

Efeito de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, agente etiológico da mancha manteigosa, na germinação e viabilidade de sementes de cafeeiro¹

Hebe Perez de Carvalho^{2*}, Paulo Estevão de Souza², Mário Sobral de Abreu²,
Renato Mendes Guimarães², Maria Laene Moreira de Carvalho²,
Rodrigo de Góes Esperon Reis²

RESUMO - Foi avaliada a influência de *Colletotrichum gloeosporioides* na sanidade, germinação, viabilidade e vigor de sementes de cafeeiro. Sementes das cultivares Catuaí Vermelho, provenientes de plantas com sintomas de mancha manteigosa, e de lavouras sadias de Catuaí Vermelho IAC 44 e Mundo Novo 379-19 foram submetidas a inoculação por *C. gloeosporioides*, pelo contato direto com a colônia do fungo, por 0; 24; 48; 72; 96 e 120 horas. As variáveis analisadas foram sanidade, germinação, índice de velocidade de emergência e viabilidade pelo teste de tetrazólio. Verificou-se aumento da incidência de *C. gloeosporioides* com o do tempo de exposição ao fungo, sendo esta de 26% em Catuaí Vermelho, 21,5% em Catuaí Vermelho IAC-44 (21,5%) e de 11,0% em Mundo Novo IAC 379-19. O fungo afetou a germinação das sementes e o índice de velocidade de emergência das sementes da cultivar Catuaí Vermelho e Catuaí Vermelho IAC 44 a partir de 96 horas de exposição. O efeito de *C. gloeosporioides* na germinação e no estabelecimento de plântulas de cafeeiro é variável, dependendo da cultivar utilizada, da presença do pergaminho e do tempo de exposição ao fungo, mas a viabilidade das sementes decresce com o aumento do tempo de exposição ao fungo.

Termos para indexação: *Coffea arabica*, sanidade, tetrazólio, vigor.

Effect of *Colletotrichum gloeosporioides* Penz agent of blister spot on the germination and seed viability of coffee cultivars

ABSTRACT – The objective of this study was to evaluate the influence of *Colletotrichum gloeosporioides* on the seed health, germination, viability and vigor of different coffee cultivars. Seeds of the Catuaí Vermelho cultivar, with symptoms of blister spot, and of healthy cultivars of Catuaí Vermelho IAC 44 and Mundo Novo 379-19 were inoculated with *C. gloeosporioides*, by direct contact with the fungus colony for 0; 24; 48; 72; 96 and 120 hours. The variables analyzed were: health with the Blotter test, germination, speed of emergence and seed viability by tetrazolium test. There was an increased incidence of *C. gloeosporioides* with increasing exposure to the fungus, with 26.0% in Catuaí Vermelho, 21.5% in Catuaí IAC-44 (21.5%) and 11.0% in Mundo Novo IAC 379-19. *C. gloeosporioides* affected the germination and seed emergence rate of Catuaí Vermelho and Catuaí Vermelho IAC 44 after 96 hours of exposure to the fungus. The effect of *C. gloeosporioides* on coffee germination and seedling establishment varies with cultivar susceptibility, the presence of parchment and time of exposure to the fungus, but viability decreases with increasing exposure time to the fungus.

Index terms: *Coffea arabica*, seed health, tetrazolium, vigor.

¹Submetido em 08/07/2010. Aceito para publicação em 03/01/2012.

²Universidade Federal de Lavras, Caixa Postal 3037, 37200-000 – Lavras, MG

*Autor para correspondência <hebe.carvalho@ifnmg.edu.br>

Introdução

Na implantação da lavoura cafeeira, vários fatores contribuem para o seu sucesso, dentre os quais, a utilização de mudas sadias e bem desenvolvidas é a base de sua sustentação, principalmente por se tratar de uma cultura perene. Desse modo, a produção de mudas e a implantação dos viveiros, sobretudo utilizando-se sementes sadias, deve ser feita de forma criteriosa, pois as mudas com qualidade superior proporcionarão desenvolvimento uniforme da lavoura, melhor produção inicial, maior rendimento por área e maior longevidade das plantas (Meireles et al., 2007).

Os microrganismos presentes na semente além de serem considerados eficientes meios de disseminação de fitopatógenos (Tanaka e Machado, 1985), podem causar sua deterioração, anormalidades, lesões, morte de plântulas em pré e pós-emergência. Alguns microrganismos não se manifestam no início do cultivo (Henning et al., 2011), porém podem causar danos às plantas adultas. Além disso, a preocupação com a presença de patógenos em sementes não reside apenas nos danos que esses agentes podem causar de imediato. De grande importância é também o aspecto epidemiológico, levando-se em conta a incidência e o progresso da doença em uma população de plantas e as dificuldades que podem decorrer em termos de controle dessa doença (Machado, 2010).

