41
H11	32,58 $\pm$ 3,92	19,97 $\pm$ 1,98	1,63	21,70 $\pm$ 7,76	3,02 $\pm$ 0,35	2,01 $\pm$ 0,48
H12	33,16 $\pm$ 5,04	21,06 $\pm$ 2,44	1,57	28,42 $\pm$ 9,93	3,09 $\pm$ 0,41	1,96 $\pm$ 0,32
H13	33,64 $\pm$ 4,29	19,34 $\pm$ 2,39	1,72	29,72 $\pm$ 8,42	2,75 $\pm$ 0,38	2,15 $\pm$ 0,51
H14	40,39 $\pm$ 1,12	20,75 $\pm$ 1,76	1,94	34,11 $\pm$ 11,02	3,21 $\pm$ 0,51	2,45 $\pm$ 0,43
H15	27,07 $\pm$ 2,80	19,35 $\pm$ 1,83	1,39	29,20 $\pm$ 8,85	2,57 $\pm$ 0,40	1,80 $\pm$ 0,59
H16	36,20 $\pm$ 4,14	26,41 $\pm$ 2,65	1,37	1,76 $\pm$ 0,54	3,33 $\pm$ 0,41	2,97 $\pm$ 0,49
H17	38,13 $\pm$ 5,84	20,03 $\pm$ 2,32	1,90	23,27 $\pm$ 9,92	2,78 $\pm$ 0,43	2,10 $\pm$ 0,35
H18	33,81 $\pm$ 2,88	16,35 $\pm$ 1,59	2,04	40,45 $\pm$ 13,50	2,93 $\pm$ 0,33	2,18 $\pm$ 0,33
H19	40,67 $\pm$ 5,45	21,95 $\pm$ 2,87	1,85	34,43 $\pm$ 11,60	3,52 $\pm$ 0,56	2,58 $\pm$ 0,43
H20	44,13 $\pm$ 7,31	22,86 $\pm$ 3,08	1,92	29,28 $\pm$ 13,78	3,52 $\pm$ 0,57	2,33 $\pm$ 0,44
H21	37,71 $\pm$ 5,15	21,29 $\pm$ 2,41	1,77	36,06 $\pm$ 15,27	3,75 $\pm$ 0,48	2,38 $\pm$ 0,40
H22	42,57 $\pm$ 5,03	22,86 $\pm$ 2,72	1,86	29,35 $\pm$ 11,41	3,48 $\pm$ 0,62	2,28 $\pm$ 0,36
H23	44,67 $\pm$ 6,43	25,09 $\pm$ 3,38	1,78	29,47 $\pm$ 11,73	3,86 $\pm$ 0,71	2,15 $\pm$ 0,23
H24	43,29 $\pm$ 6,12	22,24 $\pm$ 3,40	1,94	36,16 $\pm$ 9,28	3,82 $\pm$ 0,54	2,47 $\pm$ 0,31
H25	44,76 $\pm$ 6,72	23,46 $\pm$ 3,46	1,90	45,67 $\pm$ 15,29	3,83 $\pm$ 0,55	2,34 $\pm$ 0,26
H26	33,14 $\pm$ 6,22	16,33 $\pm$ 3,08	2,02	48,49 $\pm$ 12,05	3,47 $\pm$ 0,49	2,15 $\pm$ 0,28
H27	40,42 $\pm$ 5,41	23,00 $\pm$ 2,92	1,75	42,52 $\pm$ 11,33	4,10 $\pm$ 0,49	2,56 $\pm$ 0,23
H28	42,91 $\pm$ 4,95	21,64 $\pm$ 3,26	1,98	41,25 $\pm$ 8,58	3,72 $\pm$ 0,60	2,36 $\pm$ 0,29
H29	43,87 $\pm$ 5,57	22,65 $\pm$ 4,60	1,93	36,04 $\pm$ 8,69	3,74 $\pm$ 0,50	2,30 $\pm$ 0,23
H30	42,55 $\pm$ 4,52	21,53 $\pm$ 2,41	1,97	37,55 $\pm$ 11,31	3,49 $\pm$ 0,44	2,29 $\pm$ 0,24
H31	42,00 $\pm$ 4,72	21,88 $\pm$ 2,48	1,91	33,45 $\pm$ 9,32	3,59 $\pm$ 0,36	2,34 $\pm$ 0,24
H32	45,23 $\pm$ 4,83	23,01 $\pm$ 2,99	1,96	36,01 $\pm$ 10,44	3,69 $\pm$ 0,43	2,31 $\pm$ 0,23
H33	44,02 $\pm$ 5,51	21,75 $\pm$ 2,70	2,02	35,48 $\pm$ 9,56	3,52 $\pm$ 0,45	2,19 $\pm$ 0,17
H34	43,35 $\pm$ 5,06	19,22 $\pm$ 2,71	2,20	26,26 $\pm$ 0,96	3,58 $\pm$ 0,55	2,36 $\pm$ 0,30

