

CARACTERIZAÇÃO PATOGENICA DE ISOLADOS DE *Colletotrichum* spp. OBTIDOS DE CAFEIEIRO E OUTRAS CULTURAS NO ESTADO DO PARANÁ

Luís G. L. RAMPAZO¹, E-mail: luis.rampazo@pop.com.br; Viviani V. MARQUES-MARÇAL^{1,2}; Rui P. LEITE JR.¹

¹Instituto Agronômico do Paraná, Londrina, PR; ²Universidade Estadual de Londrina, PR.

Resumo:

A interação *Colletotrichum*-cafeieiro tem atraído a atenção de diferentes grupos de pesquisa no Brasil. A susceptibilidade entre cultivares e testes de patogenicidade cruzada em diferentes hospedeiros são empregados para caracterização patogênica dos isolados. O objetivo deste trabalho foi caracterizar a patogenicidade de isolados de *Colletotrichum* spp. de cafeeiros e outras plantas cultivadas pela inoculação de frutos verdes de diferentes cultivares de *Coffea arabica* L. Dez dias após a inoculação, lesões típicas de antracnose foram observadas nos frutos de todos os cultivares de cafeeiro usados, principalmente quando inoculados com o isolado I-12 de *C. gloeosporioides*. O cultivar Semperflorens mostrou-se o mais susceptível, apresentando até 100% de frutos com lesões. Com o cultivar Catuaí Arrepiado foi possível verificar a ocorrência de uma provável especialização patogênica, pois somente os isolados obtidos de cafeeiro foram capazes de induzir lesões nos frutos deste cultivar. A incidência de frutos com lesões sob inoculação artificial obtida neste estudo foi até mais elevada que as anteriormente descritas na literatura. Entretanto, testes com outros cultivares de cafeeiro e isolados de *Colletotrichum* spp. de diferentes culturas devem ser realizados para a melhor compreensão da especialização patogênica entre estes e seus diferentes hospedeiros.

Palavras-chave: *Coffea arabica* L., antracnose, patogenicidade cruzada.

PATHOGENIC CHARACTERIZATION OF *Colletotrichum* spp. ISOLATES OBTAINED FROM COFFEE AND OTHER CROPS IN PARANÁ STATE

Abstract:

The *Colletotrichum*-coffee interaction has attracted attention of different research groups in Brazil. The susceptibility of cultivars and cross-pathogenicity tests in different hosts are used for pathogenic characterization of the pathogens. The main objective of this study was to characterize the pathogenicity of *Colletotrichum* spp. isolates obtained from coffee and other cultivated plants by inoculation in green fruits of different *Coffea arabica* L. cultivars. Ten days after inoculation, typical anthracnose lesions were observed on fruits of all coffee cultivars included in the study, mainly when inoculated with I-12 isolate of *C. gloeosporioides*. The Semperflorens cultivar was the most susceptible coffee cultivar, showing up to 100% of fruits with anthracnose lesions. With Catuaí Arrepiado cultivar a possible pathogenic specialization was observed, because only isolates obtained from coffee were able to cause lesions in coffee berries of this cultivar. The incidence of fruit with lesions under artificial inoculation obtained in this study was higher than reported in previous works. However, studies with other coffee cultivars and *Colletotrichum* spp. isolates from different cultivated plants should be carried out in order to better understand the pathogenicity specialization among these and their different hosts.

Key words: *Coffea arabica* L., anthracnose, cross-infection.

Introdução

Colletotrichum spp. causam doenças em diversas plantas cultivadas ao redor do mundo. Perdas significativas são causadas em culturas como abacate, café, mamão, manga e citros (Freeman et al., 1998; Sanders et al., 2000). Além disso, plantas que não são consideradas hospedeiras de *Colletotrichum* spp. podem também servir como fontes de inóculo e permitir a sobrevivência do patógeno ao longo das estações do ano (Freeman et al., 2001; Strand, 1994).