Colletotrichum gloeosporioides, agente etiológico da mancha manteigosa em cafeeiro, é um patógeno transmitido pelas suas sementes (Munaut et al., 1998; Ferreira et al., 2005; Ferreira et al., 2010). Esta doença preocupa os produtores pelo aumento da incidência e agressividade com que se apresenta a campo, ocasionando declínio vegetativo e conseqüentemente produtivo das plantas afetadas. Em observações de campo, cafeeiros com sintomas da mancha manteigosa têm sua produção afetada chegando a ser nula em algumas plantas (Pasin et al., 2009). Há relatos de sua ocorrência nos estados de Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Espírito Santo, Rondônia e Amazonas. Em Minas Gerais tem sido relatada em lavouras das cultivares Catuaí Vermelho e Amarelo, Rubi, Mundo Novo e Catuaí Vermelho (Pasin et al., 2011).

Por ser a semente a principal forma de disseminação da mancha manteigosa, é importante a realização de estudos mais detalhados sobre a influência do fungo na germinação, viabilidade e no estabelecimento de plântulas, uma vez que os trabalhos realizados sobre o assunto são escassos e existem divergências entre os autores.

Com este trabalho objetivou-se avaliar a influência de *C. gloeosporioides* na germinação, viabilidade e vigor de sementes de diferentes cultivares de cafeeiro.

Material e Métodos

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Epidemiologia do Departamento de Fitopatologia e no Laboratório de Sementes do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG.

Foram utilizadas sementes da cultivar Catuaí Vermelho obtidas de plantas com sintomas de mancha manteigosa, provenientes da Fazenda Laje, localizada no Município de Paraguaçu, Minas Gerais, safra 2008/2009. Foram utilizadas também, sementes das cultivares Catuaí Vermelho IAC 44 e Mundo Novo IAC 379-19, adquiridas na Fazenda Experimental da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG) de Machado, Machado-MG, safra 2008/2009. Os frutos destinados à produção de sementes foram colhidos no estágio cereja, sendo realizados o despulpamento manual, degomagem e secagem à sombra.

O perfil sanitário e fisiológico inicial dos lotes de sementes foi determinado pelos testes de germinação, conforme descrito nas Regras para Análise de Sementes (Brasil, 2009) e a sanidade pelo teste de incubação em substrato de papel (*Blotter test*).

O isolado monospórico de *Colletotrichum gloeosporioides* utilizado no trabalho foi proveniente de haste de plantas com sintomas de mancha manteigosa da cultivar Catuaí Vermelho, testado quanto a sua patogenicidade de acordo com metodologia utilizada por Lins et al. (2007) e por Nechet e Abreu (2002), e conservado em tubos de ensaio com meio MEA 2% inclinado.

Inoculação das sementes: um mililitro de uma suspensão de conídios, proveniente de cultura monospórica de *C. gloeosporioides*, na concentração 2×10^6 conídios por mL^{-1} foram espalhadas, com auxílio de alça de Drigalski, em placas de Petri de 15 cm de diâmetro contendo extrato de malte ágar a 2%. Em seguida, as placas foram colocadas em câmara de germinação tipo BOD, com temperatura ajustada para 25 °C e regime de luz de 12 horas, durante sete dias, para desenvolvimento das colônias do fungo. Após desenvolvimento das colônias, sementes das cultivares Catuaí Vermelho, Catuaí Vermelho IAC 44 e Mundo Novo IAC 379-19 foram desinfestadas com hipoclorito de sódio (NaClO) a 2% durante dois minutos, seguido de lavagem, por duas vezes, em água destilada esterilizada e secagem sobre papel de filtro em câmara de fluxo laminar por 24 horas. As sementes foram distribuídas nas placas de Petri, contendo a colônia do fungo, em uma única camada ocupando a superfície da colônia no meio MEA a 2% e

incubadas, em câmara de germinação tipo BOD, por período de 24, 48, 72, 96 e 120 horas à temperatura de 25 ± 1 °C. Após cada período de exposição, as sementes foram colocadas para secar por 24 horas, acondicionadas em sacos de papel e armazenadas em câmara fria até realização das avaliações descritas a seguir.

Teste de sanidade: utilizou-se o método de incubação em substrato de papel (*Blotter test*) coberto com uma fina camada de ágar-água a 0,5%. Foram utilizadas 200 sementes para cada tempo de exposição ao fungo. Como testemunha utilizou-se sementes secas de cada uma das cultivares avaliadas.

Teste de germinação e índice de velocidade de emergência de plântulas: realizados utilizando sementes com e sem pergaminho, em bandejas contendo areia lavada e esterilizada, à temperatura de 30 °C, com 50 sementes por bandeja, em 4 repetições para cada tratamento. Os resultados foram expressos em porcentagem de plântulas normais, plântulas anormais infectadas e sementes mortas. As avaliações do índice de velocidade de emergência foram realizadas concomitantemente, a cada três dias, durante 40 dias para sementes sem pergaminho e 70 dias para sementes com pergaminho, computando-se o número de plântulas emergidas. Para cálculo do índice de velocidade de emergência (IVE) foi empregada a equação proposta por (Maguire, 1962).

