

**FLUTUAÇÃO SAZONAL E ASSOCIAÇÃO DE
Colletotrichum gloeosporioides Penz. A DIFERENTES
ÓRGÃOS E TECIDOS DE CAFEEIROS (*Coffea
arabica* L.).**

JOSIMAR BATISTA FERREIRA

2004

57531

049329

JOSIMAR BATISTA FERREIRA

FLUTUAÇÃO SAZONAL E ASSOCIAÇÃO DE
***Colletotrichum gloeosporioides* Penz. A DIFERENTES**
ÓRGÃOS E TECIDOS DE CAFEEIROS
(*Coffea arabica* L.).

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

Orientador

Prof. Dr. Mario Sobral de Abreu

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2004

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

Ferreira, Josimar Batista

Flutuação sazonal e associação de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. a diferentes órgãos e tecidos de cafeeiros (*Coffea arabica* L.) / Josimar Batista Ferreira -- Lavras : UFLA, 2004.

90 p. : il.

Orientador: Mario Sobral de Abreu.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Café. 2. Fungo. 3. Mancha manteigosa. 4. Antracnose. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-633.7394

JOSIMAR BATISTA FERREIRA

FLUTUAÇÃO SAZONAL E ASSOCIAÇÃO DE *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. A DIFERENTES ÓRGÃOS E TECIDOS DE CAFEEIROS (*Coffea arabica* L.).

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

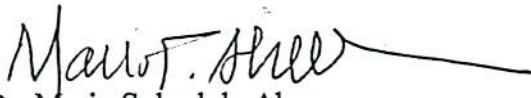
APROVADA em 20 de Fevereiro de 2004

Pesquisadora Dra. Sara Maria Chalfoun

EPAMIG

Prof PhD. Mário Lúcio Vilela de Resende

UFLA


Prof. Dr. Mario Sobral de Abreu
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL.

Aos meus queridos pais João Evangelista Ferreira e Creuza Batista Ferreira.

Aos meus irmãos

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me proporcionado sabedoria, saúde, estímulo, força e perseverança.

À Universidade Federal de Lavras e aos professores do departamento de Fitopatologia, pela oportunidade para realizar o mestrado.

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

Ao professor Dr. Mario Sobral de Abreu, pela orientação, amizade e confiança, que muito contribuíram para realização desse trabalho.

Aos doutores Mário Lúcio Vilela de Resende e Sara Maria Chalfoun por ter aceitado participar da banca examinadora deste trabalho.

Aos amigos Edin Orozco, Tadário, Igor, Fabio, Cristiano, Giltembergue, Dejânia, Leticia, Eloísa, e Danielle pela amizade e contribuição neste estudo.

Aos meus pais, João Evangelista Ferreira e Creuza Batista Ferreira, pelo caráter, dignidade, sabedoria, amor aos filhos, otimismo, conselhos, apoio nos momentos difíceis. Aos meus irmãos Josinaldo Batista Ferreira e Josialdo Aparecido Batista Ferreira, pelo companheirismo e pelo zelo com que me tratam.

A todos aquelas pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para minha formação profissional. Meu sincero agradecimento.

BIOGRAFIA

Josimar Batista Ferreira, filho de João Evangelista Ferreira e Creuza Batista Ferreira, nasceu em 17 de abril de 1978, em Rio Branco, Acre.

Iniciou o curso de graduação em Agronomia pela Universidade Federal do Acre em abril de 1997 graduando-se em dezembro de 2001.

Foi bolsista do Programa Institucional de Bolsa de Iniciação Científica-PIBIC/CNPq de agosto de 1998 a setembro de 2001 no Centro de Pesquisas Agroflorestais do Acre-CPAF/AC (Embrapa-Acre). Desenvolveu trabalhos no Laboratório de Entomologia e Fitopatologia sob orientação dos pesquisadores Marcílio José Thomazini e Maria de Jesus Barbosa Cavalcante.

Em Abril de 2002, iniciou o curso de mestrado em agronomia, área de concentração Fitopatologia, na Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, sob orientação do professor Dr. Mario Sobral de Abreu, concluindo-o em fevereiro de 2004, com a defesa da dissertação.

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
CAPÍTULO 1	01
1 INTRODUÇÃO GERAL.....	01
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	04
2.1 <i>Colletotrichum</i> spp. em cafeeiros.....	04
2.2 Taxonomia de <i>Colletotrichum</i> spp.....	06
2.3- Doenças causada por <i>Colletotrichum</i> em <i>Coffea arabica</i>	08
2.3.1 Doença da baga do café (<i>Coffee Berry Disease</i>) ‘CBD’.....	09
2.3.2- Antracnose, Die back, e Queima castanha (brown Blight).....	10
2.3.3- Mancha Manteigosa.....	10
2.4- Estudo de microrganismos endofíticos.....	12
2.5- Patogenicidade de <i>Colletotrichum</i> spp. no cafeeiro.....	13
2.6- Estudos epidemiológicos de <i>Colletotrichum</i> spp.....	13
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	15
CAPÍTULO 2 Incidência de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> nos estádios de formação e nos tecidos do fruto de diferentes cultivares de <i>Coffea arabica</i>	21
1 RESUMO.....	21
2 ABSTRACT.....	22
3 INTRODUÇÃO.....	23
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	25
4.1 Cultivares de café.....	25
4.2 Incidência de <i>C. gloeosporioides</i> nos estádios de formação do fruto.....	25
4.2.1 Delineamento experimental e avaliações.....	26
4.3 Incidência de <i>C. gloeosporioides</i> em frutos cereja.....	26
4.3.1 Delineamento experimental e avaliações.....	27
4.4 Análise estatística.....	27
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
5.1 Incidência de <i>C. gloeosporioides</i> nos estádios de desenvolvimento dos frutos de cafeeiros.....	28
5.2 Incidência de <i>C. gloeosporioides</i> nos tecidos dos frutos de cafeeiros..	31
6 CONCLUSÕES.....	35
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	36

CAPÍTULO 3 Incidência e progresso da antracnose em folhas de
cafeeiros no campo..... 39

1 RESUMO.....	39
2 ABSTRACT.....	40
3 INTRODUÇÃO.....	41
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	42
4.1 Área experimental.....	42
4.2 Cultivares de café.....	42
4.3 Identificação e marcação dos ramos.....	42
4.4 Estudo epidemiológico de <i>Colletotrichum</i> no campo.....	43
4.5 Avaliações.....	43
4.6 Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD).....	43
4.7 Dados climáticos.....	44
4.8 Delineamento experimental.....	44
4.9 Análise estatística.....	44
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
5.1 Antracnose do cafeeiro.....	46
6 CONCLUSÕES.....	51
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52

CAPÍTULO 4 Colonização de *Colletotrichum gloeosporioides* em
plântulas assintomáticas de café..... 54

1 RESUMO.....	54
2 ABSTRACT.....	55
3 INTRODUÇÃO.....	56
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	57
4.1 Isolados de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> utilizados.....	57
4.2 Inoculação por atomização.....	58
4.2.1 Cultivares de café.....	58
4.2.2 Produção das plântulas.....	58
4.2.3 Acondicionamentos das bandejas plásticas.....	59
4.2.4 Delineamento experimental e inoculação.....	59
4.3 Inoculação em disco adesivo.....	60
4.3.1 Cultivares de café.....	60
4.3.2 Produção das plântulas.....	60
4.3.3 Acondicionamentos das bandejas.....	61
4.3.4 Delineamento experimental e inoculação.....	61
4.3.5 Avaliações.....	62
4.4 Avaliação da incidência.....	62

4.5 Análise estatística.....	63
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	64
5.1 Atomização	64
5.2 Discos autocolante.....	67
6 CONCLUSÕES.....	71
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	72
CAPÍTULO 5 Incidência da mancha manteigosa (<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>) em ovários de flores de cafeeiros.....	74
1 RESUMO.....	74
2 ABSTRACT.....	75
3 INTRODUÇÃO.....	76
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	77
4.1 Unidade experimental.....	77
4.2 Estudo da incidência <i>Colletotrichum</i> em ovários de flores recém fecundadas.....	77
4.3 Avaliações da incidência fúngica.....	78
4.4 Delineamento experimental.....	78
4.5 Análise estatística.....	78
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	79
5.1 Observações no campo.....	79
5.2 Incidência de <i>C. gloeosporioides</i> em ovários de flores recém fecundadas.....	80
5.3 Estudo da colonização fúngica em ovários de flores recém fecundadas de plantas com sintomas e sem sintomas de mancha manteigosa.....	83
6 CONCLUSÕES.....	85
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	86
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	89

RESUMO

FERREIRA, Josimar Batista. **Flutuação sazonal e associação de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. a diferentes órgãos e tecidos de cafeeiros (*Coffea arabica* L).** 2004. 90p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras*

O patossistema *Colletotrichum*-cafeeiro em Minas Gerais é muito importante e complexo. Neste trabalho, avaliou-se a incidência de *Colletotrichum gloeosporioides* nos estádios de formação, nos tecidos dos frutos de cafeeiros e em ovários de flores recém fecundadas de plantas com e sem sintomas de mancha manteigosa. Avaliou-se, ainda, a colonização do fungo em plântulas e o progresso da doença (área abaixo da curva) em folhas de cafeeiros no campo. Constataram-se altos valores de incidência de *C. gloeosporioides* nos estádios de formação do fruto com média de 86,6%. Dentre as cultivares avaliadas, destacou-se a cultivar Topázio como a mais suscetível e a Icatú como a mais resistente. A incidência de *C. gloeosporioides* nos tecidos do fruto do cafeeiro teve diferentes comportamentos, sendo que a maior concentração do fungo foi verificada no exocarpo e mesocarpo, seguidos do endocarpo e endospermas. Observou-se a incidência de *C. gloeosporioides* nas sementes de todas as cultivares estudadas. A colonização foi testada por meio de inoculações de suspensão de conídios pulverizados em hipocótilos e inoculações sobre discos autocolantes no 2º par de folhas. O fungo colonizou as plantas de forma endofítica. A maior colonização foi nas folhas cotiledonares, seguidas pelo 1º par, 2º par e 3º par de folhas verdadeiras. Verificou-se colonização lenta do fungo nos tecidos das plântulas e, a partir do ponto de entrada do patógeno, este coloniza as plântulas sistêmica e ascendentemente em direção aos novos tecidos. Plantas com sintomas de mancha manteigosa foram mais suscetíveis ao *C. gloeosporioides*, as quais apresentaram declínio e morte. As que floresceram produziram baixos percentuais de chumbinho, nos quais ocorreram mumificações. A incidência de *C. gloeosporioides* em folhas de cafeeiros no campo foi observada a partir do mês de fevereiro, período de maior volume pluviométrico (462 mm), maior umidade relativa do ar (75%) e temperatura média de 23°C, com picos máximos da doença no mês de abril (3,6%). Na análise de progresso da doença (área abaixo da curva), as cultivares Icatú, Mundo Novo e Katipó foram as mais resistentes, enquanto as cultivares Acaiá, Topázio, Catuai Vermelho, Catuai Amarelo e Rubi foram as mais suscetíveis.

*Comitê de Orientação: Mario Sobral de Abreu - UFLA (Orientador)
Edson Ampélio Pozza - UFLA (Co-orientador)

ABSTRACT

FERREIRA, Josimar Batista. **Seasonal flotation and association of *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. to different organs and tissues of coffee trees (*Coffea arabica* L.).** 2004. 90p. Dissertation (Master in Plant Pathology) - Universidade Federal de Lavras, Lavras*.

In Minas Gerais State the coffee tree-*Colletotrichum* pathosystem is very important and complex. Incidence of *Colletotrichum gloeosporioides* was evaluated in different stages of development the coffee fruit and in tissues of coffee tree berries and plant ovaries of recently fecundated flowers, with and without symptoms of blister spot. Fungal colonization was assessed in plantlets and the disease progress was evaluated in coffee tree leaves in the field through the area under the disease progress curve (AUDPC). Incidence of *C. gloeosporioides* in fruit stages of development was also evaluated Topázio was the most susceptible cultivar and Icatú was the most resistant. Incidence of *C. gloeosporioides* in tissues of coffee tree berry was variable, the highest concentration of fungus was verified in exocarp and mesocarp, followed by the endocarpe and endosperms. Incidence of the fungus was also observed in seeds of all cultivars studied. Colonization was tested both through inoculation of a conidial suspension by spraying in the hypocotyls and self-sticking disks with conidia in the 2nd pair of leaves. *Colletotrichum gloeosporioides* colonized the plants in endophytic way. Cotyledonal leaves were the most colonized organs followed by the 1st, 2nd and 3rd pairs of true leaves. Fungal colonization in plantlets occurs systemically and ascends slowly in direction to the new tissue. Plants with blister spot symptoms were more susceptible to *C. gloeosporioides*, and presented decline and death. The howering plants of coffee gave a low percentage of young fruits that mummified lates. Incidence of *C. gloeosporioides* in coffee tree leaves in the field was observed during February - April, a period of higher rainfall (462 mm), higher relative humidity (75%) and an average temperature of 23°C, with maximum peaks of disease (3.6%) in April. Analysis of disease progress through the AUDPC showed that Icatú, Mundo Novo and Katipó were the most resistant cultivars, while Acaia, Topázio, Catuaí Vermelho, Catuaí Amarelo and Rubi cultivars were the most susceptible.

*Advising Committee: Mario Sobral de Abreu - UFLA (Adviser)
Edson Ampélio Pozza - UFLA (Co-adviser)

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO GERAL

O cafeeiro é uma das culturas de grande importância para a nossa economia; neste contexto o Brasil se destaca como o maior produtor e exportador mundial, com uma produção de 47.265 milhões sacas, equivalente a 39,92% da produção mundial. O estado de Minas Gerais destaca-se como o maior produtor nacional com 25.140 milhões sacas, sendo que as regiões Sul e Oeste Mineiro contribuem com mais da metade desta produção, com aproximadamente 13.200 milhões sacas numa área de 629.700 hectares (Aguiar et al., 2003).

O gênero *Coffea* abrange várias espécies botânicas e apenas duas são cultivadas no mundo em regiões tropicais e subtropicais, *Coffea arabica* L. e *Coffea canephora* Pierre ex Froenher, sendo da primeira a maior parte do café produzido mundialmente.

Nos países produtores, a cultura do café é afetada por diversos problemas fitossanitários, que causam perdas quando não tomadas medidas eficazes de controle. Dentre as doenças as principais são, ferrugem causada por (*Hemileia vastatrix*) Berk. & Br.; antracnoses (*Colletotrichum* spp.); mancha aureolada (*Pseudomonas syringae* pv *garcae*); cercosporiose (*Cercospora coffeicola* Berk. & Cook); mancha de phoma (*Phoma* sp.) e mancha de ascochyta (*Ascochyta coffeae*), entre outras. No Brasil, a ferrugem do café, a cercosporiose e as antracnoses estão entre as principais doenças consideradas como problema.

Dentre as espécies de fungos, o gênero *Colletotrichum* spp. é um importante fungo patogênico em plantas no mundo, principalmente em regiões tropicais e subtropicais. O patógeno causa perdas econômicas, em virtude das

doenças que afetam várias culturas. As plantas podem ser afetadas em todos os estágios de desenvolvimento. Os sintomas da doença são normalmente conhecidos como antracnose e tipicamente abrangem lesões deprimidas pretas, as quais são sub-cuticulares ou angulares em que se desenvolvem massas de esporos erumpentes cor-de-rosa (Chalfoun, 1997).

Espécies de *Colletotrichum* estão presentes em todos os estádios dos órgãos do cafeeiro: folhas, frutos, flores e ramos. A grande preocupação é a transmissibilidade deste patógeno pela semente, fato já comprovado na literatura (Orozco et al., 2002c; Ferreira et al., 2003). Nossas lavouras de café são formadas a partir de mudas. Dessa forma, é de fundamental importância a obtenção de sementes de café de alta qualidade fisiológica e sanitária. O uso de sementes sadias obtidas de lavouras com controle fitossanitário tem proporcionado bons resultados na produtividade, além de lavouras mais vigorosas.

Na África, *C. kahawae* ocasiona a CBD, ataca bagas verdes em desenvolvimento e é o principal fator limitante à produção. Waller et al.(1993) mencionam que *C. kahawae* é uma espécie patogênica à cultura do cafeeiro, porém não foi confirmada sua presença no Brasil.

No Brasil, nossas lavouras vêm sendo acometidas por doenças causadas por *Colletotrichum* ssp. como: antracnose em folhas, frutos, mancha manteigosa e seca de ponteiros do cafeeiro. Dentre estes problemas, o mais grave é a mancha manteigosa, na qual se observa que em cafeeiros doentes a produção vem sendo gradualmente afetada, a doença ataca folhas, ramos, flores e frutos. Na região Sul de Minas Gerais, a doença foi verificada em 1990, no município de Cristais-MG. Atualmente encontra-se disseminada na maioria dos municípios. Em Lavras-MG, safra 2002/2003, as lavouras de Catucaí Vermelho que apresentavam sintomas de mancha manteigosa não produziram devido à queda prematura dos frutos ou à sua mumificação nas plantas.

A ocorrência de *Colletotrichum* ssp. é grave nas regiões cafeeicultora no Brasil, e pesquisas orientadas ao estudo de raças de *Colletotrichum*, patogenicidade de genótipos e estudos epidemiológicos são necessárias, pois problemas econômicos sérios podem ser ocasionados caso a doença venha a tornar-se epidêmica.

Os ataques de fungos, bactérias, nematóides e vírus sobre a cultura causam grandes perdas quando não tomadas medidas de controle adequadas, sendo as perdas de origem fúngica as mais representativas. Entretanto, doenças em potencial representam grande risco para a cafeicultura brasileira, principalmente no que se refere a táticas de controle, já que é necessário, primeiramente, um estudo do patógeno, da interação patógeno-hospedeiro e dos fatores que predis põem a planta ao ataque.

Objetivou-se, neste trabalho, avaliar a patogenicidade dada pela colonização de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* associadas ao cafeeiro no progresso de crescimento das plântulas; a incidência de *Colletotrichum gloeosporioides* nos estádios de desenvolvimento do fruto (exocarpo e mesocarpo, endocarpo e endosperma); verificar a evolução da doença (área abaixo da curva) no campo; e a incidência de *Colletotrichum gloeosporioides* em ovários de flores recém fecundadas (início da formação do fruto) de plantas com e sem sintomas de mancha manteigosa.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 *Colletotrichum* spp. em cafeeiros

A descrição original de *Colletotrichum* em café foi feita por Noack em 1901, referente a um isolado procedente do Brasil, o qual denominou de *Colletotrichum coffeanum* (Noack, 1902). Em 1922, no Quênia, o micologista Mc Donald relatou a variante “virulans” de *Colletotrichum* em café, associada a “Coffee Berry Disease” (CBD). O agente causal foi identificado pelo mesmo autor, em 1923, como sendo *Colletotrichum coffeanum* Noack, causando perdas nas produções, pois o fungo ataca as bagas do café em todos seus estádios de formação (Vermeulen, 1979; Nutman & Roberts, 1964; Feitosa et al, 1977).

Bitancourt (1958) descreveu em São Paulo uma enfermidade em folhas de *Coffea arabica* L. como mancha manteigosa, doença caracterizada por Orozco 2003, como sendo causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. Esta doença, nos últimos anos tem gerado perdas de produções (Costa et al., 2003; Dorizzotto, 1993; Orozco, 2003; Vargas et al., 1972; Chalfoun, 1997).

O gênero *Colletotrichum* encontra-se amplamente distribuído em todas as regiões produtoras de café do mundo. Ora ocorre como saprófita, causando doenças, ora colonizando de forma invasiva (Almeida et al., 2002; Orozco et al., 2002c; Paresqui et al., 2003; Carrilo & Zambrano, 1994).

Dentre as doenças causadas por *Colletotrichum* spp. destacam-se duas, como sendo as mais graves: a CBD (*Colletotrichum kahawae* J.M.Waller & P. D. Bridge) e a mancha manteigosa (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.). A CBD “Coffee Berry Disease” ataca os frutos em todos os seus estádios de formação (Firman & Waller, 1977), sendo registrado no continente Africano os maiores problemas, principalmente no Quênia. Relata-se a uma redução na produtividade entre 50% a 80% (Griffiths et al., 1971; Van der Graaff, 1978;

Várzea et al., 2002b; Chen, 2002), devido à queda prematura dos frutos ou à sua mumificação na planta (Chen, 2002). Segundo Waller et al. (1993), Chalfoun (1997), Orozco (2003) e Varzea et al. (2002a), não se conhece nenhum relato da ocorrência da CBD confirmado no continente Americano.

A mancha manteigosa encontra-se distribuída em todas as regiões produtoras de café, sendo relatada pela primeira vez em *Coffea arabica*, em 1957, por Wellman, na Costa Rica, e no Brasil, em 1958, por Bitancourt. Hoje se encontra disseminada na maioria de nossos estados produtores de café.

No Brasil, o gênero *Colletotrichum* spp. associado ao patossistema cafeeiro provoca doenças como: antracoses em folhas, frutos em todos seus estádios, mancha manteigosa, seca de ponteiros, entre outras (Almeida et al., 1979; Alves & Castro, 1998; Orozco, 2003; Paradela Filho et al., 2001; Nechet, 1999; Nechet & Abreu, 2002; Dorizzotto, 1993; Ferreira et al., 2003). A doença mais antiga atribuída a esse fungo é a seca de ponteiros. Os sintomas são desfolhamento e morte descendente dos ramos. Ocorre escurecimento e morte das estípulas dos nós, ocorrendo a queda prematura das folhas (Paradela Filho et al., 2001). A antracnose nas folhas do cafeeiro apresenta-se como manchas irregulares, de coloração castanha a acinzentada, ocorrendo comumente nas margens das folhas. Paradela Filho et al. (2001) verificou, no Estado de São Paulo em observações ao longo dos últimos anos, que o desequilíbrio das condições naturais de controle traz o agravamento sintomatológico da doença. As manifestações críticas e prejudiciais para o cafeeiro são aquelas em que o fungo incide sobre gemas, flores e chumbinho, provocando sua morte e queda, bem como enegrecimento e morte de ramos. Estes autores relatam, ainda, que os sintomas não estão relacionados com plantas injuriadas ou culturas mal manejadas, pelo contrário, são mais intensos e evidentes em culturas novas e muito bem desenvolvidas.