<sup>a</sup> Média  $\pm$  desvio-padrão de 50 esporângios.

**Ontogenia de esporângios.** Dos isolados obtidos de seringueira, 33 caracterizaram-se por esporângios caducos, papilados e de pedicelo longo, com predominância de ontogenia do tipo umbelado. Quando os esporângios não se originavam do mesmo ponto, apresentavam-se próximos ou pouco distantes do ponto de origem, assemelhando-se, em vista geral, a um cacho. O número de esporângios em cada agrupamento variou de quatro a dez, entre os isolados pouco esporulantes (H1, H6, H15, H23 e H26). Em outros isolados (H11, H12, H18, H20 e H34), o número de esporângios por agrupamento variava de cinco a 20. Nos isolados mais

esporulantes (H2, H3, H4, H5, H7, H8, H9, H10, H13, H14, H17, H19, H21, H22, H24, H25, H27, H28, H29, H30, H31, H32 e H33), a maioria dos agrupamentos possuía mais de 20 esporângios, variando de seis a 41 por agrupamento. Embora nesse primeiro grupo o tipo predominante tenha sido o umbelado, ocorreram também, em menor escala, esporângios formados individualmente e de distribuição irregular nas hifas.

O tipo simpodial compreendeu apenas o isolado H16 (*P. palmivora* MF1). Os esporângios eram papilados, com pedicelo curto, caduco, ovóides e alguns quase esféricos.

O isolado H35 (*P. citrophthora*) apresentou esporângios dispostos irregularmente nas hifas. Após o quarto dia de incubação, observaram-se esporângios papilados, persistentes e de formato variável (ovóides, elipsóides e quase esféricos).

**Produção de clamidosporos.** Dos 35 isolados, apenas H16 (*P. palmivora* MF1) e H19 (de pedicelo longo) formaram clamidosporos em cultura submersa. Os clamidosporos de isolado H16 mediram 44,19µm de diâmetro, variando de 32,5 a 52,2µm, com 2,04µm de espessura de parede variando de 1,0 a 3,2µm. Os clamidosporos do isolado H19 mediram em média 25,15µm (18,6 - 32,3µm) de diâmetro, com 1,38µm (0,8 - 2,8µm) de espessura média de parede.

A produção de clamidosporos pelo isolado H19 foi irregular na massa micelial. Os clamidosporos eram esféricos, terminais ou intercalares. Já o isolado H16 (*P. palmivora* MF1) produziu, também, clamidosporos esféricos, terminais ou intercalares, porém uniformemente distribuídos na massa micelial.

**Produção de oosporos.** O isolado H35 (*P. citrophthora*) não formou anterídios ou oogônio. O isolado H16 (*P. palmivora* MF1) foi heterotático, pertencente ao grupo de compatibilidade A<sup>2</sup> e formador de anterídios anfígenos. Todos os 33 isolados de pedicelo longo foram heterotáticos, pertencentes ao grupo de compatibilidade A<sup>1</sup> e formadores de anterídios anfígenos.