Teste de tetrazólio: foi realizado com 200 sementes por tratamento, divididas em quatro repetições de 50 sementes. Após a retirada manual do pergaminho, as sementes foram pré-condicionadas em água por período de 36 horas, à temperatura de 30 °C. Após esse período, foram seccionadas para extração dos embriões, mantidos em solução de polivinilpirrolidona (PVP). Os embriões foram lavados em água corrente com auxílio de uma peneira e embebidos em solução de tetrazólio (2,3,5 cloreto de trifetil tetrazólio) a 0,5% utilizando-se frascos escuros e submetidos à temperatura de 30 °C, por duas horas. Em seguida, foram lavados em água corrente, distribuídos sobre papel mata borrão umedecido e submetidos à avaliação em microscópio estereoscópico, de acordo com critérios estabelecidos por Brasil (2009). Os resultados obtidos foram expressos em porcentagem de embriões viáveis.

Delineamento experimental e análise estatística: o delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com quatro repetições, os tratamentos foram dispostos em esquema fatorial de 3 x 6: três cultivares de cafeeiro (Catuaí Vermelho, Catuaí vermelho IAC 44 e Mundo Novo IAC 379-19) e seis tempos de exposição das sementes ao fungo (0, 24, 48, 72, 96 e 120 horas). A análise

estatística foi realizada no programa SISVAR, versão 4.8 (Ferreira, 2008). As variáveis significativas no teste F foram submetidas à análise de regressão.

Resultados e Discussão

Pelo perfil fisiológico inicial das sementes verificou-se que, na cultivar Catuaí Vermelho proveniente de plantas com sintomas de mancha manteigosa, a germinação foi de 66%, enquanto que em sementes da cultivar Catuaí Vermelho IAC 44, a germinação foi de 88% e, das sementes da cultivar Mundo Novo IAC 379-19, 94%.

Em relação ao perfil sanitário inicial das sementes, verificou-se a presença de 2% de *Colletotrichum gloeosporioides* apenas na cultivar Catuaí Vermelho, cujas sementes foram provenientes de plantas com sintomas de mancha manteigosa. Observou-se também, incidência de 88%, 78% e 84,5% de *Fusarium* spp. e de 1%, 16% e 15,5% de *Phoma* sp. nas cultivares Catuaí Vermelho, Catuaí Vermelho IAC 44 e Mundo Novo IAC 379-19, respectivamente.

Pela análise de regressão dos dados de sanidade, após inoculação das sementes nos diferentes tempos de exposição a *C. gloeosporioides*, houve um incremento gradual dos valores de incidência de *C. gloeosporioides* nos materiais utilizados com o aumento do tempo de exposição ao fungo (Figura 1).

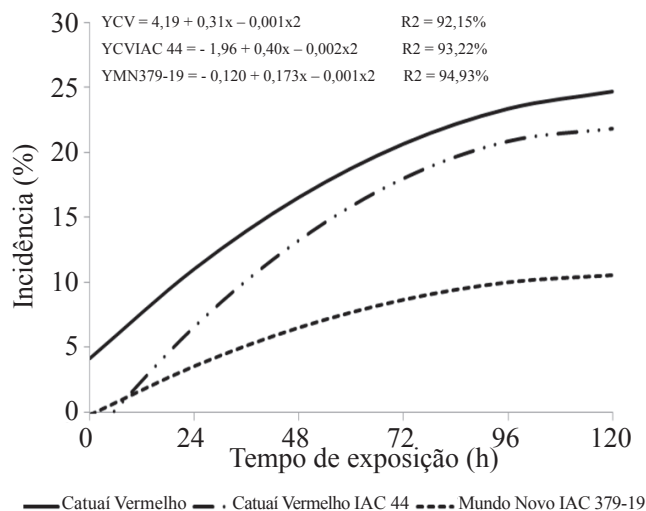


Figura 1. Valores médios de incidência, em porcentagem, de *C. gloeosporioides* em função dos tempos de exposição das sementes, com pergaminho, para as cultivares de cafeeiro, Catuaí vermelho, Catuaí vermelho IAC 44 e Mundo novo IAC 319-19.

A porcentagem máxima de infecção nas sementes foi de 26,0% para cultivar Catuaí Vermelho, 21,5% para cultivar Catuaí Vermelho IAC 44 e 11,0% para cultivar Mundo Novo IAC 379-19. Esse nível de infecção quando comparado com outros patossistemas, pode ser considerado baixo (Tanaka et al., 1989). Isso pode ter ocorrido devido à barreira física imposta pelo pergaminho. O pergaminho da semente de café é um componente fibroso, composto basicamente por 37% de celulose, 25% de hemicelulose e de 9,3% a 13,5% de lignina em base seca (Barcelos et al., 2002) e tais componentes conferem textura rígida e impermeabilidade ao tecido, o que contribui como barreira para a penetração de fungos. A menor porcentagem de infecção na cultivar Mundo Novo IAC 379-19 pode estar relacionada a fatores inerentes à cultivar. De acordo com Barcelos et al. (2001), a cultivar Mundo Novo apresenta maior teor de carboidratos de degradabilidade lenta, e menor teor de carboidratos rapidamente degradáveis, que as cultivares Catuaí e Rubi, o que pode tornar o pergaminho mais resistente à degradação e infecção por fungos.

