

**ASPECTOS HISTOPATOLÓGICOS,  
EPIDEMIOLOGIA E CONTROLE DA  
MANCHA MANTEIGOSA EM *Coffea arabica* L.**

**JOSIMAR BATISTA FERREIRA**

2006

**JOSIMAR BATISTA FERREIRA**

**ASPECTOS HISTOPATOLÓGICOS, EPIDEMIOLOGIA E CONTROLE  
DA MANCHA MANTEIGOSA EM *Coffea arabica* L.**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração Fitopatologia, para a obtenção do título de "Doutor".

Orientador

Prof. Dr. Mario Sobral de Abreu

LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2006

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

Ferreira, Josimar Batista.

Aspectos histopatológicos, epidemiologia e controle da mancha manteigosa em  
*Coffea arabica* L. / Josimar Batista Ferreira. -- Lavras: UFLA, 2005.  
159 p.: il.

Orientador: Mario Sobral de Abreu.

Tese (Doutorado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Café. 2. Doença. 3. Mancha manteigosa. I. Universidade Federal de Lavras.  
II. Título.

CDD-633.7394

**JOSIMAR BATISTA FERREIRA**

**ASPECTOS HISTOPATOLÓGICOS, EPIDEMIOLOGIA E CONTROLE  
DA MANCHA MANTEIGOSA EM *Coffea arabica* L.**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração Fitopatologia, para a obtenção do título de "Doutor".

APROVADA em 24 de Julho de 2006.

Prof. Dr. José da Cruz Machado	DFP-UFLA
Prof. Dr. Eduardo Alves	DFP-UFLA
Prof. Dr. Rubens José Guimarães	DAG-UFLA
Dra. Sara Maria Chalfoun de Souza	EPAMIG-CTSM

Prof. Dr. Mario Sobral de Abreu  
(Orientador)

LAVRAS  
MINAS GERAIS – BRASIL

**Agradeço,**

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

**Ofereço,**

Àqueles que trabalharam direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

**Dedico,**

Aos meus familiares em especial  
à minha mãe, Creuza Batista Ferreira,  
ao meu pai, João Evangelista Ferreira,  
aos meus irmãos (Josinaldo, Josialdo, Juscélia, Jucelma e Joelma)  
e a minha esposa Camila Sahid Lostanau Ferreira,  
pela compreensão e zelo a mim dispensados.

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e aos professores do Departamento de Fitopatologia, pela oportunidade para realizar o mestrado e o doutorado.

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

À Universidade Federal do Acre (UFAC) e aos professores do Campus Floresta, Cruzeiro do Sul, AC, pela minha liberação para o término do doutorado.

Ao professor Dr. Mario Sobral de Abreu, a quem faço um agradecimento especial pelo incentivo, ensinamentos transmitidos, pela valiosa orientação, amizade e confiança que muito contribuíram para realização deste e de outros trabalhos.

Aos doutores José da Cruz Machado, Eduardo Alves, Rubens José Guimarães e a doutora Sara Maria Chalfoun de Souza, por terem aceitado participar da banca examinadora deste trabalho.

Aos amigos Igor, Cristiano, Ricardo, Daniel, Pedro, João de Cássia, Dejânia, Julio, Carol, Fátima, Eloísa Leite e Katiúcia, pela amizade e contribuição neste estudo.

Aos meus pais, João E. Ferreira e Creuza B. Ferreira, pelo caráter, dignidade, sabedoria, amor aos filhos, otimismo, conselhos e apoio nos momentos difíceis. Aos meus irmãos Josinaldo, Josialdo, Juscélia, Jucelma e Joelma, pelo companheirismo e zelo. A minha esposa Camila Sahid Lostanau Ferreira pelo companheirismo, carinho e atenção a mim dedicados.

A todas 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.

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). Desenvolvendo 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, concluindo-o em fevereiro de 2004. Iniciou o doutorado (abril de 2004) (agronomia/Fitopatologia) na Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, sob orientação do professor Dr. Mario Sobral de Abreu, concluindo-o em Julho de 2006 com a defesa da tese.