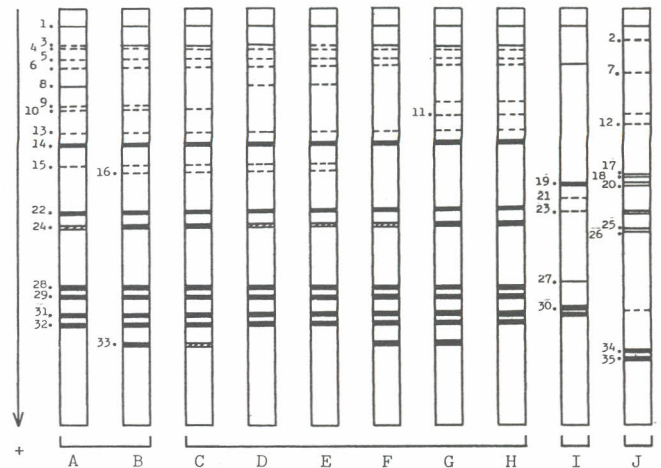
**Teste de patogenicidade.** Todos os 35 isolados foram patogênicos à seringueira, havendo variações quanto à virulência. Os isolados H23 e H26 foram menos virulentos, seguidos de H6, H17 e H16 (*P. palmivora* MF1).

**Determinação de padrões de proteínas de *Phytophthora* spp. em gel de poliácridamida.** Os isolados de *Phytophthora* obtidos de seringueira podem ser agrupados em 10 fenótipos eletroforéticos (Figura 2). Nesse agrupamento, consideraram-se bandas principais de menor intensidade caracterizadas por linhas tracejadas. Esses resultados representam dados obtidos de duas corridas eletroforéticas, empregando-se extratos protéicos obtidos de dois diferentes lotes de cultivo do fungo.

Os percentuais de similaridade entre os isolados de *Phytophthora* sp. e *P. capsici* de seringueira variaram de 50 a 100% (Tabela 3). Entre esses isolados e os de *P. palmivora* MF1, *P. heveae* e *P. citrophthora*, os percentuais variaram de 6 a 40%. Os isolados de *P. palmivora* MF1 obtidos de cacau (C26) e de seringueira (H16) foram similares quanto aos padrões protéicos, com 75% de similaridade (Tabela 3).

## DISCUSSÃO

Os isolados em estudo caracterizaram-se por apresentarem esporângios papilados, caducos, elipsóides ou obovóides com base conoidal e pedicelos longos, enquadrando-se no grupo II de Waterhouse (1963) e Newhook *et al.* (1978). Nesse grupo inclui-se, dentre outras, *P. capsici* (= *P. palmivora* MF4), descrita em seringueira por Campelo (1980) e Llynage e Wheeler (1989).



**FIG. 2 - Fenótipos eletroforéticos de proteínas intramieliais representativos dos isolados estudados de *P. capsici* (A e B), *Phytophthora* sp. (C, D, E, F, G e H), *P. citrophthora* (I) e *P. palmivora* MF1 (J) de seringueira, obtidos em gel de poliácridamida, expressos pelo número de bandas (1, 2, ... n).**

Variações no formato e no tamanho dos esporângios dos isolados de pedicelo longo e de H5, H8 e H33 de *P. capsici* foram comuns neste trabalho, constatando-se que a relação comprimento/largura oscilou de 1,36 a 2,02, o que está de acordo com a descrição de Tsao e Alizadeh (1988) para a espécie.

Dentre os 35 isolados aqui estudados, 33 formaram esporângios em arranjo do tipo umbelado. Alizadeh e Tsao (1985a) constataram que isolados de *P. capsici* (= *P. palmivora* MF4), cultivados sob luz contínua, produziram esporângios no arranjo de tipo umbelado, analogamente aos resultados obtidos neste trabalho para isolados de pedicelo longo.

No presente trabalho, os isolados de pedicelo longo e os isolados H5, H8 e H33 de *P. capsici*, usados como padrão, apresentaram esporulação variando de baixa a alta. Similarmente, Alizadeh e Tsao (1985a) e Urban (1980), encontraram, também, variações na produção de esporângios entre isolados de *P. capsici* (= *P. palmivora* MF4). A luz estimulou significativamente, no presente trabalho, a produção de esporângios, analogamente aos resultados relatados por Rocha e Machado (1973), Lawrence e Luz (1982) e Brasier (1969).