Esses dados sugerem que, para a obtenção de sementes infectadas por *C. gloeosporioides*, necessita-se de tempos de exposição maiores, a partir de 96 horas. Outros fatores como o genótipo do hospedeiro e a virulência do patógeno devem ser levados em consideração neste tipo de estudo. Tanaka et al. (1989) verificaram que no patossistema *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* versus algodoeiro, a partir de 12 horas de contato das sementes com a colônia fúngica, já ocorre infecção, mas que o período de 24 horas de exposição seria mais adequado para se obter maiores taxas de infecção. Vários trabalhos têm evidenciado a alta variabilidade genética apresentada por isolados de *C. gloeosporioides* e que a interação entre *Colletotrichum* spp. e cafeeiro é muito variável, dependendo da suscetibilidade da cultivar de cafeeiro utilizada (Nechet e Abreu, 2002; Lins et al., 2007; Pereira et al., 2009).

Outro fator a considerar é a microflora antagonista presente nas sementes por ocasião da inoculação. Pela Figura 2A, observa-se que para a cultivar Catuaí Vermelho, com pergaminho, a porcentagem de germinação ajustou-se ao modelo cúbico, ou seja a porcentagem de germinação aumentou com o tempo de exposição ao fungo até 72 horas, sofreu redução a partir de 96 horas e tornou a aumentar ligeiramente a partir de 120 horas. Para a cultivar Catuaí Vermelho IAC 44 ajustou-se o modelo quadrático, com aumento crescente da germinação até o tempo de exposição de 72 horas e com tendência à redução a partir de 96 horas. Já para a cultivar Mundo Novo IAC 379-19, ajustou-se

o modelo linear, ocorrendo aumento significativo na porcentagem de germinação com o aumento do tempo de exposição ao fungo.

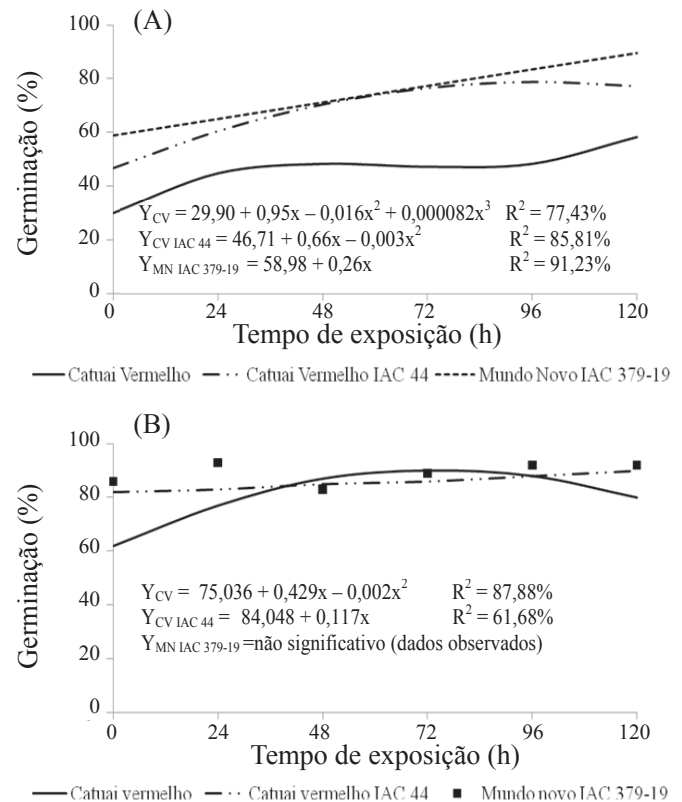


Figura 2. Valores médios de porcentagem de germinação de sementes de cafeeiro, com pergaminho (A) e sem pergaminho (B) em função dos tempos de exposição a *C. gloeosporioides* para as cultivares de cafeeiro, Catuaí vermelho, Catuaí vermelho IAC 44 e Mundo novo IAC 379-19.

No teste de germinação realizado com sementes sem o pergaminho, observou-se que, para a cultivar Catuaí Vermelho, a porcentagem de germinação aumentou até o tempo de 72 horas, tendendo a uma ligeira queda a partir de 96 horas (Figura 2B). Para a cultivar Catuaí Vermelho IAC 44 a porcentagem de germinação aumentou linearmente com o aumento do tempo de exposição ao fungo. Já para cultivar Mundo Novo IAC 379-19 a porcentagem de germinação não diferiu significativamente ao longo dos tempos de exposição ao fungo. Observa-se uma ligeira queda na porcentagem de germinação com 48 horas de exposição ao fungo e esta aumenta gradativamente a partir de 72 horas.