Atualmente, membro do quadro de docentes da Universidade Federal do Acre, UFAC, Campus Floresta, Cruzeiro do Sul, AC.

## SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
<b>CAPÍTULO 1</b> Aspectos histopatológicos, epidemiologia e controle da mancha manteigosa em <i>Coffea arabica</i> L.....	1
1 INTRODUÇÃO.....	2
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	5
2.1 <i>Colletotrichum</i> spp. em cafeeiros.....	5
2.2 Taxonomia de <i>Colletotrichum</i> associado ao cafeeiro.....	7
2.3 Estudos de patogenicidade de <i>Colletotrichum</i> spp. em cafeeiro .....	9
2.4 Mancha manteigosa do cafeeiro.....	13
2.4.1 Sintomas e sinais da mancha manteigosa.....	15
2.4.2 Importância da mancha manteigosa.....	17
2.4.3 Suscetibilidade à mancha manteigosa.....	18
2.4.4 Transmissão de <i>C. gloeosporioides</i> agente da mancha manteigosa.....	18
2.5 Estudos dos eventos da infecção de <i>Colletotrichum</i> .....	20
2.5.1 Germinação de conídios e formação do tubo germinativo.....	20
2.5.2 Formação de apressórios.....	22
2.5.3 Infecção, colonização e latência.....	26
2.5.4 Efeitos citopatológicos ocasionados por <i>Colletotrichum</i> .....	28
2.6 Estudos epidemiológicos de <i>Colletotrichum</i> spp na cultura do café.....	29
2.6.1 Controle do <i>Colletotrichum</i> spp. no cafeeiro.....	31
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	33
<b>CAPÍTULO 2</b> Estudos histopatológicos de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> inoculados em folhas de <i>Coffea arabica</i> L. e em órgãos de plantas naturalmente infectados com sintoma da mancha manteigosa.....	43
1 RESUMO.....	44
2 ABSTRACT.....	45
3 INTRODUÇÃO.....	46
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	48
4.1 Obtenção de isolados de <i>Colletotrichum</i> spp.....	48
4.2 Obtenção de culturas monospóricas.....	49

4.3 Estudos de pré-penetração, penetração, infecção e colonização em folhas inoculadas.....	49
4.3.1 Seleção de material vegetativo de café para estudos histopatológicos em folhas.....	49
4.3.2 Preparo do material para inoculações.....	50
4.3.3 Inoculações e avaliações.....	50
4.4 Estudos da colonização de <i>C. gloeosporioides</i> agente mancha manteigosa em condições naturais da doença.....	51
4.5 Preparo das amostras para corte em nitrogênio líquido.....	51
4.6 Preparo das amostras - microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	51
4.7 Observação de imagens em MEV.....	52
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	53
5.1 Eventos da infecção de <i>C. gloeosporioides</i> em cafeeiro.....	53
5.1.1 Aspectos da infecção de <i>C. gloeosporioides</i> - isolado mancha manteigosa.....	53
5.1.2 Aspectos da infecção de <i>C. gloeosporioides</i> - isolado manga.....	61
5.3 Colonização dos órgãos do cafeeiro com sintoma da mancha manteigosa	66
6 CONCLUSÕES.....	74
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	75

<b>CAPÍTULO 3</b> Avaliação da sensibilidade de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> a diferentes concentrações de fungicidas e eficiência de controle da mancha manteigosa em campo.....	80
--	----