Segundo Orozco (2003), o patossistema cafeeiro é muito importante e complexo, pois trata-se de populações de espécies de *Colletotrichum* associadas ao café, ocasionando diversos sintomas ou colonizando as plantas de forma invasiva. Em seus estudos de caracterização bioquímica, molecular e morfológica, os isolados de *Colletotrichum* spp. do Brasil pertencem às espécies de *C. acutatum* Simmonds e *C. gloeosporioides* Penz. Enfim, na associação do gênero *Colletotrichum*-cafeeiro são conhecidas três espécies isoladas de frutos, flores, folhas e ramos: *C. kahawae* Waller & Bridge, *C. gloeosporioides* Penz. e *C. acutatum* Simmonds (Waller et al., 1993; Várzea et al., 2002a; Chen, 2002; Orozco, 2003).

2.2 Taxonomia de *Colletotrichum* spp.

O agente causal das antracoses do cafeeiro é o fungo *Colletotrichum* spp. A taxonomia das espécies associadas ao gênero *Colletotrichum* no cafeeiro tem sido confusa. Desde seu primeiro relato no Brasil, foi classificado como *C. coffeanum*, por Noack, em 1901. Esta designação foi utilizada por mais de 70 anos para os isolados associados ao cafeeiro.

Um dos estudos de caracterização foi realizado por Rayner (1948, 1952), classificando os isolados que ocasionavam CBD no Kenya como *C. coffeanum* var. *virulans*. Gibbis (1969) definiu quatro grupos de *Colletotrichum* por meio de características de colônia a partir de cultura monospóricas em meio malte ágar : CBD (= *C. coffeanum* var. *virulans*, Rayner, 1948), ccp (= *C. coffeanum*. 'pink'), ccm (= *C. coffeanum*, mycelial form) e cca (= *C. coffeanum*, acervuli form).

Hindorf (1970) conduziu estudos morfológicos detalhados com isolados do Kenya e os classificou como: *Colletotrichum coffeanum* Noack (*sensu strictu*), sendo este equivalente ao CBD var. *virulans* de Rayner e CBD de

Gibbs; *C. acutatum* Simmonds, equivalente ao ccp de Gibbs; *C. gloeosporioides* Penz. *white mycelium form*, que equivale ao cca de Gibbs; e *C. gloeosporioides* Penz. *greenish mycelium form*, com seu teleomorfo *Glomerella cingulata* (Stonem.) Spauld & Schronk. Hindorf (1970) descreveu características morfológicas para separar *Colletotrichum coffeanum* (*sensu stricto*) = CBD em meio MEA e mencionou que a forma teleomórfica nesta espécie não foi observada. Posteriormente, *C. coffeanum* Noack (*sensu stricto*) passou a ser designado por todos os autores como *C. coffeanum sensu* Hindorf.

Waller et al. (1993), com base em características patogênicas, metabólicas e culturais de isolados de *Colletotrichum* associado ao cafeeiro no Kenya, propuseram a alteração do nome de *C. coffeanum sensu* Hindorf para *Colletotrichum kahawae* J.M. Waller & P.D. Bridge.

A partir de colônias monospóricas de *Colletotrichum*, Waller et al. (1993) utilizaram as seguintes características para descrição *C. kahawae*: crescimento lento de 2 a 4mm d⁻¹ a 25°C em meio MEA 2%, abundante micélio cinzento esverdeado azeitona a esverdeado escuro, sem acérvulos e esporulação em hifas simples; no metabolismo não se pode utilizar citrato ou tartarato como únicas fontes de carbono; com relação à patogenicidade, esta espécie foi patogênica a frutos verdes no estado de expansão e hipocótilos de *Coffea arabica* L. cv. SL 28 e outros cultivares susceptíveis, causando lesões deprimidas típicas de antracnose.

Para *C. gloeosporioides*, nas mesmas condições, obtiveram-se crescimento rápido de 3 a 6mm d⁻¹, micélio branco a cinzento claro, esporulação em acérvulos ou hifas simples; no metabolismo pode-se utilizar tartarato como única fonte de carbono. Esta espécie não foi patogênica a frutos verdes em expansão ou hipocótilos.

Esta proposta tem sido utilizada, porém ainda apresenta algumas limitações (Orozco, 2003; Várzea, 1995). Rodrigues et al. (1991) verificaram

que alguns isolados de CBD apresentavam características morfológicas diferentes daqueles isolados estudados por Hindorf (1970) e Waller et al. (1993), pois estes apresentavam acérvulos e setas em MEA, contrapondo-se aos resultados daqueles autores. Outro fator de limitações para a caracterização de isolados de *Colletotrichum*, segundo proposta de Waller et al. (1993), é a existência de raças, dada a grande variabilidade genética existente nas populações de *Colletotrichum* spp. (Rodrigues et al., 1992; Várzea, 1995; Orozco, 2003).

2.3- Doenças causadas por *Colletotrichum* em *Coffea arabica* L.

Espécies de *Colletotrichum* estão presentes em todos os órgãos do cafeeiro: frutos em todos estágios, folhas e hastes maduras. O grupo CBD *C. kahawae* pode ser encontrado em todos os órgãos do cafeeiro em diferentes proporções, ocorrendo em maior proporção nos frutos, o que é o principal fator limitante à produção (Gibbs, 1969; Chalfoun, 1997; Van der Graaff, 1978). O *Colletotrichum acutatum*, apesar de ser encontrado em todos os órgãos do cafeeiro, não é patogênico (Hindorf, 1975). Em espécie de *Colletotrichum gloeosporioides*, há colonizações que expressam sinais da doença e colonizações de forma invasiva, sem expressar sintomas da doença. O fungo é encontrado em diversos órgãos do cafeeiro, como nas hastes, frutos, folhas, flores e ovários (Paradela Filho et al., 2001; Almeida et al., 1979; Almeida et al., 2002; Ferreira et al., 2003; Orozco et al., 2002ab; Orozco, 2003; Costa et al., 2003; Paresqui et al., 2003).

2.3.1 Doença da baga do café (*Coffee Berry Disease*) CBD

A CBD foi referida pela primeira vez em 1922, pelo micologista Mc Donald (1926), no Quênia, e sua ocorrência tem sido registrada em quase todos os países africanos produtores de café.

O CBD ataca os frutos em todos os estádios de crescimento, as flores e, ocasionalmente, inflorescências não abertas e folhas. Contudo, os maiores danos são verificados nos frutos verdes (Firmam & Waller, 1977). No Quênia, os danos causados pela CBD são considerados graves, podendo ocorrer perdas de até 80% (Griffiths et al., 1971; Vermuelen, 1979).

Muller (1980) faz referência a dois tipos de lesões nos frutos provocadas por *Colletotrichum* spp. O primeiro tipo de lesão, designado por “*scab*” (sarna) por J. Mc Donald, caracteriza-se pela formação de uma ou mais manchas necróticas de formas variáveis, acastanhadas, do tipo podridão seca, formando uma ligeira depressão na superfície do fruto. Sobre as manchas necróticas o fungo forma acérvulos. O “*scab*,” ao formar-se junto ao pedúnculo, pode provocar a mumificação do fruto e a sua queda.

O segundo tipo de lesão descrito é designado por *forma activa* (capaz de produzir inóculo). É uma podridão do tipo úmido e de evolução rápida. Este tipo distingue-se de sarna pela formação de manchas necróticas mais profundas, com uma coloração que varia entre o castanho amarelado e um castanho escuro. Ao atingir esta fase, e havendo condições propícias de umidade e temperatura, desenvolve-se uma massa rosada constituída por acérvulos.

A dispersão da doença é lenta, os esporos da CBD somente são dispersos pela chuva, mas podem também ser dispersos por material infectado e vetores passivos, como pássaros, homem e implementos agrícolas, e ainda por sementes provenientes de frutos infectados (Massaba & Waller, 1992).

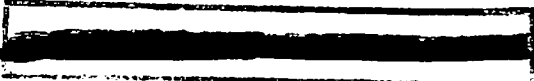
2.3.2- Antracnose, Die back, e Queima castanha (brown Blight)

A antracnose em folhas do cafeeiro é caracterizada por apresentar manchas irregulares grandes de coloração castanha e castanho-acinzentada, ocorrendo comumente nas margens das folhas. Com o envelhecimento das manchas formam-se anéis concêntricos, nos quais a massa de esporos do fungo é visível. Peritécio de *Glomerella cingulata* também tem sido observado em folhas doentes (Hindorf, 1975). O mesmo autor descreveu sintomas de “die back” no Quênia, iniciando com a queima das folhas próximas à extremidade dos ramos secundários, com posterior morte e queda. Em seguida, os internódios verdes dos ramos novos tornam-se necróticos e em câmara úmida apresentam as estruturas do fungo.

2.3.3- Mancha Manteigosa

A doença foi relatada pela primeira vez em *Coffea arabica* em 1957, por Wellman (1957), na Costa Rica, reportando-se de natureza virótica, mas sem conseguir demonstrar a sua transmissão. Vargas & Gonzáles (1972) demonstraram ser ocasionada por agente fúngico do gênero *Colletotrichum*.

Bitancourt (1958) e Mansk & Matiello (1977) descreveram os seguintes sintomas: em folhas novas aparecem, inicialmente, manchas de cor verde claro, de aspecto oleoso, menos brilhante que a superfície da folha, medindo de 2 a 10 mm de diâmetro. Em estágios avançados, as manchas apresentam lesões necróticas, deprimidas com colorações marrom-claro e bordas irregulares. Por fim, as manchas apresentam centro necrótico e se coalescem, havendo queda prematura das folhas. Os mesmos autores descrevem que nos ramos e frutos as lesões são menores, com 2 a 3 mm de diâmetro, deprimidas, necróticas, de cor marrom clara e bordas irregulares. Ataques intensos são observados nas folhas e



ramos novos em plantas adultas, durante a fase de maior vegetação, nos meses de outubro a fevereiro. A maior incidência ocorre em períodos quentes e chuvosos, quando há intensas brotações das plantas. Em cafeeiros com mancha manteigosa a produção é afetada gradativamente, chegando a ser nula (Costa et al., 2003).

Mansk & Matiello (1977) relataram ataques intensos de mancha manteigosa em folhas e ramos novos em plantas adultas de cafezais “conilon” *Coffea canephora* no Estado de Espírito Santo. Costa et al. (2003) relatam severos ataques desta doença em linhagens de *Coffea arabica* L. UFV-6700 com produções nulas.

Em abril de 1990, Dorizzoto & Abreu (1993a) constataram, em lavoura cafeeira do município de Cristais-MG, ataques de *Colletotrichum* que causavam manchas foliares, sintomas da mancha manteigosa e morte dos cafeeiros.

Observações a campo têm revelado o agravamento desta doença, principalmente quando o fungo ataca flores e frutos em expansão, os quais mumificam e caem sob o solo, chegando a perdas totais das produções (Costa et al., 2003).

Orozco (2003) observou que a coloração das colônias de isolados de mancha manteigosa do Brasil são similares aos isolados da CBD na África. A partir de observações de coloração e patogenicidade de isolados provenientes de mancha manteigosa, Orozco (2003) concluiu que pode se tratar de uma nova raça patogênica e ainda sugeriu a denominação de *Colletotrichum gloeosporioides* patótipo mancha manteigosa.

2.4- Estudo de microrganismos endofíticos

O termo endofítico tem recebido diversas definições, entre as quais a de que microrganismos endofíticos são os que ocorrem naturalmente no interior dos tecidos vegetais e vivem em associação com a planta hospedeira por pelo menos parte do ciclo de vida (Pereira, 1993; Azevedo, 1998).

Microrganismos endofíticos podem ser encontrados não apenas nas partes aéreas dos vegetais, mas também em raízes, que são, aliás, uma das principais portas de entrada (Azevedo, 1998).

Orozco et al. (2002d) realizaram testes de resistência em hipocótilos de café e mencionam a existência de relações compatíveis e incompatíveis. Os autores verificaram a colonização sistêmica do fungo nos tecidos das plantas sem manifestação de sintomas nas relações não compatíveis. Os mesmos autores, em estudos de transmissão e incidência de *Colletotrichum* spp. em sementes de café arábica nos cultivares Catucaí Amarelo e Vermelho de plantas com e sem sintomas da mancha manteigosa, demonstraram a interação *Colletotrichum*-cafeeiro e concluíram que este fitopatógeno possui colonização de forma sistêmica e é transmitido pela semente.

Fungos endofíticos têm sido encontrados em todas as espécies de plantas examinadas, mas pouco se sabe sobre a sua importância e seus efeitos (Azevedo, 1998). Estudos da presença de fungos endofíticos associado ao cafeeiro têm demonstrado grandes associações de patógenos em todos os órgãos das plantas de café (Almeida et al., 2002; Roldão, 2002; Orozco et al., 2002d). Almeida et al. (2002) obtiveram duas espécies de *Colletotrichum*, colonizando sistemicamente tecidos de plantas de café.

2.5- Patogenicidade de *Colletotrichum* spp. ao cafeeiro

Testes de patogenicidade de isolados de *Colletotrichum* em plântulas e frutos em expansão de café têm revelado variáveis graus de suscetibilidade em função do genótipo estudado (Dorizzotto & Abreu 1993b; Orozco, 2003). Silva et al. (1998) estudaram a patogenicidade de isolados de *Colletotrichum* spp. em mudas de cafeeiro, concluindo que as cultivares Mundo Novo e Catuaí Vermelho foram as mais suscetíveis a determinados isolados.

Waller et al. (1993) caracterizaram a patogenicidade de isolados de *Colletotrichum* spp. de acordo com a porcentagem de hipocótilos infectados. Estes autores consideraram que isolado do fungo é patogênico quando ocorre morte de mais de 25% das plântulas. Para caracterizar a patogenicidade de isolados que causam CBD têm sido realizadas inoculações de conídios viáveis do patógeno em frutos em expansão (Várzea, 1995; Várzea et al., 2002b).

2.6- Estudos epidemiológicos de *Colletotrichum* spp.

Cook (1975) relata que a precipitação, a duração de períodos úmidos e a temperatura são os fatores básicos, a partir dos quais é possível prever um surto epidêmico de CBD.

A doença ocasiona problemas principalmente em altitudes superiores de 1600m e quando do início das chuvas (Nutman & Roberts, 1964; Gibbs, 1969; Nutman & Roberts, 1969). Nas regiões altas, a incidência da doença é maior, pois nestas regiões chove mais e as condições térmicas também são favoráveis, apesar de flutuarem durante o dia e a noite. Em regiões baixas, a elevação e a queda da temperatura são rápidas, o que não propicia a temperatura ideal para a germinação do fungo (Chalfoun, 1997; Nutmam & Roberts, 1964).

Para germinar e infectar, conídios de *Colletotrichum kahawae* Waller & Bridge necessitam de um filme de água, com alta umidade relativa do ar e temperaturas acima de 15°C (Nutman & Roberts, 1964). Temperaturas entre 17 a 28°C são mais favoráveis com 40% de germinação de conídios e a infecção ocorre entre cinco horas. O tempo mínimo observado para germinação de esporos e infecção do patógeno nos frutos do café foi de cinco horas de molhamento com cerca de 15°C (Griffiths et al., 1971; Nutman & Roberts, 1964; Chalfoun, 1997).

A alteração do padrão de floração do café é outro fator importante que contribui nas mudanças do comportamento anual da doença (CBD). Na cultura do café, botões florais permanecem dormentes e são estimulados no início das chuvas, o que ocasiona a presença de frutos em diferentes estádios (verdes e maduros), gerando fonte de inóculo e prolongando a incidência e a severidade da doença no campo por vários meses (Nutman & Roberts, 1969).

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, E. L. de; CARVALHO, F. D. S. de; ABREU, D. F. de. **Informe Estatístico do Café**. Brasília: SPC/MAPA, 2003. v. 7, n. 6, 21 p.

ALMEIDA, A. R.; SALGADO, M.; PFENNING, L. H.; LIMA, C. S.; CHAVES, Z. M. Fungos endofíticos de folhas e haste de café (*Coffea arabica*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 28., 2002, Caxambu-MG. **Anais...** Caxambu, 2002. p. 432.

ALMEIDA, S. R.; MANSK, Z.; MATIELLO, J. B.; MULLER, R. A. Observações preliminares sobre queda de frutos sob suspeita de ataque por *Colletotrichum* sp. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 7., 1979, Araxá-MG. **Resumos...** Araxá: IBC/GERCA, 1979. p. 323-326.

ALVES, E.; CASTRO, H. A. Fungos associados ao café (*Coffea arabica* L.) nas fases de pré e pós-colheita em lavouras da região de Lavras. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 24, n. 1, p. 4-7, jan./mar. 1998.

AZEVEDO, J. L. Microrganismos endofíticos. In: **Ecologia microbiológica**. Jaguariúna: Embrapa-CNPMA, 1998. p. 117-137.

BITANCOURT, A. A. As manchas da folha do cafeeiro. **O biológico**, São Paulo, v. 24, n. 17, p. 191-201, mar. 1958.

CARRILO, M. M.; ZAMBRANO, C. Identificación y patogenicidad de cepas del genero *Colletotrichum* asociados al cultivo en la región centro occidental de Venezuela. **Agronomía Tropical**, Maracay, v. 44, n. 4, p. 567-577, oct./dic. 1994.

CHALFOUN, S. M. **Doenças do cafeeiro: importância, identificação e métodos de controle**. Lavras: UFLA/FAEPE, 1997. 93 p

CHEN, Z. **Morphocultural and pathogenic comparisons between *Colletotrichum kahawae* and *Colletotrichum gloeosporioides* isolated from coffee berries**. 2002. 163 p. Tese (Doutorado em Engenharia Agrônômica) – Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, Portugal.

COOK, R. T. A. The effect of weather conditions on infection by coffee berry disease. **Kenya Coffee**, NAirobi, v. 40, p. 190-197, June 1975.

COSTA, H.; VENTURA, J. A.; FERRÃO, M. A. Mancha manteigosa em café arábica na região serrana do Estado do Espírito Santo. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 3., 2003, Porto Seguro-BA Anais... Porto Seguro: Embrapa Café, 2003. p. 206.

DORIZZOTTO, A. Caracterização morfológica e patogenicidade de *Colletotrichum* sp associados a cafeeiros (*Coffea arabica* L.) em dois municípios de Minas Gerais. 1993. 67 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

DORIZZOTTO, A.; ABREU, M. S. Caracterização cultural e morfológica de *Colletotrichum coffeanum* NOACK e *Colletotrichum gloeosporioides* PENZ. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 18, ago. 1993a. Resumo. Suplemento.

DORIZZOTTO, A.; ABREU, M. S. Reação de plântulas e frutos verdes de cafeeiros (*Coffea arabica* L.) a *Colletotrichum coffeanum* NOACK e *Colletotrichum gloeosporioides* PENZ. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 18, ago. 1993b. Resumo. Suplemento.

FEITOSA, M. I.; FEICHTENBERGER, M.; KUDAMATSU, M.; ROSSETTI, V.; LEITE, R. Estudos sobre a população de *Colletotrichum* em *Coffea arabica* L. no Estado de São Paulo. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 44, n. 1/2, p. 33-54, jan./jun. 1977.

FERREIRA, J. B.; MARQUES, D. C.; PEREIRA, I. S.; ABREU, M. S. Estudo da incidência de *colletotrichum* spp. nos estágios de formação do fruto de diferentes cultivares de *Coffea Arabica* L. In: CONGRESSO DE PÓS GRADUAÇÃO, 12., 2003, Lavras, MG. **Resumos...** Lavras: APG-UFLA/APG, 2003.

FIRMAN, I. D.; WALLER, J. M. Coffee berry disease and other *Colletotrichum* disease of coffee. **Phytopathological Papers**, CML, Kew, n. 20, p.53, 1977.

GIBBS, J. N. Inoculum sources for coffee berry disease. **Annals of Applied Biology**, London, v. 64, n. 3, p. 515-522, Apr. 1969.

GRIFFITHS, E.; GIBBS, J. N.; WALLER, J. M. Control of coffee berry disease. **Annal Applied Biology**, London, v. 67, n. 1, p. 45-74, Jan. 1971.

HINDORF, H. *Colletotrichum* occurring on *Coffea arabica*: a review. **Journal of Coffee Research**, London, v. 5, n. 3/3, p. 43-56, 1975.

- HINDORF, H. *Colletotrichum* spp. Isolated from *Coffea arabica* L. in Kenya. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*, Stuttgart, v. 77, p. 328-331, 1970.
- MANSK, Z.; MATIELLO, J. B. Ocorrência de mancha manteigosa em café "Conilon" (*Coffea canephora*, Pierre) no Estado do Espírito Santo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 5., 1977, Guarapari, Espírito Santo. *Resumos...* Guarapari: IBC/GERCA, 1977. p. 172-173.
- MASABA, B.; WALLER, J. M. Coffee berry disease: The current status. In: BAYLEY, J. A.; JEGER, M. J. (Ed). *Colletotrichum: biology, pathology and control*. British Society for Plant Pathology, 1992. p. 237-249.
- Mc DONALD, J. A. A preliminary account of disease green coffee berries in Kenya colony. *Transaction of the British Mycological Society*, London, v. 2, n. 2, p. 145-154, Nov. 1926.
- MULLER, R. A. Contribution a la Connaissance de la Phytomicocénose Constituée para *Coffea arabica* L., *Colletotrichum coffeanum* Noack (*sensu* Hindorf), *Hemileia vastatrix* (Berk & Br.), *Bulletin Institut Français du Café et du Cacao*, Paris, n. 15, Sept. 1980
- NECHET, K. de L. **Caracterização biológica e isoenzimática de isolados de *Colletotrichum* sp. em cafeeiro (*Coffea arabica* L.).** 1999. 73 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia). – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- NECHET, K. L.; ABREU, M. S. Caracterização morfológica e testes de patogenicidade de isolados de *Colletotrichum* sp. obtidos de cafeeiro. *Ciência e Tecnologia*, Lavras, v. 26, n. 6, p. 1135-1142, nov./dez. 2002.
- NOACK, F. As manchas das folhas dos cafeeiros. *Boletim da Agricultura*, São Paulo, n. 1, jan. 1902.
- NUTMAN, J. F.; ROBERTS F. M. Coffee berry disease: epidemiology in relation to control. *Experimental Agriculture*, Cambridge, v. 5, n. 4, p. 271-282, Oct. 1969.
- NUTMAN, J. F.; ROBERTS, F. M. Coffee berry disease and coffee leaf rust in Kenya. *Outlook on Agriculture*, Sacramento, v. 14, n. 2, p. 72-79, 1964.

OROZCO MIRANDA, E. F. **Caracterização morfológica, molecular, bioquímica e patogênica de isolados de *Colletotrichum* spp. associados ao cafeeiro em Minas Gerais e Comparação com *Colletotrichum kahawae*.** 2003. 147 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

OROZCO MIRANDA, E. F.; FREITAS, M.; PIGOZZO, P.; ABREU, M. S. Incidência de *Colletotrichum* spp. em frutos cereja e sementes de café arabica (*Coffea arabica*). In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 7., 2002, Sete Lagoas-MG. **Anais....** Sete Lagoas, 2002a. p. 59.

