

## ESTUDO DA AGRESSIVIDADE DE *Colletotrichum gloeosporioides* PROVENIENTE DE FRUTOS E FLORES DE CAFEIEIRO<sup>1</sup>

Michele Regina Lopes da Silva<sup>2</sup>; Daiana Alves da Silva<sup>3</sup>; Viviani Vieira Marques<sup>4</sup>, Carlos Eduardo Martinez<sup>5</sup>,  
Nádia Souza Jayme<sup>6</sup>; Rui Pereira Leite Júnior<sup>7</sup>

<sup>1</sup> Trabalho financiado pelo Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do Café – Consórcio Pesquisa Café.

<sup>2</sup> Pesquisador, D.Sc., bolsista Embrapa Café/ Instituto Agronômico do Paraná, Londrina-PR, michele@iapar.br

<sup>3</sup> Pesquisador, M.Sc., bolsista Embrapa Café, Instituto Agronômico do Paraná, Londrina-PR, daiagrouel2002@hotmail.com

<sup>4</sup> Pesquisador D.Sc., bolsista Embrapa Café/ Instituto Agronômico do Paraná, Londrina-PR, viviani@iapar.br

<sup>5</sup> Bolsista CIEE, Instituto Filadélfia de Ensino Superior, Londrina-PR, edu\_damed@hotmail.com

<sup>6</sup> Bolsista CIEE, Universidade Estadual de Londrina, Londrina-PR, nadia\_agronomia@hotmail.com

<sup>7</sup> Pesquisador, D.Sc., Instituto Agronômico do Paraná, Londrina-PR, ruileite@iapar.br

**RESUMO:** Fungos do gênero *Colletotrichum* têm sido estudados com o objetivo de relacionar a presença do fungo a sintomas como lesões necróticas e seca de ramos em cafeeiro. O objetivo deste trabalho foi verificar a patogenicidade e a agressividade de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* em frutos de dois cultivares de cafeeiro. Frutos verdes de cafeeiro dos cultivares IPR-59 e IPR-103 foram lavados, desinfestados superficialmente, perfurados com agulha e mantidos em bandejas contendo areia úmida esterilizada. A inoculação foi realizada pela deposição sobre o ferimento de 10 µl de suspensão de isolados do fungo na concentração de 10<sup>6</sup> conídios/ml. Frutos controle foram inoculados com água destilada esterilizada. As bandejas foram mantidas em câmara úmida a 25 °C com fotoperíodo de 12 horas. A incidência de lesões foi avaliada nos sexto e nono dias após a inoculação dos frutos. A severidade foi avaliada no sexto dia após a inoculação, tomando duas medidas ortogonais do diâmetro da lesão com auxílio de paquímetro. Foram observadas diferenças significativas na incidência de lesões nos frutos de cafeeiro tanto entre os isolados como entre os cultivares testados. Os isolados testados apresentaram diferenças significativas na severidade das lesões necróticas.

**Palavras-Chave:** cultivares, incidência de lesões, severidade, patogenicidade

## STUDY OF AGGRESSIVENESS OF *Colletotrichum gloeosporioides* ISOLATED FROM BERRIES AND FLOWERS OF COFFEE TREES

**ABSTRACT:** Species of the genus *Colletotrichum* have been studied in regard of disease symptoms such as necrotic and dry lesions on branches of coffee. The objective of this study was to assess the pathogenicity and aggressiveness of *Colletotrichum gloeosporioides* on fruits of two cultivars of coffee. Unripe coffee berries of the cultivars IPR-59 and IPR-103 were washed, disinfected superficially, punctured with a needle and kept in trays containing moist sterile sand. Inoculation was performed by deposition on the wound of 10 µl of a suspension of the fungal isolates at a concentration of 10<sup>6</sup> conidia / ml. Control fruits were inoculated with sterile distilled water. The trays were kept in a moist chamber at 25 °C under a photoperiod of 12 hours. The incidence of lesions was assessed at the sixth and ninth days after inoculation of the fruits. The disease severity was assessed at the sixth day after inoculation, by using two orthogonal measurements of the diameter of the lesion with the aid of calipers. Significant differences were observed in the incidence of lesions on the coffee fruits for both, isolates and cultivars. The isolates tested showed significant differences in severity of necrotic lesions.