Nos patossistemas de *Colletotrichum* spp. são comumente encontradas associações do tipo “múltiplas espécies do patógeno X único hospedeiro” ou “única espécie do patógeno X múltiplos hospedeiros” (Freeman et al., 1998). Um exemplo dessa associação ocorre na cultura dos citros, onde *Colletotrichum acutatum* causa a queda de flores e *Colletotrichum gloeosporioides* é predominantemente um patógeno pós-colheita que pode sobreviver no campo como saprófita e causar apodrecimento de frutos (Zulfiqar et al., 1996). Testes de patogenicidade cruzada envolvendo *Colletotrichum* spp. de diversas culturas e diferentes hospedeiros são empregados na caracterização dos isolados de interesse em relação aos hospedeiros (Denoyes & Baudry, 1995; Muniz et al., 1998; Furtado et al., 1999; Perez et al., 2002). Por meio destes testes foi reportado, por exemplo, a patogenicidade cruzada de *C. gloeosporioides* e *C. acutatum* em abacate, manga e maçã (Freeman & Shabi, 1996; Freeman et al., 1998).

Especificamente com relação ao café, fungos do gênero *Colletotrichum* causadores de sintomas de antracnose têm sido associados nos últimos anos a esta cultura no Brasil e no mundo. Isto se torna preocupante, pois o Brasil se destaca como o maior produtor e exportador mundial de café, com área cultivada de mais de dois milhões de hectares, sendo responsável por aproximadamente 30% do mercado internacional (ABIC, 2007). Em países da África, a doença conhecida

como “Coffee Berry Disease” (CBD), que tem *Colletotrichum kahawae* como agente causal, leva a perdas de até 80% da produção (Griffiths et al., 1971; Chen, 2002). No entanto, o agente causal da CBD não foi observado entre as populações de *Colletotrichum* spp. investigadas nas Américas do Sul e Central até o momento (Hindorf, 1975; Waller et al., 1993; Chalfoun, 1997; Varzea et al., 2002; Miranda, 2003). No Brasil, as principais espécies encontradas em levantamentos recentes são *C. gloeosporioides* e *C. acutatum* (Silva et al., 2005; Miranda, 2003).

Desde o primeiro relato de *Colletotrichum* sp. no Brasil (Noack, 1901) em folhas de cafeeiro nos Estados de São Paulo e Rio de Janeiro, o fungo tem sido apontado como agente etiológico de importantes doenças do cafeeiro, como antracnose em frutos e ramos e mancha manteigosa em folhas (Nechet, 1999; Paradela Filho et al., 2001; Miranda, 2003; Ferreira et al., 2005). Apesar de ser possível observar o fungo em sua forma epifítica na superfície de frutos de cafeeiro, ele é capaz de causar sintomas de antracnose em ramos e frutos quando favorecido por elevada umidade e ferimentos nos tecidos da planta (Paradela Filho et al., 2001). Ainda assim, os sintomas podem não estar relacionados a plantas injuriadas ou culturas mal manejadas, uma vez que os sintomas são evidentes e ainda mais intensos quando se trata de culturas novas e bem desenvolvidas (Paradela Filho et al., 2001; Miranda, 2003).

Dúvidas quanto à taxonomia do patógeno e sua verdadeira relação com o hospedeiro são objetos de estudo de diferentes grupos de pesquisa no Brasil. Uma das maiores dificuldades dos estudos realizados está em reproduzir os sintomas em plântulas, ramos e frutos em ambiente controlado, o que enfatiza a hipótese de que os isolados obtidos correspondem a fungos endofíticos ou epifíticos, ou ainda que os sintomas estejam associados a uma possível deficiência nutricional das plantas em campo (Zambolim, 2003).

O objetivo deste trabalho foi caracterizar a patogenicidade de isolados de *Colletotrichum* spp. de cafeeiro e outras culturas em frutos verdes de diferentes cultivares de *Coffea arabica* L.

Material e Métodos

Obtenção dos isolados: Isolados de *Colletotrichum* spp., obtidos de folhas, frutos e ramos de cafeeiros e de outras culturas como caqui, mexerica, limão e maçã, foram selecionados da coleção de isolados de *Colletotrichum* spp. do Laboratório de Bacteriologia e Virologia do Instituto Agrônomo do Paraná (Tabela 1).