OROZCO MIRANDA, E. F.; FREITAS, M.; PIGOZZO, P.; ABREU, M. S. Incidência de *Colletotrichum* spp. em frutos cereja e sementes de café arabica (*Coffea arabica*) no estado de Minas Gerais. In: CONGRESSO DE PÓS GRADUAÇÃO, 11., 2002, Lavras, MG. **Resumos...** Lavras: UFLA/APG, 2002b.

OROZCO MIRANDA, E. F.; FREITAS, M.; PIGOZZO, P.; ABREU, M. S. Transmissão de *Colletotrichum* spp. por sementes de café arabica (*Coffea arabica*). In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 7., 2002, Sete Lagoas-MG. **Anais....** Sete Lagoas, 2002c. p. 93.

OROZCO MIRANDA, E. F.; PIGOZZO, P.; PEREIRA I. S.; ABREU, M. S. Estudo das relações compatíveis e incompatíveis de *Colletotrichum* spp. x cafeeiro. In: CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO, 11., 2002, Lavras, MG. **Resumos....** Lavras: UFLA/APG, 2002d.

PARADELA FILHO, O.; PARADELA, A. L.; THOMAZIELLO, R. A.; RIBEIRO, I. J. A.; SUGIMORI, M. H.; FAZUOLI, L. C. **O complexo *Colletotrichum* do cafeeiro.** Campinas: Instituto Agrônômico de Campinas, 2001. (IAC. Boletim Técnico, n. 191).

PARESQUI, L.; ZAMBOLIM, L.; COSTA, H.; SAKIYAMA, C. H.; BATISTA, U. G. Evidências da latência e associação endofítica de *Colletotrichum* sp. em tecidos de *Coffea arabica* L. In: SIMPÓSIO DE PESQUISAS DOS CAFÉS DO BRASIL, 3., 2003, Porto Seguro. **Anais...** Porto Seguro-BA, 2003. p. 200.

PEREIRA, J. O. **Fungos endofíticos dos hospedeiros tropicais *Stylosanthes guinamensis* e *Musa Cavandish*.** 1993. 105 p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

RAYNER, R. W. Coffee berry disease, a survey of investigations carried out up to 1950. **East Africa Agricultural Journal**, Nairob, v. 17, p. 130-158, 1952.

RAYNER, R. W. Latent infection in *Coffea arabica* L. **Nature**, London, v. 161, n. 4085, p. 245-246, Feb. 1948.

RODRIGUES, Jr., C. J.; VARZEA, V. M. P.; MEDEIROS, E. F. Evidence for the existence of physiological races of *Colletotrichum coffeanum* Noack *sensu* Hindorf. **Kenya Coffee**, Nairobi, v. 57, n. 672, p. 1417-1420, 1992.

RODRIGUES, Jr., C. J.; VARZEA, V. M. P.; MEDEIROS, E. F. Strains of *Colletotrichum coffeanum* Noack causing Coffee Berry Disease in Angola and Malawi with characteristics different to the Kenya strain. **Journal Phytopathology**, Berlin, v. 131, n. 3, p. 205-209, Mar. 1991.

ROLDÃO, G. M. **Fungos endofíticos em grãos verdes de café (*Coffea arabica* L.)**. 2002. 53 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SILVA, C. C. N. et al. Características fisiológicas e genéticas de isolados de *Colletotrichum* sp. coletados em lavouras cafeeiras (*Coffea arabica*) de Minas Gerais. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA EM CAFEICULTURA IRRIGADA, 1., 1998, Araguari-MG. **Anais...** Araguari, 1998. p. 97-100.

van der GRAAFF, N. A. Selection for resistance to coffee berry disease in arabica coffee in Ethiopia. Evaluation of selection methods. **Netherlands Journal of Plant Pathology**, Amsterdam, v. 25, n. 3, p. 205-215, 1978

VARGAS, G. E.; GONZALEZ, U. L. C. La mancha mantecosa del café causada por *Colletotrichum* spp. **Turrialba**, San José, v. 22, n. 2, p. 129-135, abr./jun. 1972.

VARZEA, V. M. P. **Variabilidade em *Colletotrichum* spp. de cafeeiro. Pesquisa de fontes de resistência ao *C. kahawae***. 1995. 128 p. Dissertação (Investigador auxiliar) - Instituto de Investigação Científica Tropical, Lisboa, Portugal.

VÁRZEA, V. M. P.; RODRIGUES Jr., C. J.; LEWIS, B. G. Distinguishing characteristics and vegetative compatibility of *Colletotrichum kahawae* in comparison with other related species from coffee. **Plant Pathology**, Oxford, v. 51, n. 2, p. 202-207, 2002a.

VARZEA, V. M. P.; RODRIGUES Jr., C. J.; SILVA, M. C. M. L. Resistência do Cafeeiro à antracnose-dos-frutos-verdes. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.). **O Estado da arte de tecnologias na produção de café**. Viçosa: UFV, 2002b. p. 321-368.

VERMEULEN, H. **Coffee berry disease in Kenya**. 1979. 112 p. Thesis (Doctoral) - Wageningen University, Holanda.

WALLER, J. M.; BRIDGE, P. D.; BLACK, R.; HAKIZAT, G. Characterization of the coffee berry disease pathogen, *Colletotrichum kahawae* sp. nov. **Mycological Research**, Cambridge, v. 97, n. 8, p. 989-994, Aug. 1993.

WELLMAN, F. L. Blister spot of arabica coffee from virus in Costa Rica. **Turrialba**, San José, v. 7, n. 4, p. 116-115, oct./dic. 1957.

CAPÍTULO 2

FERREIRA, Josimar Batista. Incidência de *Colletotrichum gloeosporioides* nos estádios de formação e nos tecidos do fruto de diferentes cultivares de *Coffea arabica* L. In: — Flutuação sazonal e associação de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. a diferentes órgãos e tecidos de cafeeiros (*Coffea arabica* L) 2004. p.21-38. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.*

1 RESUMO

Espécies de *Colletotrichum* estão presentes em todos os órgãos do cafeeiro. A importância desse fungo para a cultura do cafeeiro ainda é muito discutida, pois trata-se de populações de *Colletotrichum*, ocasionando diversos sintomas ou colonizando as plantas de forma endofítica sem manifestação de sintomas. Este estudo foi realizado com o objetivo de verificar a presença de *Colletotrichum gloeosporioides* em frutos de cafeeiros em desenvolvimento e em frutos cerejas (maduros) para este no exocarpo+mesocarpo, endocarpo e endosperma. O estudo foi realizado em área experimental do setor de cafeicultura da Universidade Federal de Lavras, com cafeeiros dos cultivares Catuaí Vermelho e Amarelo, Icatú, Topázio, Katipó, Rubi, Acaí e Mundo novo. Nos estádios de formação do fruto verificaram-se altos valores de incidência, com média de 86,6%. Nos cultivares observou-se a maior incidência em Topázio e Rubi, ambos com 94,4%, e a menor incidência nos cultivares Icatú, com 72,8%, e Mundo novo, com 78,4%. A incidência de *C. gloeosporioides* nas diferentes partes do fruto do cafeeiro foi variável de acordo com as cultivares e os tecidos. No exocarpo+mesocarpo, os cultivares Topázio, Rubi e Acaí foram mais suscetíveis com 84,72% e 79,16% respectivamente, enquanto a cultivar Icatú foi mais resistente, com 48,6%. No endocarpo, a cultivar Rubi foi a mais suscetível, com 9,72% e a Acaí a mais resistente, com 1,39%, no endosperma a cultivar Rubi foi a mais suscetível, com 8,33% e a cultivar Mundo novo a mais resistente, com 1,39%. Verificou-se a presença de *C. gloeosporioides* nas sementes de todas as cultivares estudadas.

*Comitê de Orientação: Mario Sobral de Abreu - UFLA (Orientador)
Edson Ampélio Pozza - UFLA (Co-orientador)



2 ABSTRACT

FERREIRA, Josimar Batista. Incidence of *Colletotrichum gloeosporioides* in developing and mature berries of different *Coffea arabica* L cultivars. In: — Seasonal flotation and association of *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. to different organs and tissues of coffee tree (*Coffea arabica* L.) 2004. p.21-38. Dissertation (Master in Plant Pathology) - Universidade Federal de Lavras, Lavras*.

Colletotrichum species are present in all organs of coffee trees, and the importance of them is still polemic, since it deals with *Colletotrichum* populations causing diverse symptoms or colonizing the plants in an endophytic form without symptom manifestation. This study was carried out with the objective to verify the presence of *Colletotrichum gloeosporioides* in different stages of development of coffee berries and in the exocarp+mesocarp, endocarp and endosperm of ripe fruits. This investigation involved the cultivars: Catuaí Amarelo and Vermelho, Icatú, Topázio, Katipó, Rubi, Acaiá and Mundo Novo in the experimental farm of Universidade Federal de Lavras-UFLA, Brazil. In the developing young berries the fungus occurred at the average of 86.6% incidence. The highest incidence, 94.4% was observed on Topázio and Rubi cultivars, and the lowest incidences were 72.8% on Icatú and 78.4% on Mundo Novo cultivars. Incidence of *Colletotrichum gloeosporioides* in the tissues of coffee berries was variable according with cultivar and infected tissues. Based on exocarp+mesocarp infection, the cultivars Topázio, Rubi and Acaiá were susceptible with 84.72% and 79.16% incidence, respectively, whereas the cultivar Icatú was more resistant, with 48.6% incidence. In relation to endocarp, the cultivar Rubi was the most susceptible with 9.72% incidence and Acaiá the most resistant with 1.39% incidence, and in relation to endosperm, the Rubi cultivar was the most susceptible with 8.33% incidence and Mundo Novo the most resistant with 1.39% incidence. *Colletotrichum gloeosporioides* was present in the seeds of all cultivars studied.

* Advising Committee: Mario Sobral de Abreu - UFLA (Adviser)
Edson Ampélio Pozza - UFLA (Co-adviser)

3 INTRODUÇÃO

O gênero *Colletotrichum* spp. tem sido freqüentemente relatado em várias espécies de plantas cultivadas em todo o mundo causando doenças e/ou de forma saprófita. A ocorrência de danos ocasionados por *Colletotrichum* spp. na cultura do café em Minas Gerais está aumentando com o passar dos anos. Isto é fato importante, especialmente para as grandes regiões produtoras, como o Sul de Minas, havendo necessidade de se estudarem o patossistema *Colletotrichum* x cafeeiros para melhor entendimento das suas interações.

Estudos de patogenicidade de *Colletotrichum* spp. têm sido realizados em várias ocasiões. No cafeeiro, os testes de patogenicidade de *Colletotrichum* são realizados em hipocótilos ou em frutos verdes. Nos ensaios de inoculações de *Colletotrichum* spp. em frutos verdes de café em fase de desenvolvimento, observaram-se diferentes comportamentos de suscetibilidade (Vargas & Gonzalez, 1972; Dorizzotto, 1993; Nechet, 1999; Nechet & Abreu, 2002; Almeida et al., 1979; Orozco, 2003; Figueredo & Mariotto, 1978).

No Quênia e em outros países da África, a antracnose do café, conhecida como “Coffee Berry Disease” (CBD) (*Colletotrichum kahawae*), é o principal fator limitante à produção dos cafeeiros, podendo levar a uma redução na produtividade entre 50% e 80% (Griffiths et al., 1971; Chen, 2002). O fungo infecta frutos verdes em todos os estádios de desenvolvimento, inclusive as flores e, ocasionalmente, as inflorescências não abertas e folhas (Firman & Waller, 1977). Os frutos podem cair prematuramente ou permanecerem mumificados na planta (Chen, 2002).

Segundo Paradela Filho et al. (2001) as lesões mais críticas e prejudiciais para o cafeeiro são aquelas em que o fungo incide sobre gemas, flores e chumbinho, provocando sua morte e queda, bem como o enegrecimento

e morte dos ramos. Alves & Castro (1998) mencionam que *Colletotrichum* spp. pode ser encontrado nas fases verde-cana e cereja no fruto do cafeeiro.

Objetivou-se verificar a incidência de *Colletotrichum gloeosporioides* em diferentes estádios de desenvolvimento do fruto do cafeeiro; e em frutos maduros, verificar a incidência nos tecidos exocarpo+mesocarpo, endocarpo e endosperma.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Foram realizados dois ensaios. No primeiro estudou-se a incidência de *C. gloeosporioides* nos estádios de desenvolvimento do fruto até a fase cereja. O segundo estudou-se a incidência de *C. gloeosporioides* nos tecidos dos frutos maduros: exocarpo+ mesocarpo, endocarpo e endosperma.

4.1 Cultivares de café

Em ambos os ensaios foram utilizados oito cultivares de *Coffea arabica* L.: Icatú IAC 3282, Acaiá IAC 474-19, Catuai Amarelo IAC 62, Catuai vermelho IAC 15, Rubi-MG 1192, Topázio MG 1190, Mundo Novo IAC 379-19 e Katipó. Os frutos foram obtidos no ensaio de seleção e determinação da estabilidade fenotípica de progênies de Mundo Novo, Catuai Vermelho e Amarelo, Acaiá, Rubi e Topázio na região Sul de Minas Gerais, localizado no campus da UFLA.

4.2 Incidência de *C. gloeosporioides* nos estádios de formação do fruto

O experimento foi instalado no campus da UFLA, em novembro de 2002. Avaliou-se a incidência de *C. gloeosporioides* sobre frutos em 5 estádios de formação (chumbinho1, fruto verde1, fruto verde2, fruto verde3 e verde cana) em cada cultivar acima referida. Os estádios de frutificações avaliados encontravam-se, segundo Rena & Maestri (1986), como chumbinho1 (início da formação do fruto); fruto verde1, 2 e 3 (expansão do fruto) e verde cana (início da maturação).

Para cada avaliação foram colhidos 100 frutos, ao acaso, em sete plantas/cultivar, sendo levados ao laboratório, onde foram selecionados e

padronizados conforme seu estágio de formação; em seguida realizou-se corte transversal a fim de se obterem as duas bandas da semente num mesmo corte.

As bandas do fruto foram desinfestadas com álcool (70%) e hipoclorito de sódio (1%) por um minuto e meio, lavadas em água destilada e esterilizada e secas em papel de filtro esterilizado. Posteriormente foram transferidos para placa de Petri com meio de cultura MEA 2% (Extrato de malte-ágar + estreptomicina) e incubadas em câmara de crescimento a $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas.

4.2.1 Delineamento experimental e avaliações

O delineamento foi inteiramente casualizado com cinco repetições e 50 frutos para cada cultivar. As avaliações da incidência de *C. gloeosporioides* foram realizadas através da verificação da presença ou não do fungo, no sexto dia após a incubação.

4.3 Incidência de *C. gloeosporioides* em frutos cereja

O experimento foi instalado no campus da UFLA, em abril de 2003, onde se avaliou a incidência de *C. gloeosporioides* sobre os tecidos constituintes do fruto, exocarpo-mesocarpo, endocarpo e endosperma, em oito cultivares de café.

Para cada avaliação foram colhidos 50 frutos ao acaso em sete plantas/cultivar, os quais foram levados ao laboratório, onde foram selecionados. Em seguida realizou-se corte transversal, a fim de se obterem as duas bandas da semente do fruto num mesmo corte.

As bandas do fruto foram desinfestadas com álcool 70% e hipoclorito de sódio 1% por um minuto e meio, lavadas em água destilada e esterilizada, sendo

secas em papel de filtro esterilizado; posteriormente foram transferidas para placa de Petri com meio de cultura MEA 2% (Extrato de malte-ágar + estreptomicina) e incubadas em câmara de crescimento a $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas.

4.3.1 Delineamento experimental e avaliações

O delineamento foi inteiramente casualizado, com três repetições e com 24 frutos para cada cultivar. As avaliações da incidência de *C. gloeosporioides* foram realizadas no sexto dia após a incubação, através da verificação da presença ou não do fungo, a qual foi obtida a partir do número total de frutos com *Colletotrichum* e do número total de frutos avaliados.

4.4 Análise estatística

Com os dados de incidência da doença nos frutos do cafeeiro para ambos os ensaios, foram realizadas análises de variâncias com o programa SISVAR 4.3. Para comparação de médias utilizou-se o teste de Tukey ($p\leq 0,05\%$). Com os dados obtidos no endocarpo e endosperma foi feita análise descritiva.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Incidência de *C. gloeosporioides* nos estádios de desenvolvimento dos frutos de cafeeiros

A incidência de *Colletotrichum gloeosporioides* não diferiu entre os estádios de formação do fruto, que na média atingiu 86,6 % (Figura 1).

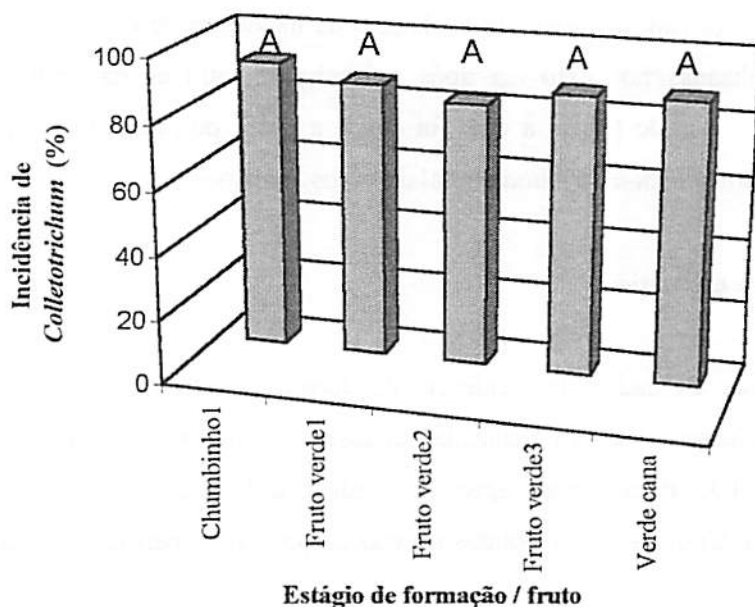


FIGURA 1- Incidência de *Colletotrichum gloeosporioides* em *Coffea arabica* L. nos diferentes estádios de formação do fruto. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$). UFLA, Lavras, MG, 2004. CV=16,17%.

Estes resultados possivelmente venham demonstrar que o gênero *C. gloeosporioides* possui colonização sistêmica, independentemente do estágio de formação do fruto, o que pode vir a ser um problema para a cultura do café

devido a sua transmissão pelas sementes, as quais são usadas na formação de novas lavouras.

Almeida et al. (2002) estudaram a microbiota endofítica presente em folhas e hastes do cafeeiro, sendo encontradas duas espécies de *Colletotrichum*, além de outros patógenos como *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp. e *Phoma* sp. Os autores concluíram que várias destas espécies encontradas são patógenos em potencial. No mesmo seguimento, vários autores já observaram colonização sistêmica de fungos associados ao cafeeiro, como *Phoma* sp., *Bipolares* sp., *Fusicoccum* sp., *Cladosporium* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Phomopsis* sp., *Fusarium* sp., e *Colletotrichum* sp. entre outros (Roldão, 2002; Orozco et al., 2002a,b,c,d; Paresqui et al., 2003; Sakiyama et al., 2003).

Observaram-se diferentes porcentagens de incidência de *C. gloeosporioides* nos estádios de formação do fruto. Na análise de variância da incidência da doença, houve diferenças significativas entre as cultivares. As cultivares Rubi e Topázio foram as mais infectadas, com 94,4% de incidência para ambas, enquanto a cultivar Icatú teve 72,8%, seguida da cultivar Mundo Novo, com 78,4%, foram as mais resistentes (Tabela 1). Resultado semelhante foi encontrado por Orozco (2003). Esta Informação permite inferir que estas diferenças entre os cultivares sejam devidas à herança genética.

Certas cultivares de café são, portanto, mais colonizados pelo fungo. Foram observados 94,4% como o maior índice de incidência para as cultivares Rubi e Topázio, considerados altos. O menor valor de incidência foi de 72,8%, observado na cultivar Icatú, considerado baixo em relação às demais. Essa maior resistência da cultivar Icatú ao fungo pode ser bom indício de fonte de resistência para um futuro trabalho de melhoramento visando resistência a *Colletotrichum*.

Carvalho et al. (1976) estudaram linhagens e progênies da cultivar Icatú como fonte de resistência ao CBD, testadas na “Coffee Research Station”, Ruiru,

Quênia. O germoplasma Icatú, com o híbrido de Timor, oferecem perspectivas de construir razoável fonte de resistência genética a este patógeno.

TABELA 1- Valores médios em porcentagem da incidência de *Colletotrichum gloeosporioides* em frutos de oito cultivares de café arábica. UFLA /2004.

Cultivares	Incidência de <i>Colletotrichum</i> spp. (%)
Icatú	72,8 a
Mundo Novo	78,4 a b
Catuai Amarelo	84,0 a b c
Acaiá	89,6 b c
Katipó	89,6 b c
Catuai Vermelho	89,6 b c
Rubi	94,4 c
Topázio	94,4 c

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si, pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$). CV= 16,17%.

Ferreira et al. (2003) em estudos preliminares de incidência de *Colletotrichum* spp. no fruto do cafeeiro, observaram o mesmo comportamento. Estes resultados corroboram aqueles encontrados por Orozco et al. (2002b), onde estudaram a incidência e a transmissão de *C. gloeosporioides* em *Coffea arabica* L. nos cultivares Catucaí Amarelo e Vermelho, Acaiá Cerrado e Catucaí Vermelho. As sementes, nas quais foram detectadas presenças de *C. gloeosporioides*, foram semeadas em areia estéril e colocadas em câmara climatizada. Após abertura dos primeiros folíolos, o fungo foi re-isolado dos órgãos das plântulas.

5.2 Incidência de *C. gloeosporioides* nos tecidos dos frutos de cafeeiros

Foram observadas diferentes porcentagens de incidência de *C. gloeosporioides* nos tecidos do fruto. Fez-se análise de variância apenas do exocarpo e mesocarpo (casca+mucilagem), com diferenças significativas entre as cultivares. No endocarpo e endosperma, realizou-se análise descritiva e estes foram plotados em histograma.

No estudo da incidência de *C. gloeosporioides* no exocarpo e mesocarpo observaram-se diferentes comportamentos entre os cultivares (Tabela 2).