A remoção do pergaminho contribuiu para o aumento da germinação das sementes nas três cultivares avaliadas,

sendo que no tempo zero houve um incremento de 41%, 44% e 31%, na germinação das sementes de Catuaí Vermelho, Catuaí Vermelho IAC 44 e Mundo Novo IAC 379-19, respectivamente. A remoção do pergaminho é de fundamental importância para acelerar a germinação das sementes de café (Meireles et al., 2007). Além da barreira à entrada de água e gases, o pergaminho também dificulta o crescimento do embrião, através de mecanismos inerentes a sua rigidez (Válio, 1976).

Com a eliminação do pergaminho acelerou-se o processo germinativo ocorrendo diminuição do tempo de contato da semente com fungos presentes no mesmo. Segundo Machado (1988), qualquer fator que impeça a rápida germinação das sementes pode aumentar o tempo de contato com fungos presentes no solo e/ou no tegumento da semente e que podem ocasionar apodrecimento das mesmas.

Para as cultivares Catuaí Vermelho e Catuaí Vermelho IAC 44, até 72 horas de exposição ao fungo, parece ter ocorrido efeito *priming*, ou condicionamento fisiológico, que consiste da hidratação controlada das sementes, suficiente para promover atividades pré-metabólicas, sem contudo permitir a emissão da radícula (Heydecker et al., 1973). A hidratação lenta das sementes permite um maior tempo para a reparação ou reorganização das membranas.

Muitos benefícios desta técnica na qualidade fisiológica de lotes de sementes têm sido destacados. Em café, Braz e Rosseto (2008) verificaram que o condicionamento fisiológico favoreceu a germinação e o vigor das sementes de café armazenadas durante nove meses. Lima et al. (2004) observaram que o condicionamento fisiológico de sementes de café em água, a 15 e 25 °C por 12 dias, promoveu incrementos na germinação e no vigor das sementes de café em condições de estresse.

Verificou-se que *C. gloeosporioides* afetou a germinação das sementes da cultivar Catuaí Vermelho a partir de 96 horas de exposição ao fungo, tanto no teste realizado com pergaminho como no realizado sem pergaminho, evidenciando a possibilidade do fungo ter ultrapassado a barreira imposta pelo pergaminho a partir de 96 horas de exposição. Tal fato pode também ser evidenciado pelo aumento da porcentagem de sementes mortas e plântulas anormais infectadas após 96 horas de exposição ao fungo (Figura 3A e 3B).

Segundo Vargas e Gonzáles (1972), é provável que exista um caráter genético que predispõe plântulas oriundas de sementes de plantas com mancha manteigosa a uma maior suscetibilidade.

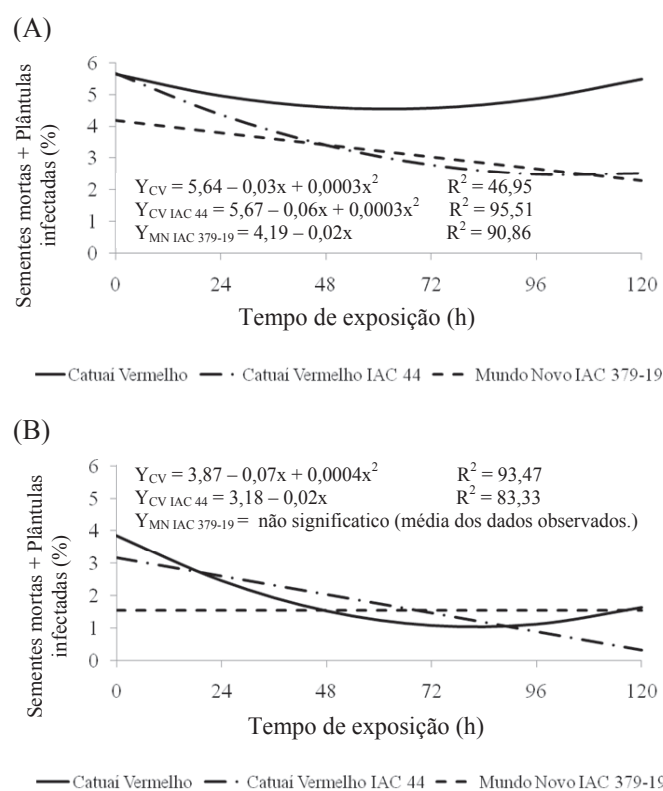


Figura 3. Valores médios de plântulas anormais infectadas mais sementes mortas (%), com pergaminho (A) e sem pergaminho (B), em função dos tempos de exposição a *C. gloeosporioides* para as cultivares de cafeeiro, Catuaí vermelho, Catuaí vermelho IAC 44 e Mundo novo IAC 319-19. Dados transformados.