**Key words:** cultivars, incidence of injury, severity, pathogenicity

## INTRODUÇÃO

A ocorrência de doenças na cultura do cafeeiro é influenciada principalmente por fatores relacionados à virulência do patógeno, resistência do hospedeiro, densidade de plantio, grau de enfolhamento, carga pendente e estado nutricional das plantas (ZAMBOLIM et al., 2003). No Brasil, *Colletotrichum* spp. são frequentemente isolados de cafeeiros e considerados o agente etiológico de doenças, as quais causam sintomas como necrose em frutos, seca de ramos e ponteiros e mancha manteigosa nas folhas (PARADELA-FILHO, 2001). Nos últimos anos, estudos da interação *Colletotrichum* spp. x cafeeiro tem sido realizado em plântulas, ramos, folhas e frutos com o objetivo de relacionar a presença deste fungo no hospedeiro e os sintomas identificados em lavouras de cafeeiros (SERA et al., 2007). Estudos recentes com diferentes isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* demonstraram que existe diferença no comportamento dos isolados quando inoculados em diferentes cultivares de cafeeiro (MARQUES, 2009). Assim, o objetivo deste trabalho foi verificar a patogenicidade e a agressividade de isolados de *C. gloeosporioides* em frutos de dois cultivares de cafeeiro.

## MATERIAL E MÉTODOS

**Coleta e desinfestação dos frutos de cafeeiro:** Frutos verdes de cafeeiro no estágio verde cana dos cultivares IPR-59 e IPR-103 foram coletados na Estação Experimental do IAPAR, Londrina, PR. Os frutos foram selecionados, lavados com detergente neutro e enxaguados abundantemente em água corrente. Após a secagem em temperatura ambiente, os frutos foram superficialmente desinfestados pela imersão em soluções de etanol 70% (1 min.), hipoclorito de sódio 1% (1 min.) e água destilada esterilizada (1 min.). Em seguida, os frutos foram mantidos em câmara de fluxo laminar contínuo até a secagem.

**Preparação do inóculo:** Os isolados de *C. gloeosporioides* obtidos de flores e frutos de cafeeiro (Tabela 1) foram cultivados em meio de cultura Ágar Aveia durante sete dias a 25 °C. Suspensões de 10<sup>6</sup> conídios/ml foram em água destilada esterilizada acrescida de uma gota de Tween 20.

**Tabela 1.** Isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* utilizados nos testes de patogenicidade e agressividade.

Isolado	Órgão	Cultivar	Origem
15	Fruto	IPR-106	Londrina, PR.
73	Fruto	Icatu	Londrina, PR.
81b	Flor	Catuaí Vermelho	Umuarama, PR.
129a	Flor	Tupi	Cambé, PR.

**Inoculação de frutos de cafeeiro:** Os frutos aparentemente sadios foram feridos com agulha entomológica e acondicionados em bandejas contendo areia úmida autoclavada. Aliquotas de 10 µl da suspensão de 10<sup>6</sup> conídios/ml dos isolados de *C. gloeosporioides* foram depositadas sobre os ferimentos. Frutos controle foram inoculados com água destilada esterilizada. Os frutos foram mantidos em câmara úmida a 25 °C e fotoperíodo de 12 h. A incidência de lesões foi avaliada aos seis e nove dias após a inoculação dos frutos. A severidade foi avaliada no sexto dia após a inoculação, tomando duas medidas ortogonais do diâmetro da lesão com auxílio de paquímetro. O delineamento experimental foi em blocos casualizados com seis tratamentos e três repetições compostas por 30 frutos.