TABELA 2- Valores médios em porcentagem da incidência de *Colletotrichum gloeosporioides*, nos tecidos do fruto em oito cultivares de café. UFLA /2004.

CULTIVARES	Incidência de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (%)		
	Exocarpo e mesocarpo	Endocarpo*	Endosperma*
Icatú	48,60 a	2,77	2,77
Mundo Novo	65,27 ab	2,77	1,39
Katipó	73,60 ab	2,77	1,39
Catuai Vermelho	70,83 ab	5,55	2,77
Catuai Amarelo	75,00 ab	4,16	4,16
Acaiá	77,77 b	1,39	2,77
Rubi	79,16 b	9,72	8,33
Topázio	84,72 b	8,33	4,16

* análise descritiva

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$). CV=13,07%

Verificou-se maior incidência nas cultivares Topázio, Rubi e Acaiá, com 84,72%, 79,16% e 77,77%, respectivamente. A menor incidência foi de 48,60%

observada na cultivar Icatú. Nas cultivares Catuai Vermelho e Amarelo, Katipó e Mundo Novo houve incidência de 70,83%, 75,00%, 73,60% e 65,27%, respectivamente (Tabela 2).

Na análise descritiva de *C. gloeosporioides* no endocarpo (pergaminho), a incidência foi variável conforme a cultivar. A maior incidência foi na cultivar Rubi, com 9,72%. Já o cultivar Acaíá teve menor índice, com 1,39% (Tabela 2). Na figura 2 observa-se o comportamento entre as cultivares, destacando-se as cultivares Acaíá, Mundo Novo, Icatú e Katipó como as mais resistentes e as cultivares Rubi e Topázio como as mais suscetíveis. Em relação ao parentesco destes cultivares, Acaíá surgiu a partir da seleção de Mundo Novo e Rubi e Topázio, da seleção de Catuai (Figura 2).

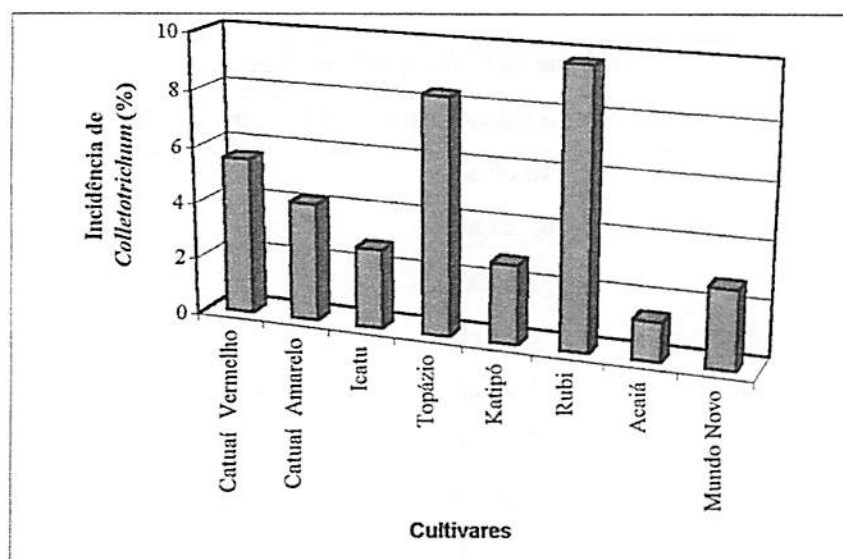


FIGURA 2- Incidência de *C. gloeosporioides* em *Coffea arabica* L. em frutos maduros no endocarpo (pergaminho) UFLA, Lavras, MG, 2004.

Resultados semelhantes foram observados por Orozco et al. (2002a,b,c,d). Orozco (2003) verificou diferentes comportamentos entre

cultivares e os tecidos do fruto do cafeeiro. No endocarpo o fungo variou de 0-8% e na semente, de 0-17 %.

No endosperma (semente), observaram-se diferentes comportamentos de incidência de *C. gloeosporioides* entre as cultivares. Os maiores valores de incidência foram observadas nas cultivares Rubi, Topázio e Catuaí Amarelo, com 8,33%, 4,16% e 4,16%, respectivamente, enquanto as cultivares Mundo Novo e Katipó obtiveram os menores percentuais de incidência, ambos com 1,39% (Figura 3 e Tabela 2).

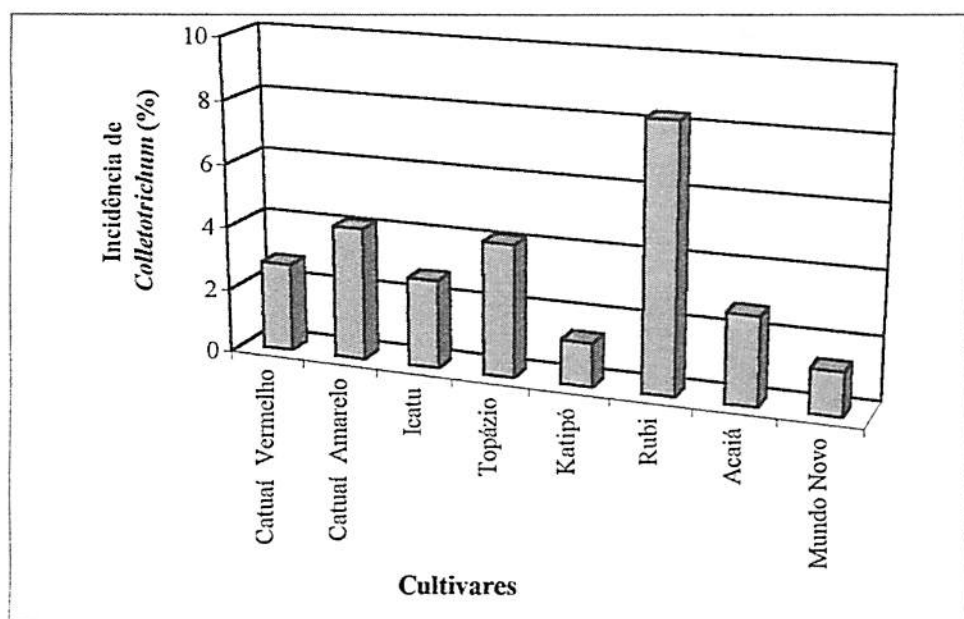


FIGURA 3- Incidência de *C. gloeosporioides* em *Coffea arabica* L. em frutos maduros no endosperma (semente) UFLA, Lavras, MG, 2004.

Orozco et al. (2002a) verificaram incidência de *Colletotrichum* spp. na semente para as cultivares Catuaí Amarelo e Vermelho com sintomas de macha manteigosa, Catuaí Vermelho e Acaiá Cerrado sem sintomas de mancha manteigosa, os valores de incidência foram 14%, 10%, 6% e 4%,

respectivamente. Os autores concluíram que *Colletotrichum* spp. pode ser transmitido pela semente e aquelas cultivares com sintomas de mancha manteigosa tem maior expressão na transmissibilidade deste patógeno, estes resultados corroboram com os dados apresentados.

As cultivares Topázio e Rubi foram as mais suscetíveis ao fungo em todos os tecidos, enquanto a Mundo Novo e Icatú tiveram menor incidência, sobressaindo-se a cultivar Icatú como a mais resistente, fato observado no estudo da incidência de *C. gloeosporioides* nos estádios de formação do fruto do cafeeiro. Verificou-se a presença de *C. gloeosporioides* na semente em todas as cultivares estudadas.

6 CONCLUSÕES

Verificaram-se altos valores de incidência de *Colletotrichum gloeosporioides* nos estádios de formação do fruto.

A incidência de *Colletotrichum gloeosporioides* nos tecidos do fruto do cafeeiro tiveram diferentes comportamentos, tanto entre as cultivares como entre os tecidos.

As cultivares Topázio e Rubi foram as mais suscetíveis e a cultivar Icatú, a mais resistente.

Exocarpo e mesocarpo (casca+mucilagem) tiveram maior incidência de *Colletotrichum gloeosporioides*.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, A. R.; SALGADO, M.; PFENNING, L. H.; LIMA, C. S.; CHAVES, Z. M. Fungos endofíticos de folhas e haste de café (*Coffea arabica*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 28., 2002, Caxambu-MG. *Anais...* Caxambu, 2002. p. 432.
- ALMEIDA, S. R.; MANSK, Z.; MATIELLO, J. B.; MULLER, R. A. Observações preliminares sobre queda de frutos sob suspeita de ataque por *Colletotrichum* sp. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 7., 1979, Araxá-MG. *Resumos...* Araxá: IBC/GERCA, 1979. p. 323-326.
- ALVES, E.; CASTRO, H. A. Fungos associados ao café (*Coffea arabica* L.) nas fases de pré e pós-colheita em lavouras da região de Lavras. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, v. 24, n. 1, p. 4-7, jan./mar. 1998.
- CARVALHO, A.; MÔNACO L. C.; VAN DER VOSSEN, H. A. M. Café Icatú como fonte de resistência a *Colletotrichum coffeanum*. *Bragantia*, Campinas, v. 35, n. 28, p. 343-347, out. 1976.
- CHEN, Z. **Morphocultural and pathogenic comparisons between *Colletotrichum kahawae* and *Colletotrichum gloeosporioides* isolated from coffee berries.** 2002. 163 p. Tese (Doutorado em Engenharia Agrônômica) – Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, Portugal.
- DORIZZOTTO, A. **Caracterização morfológica e patogenicidade de *Colletotrichum* sp associados a cafeeiros (*Coffea arabica* L.) em dois municípios de Minas Gerais.** 1993. 67 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- FERREIRA, J. B.; MARQUES, D. C.; PEREIRA, I. S.; ABREU, M. S. Estudo da incidência de *colletotrichum* spp. nos estágios de formação do fruto de diferentes cultivares de *Coffea Arabica* L. In: CONGRESSO DE PÓS GRADUAÇÃO, 12., 2003, Lavras, MG. *Resumos...* Lavras: UFLA/APG, 2003.
- FIGUEREDO, P.; MARIOTTO, P. R. *Colletotrichum gloeosporioides* Penz atacando frutos verdes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.). *O Biológico*, São Paulo, v. 54, n. 1 p. 25-26, jan. 1978.

FIRMAN, I. D.; WALLER, J. M. Coffee berry disease and other *Colletotrichum* disease of coffee. *Phytopathological Papers*, CMI, Kew, n. 20, p.53, 1977.

GRIFFITHS, E.; GIBBS, J. N.; WALLER, J. M. Control of coffee berry disease. *Annal Applied Biology*, London, v. 67, n. 1, p. 45-74, Jan. 1971.

NECHET, K. de L. **Caracterização biológica e isoenzimática de isolados de *Colletotrichum* sp. em cafeeiro (*Coffea arabica* L.).** 1999. 73 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

NECHET, K. de L.; ABREU, M. S. Caracterização morfológica e testes de patogenicidade de isolados de *Colletotrichum* sp. obtidos de cafeeiro. *Ciência e Tecnologia*, Lavras, v. 26, n. 6, p. 1135-1142, nov./dez. 2002.

OROZCO MIRANDA, E. F. **Caracterização morfológica, molecular, bioquímica e patogênica de isolados de *Colletotrichum* spp. associados ao cafeeiro em Minas Gerais e Comparação com *Colletotrichum kahawae*.** 2003. 147 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

OROZCO MIRANDA, E. F.; FREITAS, M.; PIGOZZO, P.; ABREU, M. S. Incidência de *Colletotrichum* spp. em frutos cereja e sementes de café arabica (*Coffea arabica*). In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 7., 2002, Sete Lagoas-MG. *Anais...* Sete Lagoas, 2002a. p. 59.

OROZCO MIRANDA, E. F.; FREITAS, M.; PIGOZZO, P.; ABREU, M. S. Incidência de *Colletotrichum* spp. em frutos cereja e sementes de café arabica (*Coffea arabica*) no estado de Minas Gerais. In: CONGRESSO DE PÓS GRADUAÇÃO, 11., 2002, Lavras, MG. *Resumos....* Lavras: UFLA/APG, 2002b.

OROZCO MIRANDA, E. F.; FREITAS, M.; PIGOZZO, P.; ABREU, M. S. Transmissão de *Colletotrichum* spp. por sementes de café arabica (*Coffea arabica*). In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 7., 2002, Sete Lagoas-MG. *Anais....* Sete Lagoas, 2002c. p. 93.

OROZCO MIRANDA, E. F.; PIGOZZO, P.; PEREIRA I. S.; ABREU, M. S. Estudo das relações compatíveis e incompatíveis de *Colletotrichum* spp. x cafeeiro. In: CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO, 11., 2002, Lavras, MG. *Resumos....* Lavras: UFLA/APG, 2002d.

PARADELA FILHO, O.; PARADELA, A. L.; THOMAZIELLO, R. A.; RIBEIRO, I. J. A.; SUGIMORI, M. H.; FAZUOLI, L. C. **O complexo *Colletotrichum* do cafeeiro**. Campinas: Instituto Agronômico de Campinas, 2001. 11p. (IAC. Boletim Técnico, n. 191).

PARESQUI, L.; ZAMBOLIM, L.; COSTA, H.; SAKIYAMA, C. H.; BATISTA, U. G. Evidências da latência e associação endofítica de *Colletotrichum* sp. em tecidos de *Coffea arabica* L. In: SIMPÓSIO DE PESQUISAS DOS CAFÉS DO BRASIL, 3., 2003, Porto Seguro. **Anais...** Porto Seguro-BA, 2003. p. 200.

RENA, A. B.; MAESTRI, M. Fisiologia do cafeeiro. In: SIMPÓSIO SOBRE FATORES QUE AFETAM A PRODUTIVIDADE DO CAFEEIRO, 1986, Poços de Caldas. **Anais...** Piracicaba: PATOFOS, 1986. p. 13-85.

ROLDÃO, G. M. **Fungos endofíticos em grãos verdes de café (*Coffea arabica* L.)**. 2002. 53 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SAKIYAMA, C. H.; PAULA, E. M.; PEREIRA, P. C.; PITTA FILHO, O. P. L.; HARA, A.; BORGES, A. C.; SILVA, D. O. Microbiota endofítica em frutos de *Coffea arabica* L. In: SIMPÓSIO DE PESQUISAS DOS CAFÉS DO BRASIL, 3., 2003, Porto Seguro. **Anais...** Porto Seguro-BA, 2003. p. 206.

VARGAS, G. E.; GONZALEZ, U. L. C. La mancha mantecosa del café causada por *Colletotrichum* spp. **Turrialba**, San José, v. 22, n. 2, p. 129-135, abr./jun. 1972.

CAPÍTULO 3

FERREIRA, Josimar Batista. Incidência e progresso da antracnose em folhas de cafeeiros no campo. In: — **Flutuação sazonal e associação de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. a diferentes órgãos e tecidos de cafeeiros (*Coffea arabica* L)** 2004. p.39-53. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.*

1 RESUMO

Dentre as doenças que atacam o café a antracnose constitui, em alguns países, um grave problema, trazendo sérios prejuízos à cultura. Objetivou-se, neste estudo, avaliar o efeito de *C. gloeosporioides* em folhas de cafeeiros no campo, correlacionando-se com as condições climáticas, analisando a área abaixo da curva da incidência para a doença. O estudo foi realizado em área experimental do setor de cafeicultura da Universidade Federal de Lavras, com cafeeiros das cultivares Catuaí Vermelho e Amarelo, Icatú, Topázio, Katipó, Rubi, Acaia e Mundo Novo. A incidência de *C. gloeosporioides* no cafeeiro foi observada a partir de fevereiro, período de maior volume pluviométrico, maior umidade relativa do ar e temperaturas médias em torno dos 23°C. Observaram-se picos máximos da incidência de *C. gloeosporioides* nos meses de março, abril e maio com 3%, 3,6% e 3,3% respectivamente, influenciados pela umidade relativa do ar média de 75% e temperatura média de 21°C. Na análise da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), verificou-se a maior resistência a *C. gloeosporioides* nas cultivares Icatú, Mundo Novo e Katipó. Já as cultivares Acaia, Topázio, Catuaí Vermelho, Catuaí Amarelo e Rubi foram as mais suscetíveis à doença.

*Comitê de Orientação: Mario Sobral de Abreu - UFLA (Orientador)
Edson Ampélio Pozza - UFLA (Co-orientador)

2 ABSTRACT

FERREIRA, Josimar Batista. Incidence and progress of anthracnose in coffee tree leaves in the field. In: — **Seasonal flotation and association of *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. to different organs and tissues of coffee tree (*Coffea arabica* L.)** 2004. p.39-53. Dissertation (Master in Plant Pathology) - Universidade Federal de Lavras, Lavras*.

Among the diseases that affect coffee production, anthracnose is, in some countries, a serious problem causing damage to the crop. The objective of this study was to evaluate the effect of *C. gloeosporioides* in coffee tree leaves in the field, correlating the climatic conditions by analyzing the area under the disease progress curve (AUDPC). This investigation involved the cultivars: Catuaí Amarelo and Vermelho, Icatú, Topázio, Katipó, Rubi, Acaiá and Mundo Novo in the experimental farm of Universidade Federal de Lavras-UFLA, Brazil. Incidence of *C. gloeosporioides* in coffee trees was observed in the period of February – May when a higher rainfall, regime with higher relative humidity and an average temperature around 23°C, are common. Maximum peaks of incidence of *C. gloeosporioides* were observed in the months March, April and May with 3.0%, 3.6% and 3,3% respectively, influenced by a relative humidity average of 75% and mean temperature of 21°C. By the analysis of (AUDPC) for *C. gloeosporioides* in 8 coffee cultivars it was verified that, Acaiá, Topázio, Catuaí Vermelho, Catuaí Amarelo and Rubi were the most susceptible to disease, whereas Icatú, Mundo Novo and Katipó were the most resistant.

* Advising Committee: Mario Sobral de Abreu - UFLA (Adviser)
Edson Ampélio Pozza - UFLA (Co-adviser)

3 INTRODUÇÃO

Com vistas à proteção de um cafezal contra enfermidades, é necessário fazer uma estimativa de risco a que essa cultura poderá estar sujeita numa determinada época. Para tal, é necessário conhecer o inóculo inicial, a taxa de infecção e o período de tempo em que se reúnem as condições favoráveis ao desenvolvimento da doença.

Poucos são os relatos que caracterizam estudos epidemiológicos de *Colletotrichum* spp. em cafeeiro. No Brasil, não se conhece nenhum trabalho de estudos epidemiológicos que evidencie os danos deste patógeno no campo, seja em frutos ou na planta como um todo. Daí a importância deste trabalho para a cafeicultura brasileira, em especial a região Sul de Minas Gerais.

Estudos epidemiológicos de *Colletotrichum* no campo somente são conhecidos para o agente que causa a CBD, em especial para o continente Africano. No Quênia, onde a CBD é mais bem estudada, há dois períodos chuvosos intercalados por dois períodos secos. O clima é o primeiro e o mais importante fator no desenvolvimento da epidemia, principalmente em altitudes superiores a 1600m e em início das chuvas (Nutman & Roberts, 1964; Vermuelen, 1979; Nutman & Roberts, 1969; Gibbs, 1969). Os aumentos das chuvas e das horas de molhamento foliares, têm sido fatores que incrementam infecções de frutos, com o conseqüente aumento da epidemia, no qual o inóculo secundário predomina em relação ao primário (Nutman & Roberts, 1969).

Objetivou-se, neste estudo, avaliar o efeito de *Colletotrichum gloeosporioides* em folhas de cafeeiros no campo, associado às condições climáticas, analisando a área abaixo da curva da incidência para a doença.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Área experimental

Os estudos foram conduzidos no campus da Universidade Federal de Lavras-UFLA, em cafezais com cinco anos de idade, com espaçamento de 4,0 x 0,8m com 01 planta por cova, cujo objetivo principal foi avaliar o comportamento da antracnose a campo, fazendo o monitoramento sintomatológico de *Colletotrichum* em folhas de ramos marcados de café.

4.2 Cultivares de café

Foram utilizados oito cultivares de *Coffea arabica* L. para verificar a incidência de *C. gloeosporioides* no cafeeiro: Icatú IAC 3282, Acaiá IAC 474-19, Catuaí Amarelo IAC 62, Catuaí vermelho IAC 15, Rubi-MG 1192, Topázio MG 1190, Mundo Novo IAC 379-19 e Katipó.

4.3 Identificação e marcação dos ramos

Utilizaram-se três plantas centrais da parcela; foram escolhidos quatro ramos no terço médio de cada planta de café, sendo marcados dois de cada lado. Em cada um dos ramos foram avaliados 2 pares de folhas, num total de 16 folhas por plantas em amostragens não destrutivas.

Para marcação dos ramos utilizou-se fita de nylon e nas folhas utilizou-se fita crepe e arames coloridos de 6 cm de comprimento.

4.4 Estudo epidemiológico de *Colletotrichum* ao campo

Visando o monitoramento da incidência de *Colletotrichum gloeosporioides* no campo, foram realizadas amostragens da incidência de ferrugem e cercosporiose, a fim de eliminar o efeito que estas podem causar na queda de folhas, e não mascare o efeito de *Colletotrichum* nas plantas de café.

4.5 Avaliações

As avaliações foram mensais, iniciaram no mês de janeiro até agosto de 2003. Fizeram-se acompanhamentos da presença da ferrugem, cercosporiose e antracnose em folhas marcadas. Avaliou-se, também, a quedas de folhas para eliminar o efeito da ferrugem e cercosporiose sobre os danos ocasionados pela antracnose. Para os cálculos, verificou-se o histórico da queda de folhas em cada avaliação e seus respectivos motivos.

4.6 Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD)

Com base nos índices médios de incidência de *Colletotrichum* observados, calculou-se a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) conforme equação proposta por Campell & Madden (1990).

$$Y_{ijk} = \mu + b_j + t_i + e(a)_{ij} + s_k + (ts)_{ik} + e(b)_{ijk}$$

Onde:

Y_{ijk} = porcentagem de folhas doentes do i-ésimo tratamento do j-ésimo bloco na subparcela k;

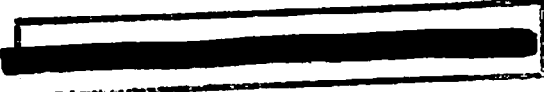
μ = média geral;

b_j = efeito do j-ésimo bloco;

t_i = efeito do i-ésimo tratamento primário (parcelas);

$e(a)$ = erro a nível tratamento primário (parcelas);

s_k = efeito do k-ésimo tratamento secundário (subparcelas);



$(ts)_{ik}$ = efeito da interação do i-ésimo tratamento primário com o k-ésimo tratamento secundário;
 $e(b)$ = erro no nível tratamento secundário (subparcelas).