No caso da cultivar Catuaí Vermelho IAC 44 verificou-se redução apenas na porcentagem de germinação das sementes com pergaminho, bem como maior porcentagem de sementes mortas e plântulas anormais infectadas (Figura 3A). Para sementes sem pergaminho houve um aumento na porcentagem de sementes mortas e de plântulas anormais infectadas, com o aumento do tempo de exposição ao fungo (Figura 3B).

A germinação da cultivar Mundo novo IAC 379-19 não foi afetada pelo tempo de exposição ao fungo, tendo-se verificado apenas o efeito *priming* durante a inoculação das sementes. A porcentagem de sementes mortas e de plântulas anormais infectadas também decresceu com o aumento de exposição ao fungo, no caso de sementes com pergaminho, reforçando desta maneira a evidência do efeito *priming* (Figura 3A). Para sementes sem pergaminho, não houve diferença significativa na porcentagem de sementes mortas mais plântulas anormais infectadas (Figura 3B).

Os resultados da avaliação de sementes inoculadas e não inoculadas com *C. gloeosporioides* e submetidas ao teste de índice de velocidade de emergência de plântulas, com e sem pergaminho, encontram-se nas Figuras 4A e B, respectivamente. Nas análises de regressão para o índice de velocidade de emergência, das sementes com pergaminho, ajustou-se o modelo linear para a cultivar Catuaí Vermelho e quadrático para as cultivares Catuaí Vermelho IAC 44 e Mundo Novo IAC 379-19 (Figura 4A).

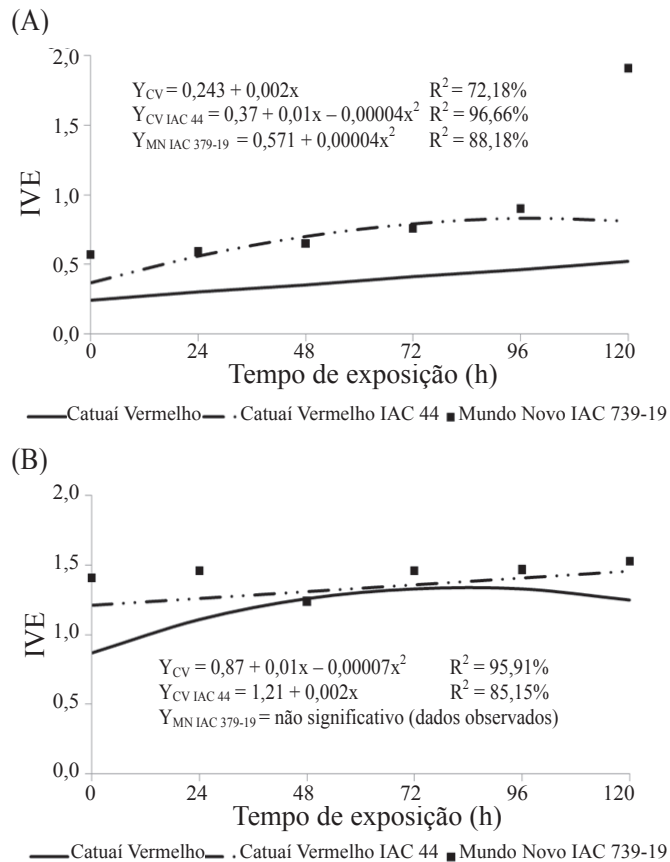


Figura 4. Valores médios de índice de velocidade de emergência (IVE) de sementes de café, com pergaminho (A) e sem pergaminho (B), em função dos tempos de exposição a *C. gloeosporioides* para as cultivares de café, Catuaí Vermelho, Catuaí Vermelho IAC 44 e Mundo novo IAC 319-19.

Ocorreram diferenças entre as cultivares quanto ao aumento da velocidade de emergência de acordo com o tempo de exposição ao fungo, sendo este de 24 ; 48 e 72 horas para Catuaí Vermelho IAC 44, Catuaí Vermelho e Mundo novo IAC 379-19, respectivamente.

Houve ligeira queda no índice de velocidade de

emergência da cultivar Catuaí Vermelho IAC 44 com 96 horas de exposição ao fungo. O tempo de exposição ao fungo de 120 horas proporcionou maior índice de velocidade de emergência para a cultivar Mundo Novo IAC 379-19.

Observa-se pela Figura 4B, que existe diferença de resposta da cultivar em relação ao tempo de exposição ao fungo e a velocidade de emergência. Ficou evidenciado que houve decréscimo na velocidade de emergência para a cultivar Catuaí Vermelho a partir de 96 horas de exposição ao fungo e para as cultivares Catuaí Vermelho IAC 44 e Mundo Novo IAC 319-19, houve um aumento nessa velocidade, com o tempo de exposição ao fungo, demonstrando novamente o efeito *priming* para essas cultivares.

Para as cultivares Catuaí Vermelho e Catuaí Vermelho IAC 44 observou-se ajuste quadrático da curva de regressão, havendo redução acentuada na porcentagem de sementes viáveis a partir de 72 horas de exposição ao fungo. No caso da cultivar Mundo Novo IAC 379-19, verificou-se redução na porcentagem de sementes viáveis a partir de 24 horas de exposição ao fungo (Figura 5).