As variações do diâmetro dos clamidosporos de H16 (*P. palmivora* MF1) encontradas neste trabalho são semelhantes às descritas por Waterhouse (1963) e Alizadeh e Tsao (1985b). Entretanto, a espessura da parede é ligeiramente superior à relatada por Waterhouse (1963), mas situa-se dentro da faixa de variação descrita por Kadooka e Ko (1973).

No grupo II (Newhook *et al.*, 1978), apenas *P. palmivora* MF4 apresenta pedicelo longo, maior que 50µm, e alguns de seus isolados podem formar clamidosporos. Alizadeh e Tsao (1985b) trabalharam com 29 isolados de *P. palmivora* MF4 (= *P. capsici*), oriundos de diferentes hospedeiros, e verificaram que seis formaram clamidosporos.

TABELA 3 - Percentuais de similaridade entre padrões de proteínas de isolados de *Phytophthora heveae* (PH); *P. citrophthora* (H35); *P. palmivora* MF1 de cacau (C26); *P. palmivora* MF1 de seringueira (H16); *P. capsici* de olerícola (b2 e P14); *P. capsici* de seringueira (H5 e H8); e *Phytophthora* sp. de seringueira (H1 a H4, H6, H7, H9 a H15 e H17 a H33).

Isolados	H33	H32	H31	H30	H29	H28	H27	H25	H24	H23	H22	H21	H20	H19	H16	H17	H15	H14	H13	H12	H11	H10	H9	H7	H6	H4	H3	H2	H1	H5	H8	P14'	b2	H16	C26	H35		
PH	28	32	16	19	26	33	33	23	14	11	14	14	15	15	18	-	-	-	-	13	20	18	23	14	16	45	41	33	38	39	35	30	18	20	13			
H35	29	20	28	30	39	40	40	33	-	-	-	-	14	14	15	14	11	14	13	24	12	11	16	12	13	26	24	23	33	35	38	40	11	9				
C26	15	23	9	17	13	15	15	11	12	14	12	12	13	32	30	22	20	25	20	24	17	13	17	16	18	20	23	21	20	15	25	14	14	75				
H16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	17	17	13	12	15	12	12	12	13	12	12	13	14	-	-	-	8	13	-	-					
b2	63	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	53	56	63	59	53	91							
P14'	69	50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	60	63	69	65	50							
H8	68	61	87	76	75	67	67	60	73	53	73	73	79	68	65	72	83	56	83	79	73	71	63	80	85	69	61	50	68	74								
H5	83	67	81	82	88	73	73	74	65	56	65	65	69	74	79	78	79	61	79	94	80	79	80	87	79	77	67	78	83									
H1	88	81	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	81	94										
H2	82	87	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
H3	71	86	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
H4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	60	69	71	67	83												
H6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	63	71	73	80													
H7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	81	69	81														
H9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	87	86														
H10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	86															
H12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	68	74	82	83	65	83																				
H13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	72	68	76	100	69																					
H14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	53	50	56	69																						
H15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	73	68	76																							
H17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	81	88																								
H18	-	-	-	-	-	-	-	73	64	73	73	79	79																									
H19	-	-	-	-	-	-	-	77	53	92	92	100																										
H20	-	-	-	-	-	-	-	77	53	92	92																											
H21	-	-	-	-	-	-	-	85	50	100																												
H22	-	-	-	-	-	-	-	85	50																													
H23	-	-	-	-	-	-	-	61																														
H25	-	-	68	79	65	61	61																															
H27	-	-	79	69	73	100																																
H28	-	-	79	69	73																																	
H29	-	-	81	82																																		
H30	-	-	88																																			
H32	71																																					

\* Percentual de similaridade =  $\frac{n^\circ \text{ de pares de bandas similares} \times 100}{(n^\circ \text{ de bandas diferentes} + n^\circ \text{ de pares de bandas similares})}$  (Feichtmberger *et al.*, 1984).

Uchida e Aragaki (1985) determinaram que, 20 dentre os 29 isolados de *P. capsici*, oriundos de vários hospedeiros, também produziram clamidosporos. Neste estudo, entre 29 isolados de pedicelo longo e três de *P. capsici* (= *P. palmivora* MF4), apenas o H19 formou clamidosporos.