4.7 Dados climáticos

Foram fornecidos pelo setor Agrometeorológico da UFLA, coletados diariamente, no período entre dezembro de 2002 a setembro de 2003.

Dessa forma, obtiveram-se as seguintes variáveis climáticas, ocorridas durante o período do experimento: Precipitação (Pr), Temperatura máxima (Tma) Temperatura mínima (Tmi), Temperatura média (Tme) e Umidade relativa do ar (UR).

Com base nesses dados climatológicos foram calculadas médias de 30 dias antes das datas de avaliações das doenças, exceto para precipitação, a qual considerou o volume total no período.

4.8 Delineamento experimental

O experimento foi instalado em blocos casualizados com três repetições e sete plantas por parcela. Foram marcadas três plantas centrais para avaliação da doença. O espaçamento de plantio é 4.0 x 0.8 m, com uma planta por cova; como bordadura utilizou-se a cultivar Rubi, no início e ao final de cada repetição.

4.9 Análise estatística

Para análise da variância e os testes de pressuposições utilizou-se o programa "Statistical Analysis System" (SAS) do SAS Institute, licenciado para departamento de Ciências Exatas da UFLA. Para a comparação de médias utilizou-se o teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05\%$).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram verificadas incidência de cercosporiose no mês janeiro, com 6%, enquanto para *Colletotrichum* e ferrugem, observaram-se índices de incidência a partir de fevereiro com 1,3% e 0,6%, respectivamente (Figura 1). Neste estudo observou-se o mesmo comportamento da ferrugem e da cercosporiose em comparação com os trabalhos dos anos anteriores (Talamini, 1999; Boldini, 2001; Santos, 2002). Neste trabalho foi dada ênfase ao patossistema *Colletotrichum*-cafeeiro.

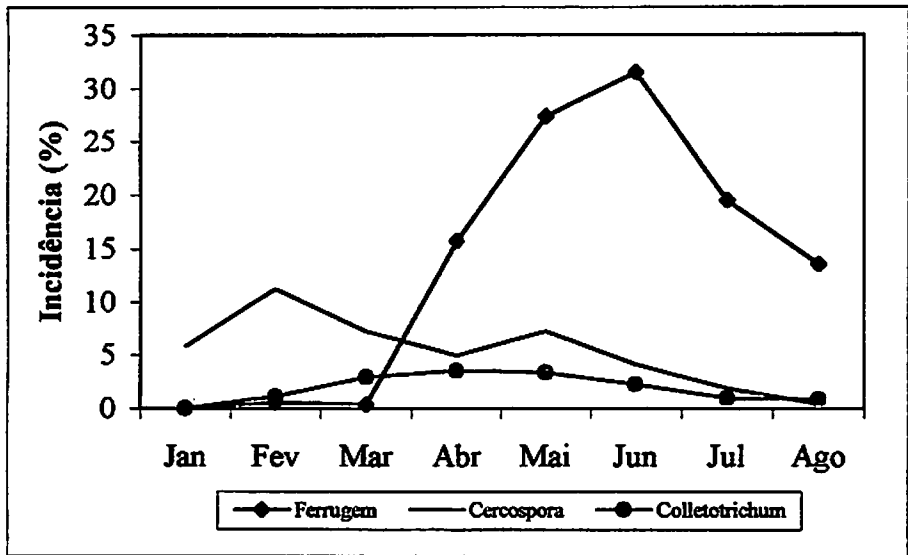


FIGURA 1- Curvas de progresso da incidência de *Colletotrichum*, Cercosporiose e Ferrugem em *Coffea arabica* L., no período de Janeiro a Agosto de 2003. UFLA, Lavras, MG, 2004.

5.1 Antracnoses do cafeeiro

Observou-se incidência de *Colletotrichum gloeosporioides* no cafeeiro a partir de fevereiro (Figura 2), período de maior volume pluviométrico, maior umidade relativa do ar e temperaturas médias em torno dos 23°C.

Observaram-se picos máximos da incidência de *C. gloeosporioides* nos meses de março, abril e maio, com 3%, 3,6% e 3,3% de incidência, respectivamente (Figura 2).

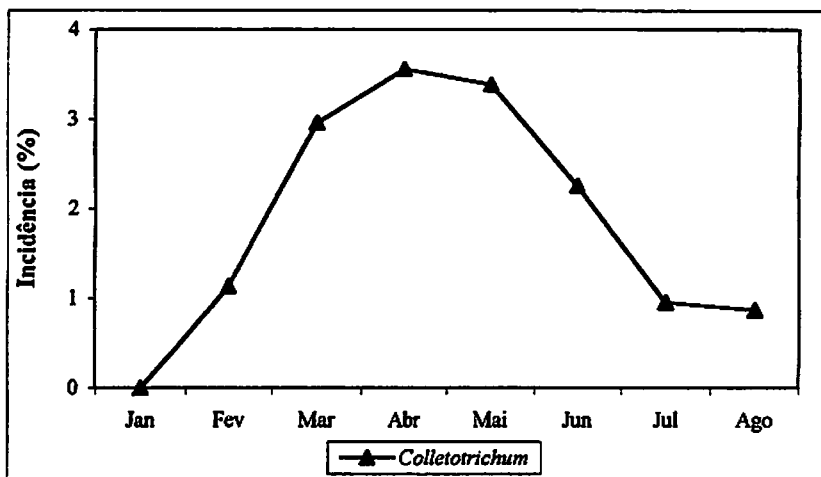


FIGURA 2- Curvas de progresso da incidência de *Colletotrichum gloeosporioides* em *Coffea arabica* L. no período de janeiro a agosto de 2003. UFLA, Lavras, MG, 2004.

Na análise de regressão, para avaliar a evolução da doença nos meses de avaliação, verificou-se a tendência no aumento da incidência de *C. gloeosporioides* durante o período chuvoso, seguido da alta umidade relativa do ar, fato verificado entre os meses de janeiro e maio. Com a escassez das chuvas, verificou-se a redução da incidência de *C. gloeosporioides*. O modelo quadrático

foi o de melhor ajuste, observado na equação: $y = - 2,0368 + 2,2952X - 0,2511X^2$ ($R^2 = 0,86$) (Figura 3).

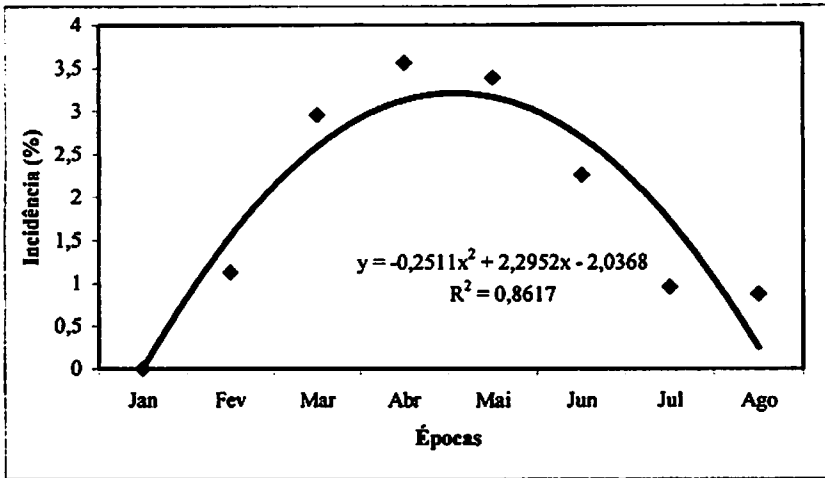


FIGURA 3- Equação de regressão da incidência de *C. gloeosporioides* em *Coffea arabica* L. no período de janeiro a agosto de 2003. UFLA, Lavras, MG, 2004.

Nas observações, verificou-se que o início da incidência *C. gloeosporioides* está correlacionado com o maior período chuvoso, verificado no mês de janeiro, com 462,1 mm (Figura 4).

Com referência às condições climáticas, Nutman & Roberts (1969) afirmam que o aumento das chuvas e das horas de molhamento tem sido fatores que incrementa infecções em frutos, com o conseqüente aumento da epidemia CBD “Coffee Berry Disease”.

Na comparação deste resultado com dados climatológicos, observa-se a continuidade das chuvas, mesmo em baixos percentuais pluviométricos, fator que favoreceu a manutenção da umidade relativa do ar acima de 75% e temperatura média de 21°C (Figura 4). Em estudos com CBD na África, relatou-se que temperaturas entre 17 a 28°C são mais favoráveis, com 40% da

germinação de conídios, e a infecção ocorre entre cinco horas. Em frutos, os valores mínimos observados para germinação e infecção de conídios de CBD foram cinco horas de molhamento foliar com temperatura mínima de 15°C (Griffiths, 1971; Nutman & Roberts, 1964; Chalfoun, 1997).

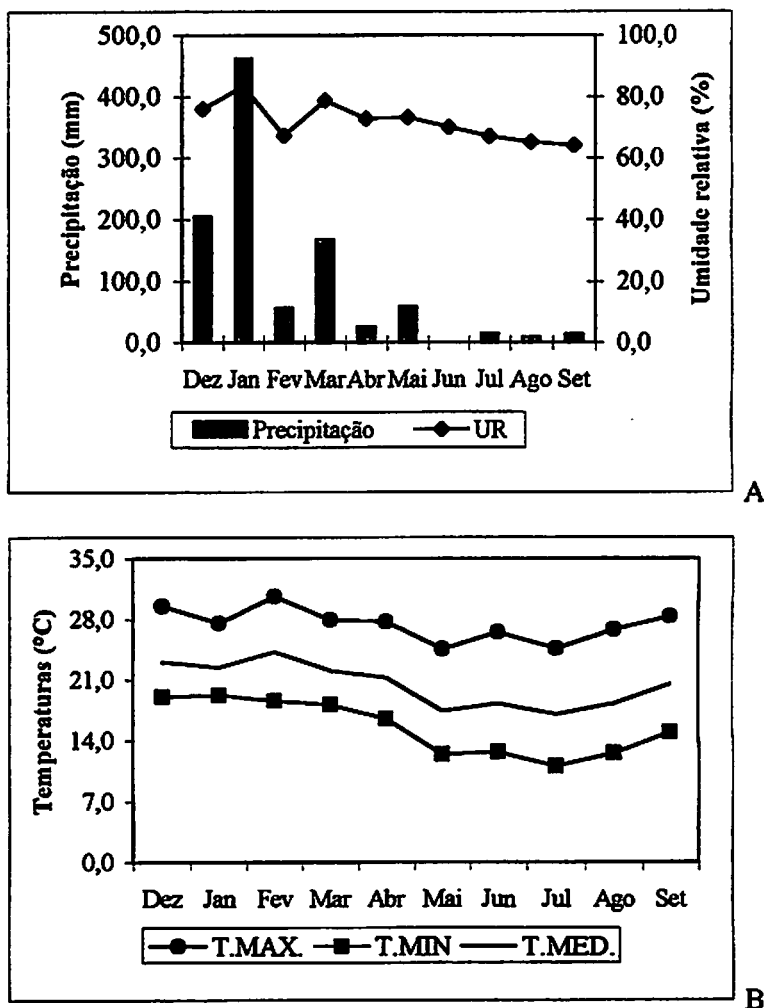


FIGURA 4- Variáveis climáticas no período de dezembro de 2001 a setembro de 2003. UFLA, Lavras, MG, 2004.

Na análise da área abaixo da curva de progresso da incidência (AACPI) de antracnose, verificou-se efeito significativo entre as cultivares quanto à incidência de *C. gloeosporioides*, distinguindo-os em dois grupos: 1) As cultivares Icatú, Mundo Novo e Katipó foram as mais resistentes ao *C. gloeosporioides*. Carvalho et al. (1976) em seus estudos de resistência genética à CBD, verificaram que o germoplasma Icatú, com o híbrido de Timor, oferece perspectivas de constituir razoável fonte a esse patógeno. 2) As cultivares Acaia, Topázio, Catuaí Vermelho, Catuaí Amarelo e Rubi foram as mais suscetíveis a *C. gloeosporioides* (Figura 5). Esta Informação permite inferir que estas diferenças entre os cultivares sejam provavelmente devidas à herança genética, segundo a qual a cultivar Icatú originou-se dos cruzamentos de *Canephora* x Bourbon Vermelho e Katipó, de Catimor, selecionada de Caturra Vermelho x híbrido Timor. A cultivar Mundo Novo foi selecionada a partir de 1943, em cafeeiro rústico e muito produtivo, e é provável que tenha surgido de cruzamentos naturais entre a cultivar Sumatra e a Bourbon Vermelho (Guimarães et al., 2002).

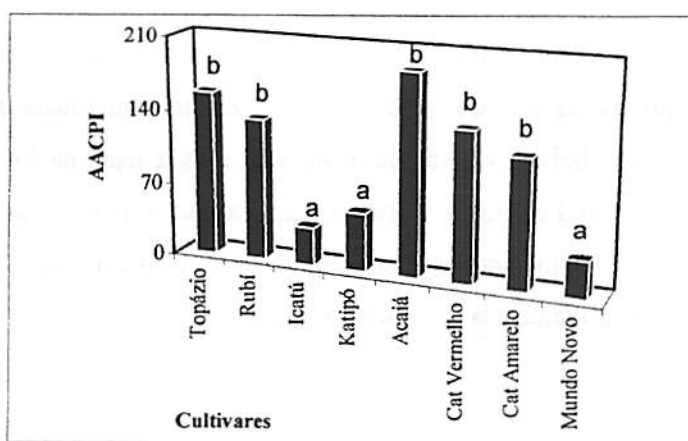


FIGURA 5- Área abaixo da curva de progresso da incidência (AACPI) de *C. gloeosporioides* em folhas de cafeeiros, no período de janeiro a agosto de 2003. UFLA, Lavras, MG, 2004. CV=33,37%.

A correlação da doença com as variáveis climáticas ocorridas durante o intervalo entre cada avaliação não teve efeito significativo. Constatou-se correlação negativa entre a temperatura, enquanto a precipitação e umidade relativa do ar correlacionaram-se positivamente para a área abaixo da curva da incidência da doença e também para os cultivares mais suscetíveis ao *C. gloeosporioides* (Tabela 1).

TABELA 1- Coeficientes de correlação entre variáveis climáticas ocorridas nos 30 dias anteriores à avaliação e área abaixo da curva da incidência de *C. gloeosporioides* no período de janeiro a agosto de 2003. UFLA/2004.

Evolução da doença	Tma	Tmi	Tme	UR	Pr
AACPI	-0,27	-0,13	-0,16	0,13	0,21
AACPI grupo 1	-0,15	0,01	-0,05	0,24	0,31
AACPI grupo 2	-0,22	-0,23	-0,2	-0,17	-0,45

Tma, Tmi e Tme= temperaturas máxima, mínima e média, respectivamente (°C);
 UR= umidade relativa do ar (%); Pr= precipitação (mm).
 AACPI= área abaixo da curva de progresso da incidência;
 AACPI grupo 1= cultivares mais suscetíveis;
 AACPI grupo 2= cultivares mais resistentes.

O efeito da não significância entre as variáveis climáticas e a área abaixo da curva de progresso da incidência de *Colletotrichum* em folhas de cafeeiros seja, em razão dos baixos valores de incidência, pois a máxima intensidade da doença teve percentual de 3,6%. Todavia, é importante verificar que mesmo em baixos percentuais houve correlação positiva entre a precipitação e umidade relativa do ar com a incidência de *Colletotrichum* no campo.

6 CONCLUSÕES

O início da incidência de *Colletotrichum gloeosporioides* está correlacionado com altas precipitações seguidas de alta umidade relativa do ar.

A máxima intensidade de *Colletotrichum gloeosporioides* foi observada nos meses de março, abril e maio, influenciada pela umidade relativa do ar, com média de 75% e temperatura média de 21°C.

As cultivares Icatú, Mundo Novo e Katipó foram as mais resistentes, enquanto que Acaia, Topázio, Catuaí Vermelho, Catuaí Amarelo e Rubi as mais suscetíveis ao *Colletotrichum gloeosporioides*.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BOLDINI, J. M. **Epidemiologia da ferrugem e da cercosporiose do cafeeiro (*Coffea arabica* L.) irrigado e fertilizado por gotejamento.** 2001. 68 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L.V. **Introduction to plant disease epydemiology.** New York: J. Wiley, 1990. 532 p.

CARVALHO, A.; MÔNACO L. C.; VAN DER VOSSEN, H. A. M. **Café Icatú como fonte de resistência a *Colletotrichum coffeanum*.** *Bragantia*, Campinas, v. 35, n. 28, p. 343-347, out. 1976.

CHALFOUN, S. M. **Doenças do cafeeiro: importância, identificação e métodos de controle.** Lavras: UFLA/FAEPE, 1997. 93 p.

GIBBS, J. N. **Inoculum sources for coffee berry disease.** *Annals of Applied Biology*, London, v. 64, p. 515-522, Apr. 1969.

GRIFFITHS, E.; GIBBS, J. N.; WALLER, J. M. **Control of coffee berry disease.** *Annal Applied Biology*, London, v. 67, n. 1, p. 45-74, Jan. 1971.

GUIMARÃES, J. R.; MENDES, A. N. G.; SOUZA, C. A. S. **Cafeicultura.** Lavras: UFLA/FAEPE, 2002. 317 p.

NUTMAN, J. F.; ROBERTS F. M. **Coffee berry disease and coffee leaf rust in Kenya.** *Outlook on Agriculture*, Sacramento, v. 14, n. 2, p. 72-79, 1964.

NUTMAN, J. F.; ROBERTS F. M. **Coffee berry disease: epidemiology in relation to control.** *Experimental Agriculture*, Cambridge, v. 5, n. 4, p. 271-282, Oct. 1969.

SANTOS, F. **Progresso da ferrugem e da cercosporiose em cafeeiro (*Coffea arabica* L.) irrigado.** 2002. 71 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

TALAMINI, V. **Progresso da ferrugem e da cercosporiose do cafeeiro (*Coffea arabica* L.) irrigado e fertilizado por gotejamento.** 1999. 89 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

VERMEULEN, H. Coffee Berry Disease in Kenya. 1979. 112 p. Thesis.
(Doctoral) - Wageningen University, Holanda.

CAPÍTULO 4

FERREIRA, Josimar Batista. Colonização de *Colletotrichum gloeosporioides* em plântulas assintomáticas de café. In: — Flutuação sazonal e associação de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. a diferentes órgãos e tecidos de cafeeiros (*Coffea arabica* L) 2004. p.54-73. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.*

1 RESUMO

O patossistema *Colletotrichum* cafeeiro em Minas Gerais é muito importante e complexo, pois trata-se de populações de espécies de *Colletotrichum* associadas às plantas de forma invasiva com e sem manifestação de sintomas. Objetivou-se, neste estudo, verificar a colonização de *Colletotrichum gloeosporioides* associados ao cafeeiro no progresso de crescimento das plântulas. Foram realizados dois ensaios: no primeiro empregou-se a metodologia de inoculação por pulverização (2×10^6 conídios/ml) em 8 cultivares de café e no segundo utilizou-se a metodologia de inoculação em discos autocolantes de 14,5 mm de diâmetro (8 μ l/disco) no 2º par de folhas verdadeiras, em 3 cultivares de café, utilizando em ambos ensaios, três isolados de *C. gloeosporioides* mais testemunha. No ensaio de inoculação por pulverização observou-se colonização sistêmica (endofítica) do patógeno. No progresso de crescimento das plântulas, verificou-se maior colonização do fungo em folhas cotiledonares, seguidas pelo 1º, 2º e 3º par de folhas verdadeiras. Nas folhas cotiledonares, observaram-se vários níveis de incidência de *C. gloeosporioides*. As cultivares Catucaí Vermelho e Amarelo (MM), proveniente de plantas com sintomas de mancha manteigosa, foram as mais colonizadas, com 97,22% e 94,44%, respectivamente. No 3º par de folhas verdadeiras, constataram-se baixos percentuais de incidência do fungo. As cultivares Catucaí Vermelho e Amarelo (MM) tiveram incidência de 10,18% e 16,66%, respectivamente. As cultivares Rubi e Catucaí ambas, tiveram 2,2% de incidência. No ensaio de inoculações em discos autocolante verificou-se colonização sistêmica com direcionamento ascendente em direção aos novos tecidos. Para colonização de *C. gloeosporioides*, pode-se inferir que quanto maior o tempo após a inoculação, maior será a colonização nos tecidos e maior o índice de incidência da doença. Neste estudo, o fungo permaneceu em constante associação com o seu hospedeiro.

*Comitê de Orientação: Mario Sobral de Abreu - UFLA (Orientador)
Edson Ampélio Pozza - UFLA (Co-orientador)

2 ABSTRACT

FERREIRA, Josimar Batista. Colonization of *Colletotrichum gloeosporioides* in asymptomatic coffee plantlets. In: — Seasonal flotation and association of *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. to different organs and tissues of coffee tree (*Coffea arabica* L.) 2004. p.54-73. Dissertation (Master in Plant Pathology) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.*

In Minas Gerais State the coffee tree-*Colletotrichum* pathosystem is very important and complex, and it is represented by populations of *Colletotrichum* species associated with plants in an endophytic way with and without manifestation of symptoms. The objective of this study was to verify the colonization of *C. gloeosporioides* during the development of plantlets. Two experiments were carried out, in the first, developing plants of 8 cultivars were sprayed with a spore suspension (2×10^6 conidia.ml⁻¹); in the second method inoculation was performed by sticking disks of 14.5 mm diameter in fregmated with a conidial suspension (8 µl/disks) on the 2nd pair of true leaves in 3 coffee cultivars, using, in both experiments, three isolates of *C. gloeosporioides* plus controls. In the inoculation by spraying, systemic (endophytic) colonization of the pathogen was observed. In the development of the plantlets, more colonization of the fungus in cotyledonal leaves was verified, followed by the 1st, 2nd and 3rd pairs of true leaves. In the cotyledonal leaves, variable levels of incidence of *C. gloeosporioides* was observed. The Catucaí Vermelho e Amarelo (MM) cultivars originated from plants with symptoms of blister spot, were the most colonized with 97.22% and 94.44% of incidence, respectively. In the 3rd pair of true leaves, a low percentage of fungal incidence was verified, the Catucaí Vermelho e Amarelo (MM) cultivars had an incidence of 10.18% and 16.66%, respectively and both cultivars Rubi and Catucaí, showed an incidence of 2.2%. In the experiments with inoculation through selfsticking disks, systemic colonization was verified in an ascending direction towards the new tissues. With regard to colonization of *C. gloeosporioides* it can be inferred that, the longer the time after inoculation, the higher will be the colonization of the tissues and the disease incidence index. In this study, the fungus was in constant association with its host.