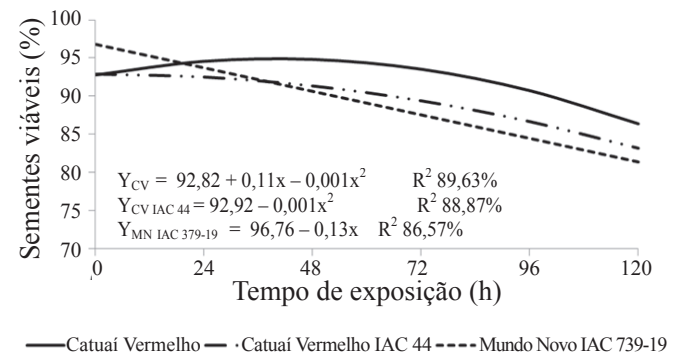


Figura 5. Valores médios de sementes viáveis em função dos tempos de exposição a *C. gloeosporioides* para as cultivares de café, Catuaí Vermelho, Catuaí Vermelho IAC 44 e Mundo novo IAC 319-19.

Os resultados do potencial de germinação (viabilidade) detectado pelo teste de tetrazólio foram superiores quando comparados à porcentagem de germinação para sementes não inoculadas sem pergaminho (Figura 2B), verificando-se que os resultados do teste de tetrazólio não foram afetados pela presença de *priming* ou pelo envigoramento propiciado pelo método de inoculação das sementes para as três cultivares avaliadas, já que estas foram colocadas em contato direto com as colônias de *C. gloeosporioides*, em meio de cultura, favorecendo um ambiente úmido.

Pode-se observar que houve redução da viabilidade das sementes com o aumento de exposição ao fungo, indicando que *C. gloeosporioides* afetou a viabilidade das sementes das três cultivares avaliadas. Segundo Vieira e Von Pinho (1999), a atividade bioquímica e metabólica dos fungos pode influenciar na viabilidade das sementes quando da interpretação do teste de tetrazólio.

Conclusões

O efeito de *Colletotrichum gloeosporioides* na germinação das sementes e estabelecimento de plântulas de cafeeiro é variável, dependendo da suscetibilidade da cultivar utilizada, da presença do pergaminho e do tempo de exposição ao fungo.

A cultivar Catuaí Vermelho apresenta-se mais susceptível à ação do fungo *Colletotrichum gloeosporioides* na germinação. A penetração do fungo pela inoculação, ocorre mesmo com a presença do endocarpo e influencia negativamente a viabilidade das sementes.