O isolado H35 (*P. citrophthora*) não formou anterídio e oogônio, em analogia ao relatado por vários autores para essa espécie (Waterhouse, 1963; Newhook *et al.*, 1978; Campelo e Luz, 1981; Ho *et al.*, 1983).

Todos os demais isolados foram heterotáticos e formaram apenas anterídios anfígenos. Os isolados de pedicelo longo estudados, assim com o H5, H8 e H33 de *P. capsici* usados como padrão, pertencem ao grupo de compatibilidade A<sup>1</sup>. Embora o número de isolados estudados seja pequeno para se chegar à conclusão definitiva, parece que o grupo A<sup>1</sup> de *P. capsici* tende a predominar no sudeste da Bahia, similarmente ao relatado por Campelo e Medeiros (1980) quanto aos isolados de seringueira e cacau.

O isolado H16 de *P. palmivora* MF1, estudado neste trabalho, pertence ao grupo A<sup>2</sup>. Embora seja apenas um isolado dessa espécie, esse resultado assemelha-se aos obtidos por Campelo e Medeiros (1980), que verificaram a presença do tipo compatível A<sup>2</sup> em isolado de *P. palmivora* MF1 de cacau.

Dentre 35 isolados estudados neste trabalho, 33 isolados de pedicelo longo, incluindo os isolados H5, H8 e H33

de *P. capsici* obtidos de seringueira, assim como H16 (*P. palmivora* MF1), enquadraram-se no grupo de temperatura ótima alta (Waterhouse *et al.*, 1983), com o máximo de crescimento entre 27 e 32°C. Neste grupo são encontradas 11 espécies, inclusive *P. palmivora* MF4 (= *P. capsici*) (Waterhouse *et al.*, 1983). O isolado H35 (*P. citrophthora*), com temperatura ótima de crescimento a 25°C, enquadra-se no grupo intermediário proposto por Waterhouse *et al.*, (1983). Luz e Campelo (1983) constataram que *P. capsici*, *P. palmivora* e *P. citrophthora*, oriundos de cacau, encontravam-se, também, entre 25 a 30°C, com crescimento ótimo, analogamente aos resultados obtidos neste trabalho.

Os isolados H5, H8 e H33 de *P. capsici* (= *P. palmivora* MF4), usados como padrão, e os de pedicelo longo estudados não cresceram a 35°C. Newhook *et al.*, (1978) e Waterhouse (1963) estaleceram, em suas chaves de identificação, que *P. capsici* cresce em temperaturas acima de 35°C. No entanto, de acordo com Tsao e Alizadeh (1988), o crescimento em temperaturas superiores a 35°C não pode ser considerado característica definitiva de *P. capsici*.

Pelas características morfológicas e fisiológicas apresentadas, os 29 isolados de *Phytophthora* de seringueira estudados enquadram-se na espécie de *P. capsici* Leonian (= *P. palmivora* MF4) emend. Alizadeh e Tsao (Tsao e Alizadeh, 1988).



A variabilidade de isolados de *Phytophthora* pode ser comprometedor na identificação da espécie. Para diminuir essa discrepância, estudaram-se os padrões eletroforéticos de proteínas. Neste trabalho, observou-se estreita similaridade entre os padrões eletroforéticos dos isolados de *P. capsici* de seringueira, confirmando os estudos morfológicos e fisiológicos procedidos. Resultados semelhantes foram obtidos por Kaosiri e Zentmyer (1980) entre isolados de *P. palmivora* MF4 (= *P. capsici*) de cacau e entre *P. palmivora* de cacau e *P. capsici* de pimentão.

Variações nos percentuais de similaridade entre os isolados de *P. capsici* de seringueira e entre os de *P. capsici* de pimentão, como descrito neste trabalho, assemelham-se aos resultados obtidos por Kaosiri e Zentmyer (1980) entre isolados de *P. palmivora* MF4 (= *P. capsici*) de cacau e de *P. capsici* de pimentão.