* Advising Committee: Mario Sobral de Abreu - UFLA (Adviser)
Edson Ampélio Pozza - UFLA (Co-adviser)

3 INTRODUÇÃO

Estudos têm relatado a freqüente interação de espécies de *Colletotrichum* spp. com diferentes hospedeiros, apresentando estágio de latência ou, ainda, em associação endofítica. O patossistema *Colletotrichum* – cafeeiro, em Minas Gerais, é muito importante e complexo, pois trata-se de populações de espécies de *Colletotrichum* associadas as plantas de forma invasiva sem manifestação de sintomas (Orozco et al., 2002; Orozco, 2003, Paresqui et al., 2003).

Em testes de patogenicidade de *Colletotrichum* spp. têm sido observadas elevadas variabilidades genéticas. Este Fato, foi explicado por Orozco (2003), em estudos de patogenicidade de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* associados ao cafeeiro. O autor afirma a possível existência de raças (patótipo) patogênicas para estes isolados e propõe que, para os isolados provenientes de sintomas de mancha manteigosa, seja utilizada a denominação *Colletotrichum gloeosporioides*, agente mancha manteigosa.

Tem-se observado que a interação entre *Colletotrichum* spp. e plântulas de café é muito variável, dependendo da suscetibilidade do material genético, da variabilidade genética dos isolados e do tempo após inoculação para expressar sintomas. No Brasil, trabalhos para caracterizar a patogenicidade de *Colletotrichum* spp. em hipocótilos de café, tiveram expressão de sintomas de 15 a 30 dias após a inoculação (Orozco, 2003; Dias, 2002; Nechet, 1999; Nechet et al., 2002; Dorizzotto, 1993).

Objetivou-se, neste trabalho, verificar a colonização de *Colletotrichum gloeosporioides* associado ao cafeeiro no progresso de crescimento das plântulas.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* utilizados

Foram realizados dois ensaios, o primeiro com inoculação por atomização e o outro com inoculação em disco adesivo fixado na folha. Em ambos os ensaios foram utilizados três isolados monospóricos de *C. gloeosporioides* da coleção micológica do Laboratório Diagnose e Controle de Enfermidades Fúngicas em Plantas (Tabela 1). No 1º ensaio de inoculação por atomização utilizaram-se os isolados identificados com os números 1, 2 e 11, todos provenientes de plantas com sintomas de mancha manteigosa. No 2º ensaio, inoculação em discos, utilizaram-se os isolados 1, 11 e 12, também provenientes de plantas com sintomas de mancha manteigosa. Como testemunha foi aplicada água destilada esterilizada.

TABELA 1- Procedência dos isolados de *C. gloeosporioides* utilizados no teste de patogenicidade em par de folhas de cultivares de café. UFLA, 2004.

Ísolado	Órgão	Sintoma	Procedência	Data
1	Folha	Mancha manteigosa	Lavras, UFLA	2001
2	Folha	Mancha manteigosa	Piumhi	2001
11	Fruto	Mancha manteigosa	Nepomuceno	2001
12	Folha	Mancha manteigosa	Poço Fundo	2001

4.2 Inoculação por atomização

4.2.1 Cultivares de café

Foram utilizadas oito cultivares de *Coffea arabica* L. no teste de patogenicidade em par de folhas: Icatú IAC 3282, Tupi IAC 1669-33, Acaiá Cerrado MG 1474, Catuaí Amarelo IAC 62, Catucaí Amarelo e Rubi-MG 1192. Também foram contemplados, no ensaio de patogenicidade em par de folhas os cultivares Catucaí Amarelo e Vermelho, produzidos a partir de sementes procedentes de frutos colhidos em plantas com sintomas de mancha manteigosa.

4.2.2 Produção das plântulas

Utilizaram-se sementes das cultivares indicadas no item anterior, as quais foram lavadas com água de torneira durante três horas, desinfestadas com álcool 50% por 50 segundos e hipoclorito de sódio 1% por um minuto e novamente lavadas com água destilada esterilizada. Nestas sementes, realizou-se teste de sanidade em meio BDA, sendo feito plaqueamento de 25 sementes por placa de 15 cm de diâmetro, as quais foram colocadas em câmara de crescimento com temperatura de 23 ± 2 °C e fotoperíodo de 12 horas. Ao quinto dia após o plaqueamento fez-se a leitura da presença de *Colletotrichum* spp. e aquelas que apresentavam crescimento micelial de *Colletotrichum* spp. foram descartadas. Já as que estavam externamente isentas de patógenos no meio BDA foram colocadas nas bandejas de plástico em papel filtro umedecido a 23°C. No momento de surgimento da radícula as sementes foram semeadas em bandejas de isopor contendo substrato Plantmax®, onde permaneceram até o estágio de palito de fósforo com média de três a cinco centímetros de tamanho, momento em que foi realizada a inoculação. No momento em que iniciou a abertura das

folhas cotiledonares foram selecionadas seis plântulas de cada cultivar para transplântio de duas plântulas por copos plásticos de 400 ml contendo substrato na proporção 3:1:1 (solo vegetal, areia e esterco bovino), acondicionados em bandejas plásticas, em que permaneceram até ao quarto par de folhas verdadeiras.

4.2.3 Acondicionamentos das bandejas plásticas

Foram acondicionadas em câmara climatizada no Laboratório de patologia de sementes do Departamento de Fitopatologia da UFLA, com temperatura de 24 ± 3 °C e fotoperíodo de 12 horas. As bandejas plásticas com os copos foram colocadas nas bancadas, tipo prateleiras, e utilizou-se cortina plástica para evitar o contato entre os isolados.

4.2.4 Delineamento experimental e inoculação

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, utilizando-se o esquema fatorial 3x8 com três repetições. Foi utilizada a metodologia de Van der Vossen et al. (1977) e Várzea (1995) com modificações. Hipocótilos na fase palito de fósforo de três a cinco centímetros foram inoculados com suspensões de conídios numa concentração aproximada de 2×10^6 conídios mL⁻¹. Os hipocótilos foram mantidos em câmara úmida durante 24 horas antes da inoculação. As inoculações foram feitas com auxílio de um atomizador. Foram inoculados 25 hipocótilos por cultivar. Após o início de abertura das folhas cotiledonares foram selecionadas seis plântulas por cultivar, sendo transplântadas duas por cada copo plásticos.

Avaliou-se a incidência de *C. gloeosporioides* nas folhas cotiledonares, 1º, 2º e 3º pares de folhas verdadeiras. As avaliações foram realizadas a partir

do momento em que surgiram um ou dois pares de folhas verdadeiras acima daquele que era o alvo de avaliação. Estas foram cortadas com tesoura e levadas ao laboratório, na qual se realizou um corte de 0,5 cm quadrados na parte central do folíolo. Cada seis fragmentos correspondiam a uma repetição. Em seguida, foram desinfestadas superficialmente com álcool 70% e hipoclorito de sódio 1% por um minuto, lavadas em água destilada e esterilizada e secas em papel de filtro esterilizado. Estas, posteriormente, foram transferidas para placa de Petri com meio de cultura MEA 2% (extrato de malte-ágar+estreptomicina) e incubadas em câmara de crescimento a $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas, avaliando-se no sexto dia após a inoculação, a presença de *C. gloeosporioides*.

4.3 Inoculação em disco adesivo

Foram utilizadas etiquetas adesivas de arquivos (Pimaco- Pimaco Autoadesivos Ltda. Rio de Janeiro-RJ), com diâmetro de 14,5 mm, segundo metodologia adaptada de Abreu (1988).

4.3.1 Cultivares de café

Foram utilizadas três cultivares de café: Acaiá Cerrado MG 1474, Catuaí Amarelo IAC 62, Catuaí Vermelho 20/15.

4.3.2 Produção das plântulas

Utilizaram-se sementes das cultivares Acaiá Cerrado, Catuaí Vermelho e Catuaí Amarelo, as quais foram lavadas com água de torneira durante três horas, desinfestadas com álcool 50% por 50 segundos e hipoclorito de sódio 1% por um minuto e novamente lavadas com água destilada esterilizada. Nestas

sementes, realizou-se teste de sanidade em meio BDA, sendo feito plaqueamento de 25 sementes por placas de 15 cm de diâmetro, as quais foram colocadas em câmara de crescimento com temperatura de $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas. Ao quinto dia após o plaqueamento fez-se leitura da presença de *Colletotrichum*, e as sementes que apresentavam crescimento micelial de *Colletotrichum* spp. foram descartadas. Já as que estavam externamente isentas de patógenos no meio BDA foram colocadas nas bandejas de plástico com papel filtro umedecido e levadas à câmara de crescimento. No momento de surgimento da radícula foram semeadas em bandejas de isopor contendo substrato Plantmax® (Horticultura-substrato Plantmax, Paulínia-SP).

4.3.3 Acondicionamentos das bandejas

As sementes foram acondicionadas em câmara climatizada, no Laboratório de Patologia de Sementes do Departamento de Fitopatologia da UFLA., com temperatura de $24\pm 3^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas. As bandejas de isopor com 128 células foram colocadas nas bancadas, tipo prateleiras. Utilizou-se uma estrutura de madeira com arcos de arame, revestida com sacos plásticos de 75x100 cm, para formar câmara úmida e evitar contato entre os isolados.

4.3.4 Delineamento experimental e inoculação

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, utilizando-se o esquema fatorial $3\times 3\times 3$, com três repetições.

Os discos autocolante foram colados no 2º par de folhas verdadeiras na parte adaxial, em um dos lados da nervura central. Foram inoculados com suspensões de conídios numa concentração aproximada de 3×10^5 conídios mL^{-1} . As plântulas foram mantidas em câmara úmida durante 24 horas, antes e depois

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1- Atomização

No ensaio, com inoculação por atomização, observou-se a colonização sistêmica (endofítica) do fungo, sendo esta de forma lenta. No progresso de crescimento das plântulas de café, observou-se maior colonização do fungo em folhas cotiledonares, seguidas pelo 1º, 2º e 3º pares de folhas verdadeiras, com média de 65,48%, 20,92%, 15,48% e 6,0%, respectivamente (Figuras 1 e 2). Esta informação permite inferir que este patógeno coloniza de forma sistêmica os tecidos das plântulas. Para este caso, o fungo penetrou no hipocótilo, dado que no momento da inoculação não havia folha alguma.

Entre os isolados de *Colletotrichum* não houve diferenças significativas, na testemunha não ocorreu colonização, a incidência do fungo foi nula.

Nas folhas cotiledonares, observaram-se vários níveis de incidência de *Colletotrichum*. As cultivares Catucaí Vermelho e Amarelo (MM), provenientes de plantas com sintomas de mancha manteigosa, foram as mais suscetíveis com 97,22% e 94,44%, respectivamente. Já as cultivares Rubi e Catucaí foram as mais tolerantes, com percentuais de 50,9% e 52,7%, respectivamente (Figura 1A). No 1º, 2º e 3º par de folhas verdadeiras observaram-se menores índices de incidência do fungo, porém as cultivares Catucaí vermelho e Amarelo, provenientes de plantas com sintomas de mancha manteigosa, continuavam como as mais suscetíveis (Figura 1B e Figura 2).

No 3º par de folhas verdadeiras observaram-se baixos percentuais de incidência do fungo. Os cultivares Catucaí Vermelho e Amarelo (MM) tiveram médias de incidência de 10,18% e 16,66%, respectivamente. As cultivares Rubi e Catucaí, tiveram incidência média de 2,2%, respectivamente. Resultado semelhante foi encontrado por Orozco (2003), o qual observou que o fungo *Colletotrichum* spp. concentrava-se em maior proporção em folhas

sementes, realizou-se teste de sanidade em meio BDA, sendo feito plaqueamento de 25 sementes por placas de 15 cm de diâmetro, as quais foram colocadas em câmara de crescimento com temperatura de $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas. Ao quinto dia após o plaqueamento fez-se leitura da presença de *Colletotrichum*, e as sementes que apresentavam crescimento micelial de *Colletotrichum* spp. foram descartadas. Já as que estavam externamente isentas de patógenos no meio BDA foram colocadas nas bandejas de plástico com papel filtro umedecido e levadas à câmara de crescimento. No momento de surgimento da radícula foram semeadas em bandejas de isopor contendo substrato Plantmax® (Horticultura-substrato Plantmax, Paulínia-SP).

4.3.3 Acondicionamentos das bandejas

As sementes foram acondicionadas em câmara climatizada, no Laboratório de Patologia de Sementes do Departamento de Fitopatologia da UFLA., com temperatura de $24\pm 3^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas. As bandejas de isopor com 128 células foram colocadas nas bancadas, tipo prateleiras. Utilizou-se uma estrutura de madeira com arcos de arame, revestida com sacos plásticos de 75x100 cm, para formar câmara úmida e evitar contato entres os isolados.

4.3.4 Delineamento experimental e inoculação

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, utilizando-se o esquema fatorial $3\times 3\times 3$, com três repetições.

Os discos autocolante foram colados no 2º par de folhas verdadeiras na parte adaxial, em um dos lados da nervura central. Foram inoculados com suspensões de conídios numa concentração aproximada de 3×10^5 conídios mL^{-1} . As plântulas foram mantidas em câmara úmida durante 24 horas, antes e depois

da inoculação. As inoculações foram feitas com auxílio de uma pipeta, inoculando-se 8µL por disco.

4.3.5 Avaliações

Avaliou-se a incidência de *Colletotrichum* nas folhas inoculadas, no par de folhas superior e no par de folhas inferior, em três épocas: 30, 60 e 90 dias após as inoculações. No caso das folhas inoculadas utilizou-se a área oposta àquela em que foi colado o disco. Os fragmentos foliares de 0,5cm foram desinfestados com álcool 70% e hipoclorito de sódio 1% por 1 minuto, lavados em água destilada e esterilizada e secos em papel de filtro esterilizado. Foram transferidos para placa de Petri com meio MEA 2% e incubados em câmara de crescimento a 23±2°C e fotoperíodo de 12 horas, avaliando-se, ao sexto dia após a inoculação, a presença de *Colletotrichum*.

4.4 Avaliação da incidência

Para ambos os ensaios, a incidência da doença foi obtida a partir do número total de fragmentos dos folíolos colonizados por *Colletotrichum* e o número total de fragmentos avaliados, aplicando a equação:

$$I(\%) = (NFC / NTF) \times 100$$

I(%)= Incidência em porcentagem;

NFC= Número total de fragmentos colonizados;

NTF= Número total de fragmentos avaliados.

4.5 Análise estatística

Com os dados de incidência da doença em cada variável, utilizou-se programa estatístico SISVAR 4.3 para os cálculos análises de variâncias. Para verificação da normalidade e homogeneidade de variâncias utilizou-se o programa “Statistical Analysis System” (SAS) do SAS Institute, licenciado para departamento de Ciências Exatas da UFLA. Para a comparação de médias utilizou-se o teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05\%$).

Dados obtidos da variável do 2º e 3º pares de folhas verdadeiras, no item 4.2.4, foram analisadas com estatística não paramétrica.

Os dados de incidência no ensaio de inoculação em discos autocolantes foram transformados em $\sqrt{X+0,5}$, uma vez que não tiveram distribuição normal e homogeneidade da variância do erro experimental indicado pelos testes de Shapiro & Wilk e teste F máximo, respectivamente.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1- Atomização

No ensaio, com inoculação por atomização, observou-se a colonização sistêmica (endofítica) do fungo, sendo esta de forma lenta. No progresso de crescimento das plântulas de café, observou-se maior colonização do fungo em folhas cotiledonares, seguidas pelo 1°, 2° e 3° pares de folhas verdadeiras, com média de 65,48%, 20,92%, 15,48% e 6,0%, respectivamente (Figuras 1 e 2). Esta informação permite inferir que este patógeno coloniza de forma sistêmica os tecidos das plântulas. Para este caso, o fungo penetrou no hipocótilo, dado que no momento da inoculação não havia folha alguma.

Entre os isolados de *Colletotrichum* não houve diferenças significativas, na testemunha não ocorreu colonização, a incidência do fungo foi nula.

Nas folhas cotiledonares, observaram-se vários níveis de incidência de *Colletotrichum*. As cultivares Catucaí Vermelho e Amarelo (MM), provenientes de plantas com sintomas de mancha manteigosa, foram as mais suscetíveis com 97,22% e 94,44%, respectivamente. Já as cultivares Rubi e Catucaí foram as mais tolerantes, com percentuais de 50,9% e 52,7%, respectivamente (Figura 1A). No 1°, 2° e 3° par de folhas verdadeiras observaram-se menores índices de incidência do fungo, porém as cultivares Catucaí vermelho e Amarelo, provenientes de plantas com sintomas de mancha manteigosa, continuavam como as mais suscetíveis (Figura 1B e Figura 2).

No 3° par de folhas verdadeiras observaram-se baixos percentuais de incidência do fungo. Os cultivares Catucaí Vermelho e Amarelo (MM) tiveram médias de incidência de 10,18% e 16,66%, respectivamente. As cultivares Rubi e Catucaí, tiveram incidência média de 2,2%, respectivamente. Resultado semelhante foi encontrado por Orozco (2003), o qual observou que o fungo *Colletotrichum* spp. concentrava-se em maior proporção em folhas

cotiledonares, comparadas às folhas verdadeiras, e colonizava de forma sistêmica os tecidos das plântulas. Ferreira et al. (2003) estudando a incidência de *Colletotrichum* nos diferentes órgãos de plântulas assintomáticas de café, observaram maior colonização de *Colletotrichum* em hipocótilo, seguida de folhas cotiledonares.

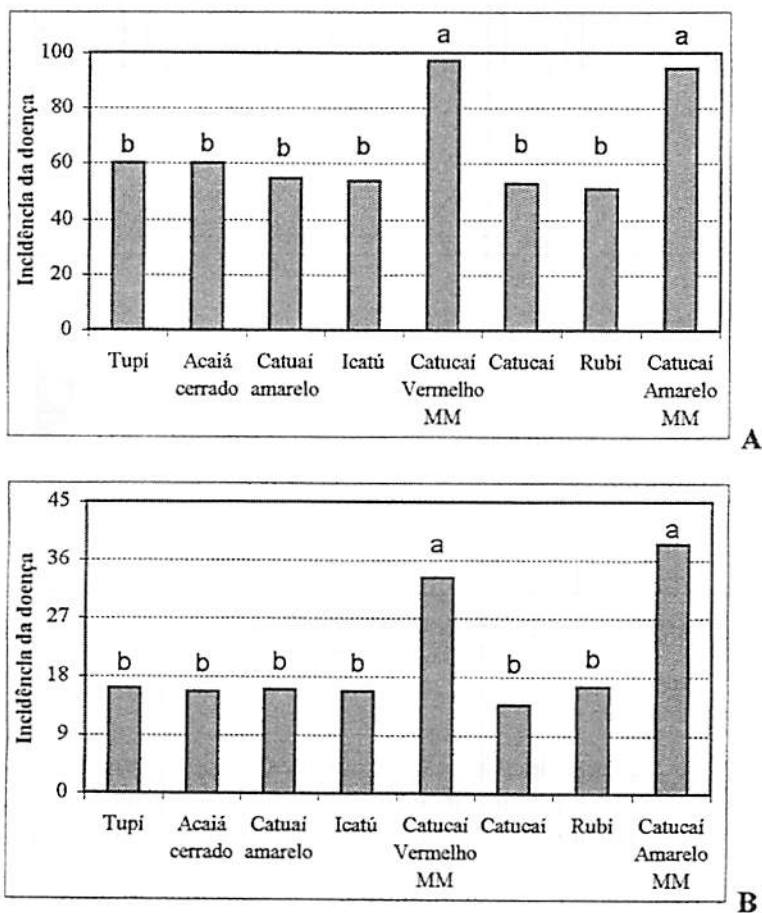
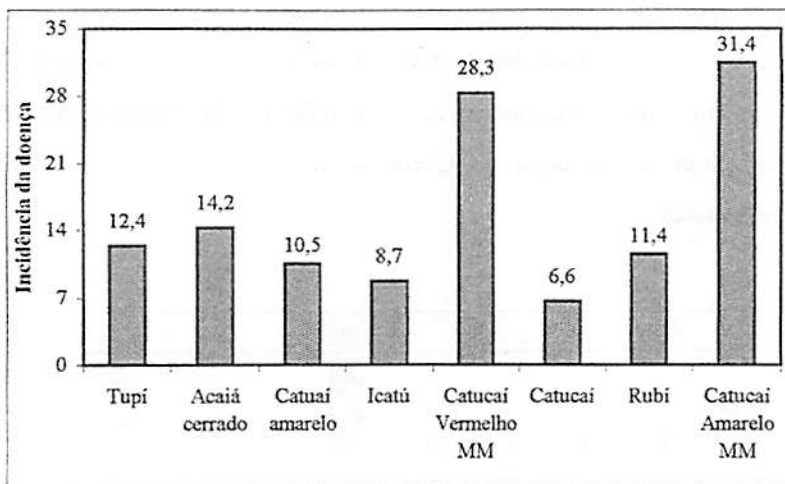
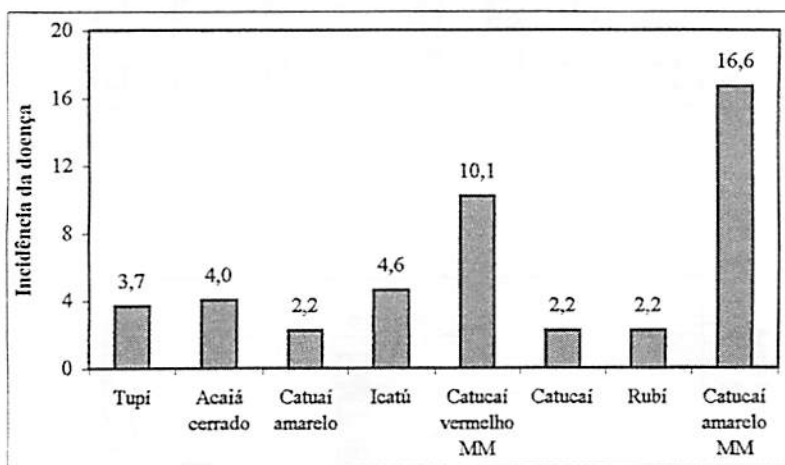


FIGURA 1- Avaliação de colonização de *C.gloeosporioides* em 8 cultivares de café inoculadas no estágio palito de fósforo com pulverização: (A) Folhas cotiledonares; (B) 1º par de folhas verdadeiras. Médias seguidas de mesma letra, não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ($p \leq 0,05$) CV(A)=32,8% CV(B)=46,65% UFLA/2003.