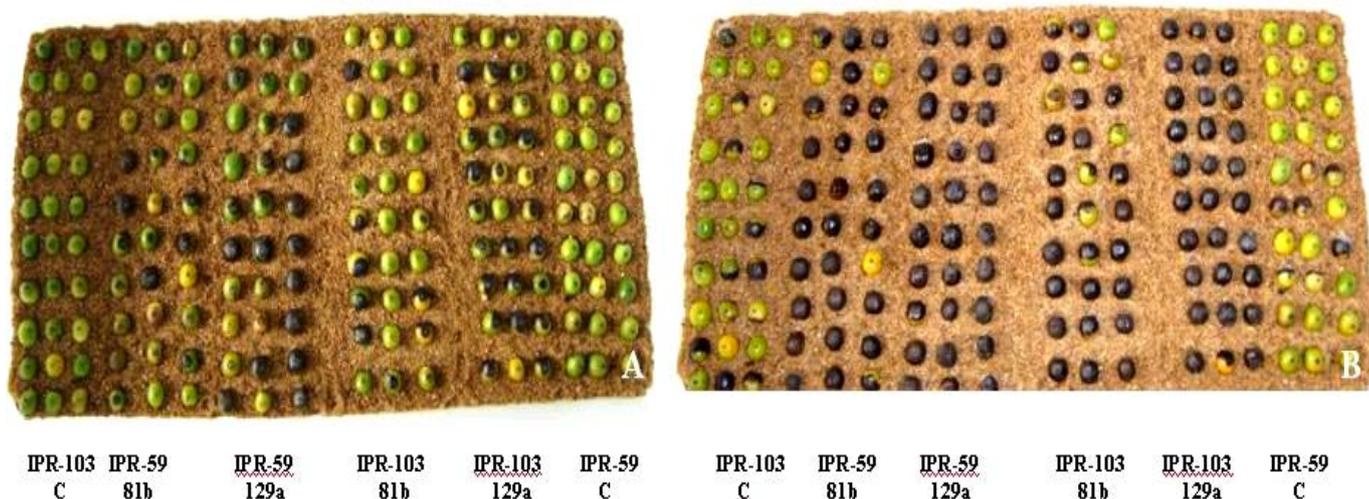
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os quatro isolados de *C. gloeosporioides* induziram lesões de antracnose em frutos verdes de cafeeiro. As lesões necróticas secas e deprimidas foram observadas a partir do terceiro dia após a inoculação do fungo em ambos cultivares. A incidência de lesões de antracnose aumentou entre o sexto e nono dias após a inoculação dos frutos (Figura 1).

Os mesmos tipos de lesões bem como diferenças na susceptibilidade de frutos verdes destacados de cafeeiro a *C. gloeosporioides* para os dois cultivares aqui testados foram anteriormente descritos por Marques (2009). Neste estudo foi verificada maior tolerância do cultivar IPR-59 em relação ao cultivar IPR-103 à infecção por *C. gloeosporioides*. Além disso, foi constatada diferença na agressividade entre isolados de *C. gloeosporioides* obtidos de flores inoculados em frutos do cultivar IPR-59, mas não entre os isolados obtidos de frutos.

Nechet e Sobral (2002) observaram o aparecimento de lesões em frutos sadios e não injuriados de cafeeiro do cultivar Mundo Novo. As lesões começaram a surgir a partir do 10º dia após a inoculação e evoluíram até o 30º dia após a inoculação. Neste trabalho o isolado de *C. gloeosporioides* proveniente de flor de cafeeiro apresentou maior incidência de lesão nos frutos de cafeeiro, embora a agressividade não tenha sido mensurada.

**Figura 1.** Lesões de antracnose em frutos verdes de cafeeiro dos cultivares IPR-103 e IPR-59 inoculados com *Colletotrichum gloeosporioides* isolados de flores de cafeeiro aos 6 (A) e 9 (B) dias após a inoculação



Não foi possível visualizar diferença significativa na incidência de antracnose no cultivar IPR-103 com os isolados de *C. gloeosporioides* testados. No entanto, aumento de 13% e 21% na incidência de lesões de antracnose nos frutos de cafeeiro foi observado aos nove dias após a inoculação quando comparado com o sexto dia (Tabela 2). Foi observada diferença significativa na incidência de lesão em frutos do cultivar IPR-59 inoculados com isolados obtidos de flores de cafeeiro em ambas as avaliações (Tabela 3). Não foram observadas lesões a partir do ponto de inoculação nos frutos controle de ambos os cultivares.

O diâmetro das lesões variou de 3,0 mm a 7,4 mm no sexto dias após a inoculação. Diferença significativa na agressividade dos isolados provenientes de flores de cafeeiro foi observada somente no cultivar IPR-59 (Tabelas 2 e 3).