Referências

- BARCELOS, A.F.; AGUIAR, P.C.; PÉREZ, J.R.O.; CARDOSO, R.M.; SANTO, V.B. Estimativa das frações dos carboidratos, da casca e polpa desidratada de café (*Coffea arabica* L.) armazenadas em diferentes períodos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.30, n.5, p.1566-1571, 2001. http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-35982001000600026&script=sci_arttext
- BARCELOS, A.F.; PAIVA, P.C.A.; PEREZ, J.R.O.; SANTOS, V.B.; CARDOSO, R.M. Parâmetros bromatológicos da casca e polpa desidratada de café (*Coffea arabica* L.) armazenadas em diferentes períodos. *Ciência e Agrotecnologia*, v.26, n.4, p.780-790, 2002. http://www.editora.ufla.br/site/_adm/upload/revista/26-4-2002_13.pdf
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. *Regras para análise de sementes*. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2009. 395p. http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Laborat%C3%B3rio/Sementes/Regras%20para%20Análise%20de%20Sementes.pdf
- BRAZ, M.R.S.; ROSSETTO, C.A.V. Condicionamento fisiológico na germinação e no vigor de sementes armazenadas de café. *Ciência Rural*, v.38, n.7, p.1849-1856, 2008. http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782008000700008
- FERREIRA, D.F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. *Revista Symposium*, v.6, p.36-41, 2008. http://www.fadminas.org.br/symposium/12_edicoes/artigo_5.pdf
- FERREIRA, J.B.; ABREU, M.S.; PEREIRA, I.S. Incidência de *Colletotrichum* spp. em frutos de *Coffea arabica* L. em diferentes estádios fisiológicos e tecidos do fruto maduro. *Ciência e Agrotecnologia*, v.29, n.4, p.880-885, 2005. http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-70542005000400022&script=sci_arttext
- FERREIRA, J.B.; ABREU, M.S.; MACHADO, J.C.; PEREIRA, I.S.; FERNANDES, K. D. Transmissibilidade e efeito do tratamento de sementes de cafeeiros com mancha manteigosa (*C. gloeosporioides*). *Ciência e Agrotecnologia*, v.34, n.1, p.101-108, 2010. http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-70542010000100013
- HENNING, F.A.; JACOB JR, E.A.; MERTZ, L.M.; PESKE, S.T. Qualidade sanitária de sementes de milho em diferentes estádios de maturação. *Revista Brasileira Sementes*, v.33, n.2, p.316-321, 2011. http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-31222011000200014&script=sci_arttext
- HEYDECKER, W.; HIGGINS, J.; GULLIVER, R.L. Accelerated germination by osmotic seed treatment. *Nature*, v.246, n.2, p.42-44, 1973. <http://www.nature.com/nature/journal/v246/n5427/abs/246042a0.html>
- LIMA, S.M.P.; GUIMARÃES, R.M.; OLIVEIRA, J.A.; VIEIRA, M.G.G. C. Efeitos de tempos e temperaturas de condicionamento sobre a qualidade fisiológica de sementes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) sob condições ideais e de estresse térmico. *Ciência e Agrotecnologia*, v. 28, n. 3, p. 505-514, 2004. http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1413-70542004000300004&script=sci_arttext
- LINS, S.R.O.; ABREU, M.S.; ALVES, E. Estudos histopatológicos de *Colletotrichum* spp. em plântulas de cafeeiro. *Fitopatologia Brasileira*, v.32, n.6, p.488-495, 2007. <http://www.scielo.br/pdf/fit/v32n6/a06v32n6.pdf>
- MACHADO, J.C. *Patologia de sementes: fundamentos e aplicações*. Lavras: ESAL/FAEPE, 1988. 107 p.
- MACHADO, J.C. Benefícios da sanidade na qualidade de sementes. *Informativo ABRATES*, v. 20, n. 3, p.18-19, 2010.
- MAGUIRE, J.D. Speed of germination: aid seedling emergence and vigor. *Crop Science*, v. 2, n. 2, p. 176-177, 1962.
- MEIRELES, R.C.; ARAUJO, E.F.; REIS, M.S.; SEDIYAMA, C.S.; SAKIYAMA, N.S.; REIS, L. Secafé: metodologia para acelerar a germinação das sementes de café. *Revista Brasileira de Sementes*, v.29, n.3, p.90-96, 2007. http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-31222007000300012&script=sci_arttext
- MUNAUT, F.; HAMAIDE, N.; VANDER STAPPEN, J.; MARAITE, H. Genetic relationships among isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* from *Stylosanthes* spp. in Africa and Australia using RAPD and ribosomal DNA markers. *Plant Pathology*, v.47, n.5, p.641-648. 1998. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-3059.1998.00287.x/pdf>
- NECHET, K.L.; ABREU, M.S. Caracterização morfológica e testes de patogenicidade de isolados de *Colletotrichum* sp. obtidos de cafeeiro. *Ciência e Agrotecnologia*, v.26, n.6, p.1135-1142, 2002.
- PASIN, L.A.A.P.; ALMEIDA, J.R.; ABREU, M.S. Fungos associados a grãos de cinco cultivares de café (*Coffea arabica* L.). *Acta Botanica*

- Brasilica*, v.23, n.4, p.1129-1132, 2009. http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-33062009000400022&script=sci_abstract&lng=pt
- PASIN, L.A.A.P.; ABREU, M.S.; SOUZA, I.P. Influence of the fungi population on the physicochemical and chemical composition of coffee (*Coffea arabica* L.). *Ciênc. Tecnol. Aliment.* [online]. v.31, n.3, 2011. http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0101-20612011000300020&script=sci_arttext
- PEREIRA, I.S.; ABREU, M.S.; ALVES, E.; FERREIRA, J.B. Estudos histopatológicos da interação *Colletotrichum gloeosporioides* – cafeeiro. *Bragantia*, v.68, n.1, p.117-123, 2009. <http://www.scielo.br/pdf/brag/v68n1/a13v68n1.pdf>
- TANAKA, M.A.S.; MACHADO, J.C. Patologia de sementes. *Informe Agropecuário*. v.11, n. .p. 40 – 46. 1985.
- TANAKA, M.A.S.; MENTEN, J.O.M.; MARIANO, M.I.A. Inoculação artificial de sementes de algodão com *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* e infecção das sementes em função do tempo de exposição ao patógeno. *Summa Phytopathologica*, v.15, p.233-237, jul./dez. 1989.
- VÁLIO, I.F.M. Germination of coffee seeds (*Coffea arabica* L.) cv. Mundo Novo. *Journal of Experimental Botany*, v.27, n.100, p.983-991, 1976.
- VARGAS, G.E.; GONZALES, U.L.C. La mancha mantecosa del café causada por *Colletotrichum* spp. *Turrialba*, v.22, n.2, p.129-135, 1972.
- VIEIRA, M.G.G.C.; VON PINHO, E.V.R. Metodologia do teste de tetrazólio em sementes de algodão. In: KRYZANOWSKI, F.C.; VIEIRA, R.D.; FRANÇA-NETO, J.B.(Ed.). *Vigor de sementes: conceitos e testes*. Londrina: ABRATES, 1999. p.8.1-12.