A



B

FIGURA 2- Histograma de avaliação de colonização de *C. gloeosporioides* em 8 cultivares de café inoculados no estágio palito de fósforo com pulverização: (A) 2º par folhas verdadeiras; (B) 3º par de folhas verdadeiras.

5.2 Discos autocolante

No ensaio de inoculação em disco verificou-se colonização endofítica do fungo nos tecidos, com direção ascendente aos novos folíolos, fato verificado aos 90 dias após a inoculação (Tabela 1). Comportamento semelhante, usando metodologia convencional, foi observado por Orozco (2003), em plântulas de café com *Colletotrichum* spp. Talamini et al. (2001) observaram o mesmo comportamento em *Colletotrichum truncatum* e Bergstrom & Nicholson (1999), em *C. graminicola*.

Na análise de variância da incidência da doença, houve diferença significativa entre cultivares (CV), folhas avaliadas (F), dias após a inoculação épocas (E), as interações CV x F, E x F. Para os isolados não foi observado efeito significativo entre eles. Na testemunha não ocorreu incidência do fungo.

Com relação às cultivares, a mais suscetível foi Catucaí Vermelho com 18,33%. Catucaí Amarelo e Acaiaí Cerrado foram as mais tolerantes, com 12,21% e 14,51%, respectivamente (Figura 3). Nas interações cultivares x folhas observaram-se diferentes comportamentos de incidência. Nas folhas inoculadas a cultivar Catucaí Vermelho teve índice de incidência de 38,72%, estatisticamente superior às cultivares Catucaí Amarelo e Acaiaí Cerrado. Nas folhas inferiores e superiores, tendo como ponto de referência a folha inoculada, não houve diferenças significativas entre os cultivares (Tabela 2).

Na interação épocas x folhas, observou-se a maior incidência de *C. gloeosporioides* nas folhas inoculadas em todas as épocas. Aos 90 dias após a inoculação, verificou-se maior colonização do fungo nos pares de folhas superiores (acima do par inoculado) em comparação com os pares de folhas inferiores (abaixo do par inoculado). Esta informação permite inferir que este patógeno possui colonização endofítica, todavia de forma lenta e ascendente em

direção aos novos tecidos. O fungo permaneceu em constante associação com o seu hospedeiro.

Observou-se que quanto maior for o tempo após a inoculação, maior será a colonização dos tecidos e maior o índice de incidência da doença (Figura 4).

TABELA 1- Estudo da colonização de *C. gloeosporioides* em folhas de café em função do tempo após a inoculação, medida por meio da incidência da doença UFLA/2004.

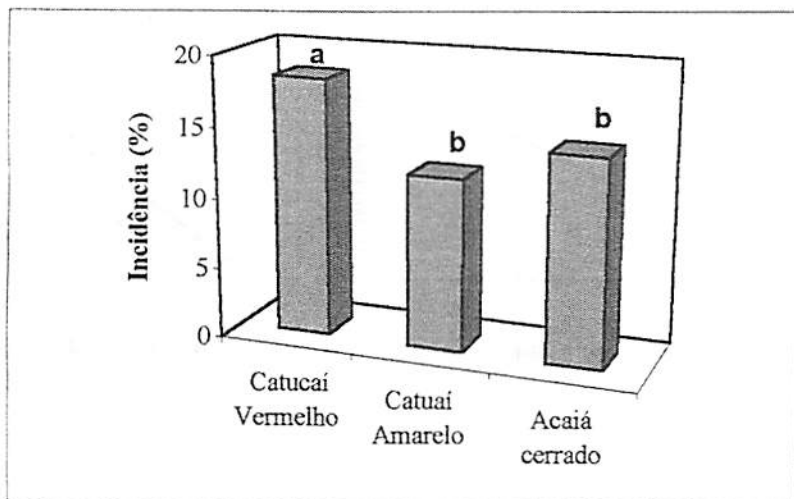
Folhas	Épocas		
	30	60	90
Inoculada	23,22 a	13,83 a	51,50 a
Superior	3,00 b	5,64 b	21,18 b
Inferior	1,62 b	5,86 b	9,31 c

Médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade. CV=10,25%.

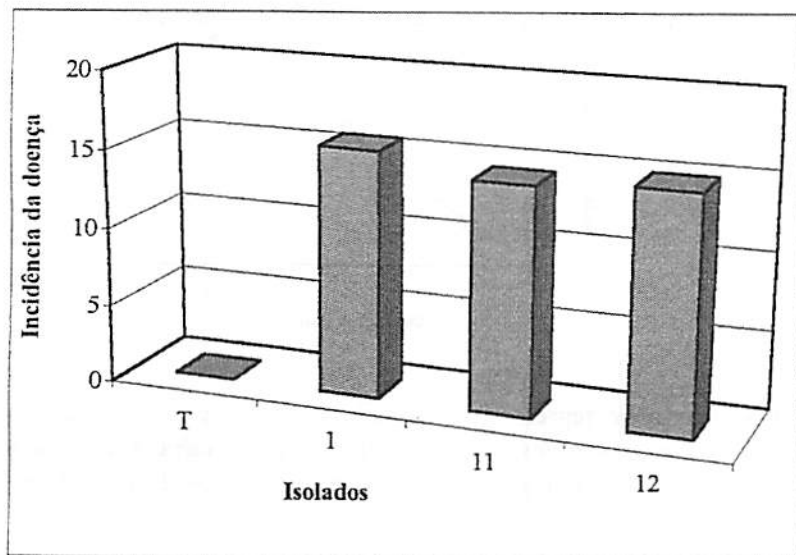
TABELA 2- Estudo da colonização de *C. gloeosporioides* em três cultivares de café em pares de folhas inoculadas, inferior e superior, medidos por meio da incidência da doença UFLA/2004.

Cultivares	Folhas		
	Inoculada	Inferior	Superior
Catucaí Vermelho	38,72 a A	6,41 a B	9,86 a B
Catuai Amarelo	23,52 b A	3,52 a B	9,58 a B
Acaia Cerrado	26,30 b A	6,85 a B	10,39 a B

Médias seguidas pela mesma letra minúsculas nas colunas e maiúsculas nas linhas, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5 % de probabilidade. CV=10,25%.



A



B

FIGURA 3- Análise da incidência de *Colletotrichum gloeosporioides* a partir de inoculações em discos autocolantes: (A) cultivares; (B) isolados. UFLA, Lavras, MG, 2004. CV=10,25%.

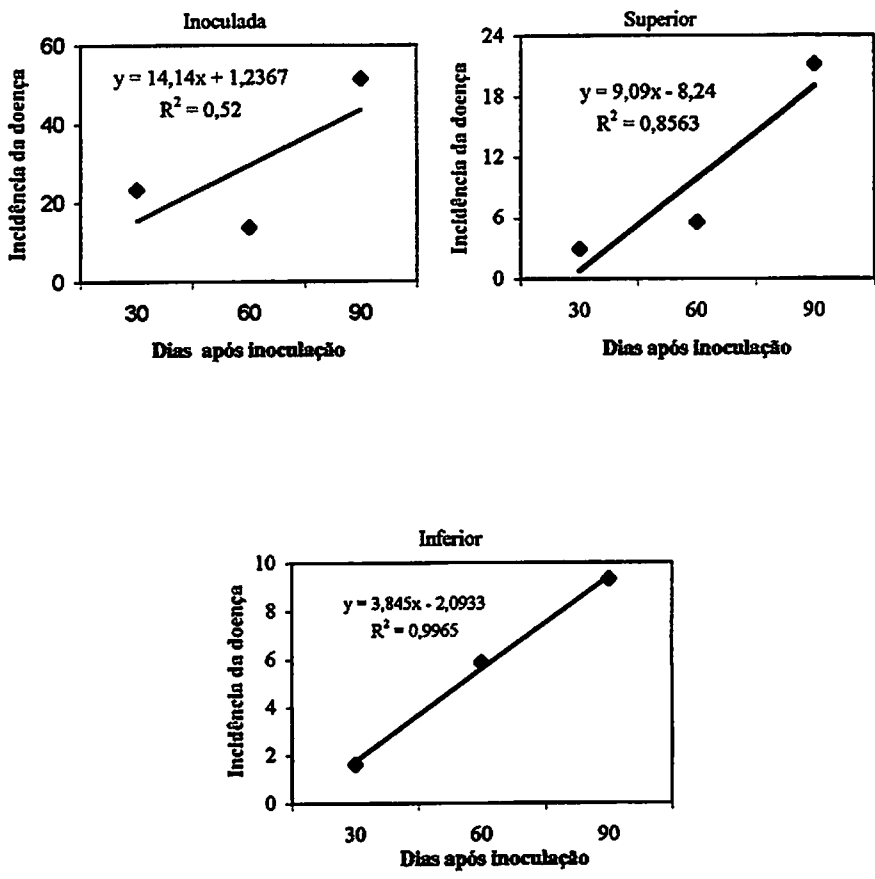


FIGURA 4- Curva de regressão para efeito da colonização de *Colletotrichum gloeosporioides* medido a partir da incidência em pares folhas inoculada, par inferior e par superior, UFLA, Lavras, MG, 2004.

6 CONCLUSÕES

A partir de um ponto de entrada do patógeno, este coloniza as plântulas de forma sistêmica (endofítica), todavia de forma lenta e ascendente em direção aos novos tecidos.

Plântulas formadas a partir de sementes, provenientes de plantas com sintomas de mancha manteigosa, são mais suscetíveis a *Colletotrichum gloeosporioides* (agente da mancha manteigosa).

Verificou-se que a colonização sistêmica de *C. gloeosporioides* associado ao cafeeiro é diretamente proporcional ao tempo de inoculação.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, M. S de. Resistência horizontal a *Hemileia vastatrix* Berk. & Br. em cafeeiros descendentes do híbrido de Timor. 1988. 68 p. Tese (Doutorando em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- BERGSTON, G. C.; NICHOLSON, R. L. The biology of corn anthracnose. *Plant Disease*, St. Paul, v. 83, n. 7, p. 596-608, July 1999.
- DIAS, M. D. Caracterização morfológica, bioquímica e patogênica de isolados de *Colletotrichum* spp. em *Coffea arabica* L. 2002. 64 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- DORIZZOTTO, A. Caracterização morfológica e patogenicidade de *Colletotrichum* sp associados a cafeeiros (*Coffea arabica* L.) em dois municípios de Minas Gerais. 1993. 67 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- FERREIRA, J. B.; MARQUES, D. C.; PEREIRA, I. S.; ABREU, M. S. Estudo da incidência de *colletotrichum* spp. nos estágios de formação do fruto de diferentes cultivares de *Coffea Arabica* L. In: CONGRESSO DE PÓS GRADUAÇÃO, 12., 2003, Lavras, MG. Resumos... Lavras: UFLA/APG, 2003.
- NECHET, K. de L. Caracterização biológica e isoenzimática de isolados de *Colletotrichum* sp. em cafeeiro (*Coffea arabica* L.). 1999. 73 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- NECHET, K. L.; ABREU, M. S. Caracterização morfológica e testes de patogenicidade de isolados de *Colletotrichum* sp. obtidos de cafeeiro. *Ciência e Tecnologia*, Lavras, v.26, n.6, p.1135-1142, nov./dez. 2002.
- OROZCO MIRANDA, E. F. Caracterização morfológica, molecular, bioquímica e patogênica de isolados de *Colletotrichum* spp. associados ao cafeeiro em Minas Gerais e Comparação com *Colletotrichum kahawae*. 2003. 147 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- OROZCO MIRANDA, E. F.; PIGOZZO, P.; PEREIRA I. S.; ABREU, M. S. Estudo das relações compatíveis e incompatíveis de *Colletotrichum* spp. x cafeeiro. In: CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO, 11., 2002, Lavras, MG. Resumos... Lavras: UFLA/APG, 2002.

PARESQUI, L.; ZAMBOLIM, L.; COSTA, H.; SAKIYAMA, C. H.; BATISTA, U. G. Evidências da latência e associação endofítica de *Colletotrichum* sp. em tecidos de *Coffea arabica* L. In: SIMPÓSIO DE PESQUISAS DOS CAFÉS DO BRASIL, 3., 2003, Porto Seguro. Anais... Porto Seguro-BA, 2003. p. 200.

TALAMINI, V.; POZZA, E. A.; MACHADO, J.; OLIVEIRA, F. A. Epidemiologia de doenças associadas a *Colletotrichum* spp. transmitidas por sementes. Revisão Anual de Patologia de Plantas, Passo Fundo, v. 2, p. 219-248, 2001.

Van der VOSSEN, H. A. M.; KOOK, R. T. A.; MURAKARU, G. N. W. Breeding for resistance to coffee berry disease caused by *Colletotrichum coffeanum* Noak (Sensu Hindorf) in *Coffea arabica* L. I. Methods of preselection for resistance. Kenya Coffea, Nairobi, v. 42, n. 493, p. 133-144, 1977.

VARZEA, V. M. P. Variabilidade em *Colletotrichum* spp. de cafeeiro. Pesquisa de fontes de resistência ao *C. kahawae*. 1995. 128 p. Dissertação (Investigador auxiliar) – Instituto de Investigação Científica Tropical, Lisboa, Portugal.

CAPÍTULO 5

FERREIRA, Josimar Batista. Incidência da mancha manteigosa (*Colletotrichum gloeosporioides*) em ovários de flores de cafeeiros. In: — Flutuação sazonal e associação de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. a diferentes órgãos e tecidos de cafeeiros (*Coffea arabica* L) 2004. p.74-88. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.*

1 RESUMO

Entre os patógenos que afetam o cafeeiro têm-se destacado diferentes espécies do gênero *Colletotrichum*. Neste contexto, destaca-se a mancha manteigosa (*Colletotrichum gloeosporioides* agente mancha manteigosa), pois a doença afeta diretamente a produtividade. Objetivou-se, neste estudo, verificar a incidência de *Colletotrichum gloeosporioides* em ovários de flores recém-fecundadas, em plantas com e sem sintomas da mancha manteigosa. Como área experimental utilizou-se a cultivar Catucaí Vermelho IAC 99, localizada no campus da Universidade Federal de Lavras-UFLA. Neste período de acompanhamento verificou-se que, naquelas plantas com sintomas de mancha manteigosa apresentavam declínio, com internódios curtos, as plantas floresceram mas não ocorreu a total fecundação; as que fecundaram propiciaram baixos percentuais de chumbinho, e a partir do momento em que estes frutos começaram a se desenvolver ocorria a mumificação. Plantas recepadas tiveram suas brotações atrofiadas, e à medida que emitiam novas brotações, surgiam também sintomas da doença. Com relação à colonização nos ovários, observou-se que as plantas com sintomas de mancha manteigosa foram mais suscetíveis ao *Colletotrichum*, com média de 27,91%, enquanto as plantas sem sintomas tiveram média de 5,83%. Os agentes fúngicos de maior incidência foram *Colletotrichum gloeosporioides*, *Cladosporium* sp. e *Fusarium* sp. Nas plantas com sintomas, houve maior incidência de *Colletotrichum gloeosporioides*, seguidos por *Cladosporium* sp. e *Fusarium* sp. e nas plantas sem sintomas, a maior incidência foi de *Cladosporium* sp. seguidos por *Colletotrichum gloeosporioides* e *Fusarium* sp. Conclui-se que este patógeno possui colonização sistêmica e o uso de recepas não contribui para a eliminação do mesmo.

*Comitê de Orientação: Mario Sobral de Abreu - UFLA (Orientador)
Edson Ampélio Pozza - UFLA (Co-orientador)

2 ABSTRACT

FERREIRA, Josimar Batista. Incidence of blister spot (*Colletotrichum gloeosporioides*) in ovaries of coffee trees flowers. In: — Seasonal flotation and association of *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. to different organs and tissues of coffee tree (*Coffea arabica* L.) 2004. p.74-88. Dissertation (Master in Plant Pathology) Universidade Federal de Lavras, Lavras.*

Among the pathogens that affect the coffee tree, different species of *Colletotrichum* are very important. In this context, blister spot, caused by *Colletotrichum gloeosporioides*, one of those disease that affects directly the productivity. The objective of this study was to verify the incidence of *C. gloeosporioides* in ovaries of recently fecundated flowers in plants with and without symptoms of blister spot. The work was conducted, using the cultivar Catucaí Vermelho IAC-99, in the experimental farm of Universidade Federal de Lavras-UFLA, Brazil. During this monitoring period it was verified that those plants with blister spot symptoms presented decline, with short internodes. Although most of the plants produced flowers, the ones that became fertile showed low percentage of young fruits 'chumbinho', and mummification occurred at the moment that those fruits started their development. Pruned plants presented their sprouts stunted, and as they produce new sprouts, disease symptoms were also observed appeared. In relation to ovary colonization, it was observed that plants with symptoms of blister spot were more susceptible to *C. gloeosporioides*, with a mean incidence of 27.91%, whereas plants without symptoms had 5.83% incidence. The fungal agents of higher incidence in this work were *C. gloeosporioides*, *Cladosporium* sp. and *Fusarium* sp. In the plants with symptoms, *C. gloeosporioides* had a higher incidence followed by *Cladosporium* sp. and *Fusarium* sp. and in the plants without symptoms the highest incidence was to *Cladosporium* sp. followed by *C. gloeosporioides*, and *Fusarium* sp. It was concluded that *C. gloeosporioides* colonizes in the systemic way the coffee tree and the practise of pruning doesn't eliminate the pathogen.

* Advising Committee: Mario Sobral de Abreu - UFLA (Adviser)
Edson Ampélio Pozza - UFLA (Co-adviser)

3 INTRODUÇÃO

Um dos grandes problemas que vêm surgindo em nossas lavouras de café é a mancha manteigosa, doença que causa declínio e morte das plantas, ocasionando acentuada redução na produção. Os sintomas observados são: manchas de cor verde clara com aspecto oleoso; no estágio avançado as manchas apresentam-se deprimidas e necróticas; por fim as folhas coalescem, causando queda prematura de folhas e seca de ponteiros. Ataques intensos são observados em folhas e ramos novos em plantas adultas, ocorrendo seca e necrose dos ramos na parte apical, podendo levar à morte das plantas (Mansk & Matiello, 1977; Vargas et al., 1972; Costa et al., 2003; Almeida et al., 1979).

Nos últimos anos tem sido observado ataque severo da doença, ocasionando perdas de produções, devido à não fecundação da flor e à mumificações dos frutos.

No Brasil, o primeiro relato da mancha manteigosa deve-se a Bitancourt (1958), no Estado de São Paulo que a denominou como “mancha de óleo ou pinta redonda clara”. Em 1977, no Estado do Espírito Santo, Mansk & Matiello detectaram a ocorrência da doença em clones de conilon. Em Minas Gerais esta doença foi constatada em abril de 1990, por Dorizzoto & Abreu (1993a), no município de Cristais-MG, causando quedas de folhas, seca de ramos e morte das plantas em café arábica.

Objetivou-se, neste trabalho, verificar a incidência de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente causal da mancha manteigosa, em ovários de flores recém-fecundadas de plantas com e sem sintomas da doença.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi conduzido no Laboratório Diagnose e Controle de Enfermidades Fúngicas em Plantas da Universidade Federal de Lavras - UFLA.

4.1 Unidade experimental

Como área experimental utilizou-se a cultivar Catucaí Vermelho IAC99, localizada no campus da UFLA, com aproximadamente 0,5ha, com espaçamento de 4,0 x 0,8m e 6 anos de idade.

Nesta área há uma grande população de plantas que expressam sintomas de mancha manteigosa. Nestas plantas foram realizados monitoramentos sintomatológicos, no período de 1 ano, tanto em plantas submetidas e não submetidas à recepa.

4.2 Estudo da incidência *Colletotrichum* em ovários de flores recém fecundadas

Em plantas não recepadas foram realizadas amostragens de ovários em plantas com sintomas e sem sintomas de mancha manteigosa. Realizaram-se cortes de ramos doentes e sadios com flores abertas em fase de murchamento de pétalas, sendo selecionados, no laboratório, os ovários para os cortes. A parte superior dos ovários (cicatriz do fruto) foi descartada. Todos os fragmentos foram desinfestados com álcool 70% por 30 segundos e hipoclorito de sódio a 1% por 50 segundos, lavados em água destilada e esterilizada, secos em papel filtro esterilizado, posteriormente plaqueados em meio MEA 2% mais estreptomomicina e incubados em câmara de crescimento a $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas, avaliando-se, ao sexto dia após a inoculação, a presença de agentes fúngicos.

4.3 Avaliações da incidência fúngica

Foram realizadas avaliações ao sexto dia após a inoculação em meio de cultura. Todos os agentes fúngicos com crescimento micelial foram identificados quanto ao gêneros. Para classificação dos gêneros utilizaram-se características morfológicas das colônias.

A incidência dos agentes fúngicos foi obtida a partir da soma do número total de ocorrência de tal agente fúngico pelo número total de fragmentos de ovários, aplicando a equação:

$$I(\%) = (NAF / NTF) \times 100$$

I(%)= Incidência em porcentagem;

NAF= Número de total da ocorrência de tal agente fúngico;

NTF= Número total de fragmentos.

4.4 Delineamento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com seis repetições. Estudaram-se plantas com sintomas e sem sintomas de mancha manteigosa. Foram plaqueados oito fragmentos por placa e cada 40 fragmentos constituiu uma repetição, totalizando 240 ovários por tratamentos.

4.5 Análise estatística

Com os dados de incidência de *Colletotrichum gloeosporioides* em ovários de flor recém-fecundada do cafeeiro, utilizou-se o programa SISVAR 4.3 para análises de variâncias. Para comparação múltiplas das médias, utilizou-se o teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05\%$).

Com relação à incidência dos outros agentes fúngicos nos ovários da flor do cafeeiro foram realizadas análises descritivas.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1- Observações no campo

Neste período de monitoramento no campo, verificou-se que as plantas com sintomas de mancha manteigosa apresentaram comportamentos fisiológicos diferentes, quando comparadas com as sem sintomas. Observou-se declínio das plantas e encurtamento de ramos. As plantas floresceram mas não ocorreu a total fecundação; as que fecundaram resultaram em baixos percentuais de chumbinho e, a partir do momento em que estes frutos começaram a se desenvolver, ocorria a mumificação. Como consequência, na safra de 2002/2003, não houve produção.

Nas plantas recepadas, à medida que eram emitidas novas brotações, juntamente surgiam também sintomas de mancha manteigosa. Estas brotações eram totalmente debilitadas, apresentavam crescimento lento e em pouco tempo ocorreria necrose e seca dos ramos. As plantas, como resposta de sobrevivência, emitiam novas brotações. Conclui-se que, em lavouras com sintoma de mancha manteigosa, recepas não colaboram com a eliminação deste patógeno. Este comportamento já foi observado em campo por Orozco (2003). O patógeno coloniza o sistema vascular mesmo sem expressão dos sintomas, dificultando o uso de táticas de controle. O uso de aplicações de fungicidas de contacto pode ter pouco sucesso e os sistêmicos devem ser previamente testados para possíveis recomendações.