Nos últimos 15 anos, as espécies *P. capsici* e *P. palmivora* têm sofrido alterações do ponto de vista taxonômico, o que tem dificultado a sua identificação, quando são comparadas as características dos isolados em estudo com as descritas nas chaves de Waterhouse (1963) e Newhook *et al.* (1978). Em 1976, reconheceram-se três formas morfológicas (MF1, MF3 e MF4) de *P. palmivora*, designadas por complexo *P. palmivora* (Griffin, citado por Luz, 1989). Em 1979, Brasier e Griffin (1979) propuseram MF1 como *P. palmivora* "sensu Buther" e descreveram MF3 como *P. megakaria* Brasier e Griffin, uma nova espécie. A espécie designada como *P. palmivora* MF4 foi considerada estreitamente relacionada a *P. capsici* (Kaosiri *et al.*, 1978; Zentmyer, 1980; Kunitomo *et al.*, 1976). Subseqüentemente, vários autores têm empregado o nome específico *P. capsici* para designar culturas com características similares às de *P. palmivora* MF4 (Campelo e Luz, 1981; Zentmyer, 1980). Recentemente, Tsao e Alizadeh (1988) efetuaram uma revisão na descrição de *P. capsici*, tornando-a abrangente e possibilitando que isolados de *P. palmivora* MF4 possam ser denominados de *P. capsici*.

Os resultados obtidos neste trabalho possibilitaram identificar os isolados de *Phytophthora* obtidos de seringueira como *P. capsici* (= *P. palmivora* MF4). Embora o número de isolados estudados seja ainda pequeno, aparentemente *P. capsici* predomina na Bahia.

## AGRADECIMENTOS

À Dra. Cláudia Vanetti, pelas sugestões.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALFENAS, A.C.; PETERS, I., BRUNE, W.; PASSADOR, G.C. Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais. Viçosa, SIF, 1991, 242p.
- AK-HEDAITHY, S.S.A. & TSAO, P.H. Sporangium pedicel length in *Phytophthora* species and the consideration of its uniformity in determining sporangium caducity. Trans. Br. Mycol. Soc. 7: 1-13. 1979.
- ALIZADEH, A. & TSAO, P.H. Effect of light on sporangium formation, morphology, ontogeny, and caducity of *Phytophthora capsici* and *P. palmivora* MF4 isolates from black pepper and other hosts. Trans. Br. Mycol. Sol. 85: 47-69. 1985(a).
- ALIZADEH, A. & TSAO, P.H. Chlamydospore formation in *Phytophthora palmivora* MF4. Trans. Br. Mycol. Soc. 85: 71-79. 1985(b).
- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Bioch. 72: 248-254. 1976.
- BRASIER, C.M. The effect of light and temperature on reproduction in vitro in two tropical species of *Phytophthora*. Trans. Br. Mycol. Soc. 52: 105-113. 1969.
- BRASIER, C.M. & GRIFFIN, M.J. Taxonomy of *Phytophthora palmivora* on cacao. Trans. Br. Mycol. Soc. 72: 111-143. 1979.
- CAMPELO, A.M.F.L. Species of *Phytophthora* from cacao - growing areas of Brazil. In: Am. Meeting on *Phytophthora palmivora* on Cacao, 13, Turrialba, 1980. Catie, 1980. p.3-4.
- CAMPELO, A.M.F.L. & LUZ, E.D.M.N. Etiologia da podridão parda do cacauero nos Estados da Bahia e Espírito Santo, Brazil. Fitopatol. bras. 6: 313-321. 1981.
- CAMPELO, A.M.F.L. & MEDEIROS, A.G. Tipos morfológicos de *Phytophthora palmivora* no Brasil. Rev. Theobroma 10: 141-147. 1980.
- CHEE, K.H. Variability of *Phytophthora* species from *Hevea brasiliensis*. Trans. Br. Mycol. Soc. 52:425-436. 1969.
- CHEE, K.H. & KAI-MING, Z. Diseases of *Hevea* in South Bahia, Brazil, caused by *Phytophthora* sp. Planter 61: 299-305. 1985.
- CHEE, K.H.; LIM, T.M.; WASTIE, R.L. An outbreak of *Phytophthora* leaf fall and pod rot of *Hevea brasiliensis* in Malaysia. Plant. Dis. Rep. 51: 443-446. 1967.
- DANTANARAYANA, D.M.; PEREIS, O.S.; LIYNAGE, A.S. Taxonomy of *Phytophthora* species isolated from rubber in Sri Lanka. Trans. Br. Mycol. Soc. 82: 113-126. 1984.
- ERWIN, D.C. Variability within and among species of *Phytophthora*. In: Erwin, D.C.; Bartnicki-Garcia, S.; Tsao, P.H. (eds). *Phytophthora: Its Biology, Taxonomy, Ecology, and Pathology*. St. Paul, Minnesota, APS. p.149-165. 1983.
- FEICHTENBERGER, E.; ZENTMYER, G.A.; MENGE, J.A. Identify of *Phytophthora* isolated from milk-weed vine. Phytopathology 74: 50-55. 1984.
- HO, H.H.; ZHUANG, Y.Y.; KIANG, Z.W. Mating types of heterothallic species of *Phytophthora* in China. Acta Mycologica Sinica. 2: 187-191. 1983.
- HO, H.H.; LIANG, Z.R.; ZHUANG, W.Y.; YU, Y.N. *Phytophthora* spp. from rubber tree plantations in Yunnan Province of China. Mycopathologia 86: 121-124. 1984.
- KADOOKA, J.M. & KO, W.H. Production of chlamydospores of *Phytophthora palmivora* in culture media. Phytopathology 63: 559-562. 1973.