Patogenicidade de *Colletotrichum* spp. em frutos verdes destacados: Frutos sadios em estágio verde cana dos cultivares de cafeeiro MG Rubi, Catuaí Arrepiado e Semperflorens foram superficialmente desinfestados com solução de detergente Extran neutro 1% (5 minutos), álcool 70% (1 minuto), hipoclorito de sódio 1% (1 minuto) e lavagem em água destilada (1 minuto). A seguir, os frutos foram expostos por 90 minutos em câmara de fluxo laminar sobre papel toalha autoclavada para secagem completa. O experimento foi conduzido em câmara climatizada a 25 ± 2 °C, seguindo o delineamento experimental de blocos casualizados com 10 repetições, sendo a unidade experimental constituída de 30 frutos dispostos em caixa Gerbox contendo areia autoclavada e úmida. Os frutos foram inoculados com palitos de dente esterilizados previamente contaminados com massa de conídios dos isolados testados (Tabela 1). Os frutos testemunha foram inoculados da mesma forma com palitos de dente esterilizados imersos em água destilada autoclavada. Foram feitas duas avaliações da incidência de frutos com sintomas de antracnose com intervalos de cinco dias após a inoculação.

Tabela 1 – Procedência e relação dos isolados de *Colletotrichum* spp. utilizados nos estudos de caracterização patogênica.

Nº do isolado	Espécie/Cultivar	Órgão de isolamento	Município de origem
I-12*	Café/nd**	Folha	Poço Fundo – MG
17C	Café/Icatu	Fruto	Londrina – PR
53B	Café/Catuaí	Ramo	Londrina – PR
61D	Café/Iapar 59	Ramo	Londrina – PR
100A	Café/Acaiaá	Flor	Londrina – PR
121F	Café/Catuaí	Fruto	Londrina – PR
216A	Café/Catuaí	Ramo	Londrina – PR
440	Maçã/Gala	Fruto	Londrina – PR
467	Caqui/nd**	Fruto	Londrina – PR
469	Limão/nd**	Flor	Londrina – PR
470	Mexerica/nd**	Flor	Londrina – PR

* Isolado cedido pelo Prof. Dr. Mário Sobral de Abreu (UFLA, Lavras, MG).

** Não determinada.

Resultados e Discussão

Os testes de patogenicidade mostraram o desenvolvimento de lesões nos frutos já a partir de três a cinco dias após a inoculação. As lesões surgiram no interior da área inoculada e se estenderam para a superfície do fruto. As lesões caracterizaram-se por serem circulares, necróticas, de bordas ligeiramente elevadas e com o centro deprimido. Lesões deste tipo foram observadas nos frutos de cafeeiro de todos os cultivares testados, principalmente quando inoculados com o isolado I-12.

As avaliações mostraram que os frutos do cultivar Semperflorens foram os mais susceptíveis entre os cafeeiros avaliados. Com relação à incidência de frutos com lesões, foram observadas variações entre 10% para isolados de maçã e 70% para isolados de mexerica (Figura 1). Para os isolados obtidos de cafeeiro, foram verificadas variações entre 60% e 100% de frutos infectados (Figura 1).

O cultivar Rubi mostrou-se medianamente susceptível para os isolados de cafeeiro e quando inoculado com isolado de caqui não demonstrou nenhum sintoma característico (Figura 1).

No cultivar Catuaí Arrepiado, apenas o isolado I-12 foi capaz de reproduzir sintomas característicos de antracnose em 100% dos frutos inoculados (Figura 1). Este cultivar se destaca, visto que os isolados de outros frutos não foram capazes de causar lesões (Figura 1). Outros trabalhos também relatam que isolados de *Colletotrichum* spp. são mais agressivos a seus hospedeiros de origem, como exemplificado com isolados de *C. gloeosporioides* de cajueiro que não causaram lesões em maracujazeiro (Peres et al., 2002). Esta característica sugere a existência de certa especialização patogênica (Muniz et al., 1998). Embora os isolados de outras culturas não tenham causado sintomas em frutos verdes deste cultivar, isolados obtidos deste próprio cultivar foram capazes de induzir sintomas de antracnose em maçã e manga (dados não apresentados), o que evidencia uma gama variada de hospedeiros para os isolados de *Colletotrichum* sp.