Em lavouras cafeeiras com altos índices da doença verificou-se perda total da produção. Esta afirmação é concordante com observações de Orozco et al. (2002a); Dorizzotto (1993) e Costa et al. (2003). A disseminação da doença a campo é lenta, sendo constatado que tal patógeno é transmitido pela semente (Orozco et al, 2002b; Orozco, 2003). Este fato evoca o seguinte questionamento:

será que esta disseminação lenta no campo não é ocasionada por sementes, já que estas são utilizadas na formação de novas lavouras, e em certas ocasiões de estresse da planta, podem vir a expressar os sintomas da doença. Observações ao campo têm demonstrado que a sintomatologia só aparece em cafezais adultos, por volta de quatro anos de idade.

Nas pesquisas, um dos problemas neste patossistema é a reprodutibilidade típica dos sintomas (mancha de óleo), o que tem sido observado é necrose e mortes de hipocótilos de café.

Nas figuras 2 (A, B, C, D, E, F), nota-se a agressividade da mancha manteigosa no campo. Os sintomas mais críticos e prejudiciais para o cafeeiro são aqueles em que o fungo incide sobre gemas, flores e chumbinho, provocando mumificações e queda; em ramos ocorre escurecimento e queda de folhas. Esta informação é concordante com as observações de Costa et al. (2003) e Paradella Filho et al. (2001).

5.2- Incidência de *C. gloeosporioides* em ovários de flores recém-fecundadas

Neste estudo, plantas com sintomas de mancha manteigosa foram as mais suscetíveis ao *Colletotrichum*. Os ovários provenientes de sintomas de mancha manteigosa tiveram média de 27,91% de incidência do fungo, enquanto os ovários de plantas sem sintomas obtiveram média de 5,83% (Figura 1).

Orozco (2003) e Orozco et al. (2002b) realizaram trabalhos com sementes de plantas com sintomas e sem sintomas de mancha manteigosa, observando maior incidência do fungo em sementes provenientes de plantas com sintomas mancha manteigosa, e em testes de patogenicidade obtiveram também, maior suscetibilidade do patógeno quando utilizaram sementes de plantas com mancha manteigosa.

O estudo da incidência de *Colletotrichum* em ovários é importante, pois nos dá uma visão do potencial da transmissão deste fungo pela semente.

Verificou-se que plantas recepadas, à medida que emitiam novas brotações, juntamente surgiam também sintomas de mancha manteigosa, conclui-se que *C. gloeosporioides*, agente mancha manteigosa, coloniza sistemicamente todos os órgãos das plantas.

Ferreira et al. (2003) observaram que todos os estádios do fruto do cafeeiro estavam com altos índices de *Colletotrichum* spp. Orozco et al. (2002b) concluíram que a mancha manteigosa é transmitida pela semente. Estes resultados vêm subsidiar a hipótese de que *Colletotrichum gloeosporioides*, agente mancha manteigosa, é patogênico, possui colonização sistêmica (endofítica) e, quando do estresse da planta, expressam sinais da doença.

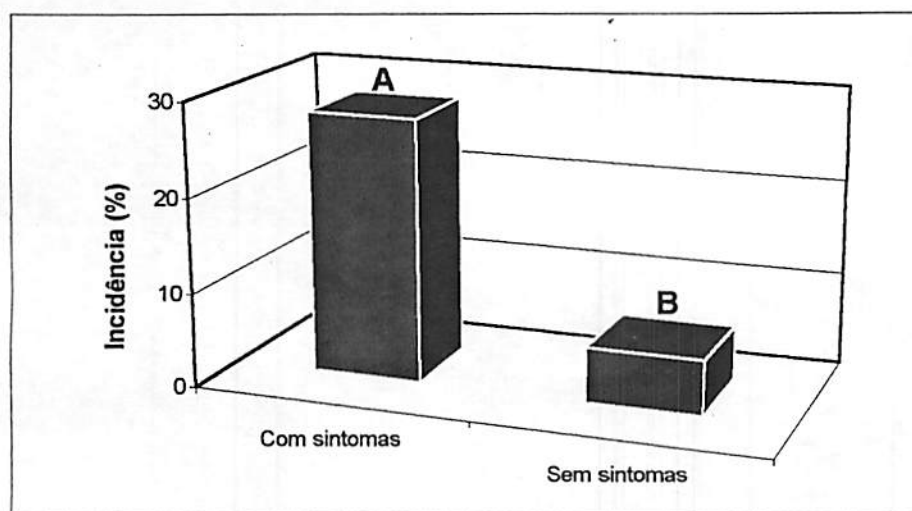


FIGURA 1- Incidência de *Colletotrichum gloeosporioides* em ovários da flor recém-fecundada de cafeeiro, em plantas com sintomas e sem sintomas de mancha manteigosa. Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ($p \leq 0,05$). UFLA, Lavras, MG, 2004. CV= 39,8%.

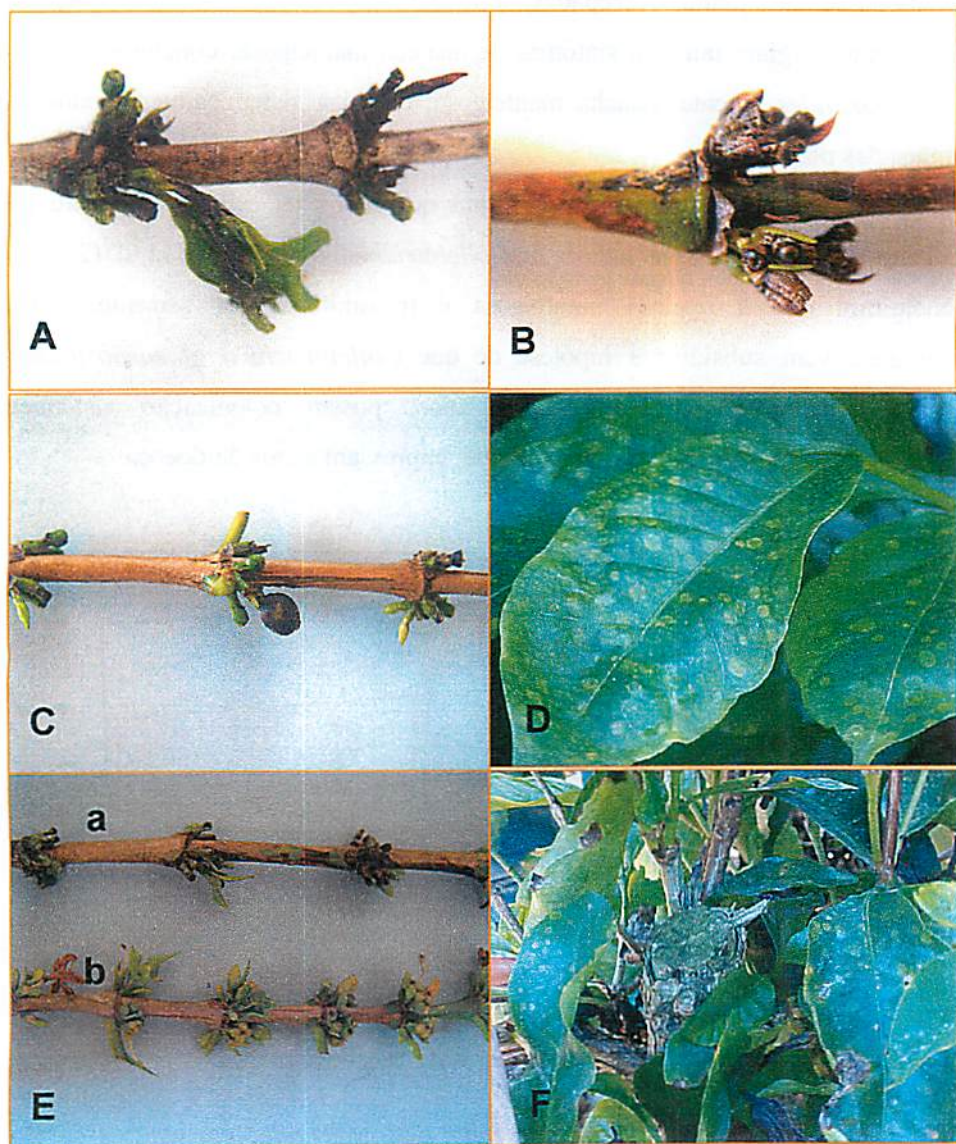


FIGURA 2-(A B C D E F) – Sintomas de Mancha Manteigosa no campo: (A) Ataque de *C. gloeosporioides* em chumbinho e folíolo do cafeeiro; (B) Ataque severo de *C. gloeosporioides* em flores do cafeeiro; (C) Mumificação de fruto; (D) Sintomas característicos de mancha manteigosa na folha (aspecto oleoso); (E) distúrbio fisiológico ocasionado pelo ataque da mancha manteigosa (a) ramo doente (b) ramo sadio; (F) recepa de plantas e novamente sintoma mancha manteigosa.

5.3 – Estudo da colonização fúngica em ovários de flores recém-fecundadas de plantas com sintomas e sem sintomas de mancha manteigosa

Observou-se colonização endofítica de agentes fúngicos nos ovários do cafeeiro. Os agentes fúngicos de maior incidência foram *Colletotrichum* sp., *Cladosporium* sp. e *Fusarium* sp. (Figura 3).

Almeida et al. (2002) estudaram a microbiota endofítica presente em folhas e hastes do cafeeiro, sendo encontradas duas espécies de *Colletotrichum*, além de outros patógenos como *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp. e *Phoma* sp.

No mesmo seguimento, vários autores já observaram colonização endofítica de fungo associado ao cafeeiro como *Phoma* sp., *Bipolares* sp., *Fusicoccum* sp., *Cladosporium* sp., *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Phomopsis* sp., *Fusarium* sp. e *Colletotrichum* sp. entre outros (Roldão, 2002; Orozco et al., 2002a,b; Paresqui et al., 2003).

Observou-se número bem expressivo de *Cladosporium* sp. associado aos fragmentos de ovários de flores recém-fecundadas, observado tanto em plantas com sintomas e sem sintomas de mancha manteigosa com percentuais de 44% e 21%, respectivamente (Figura 3). Estes números parecem estar de acordo com alguns autores que relatam o efeito benéfico do *Cladosporium* sp. como um agente de controle natural dos agentes fúngicos associados ao cafeeiro (Pereira et al., 2002; Alves, 1996).

Meirelles (1990), em estudos da incidência de microrganismos em grãos de café para verificar a sua influência na qualidade de bebida, constatou que bebidas classificadas nos padrões (mole e dura) tinham incidências de *Cladosporium* sp. de 21,88% e 22,00%, respectivamente, enquanto a bebida nos padrões (rio e riada), teve incidências nulas de *Cladosporium* sp. Alves (1996) verificou que a presença de *Cladosporium* sp. mostrou-se correlacionada com os cafés de melhor qualidade, bebida de padrões (mole e duro).

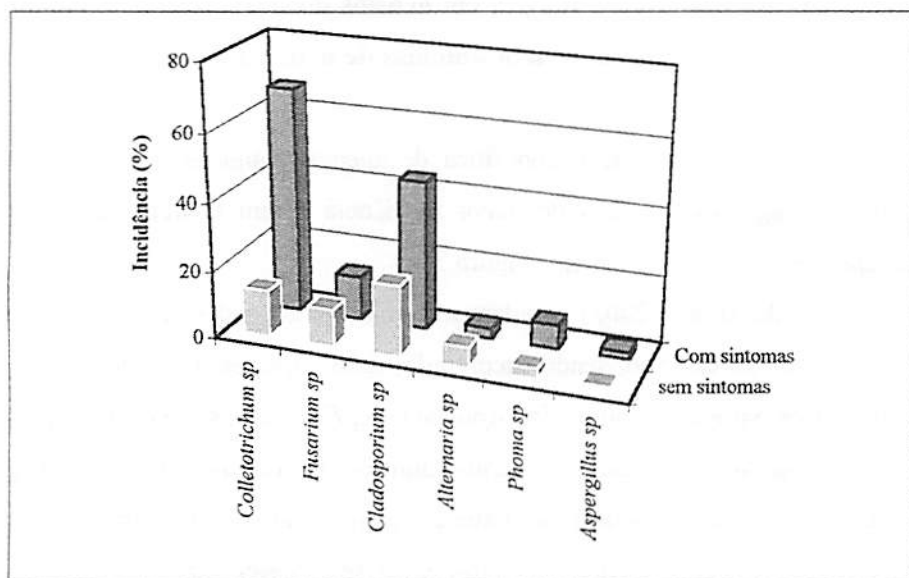


FIGURA 3- Incidência de agentes fúngicos colonizando ovários de flores recém-fecundadas de cafeeiros em plantas com sintomas e sem sintomas de mancha manteigosa, UFLA, Lavras, MG, 2004.

As plantas com sintomas tiveram maior incidência de *Colletotrichum sp.*, seguidos por *Cladosporium sp.* e *Fusarium sp.* e nas plantas sem sintomas, a maior incidência foi de *Cladosporium sp.* seguidos por *Colletotrichum sp.* e *Fusarium sp.*

6 CONCLUSÕES

Verificaram-se altos índices de *Colletotrichum gloeosporioides* em ovários de flores recém-fecundadas de plantas com sintomas de mancha manteigosa.

Plantas com sintomas de mancha manteigosa são mais suscetíveis a outros agentes fúngicos.

Sintomas severos da doença são observados em gemas apicais, flores e frutos em todos estádios de formação, ocasionando queda e/ou mumificação.

O uso de recepas não contribui para a eliminação do patógeno.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, A. R.; SALGADO, M.; PFENNING, L. H.; LIMA, C. S.; CHAVES, Z. M. Fungos endofíticos de folhas e haste de café (*Coffea arabica*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 28., 2002, Caxambu-MG. Anais... Caxambu, 2002. p. 432.

ALMEIDA, S. R.; MANSK, Z.; MATIELLO, J. B.; MULLER, R. A. Observações preliminares sobre queda de frutos sob suspeita de ataque por *Colletotrichum* sp. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 7., 1979, Araxá-MG. Resumos... Araxá: IBC/GERCA, 1979. p. 323-326.

ALVES, E. População fúngica associada ao café (*Coffea arabica* L.) beneficiado e às fases pré e pós colheita-Relação com a bebida e local de cultivo. 1996. 49 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

BITANCOURT, A. A. As manchas da folha do cafeeiro. *O Biológico*, São Paulo, v. 24, n.10, p. 191-201, out. 1958.

COSTA, H.; VENTURA, J. A.; FERRÃO, M. A. Mancha manteigosa em café arábica na região serrana do Estado do Espírito Santo. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 3., 2003, Porto Seguro-BA Anais... Porto Seguro, 2003. p. 206.

DORIZZOTTO, A. Caracterização morfológica e patogenicidade de *Colletotrichum* sp associados a cafeeiros (*Coffea arabica* L.) em dois municípios de Minas Gerais. 1993. 67 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

FERREIRA, J. B.; MARQUES, D. C.; PEREIRA, I. S.; ABREU, M. S. Estudo da incidência de *colletotrichum* spp. nos estágios de formação do fruto de diferentes cultivares de *Coffea Arabica* L. In: CONGRESSO DE PÓS GRADUAÇÃO, 12., 2003, Lavras, MG. Resumos... Lavras: UFLA-APG, 2003.

MANSK, Z.; MATIELLO, J. B. Ocorrência de mancha manteigosa em café "Conilon" (*Coffea canephora*, Pierre) no Estado do Espírito Santo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 5., 1977, Guarapari, Espírito Santo. Resumos... Guarapari: IBC/GERCA, 1977. p. 172-173.

MEIRELLES, A. M. A. Ocorrência e controle da microflora associada aos frutos de café (*Coffea arabica* L.) provenientes de diferentes localidades do estado de Minas Gerais. 1990. 71 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

OROZCO MIRANDA, E. F. Caracterização morfológica, molecular, bioquímica e patogênica de isolados de *Colletotrichum* spp. associados ao cafeeiro em Minas Gerais e Comparação com *Colletotrichum kahawae*. 2003. 147 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

OROZCO MIRANDA, E. F.; FREITAS, M.; PIGOZZO, P.; ABREU, M. S. Estudo da transmissão de *Colletotrichum* spp. por sementes de café arábica (*Coffea arabica*). In: CONGRESSO DE PÓS GRADUAÇÃO, 11., 2002, Lavras, MG. Resumos.... Lavras: UFLA/APG, 2002a.

OROZCO MIRANDA, E. F.; FREITAS, M.; PIGOZZO, P.; ABREU, M. S. Incidência de *Colletotrichum* spp. em frutos cereja e sementes de café arábica (*Coffea arabica*) no estado de Minas Gerais. In: CONGRESSO DE PÓS GRADUAÇÃO, 11., 2002, Lavras, MG. Resumos.... Lavras: UFLA/APG, 2002b.

PARADELA FILHO, O.; PARADELA, A. L.; THOMAZIELLO, R. A.; RIBEIRO, I. J. A.; SUGIMORI, M. H.; FAZUOLI, L. C. O complexo *Colletotrichum* do cafeeiro. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, 2001. 11 p. (IAC. Boletim Técnico, n. 191).

PARESQUI, L.; ZAMBOLIM, L.; COSTA, H.; SAKIYAMA, C. H.; BATISTA, U. G. Evidências da latência e associação endofítica de *Colletotrichum* sp. em tecidos de *Coffea arabica* L. In: SIMPÓSIO DE PESQUISAS DOS CAFÉS DO BRASIL, 3., 2003, Porto Seguro. Anais... Porto Seguro-BA, 2003. p. 200.

PEREIRA, R. T. G.; PFENNING, L. H.; CASTRO, H. A. Uso de *Cladosporium cladosporioides* como antagonista de mofo do café. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIRAS, 28., 2002, Caxambu-MG. Anais... Caxambu, 2002. p. 432.

ROLDÃO, G. M. Fungos endofíticos em grãos verdes de café (*Coffea arabica* L.). 2002. 53 p. Tese (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

VARGAS, G. E.; GONZALEZ, U. L. C. La mancha mantecosa del café causada por *Colletotrichum* spp. Turrialba, San José, v. 22, n. 2, p. 129-135, abr./jun. 1972.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O patossistema *Colletotrichum* cafeeiro ainda é pouco explorado no Brasil; pouco se conhece o real efeito deste patógeno sobre a cultura. A literatura nacional, em diversos trabalhos, caracteriza a interação de *Colletotrichum* cafeeiro como agente saprófita. No entanto, em trabalhos recentes, observa-se que é sério o problema em nossas lavouras, principalmente devido aos ataques da mancha manteigosa, pois os danos causados por este agente ocasionam perdas totais na produção. Ataques intensos são observados em folhas e ramos novos, ocorrendo seca e necrose dos ramos na parte apical, podendo levar à morte das plantas. Os danos mais graves são observados em frutos em expansão devido às mumificações e quedas dos mesmos.

A interação *Colletotrichum*-cafeeiro é muito complexa, pois trata-se de espécies de *Colletotrichum* spp. associados aos cafeeiros, colonizando as plantas de forma endofítica ou ocasionando diversos sintomas, como mumificação de frutos, secas de ponteiros, quedas de folhas e flores, entre outros. Nas observações de colonização do fungo, verificou-se que, a partir de um ponto, este coloniza de forma sistêmica, lenta e ascendente em direção aos novos tecidos.

Estudos de incidência de *Colletotrichum* spp. em tecidos assintomáticos permitiram observar a sua incidência em todos os órgãos do cafeeiro: ovários, frutos em expansão e tecidos do fruto. O fungo invade os tecidos colonizando sistemicamente seu hospedeiro.

Um dos problemas neste patossistema é a reprodutibilidade típica dos sintomas da mancha manteigosa; o que tem sido observado é a necrose e a morte de hipocótilos de café.

Após sucessivas repicagens das colônias de *Colletotrichum gloeosporioides* isoladas de sintomas de mancha manteigosa, observa-se

mudança de coloração, fato que precisa ser mais bem estudado, pois uma hipótese é de que o processo de repicagem afetaria a patogenicidade do isolado e este passaria a colonizar as plântulas de forma sistêmica. Diante do exposto, sugere-se utilizar diversas metodologias de inoculação, com isolados novos e que não tenham sofrido repicagens.

Avaliou-se a evolução da doença (área baixo da curva) em folhas de cafeeiros no período de janeiro a agosto de 2003. Observaram-se baixos percentuais de *Colletotrichum*, e que o início da doença está correlacionada com altas precipitações, seguidas de alta umidade relativa do ar. A máxima intensidade de *Colletotrichum* spp. foi observada no mês abril. Este estudo é pioneiro no Brasil, pois até o momento não há nenhum trabalho que caracterize a evolução da doença no campo. Diante do exposto, sugere-se a continuidade deste estudo de forma a englobar o efeito deste patógeno durante vários anos. Nas condições climáticas do experimento, observa-se que o início do período chuvoso acontece a partir de outubro e vai até março, com altas precipitações nos meses de novembro, dezembro e janeiro. Neste estudo, as avaliações iniciaram em janeiro, período em que começa diminuir a intensidade das chuvas.

Das cultivares estudadas, a menor incidência de *C. gloeosporioides* foi na cultivar Icatú e a maior, nas cultivares Topázio e Rubi, para todos os tecidos do fruto. Essa maior resistência da cultivar Icatú ao fungo pode ser bom indício de que algum parental possa servir como fonte de resistência para um futuro trabalho de melhoramento visando resistência a *Colletotrichum*.

Como sugestão para futuras pesquisas no patossistema *Colletotrichum* cafeeiro, já que foram verificadas diferenças entre os cultivares, seria a necessidade de estudar a natureza da resistência dos mesmos.

The first part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions. It emphasizes that every entry, no matter how small, should be recorded to ensure the integrity of the financial data. This includes not only sales and purchases but also expenses and income. The document provides a detailed list of items that should be tracked, such as inventory levels, accounts payable, and accounts receivable. It also outlines the procedures for recording these transactions, including the use of journals and ledgers. The second part of the document focuses on the reconciliation process, which is essential for identifying and correcting errors. It describes how to compare the company's records with bank statements and other external sources to ensure that the numbers match. The document also discusses the importance of regular audits and the role of management in overseeing the financial reporting process. Finally, the document concludes with a summary of the key points and a call to action for the reader to implement the recommended practices.