- KAOSIRI, T. & ZENTMYER, G.A. Protein, esterase, and peroxidase patterns in the *Phytophthora palmivora* complex from cacao. *Micologia* 72: 988-1000. 1980.
- KAOSIRI, T.; ZENTMYER, G.A. & ERWIN, D.C. Stalk length as a taxonomic criterion of *Phytophthora palmivora* isolates from cacao. *Can. J. Bot.* 56: 1730-1738. 1978.
- KUNIMOTO, R.K.; ARAGAKI, M.; HUNTER, J.E. & KO, W.H. *Phytophthora capsici* corrected name for the cause of *Phytophthora* blight of macadamia racemes. *Phytophthora* 66: 546-548. 1976.
- LAWRENCE, J.S. & LUZ, E.D.M.N. The influence of light on in vitro zoospore production by *Phytophthora capsici*, *P. palmivora* and *P. citrophthora* isolates from cacao. *Rev. Theobroma* 13: 199-202. 1982.
- LIYNAGE, N.I.S. *Phytophthora citricola* on rubber in Sri Lanka. *Plant Pathology* 38: 438-439. 1989.
- LIYNAGE, N.I.S. & WHEELER, B.E.J. Comparative morphology of *Phytophthora* species on rubber. *Plant Pathology* 38: 592-597. 1989.
- LUZ, E.D.M.N. The roles of five species of species of *Phytophthora* in infection and disease of roots, stems, and pods of *Theobroma cacao* L. University of Florida, 1989. 184p. (Tese PhD).
- LUZ, E.D.M.N. & CAMPELO, A.M.F.L. Temperatura, fator predominante no equilíbrio populacional das espécies de *Phytophthora* que causam podridão parda do cacau na Bahia, Brasil. *Rev. Theobroma* 13: 361-375. 1983.
- MCRAE, W. *Phytophthora meadii* sp. on *Hevea brasiliensis* Mem. Dep. Agric. India Bot. Ser. 9: 219-223. 1918.
- MEDEIROS, A.G. & AYRES, D.J. Ocorrência de *Phytophthora palmivora* (Butl.) Butl. em seringueira. In: Comissão Executiva do Plano de Recuperação Econômica da Lavoura Cacaueira., Ilhéus, BA. Relatório Anual 1964. Ilhéus, 1964. p.31.
- NEWHOOK, F.J.; WATERHOUSE, G.M.; STAMPS, D.J. Tabular Key to Species of *Phytophthora* de Bary. *Mycological Papers* 143, CMI, Kew, Surrey, Inglaterra, 20p. 1978.
- RIBEIRO, N.C.A.; ALFENAS, A.C.; BROMMONSCHENKEL, S.H. & SANTOS, A.F. dos. Proteínas e isoenzimas na taxonomia de espécies de *Phytophthora* isoladas de cacau (Theobroma cacao). I. Eletroforese em géis de poliácridamina. In: Simpósio de Pesquisa na UFV, 2ª, Viçosa, 1990. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa, 1990. p.162.
- ROCHA, H.M. & MACHADO, A.D. Influência da luz, temperatura e umidade relativa na esporulação do *Phytophthora palmivora* (Butl.) Butl. em frutos de cacau. *Rev. Theobroma* 3: 22-25. 1973.
- SANTOS, A.F.dos. Identificação de *Phytophthora* em *Hevea*, histopatologia e resistência do hospedeiro. UFV. Imp. Univ., 1991, 139p. (Tese D.S.).