1 RESUMO.....	81
2 ABSTRACT.....	82
3 INTRODUÇÃO.....	83
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	85
4.1 Ensaio <i>in vitro</i> .....	85
4.1.1 Isolado utilizado.....	85
4.1.2 Bioensaios para avaliar a sensibilidade micelial de <i>C. gloeosporioides</i> aos fungicidas.....	85
4.1.3 Sensibilidade de conídios de <i>C. gloeosporioides</i> aos fungicidas.....	88
4.2 Ensaio de campo.....	89
4.2.1 Delineamento e avaliações.....	89
4.2.2 Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD).....	90
4.2.3 Dados climáticos.....	90
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	91
5.1 Sensibilidade micelial de <i>C. gloeosporioides</i> aos fungicidas.....	91
5.2 Sensibilidade de conídios de <i>C. gloeosporioides</i> aos fungicidas.....	96
5.3 Ensaio em campo.....	98

6 CONCLUSÕES.....	109
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	110

<b>CAPÍTULO 4</b> Análise da dinâmica, estrutura de focos e arranjo espacial da mancha manteigosa em campo.....	114
---	-----

1 RESUMO.....	115
2 ABSTRACT.....	116
3 INTRODUÇÃO.....	117
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	119
4.1 Monitoramento da doença.....	119
4.2 Área experimental.....	119
4.3. Estudo espacial da doença.....	119
4.3.1 Mapeamento da doença na área.....	119
4.3.2 Arranjo espacial da doença.....	119
4.3.2.1 Análise de <i>doublet</i> .....	119
4.3.2.2 Análise de <i>run</i> .....	120
4.3.3 Índice de dispersão.....	121
4.3.4 Análise da dinâmica e estrutura de focos (ADEF).....	121
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	122
5.1 Monitoramento da doença.....	122
5.2 Estudo espacial da doença.....	123
5.2.1 Dispersão da doença.....	124
5.2.2 Número de focos e tamanho dos focos.....	125
5.2.3 Formato e compactidade dos focos.....	128
5.2.4 Arranjo espacial da mancha manteigosa.....	131
6 CONCLUSÕES.....	135
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	136

<b>CAPÍTULO 5</b> Transmissibilidade e efeito de tratamento fungicida em sementes de cafeeiros com mancha manteigosa.....	139
---	-----

1 RESUMO.....	140
2 ABSTRACT.....	141
3 INTRODUÇÃO.....	142
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	144
4.1 Transmissibilidade semente – planta.....	144
4.1.1 Procedência dos lotes de sementes.....	144
4.1.2 Germinação e formação das plântulas.....	144
4.1.3 Avaliações.....	145
4.2 Tratamento das sementes.....	146
4.2.1 Teste de sanidade das sementes.....	146

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	147
5.1 Transmissibilidade de <i>C. gloeosporioides</i> (mancha manteigosa) em cafeeiro.....	147
5.2 Tratamento de sementes de <i>Coffea arabica</i> L.....	152
6 CONCLUSÕES.....	154
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	155
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>158</b>

## RESUMO

FERREIRA, Josimar Batista. **Aspectos histopatológicos, epidemiologia e controle da mancha manteigosa em *Coffea arabica* L.** 2006 159p. Tese (Doutor em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.\*

Atualmente, a doença conhecida como mancha manteigosa (MM) merece destaque devido aos ataques do fungo em ramos, flores e frutos em expansão, ocasionando reduções na produção. Objetivou-se, neste trabalho: avaliar os aspectos da infecção (pré-penetração, penetração e colonização) de *C. gloeosporioides* (*cg*) em folhas; conferir a colonização de *cg* agente MM em condições naturais da doença; realizar estudos epidemiológicos de dispersão espacial da doença, por meio de arranjos espaciais e da análise da dinâmica e estruturas de focos; avaliar a eficiência de fungicidas sobre *C. gloeosporioides*, (MM); avaliar a transmissibilidade semente-planta (MM), bem como comprovar o efeito do tratamento de sementes por fungicidas. Os conídios de *cg* aderiram nas depressões e nas células-guardas, formando septo antes da germinação. A penetração se deu por via direta e, muito raramente, por estômatos. A germinação ocorreu de 6 a 8 horas, produzindo apressórios com 12 horas e acérvulos de 96-144 horas após a inoculação. Os ramos, hipocótilos e nervuras de folhas de cafeeiros com MM têm os vasos do xilema, floema e células do córtex colonizados por *cg*. Nos frutos (MM) apareceram infecções nos tecidos do exocarpo, mesocarpo e endosperma. Plantas com MM, mesmo quando pulverizadas com fungicidas, têm significativa queda de frutos e morte de ramos. Os fungicidas triadimenol e chlorotalonil apresentaram alta eficiência nos teste *in vitro* e de campo. O mancozeb mostrou-se ineficiente. Observa-se, em áreas cafeeiras com MM, elevado número de focos unitários, verificando-se padrão espacial da doença de forma aleatório. Tal fato indica que a MM ocorra por meio de plantas isoladas, sendo a semente a principal via de transmissão. Sementes de plantas doentes evidenciam elevado número de morte de plântulas, com incidência de *cg* de 94,8% e severidade de 86,8%, enquanto que sementes colhidas em plantas sadias apresentaram plântulas vigorosas e em pleno desenvolvimento. Neste patossistema, a principal via de transmissão é a semente (semente-planta-semente).