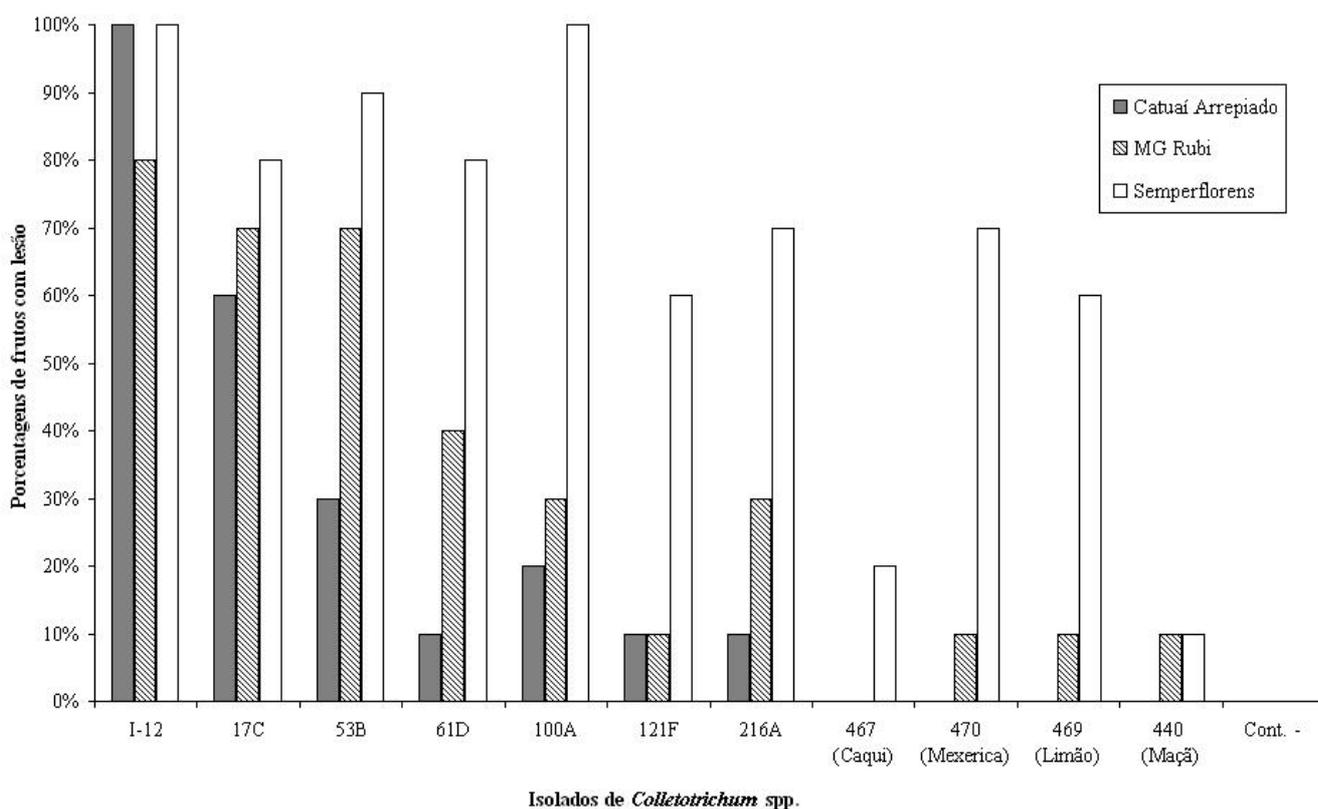


Figura 1 – Incidência de frutos de *Coffea arabica* L. dos cultivares Catuaí Arrepiado, MG Rubi e Semperflorens com lesão característica de antracnose após 10 dias da inoculação com isolados de *Colletotrichum* spp.