- SANTOS, A.F.dos & PEREIRA, J.C.R. Doenças bióticas do tronco da seringueira. In: Ferreira, F.A. (ed.). *Patologia Florestal - principais doenças florestais no Brasil*. Viçosa, SIF, 1989. p.347-351.
- SANTOS, A.F.dos; PEREIRA, J.C.R. & FERREIRA, F.A. Doenças da copa da seringueira causada por *Phytophthora* spp. - requeima e queda anormal das folhas. In: Ferreira, F.A. (ed.). *Patologia Florestal - principais doenças florestais no Brasil*. Viçosa, SIF, 1989. p.314-325.
- SILVEIRA, A.P.; CARDOSO, R.M.G.; FEICHTENBERGER, E. & OLIVEIRA, D.A. Patogenicidade de *Phytophthora* spp. em seringueira (*Hevea* sp.). *Fitopatol. bras.* 1: 316. 1986. (Resumo 73).
- THANKAMMA, L.; GEORGE, M.K. & GEORGE, K.W. Occurrence to two species of *Phytophthora* on *Hevea brasiliensis* in India. *Rubber Board Bull.*, 10: 33. 1968.
- TSAO, P.H. Chlamydospore formation in sporangium-free liquid cultures of *Phytophthora parasitica*. *Phytopathology* 61: 1412-1413. 1971.
- TSAO, P.H. & ALIZADEH, A. Recent advances in the taxonomy and nomenclature of the so-called "*Phytophthora palmivora*" MF4 occurring on cacao and other tropical crops. In: *International Cacao Research Conference*, 10 1988. p.441-445.
- TSAO, P.H. & GUY, S.O. Inhibition of *Mortierella* and *Pythium* in a *Phytophthora* - isolation medium containing hymexazol. *Phytopathology* 67: 796-801. 1977.
- TSAO, P.H.; CHEW-CHIN, N. & SYAMANANDA, R. Occurrence of *Phytophthora palmivora* on *Hevea* in Thailand. *Plant Dis. Repr.* 59: 955-958. 1975.
- TUCKER, C.M. Taxonomy of the genus *Phytophthora* de Bary. *Mo. Agric. Exp. Stn. Res. Bull.* 1953, 1931. 208p.
- TUITE, K. *Plant Pathological Methods - fungi and bacteria*. Minneapolis. Burgess Publishing, 1969. 239p.
- UCHIDA, J.Y. & ARAGAKI, M. Occurrence of chlamydospores in *Phytophthora capsici*. *Mycologia* 77: 832-835. 1985.
- URBEN, A.F. *Phytophthora capsici* Leonian, agente etiológico da murcha de *Capsicum annum* L. em Minas Gerais. Viçosas, UFV, Imp. Univ., 1980. 63p. (Tese M.S.).
- WASTIE, R.L. Diseases of rubber and their control. *Pans* 21: 268-288. 1975.
- WATERHOUSE, G.M. Key to species of *Phytophthora* de Bary, *Mycological Papers*, 92. CMI. Kew. Inglaterra, 1963.
- WATERHOUSE, G.M.; NEWHOOK, F.J. & STAMPS, D.J. Present criteria for classification of *Phytophthora*. In: Erwin, D.C. Bartnicki-Garcia, S.; Tsao, P.H. (eds.) *Phytophthora: It's Biology Taxonomy, Ecology and Pathology*, pp. 139-147. Et. Paul, Minnesota, APS, 1983.
- ZENTMYER, G.A. Taxonomic relation. In: Meeting of the American Group on *Phytophthora palmivora* on Cacao, 13. Turrialba, 1980. Proceedings. CATIE, Costa Rica, 1980. p.5.