**Tabela 2.** Incidência de antracnose e agressividade de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* provenientes de frutos de cafeeiro inoculados em frutos destacados de cafeeiro dos cultivares IPR-103 e IPR-59.

Cultivar/Isolado	Média de frutos com lesão		Diâmetro de lesão (mm)
	6 d.a.i. <sup>1</sup>	9 d.a.i.	6 d.a.i.
IPR-103/73	26,3 <sup>2a3</sup>	30,0 a	5,9 a
IPR-103/15	17,7 a	24,0 a	3,3 ab
IPR-103/controle	0,0 b	0,0 b	0,0 c
IPR-59/73	17,0 a	21,7 a	3,5 ab
IPR-59/15	16,0 a	23,7 a	3,0 b
IPR-59/controle	0,0 b	0,0 b	0,0 c
C.V.	16,7 %	14,0 %	12,0 %

<sup>1</sup>Dias após a inoculação. <sup>2</sup>Dados transformados para  $\sqrt{x+1}$ . <sup>3</sup>Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Até o momento, poucos são os trabalhos que apresentam metodologia para mensuração de lesões causadas por *C. gloeosporioides* em tecidos de cafeeiro.

O estabelecimento de parâmetros para medição de níveis de agressividade entre isolados do fungo obtidos de diferentes órgãos da planta pode facilitar a indicação da melhor época para prevenção e controle da doença. Adicionalmente, uma vez sendo possível atribuir níveis para a doença torna-se mais precisa a obtenção de dados de perdas e danos na produção cafeeira causados pela infecção do fungo.

**Tabela 3.** Incidência de antracnose e agressividade de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* provenientes de flores de cafeeiro inoculados em frutos destacados de cafeeiro dos cultivares IPR-103 e IPR-59.

Cultivar/Isolado	Média de frutos com lesão		Diâmetro de lesão (mm)
	6 d.a.i. <sup>1</sup>	9 d.a.i.	6 d.a.i.
IPR-103/81b	21,3 <sup>2ab</sup> <sup>3</sup>	29,0 ab	4,8 ab
IPR-103/129a	26,7 a	26,7 ab	6,6 a
IPR-103/controle	0,0 c	0,0 c	0,0 c
IPR-59/81b	19,3 b	27,7 b	3,8 b
IPR-59/129a	26,7 a	30,0 a	7,4 a
IPR-59/controle	0,0 c	0,0 c	0,0 c
C.V.	6,2 %	1,8 %	10,1 %

<sup>1</sup>Dias após a inoculação. <sup>2</sup>Dados transformados para  $\sqrt{x+1}$ . <sup>3</sup>Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## CONCLUSÕES

Existe diferença na agressividade entre isolados de *C. gloeosporioides* obtidos de flores inoculados em frutos do cultivar IPR-59, mas não entre os isolados obtidos de frutos.

Não é possível visualizar diferença significativa na incidência de antracnose no cultivar IPR-103 com os isolados de *C. gloeosporioides* testados.

A incidência de lesão característica de antracnose em frutos verdes de cafeeiro é maior nove dias após a inoculação do fungo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- MARQUES, V.V. Patogenicidade e Variabilidade Genética de *Colletotrichum* spp. em cafeeiro (*Coffea arabica* L.). Londrina, 2009. Tese (Doutorado). Universidade Estadual de Londrina. 2009.
- NECHET, K.L.; Abreu, M.S. Caracterização morfológica e testes de patogenicidade de isolados de *Colletotrichum* sp. obtidos de cafeeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.26, n.6, pp.1135-1142, nov./dez. 2002.
- SERA, G.H. SERA, T; ITO, D.S; AZEVEDO, J. A.; FILHO, C. R; MATA, J.S. 2007. Partial resistance to fruit necrosis associated to *Colletotrichum* spp. among arabic coffee genotypes. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.50, n.3, pp.395-402.
- 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, Boletim Técnico IAC, n.191, 2001.
- ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R.; ZAMBOLIM, E. M. Produção integrada do cafeeiro: manejo de doenças. In: ZAMBOLIM, L. **Produção integrada do café**. Viçosa: UFV, 2003