Não foram verificadas lesões a partir do ponto de injúria nos frutos testemunhas de todos os cultivares avaliados até o décimo dia de avaliação. Entretanto, para os cultivares Catuaí Arrepiado e MG Rubi foram observadas necroses a partir do pedúnculo dos frutos durante este período, com incidência de 30% em ambos os cultivares. Essas infecções provavelmente se estabeleceram devido à presença de fungos endofíticos naturalmente presentes nos frutos e que sobreviveram ao tratamento de desinfestação superficial empregado. Ainda assim, isolamentos realizados a partir destes pedúnculos afetados não revelaram a presença de *Colletotrichum* sp.

A incidência de frutos com lesões para os cultivares Semperflorens e Catuaí Arrepiado inoculados com os isolados I-12 e 100A foram mais elevadas quando comparadas a estudos semelhantes realizados anteriormente com isolados de

Colletotrichum spp. obtidos de cafeeiro (Feitosa et al., 1977; Nechet & Abreu, 2002; Miranda, 2003). Nestes estudos, a incidência máxima verificada de frutos com lesão foi de 71% no trigésimo quinto dia de avaliação após a inoculação (Dorizzotto, 1993).

Conclusões

Nas condições empregadas neste estudo, foi possível demonstrar a susceptibilidade do cafeeiro a isolados de *Colletotrichum* spp. obtidos de diferentes culturas. Esta observação é reforçada quando se ressalta a metodologia empregada, ou seja, a inoculação de massa conidial diretamente em injúrias produzidas nos frutos de cafeeiro. A susceptibilidade dos cultivares de cafeeiro utilizados em relação aos isolados de *Colletotrichum* spp. mostrou-se seletiva, uma vez que os isolados de outras plantas cultivadas não foram capazes de induzir lesões nos frutos de pelo menos um cultivar de cafeeiro testado (Catuaí Arrepiado). Com isso, percebe-se a ocorrência de especialização patogênica por parte destes isolados de diferentes culturas, uma vez que os mesmos são patogênicos a seus hospedeiros de origem. Infere-se também que as elevadas incidências de frutos de cafeeiro com lesões características de antracnose relatadas neste trabalho está relacionada com a susceptibilidade seletiva dos cultivares de cafeeiro aos isolados de *Colletotrichum* spp. desta própria cultura. A continuidade deste estudo é importante para a compreensão da patogenicidade de *Colletotrichum* spp. em relação ao cafeeiro e diferentes culturas. Além disso, análises com técnicas moleculares estão sendo conduzidas de modo a conhecer o perfil genético dos isolados e, com isso, tentar estabelecer subgrupos patogênicos específicos de *Colletotrichum* spp.

Referências Bibliográficas

- ABIC – Associação Brasileira da Indústria do Café. *A história do café – Origem e trajetória*. Disponível em: < http://www.abic.com.br/scafe_historia.html#atualidade>. Acesso em: 09/03/2007.
- Chalfoun, S.M. (1997) *Doenças do Cafeeiro: Importância, identificação e métodos de controle*. Lavras: UFLA/FAEPE, 93p.
- Chen, Z. (2002) Morfocultural and pathogenic comparisons between *Colletotrichum kahawae* and *Colletotrichum gloeosporioides* isolated from coffee berries. 163p. Tese (Doutorado em Engenharia Agrônômica) – Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, Portugal.
- Denoyes, B.; Baudry, A. (1995) Species identification and pathogenicity study of French *Colletotrichum* strains isolated from strawberry using morphological and cultural characteristics. *Phytopathology*, 85:53-57.
- Dorizzotto, A. (1993) Caracterização morfológica e patogenicidade de *Colletotrichum* sp. associados a cafeeiros (*Coffea arabica* L.) em dois municípios de Minas Gerais. 67 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- Feitosa, M.I.; Feichtenberger, E.; Kudamatsu, M.; Roddetti, V.; Leite, Y.R. (1977) Estudos sobre a população de *Colletotrichum* em *Coffea arabica* L. no Estado de São Paulo. *Arquivos do Instituto Biológico*, 44(1-2):33-54.
- Ferreira, J.B.; Abreu, M. S.; Pereira, I. S. (1995) Incidência de *Colletotrichum* spp. em frutos de *Coffea arabica* L. em diferentes estádios fisiológicos e tecidos do fruto maduro. *Ciência e Agrotecnologia*, 29(4):880-885.
- Freeman, S.; Horowitz, S.; Sharon, A. (2001) Pathogenic and Nonpathogenic Lifestyles in *Colletotrichum acutatum* from Strawberry and Other Plants. *Phytopathology*, 91(10):986-992.
- Freeman, S.; Katan, T.; Shabi, E. (1998) Characterization of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose diseases of various fruits. *Plant Disease*, 82(6):596-605.
- Freeman, S.; Shabi, E. (1996) Cross-infection of subtropical and temperate fruits by *Colletotrichum* species from various hosts. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 49:395-404.
- Furtado, E.L.; Bach, E.B.; Kimati, H.; Menten, J.O.M.; Silveira, A.P. (1999) Caracterização morfológica, patogênica e isoenzimática de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* de seringueira. *Summa Phytopathologica*, 25:222-227.
- Griffiths, E.; Gibbs, J.N.; Waller, J.M. (1971) Control of coffee berry disease. *Annual Applied Biology*, 67(1):45-74.
- Hindorf, H. (1975) *Colletotrichum* occurring on *Coffea arabica*: a review. *Journal of Coffe Research*, 5(3/3):43-56.
- Miranda, E.F.O. (2003) Caracterização morfológica, molecular, bioquímica e patogênica de isolados de *Colletotrichum* spp.

- associados ao cafeeiro em Minas Gerais e Comparação com *Colletotrichum kahawae*. 147p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- Muniz, M.F.S.; Santos, R.C.R.; Barbosa, G.V.S. (1998) Patogenicidade de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* sobre algumas plantas frutíferas. *Summa Phytopathologica*, 24:177-179.
- Nechet, K.L.; Abreu, M.S. (2002) Caracterização morfológica e testes de patogenicidade de isolados de *Colletotrichum* sp. obtidos de cafeeiro. *Ciência e Agrotecnologia*, 26(6):1135-1142.
- Nechet, K.L. (1999) Caracterização biológica e isoenzimática de isolados de *Colletotrichum* sp. Em cafeeiro (*Coffea arabica* L.). 73p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- Noack, F.J. (1901) As manchas das folhas dos cafeeiros. *Boletim da Agricultura*.
- Paradela Filho, O.; Paradela, A.L.; Thomaziello, R.A.; Ribeiro, I.J.A.; Sugimori, M.H.; Fazuoli, L.C. (2001) O complexo *Colletotrichum* do cafeeiro. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas (Boletim Técnico, n.191).
- Sanders, G.M.; Korsten, L.; Wehner, F.C. (2000) Market survey of post-harvest diseases and incidence of *Colletotrichum gloeosporioides* on avocado and mango fruit in South Africa. *Tropical Science*, 40:192-198.
- Silva, M.R.L.; Meneguim, L.; Gonçalves, J.S.; Pistori, J.F.; Leite Jr., R.P. (2005) Caracterização de *Colletotrichum* spp. associado ao cafeeiro no Estado do Paraná. In: *IV Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil*. Anais...
- Strand, L.L. (1994) *Integrated pest management for strawberries*. University of California, Oakland, C.A.
- Varzea, V.M.P. Rodrigues Jr., C.J.; Lewis, B.G. (2002) Distinguishing characteristics and vegetative compatibility of *Colletotrichum kahawae* in comparison with other related species from coffee. *Plant Pathology*, 51(2):202-207.
- Waller, J.M.; Bridge, P.D.; Black, R.; Hakiza, G. (1993) Characterization of the Coffee Berry Disease pathogen, *Colletotrichum kahawae* sp. Nov. *Mycological Research*, 97(8):989-994.
- Zambolim, L.; Vale, F.X.R.; Zambolim, E.M. (2003) Produção integrada do cafeeiro: manejo de doenças. In: Zambolim, L. (Ed.). *Produção integrada de café*. Viçosa: UFV. pp. 490-491.
- Zulfiqar, M.; Brlansky, R.H.; Timmer, L.W. (1996) Infection of flower and vegetative tissues of citrus by *Colletotrichum acutatum* and *C. gloeosporioides*. *Mycologia*, 88:121-128.