---

\* Comitê de Orientação: Mario Sobral de Abreu - UFLA (Orientador); Eduardo Alves e Edson Ampélio Pozza - UFLA (Co-orientadores)

## ABSTRACT

FERREIRA, Josimar Batista. **Aspects histopathology, epidemiology and control of blister spot on *Coffea arabica* L.** 2006. 159p. Thesis (Doctorate in Plant Pathology) – Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil.\*

Blister spot is currently considered as one of the most important diseases of coffee since *Colletotrichum gloeosporioides*, its causal agent, can attack shoots, flowers and fruits leading to yield reduction. The aims in this study were: (i) to assess the infection aspects (pre-penetration, penetration and colonization) of *C. gloeosporioides* (*cg*) on leaves; (ii) to study the colonization of *cg* on coffee trees under natural conditions; (iii) to study the epidemiology of the disease through its spatial dispersion, evaluating the disease dynamics and the foci structure; (iv) to assess the efficiency of fungicides on *cg*; (v) to evaluate the transmission of blister spot from the seed to the plant as well as the efficacy of the chemical control of *cg* in the seeds. Conidia of *cg* adhered on the plant tissue depressions and guard-cells forming septum before germination. Penetration of the fungus occurred directly in most of the cases, although some penetration occurred via stomata. The germination of conidia occurred after 6 to 8 h, producing appressorium 12 h and acervuli 96 to 144 h after inoculation. Shoots, hypocotyls, and veins of coffee leaves affected by blister spot had the xylem, phloem and cortical cells colonized by *cg*. In the fruits, infections of exocarp, mesocarp and endosperm tissues were observed. Coffee trees affected by blister spot had significant fruit drop e die-back even if sprayed with fungicides. Triadimenol and chlorotalonil showed high efficiency in controlling *cg in vitro* and in field trials, while mancozeb was inefficient. The disease pattern in the field was represented by isolated foci, randomly distributed indicating that blister spot is principally transmitted through the seeds. Seeds collected from diseased plants when sowed resulted in high mortality of the seedlings with *cg* incidence of 94.8% and blister spot severity of 86.8%, while seeds collected from healthy plants produced visually healthy seedlings. It is proposed that in this pathosystem the principal transmission via of blister spot is trough the seeds (seed-plant-seed).

---

\* Advising Committee: Mario Sobral de Abreu - UFLA (Adviser); Eduardo Alves and Edson Ampélio Pozza – UFLA (Co-advisers)

## **CAPÍTULO 1**

ASPECTOS HISTOPATOLÓGICOS, EPIDEMIOLOGIA E CONTROLE DA  
MANCHA MANTEIGOSA EM *Coffea arabica* L.

## 1 INTRODUÇÃO

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. O Brasil se destaca como o maior produtor e exportador mundial, com área cultivada de 2,30 milhões de hectares, dos quais 2,14 milhões estão em produção e 165,81 mil em formação (CONAB, 2006).

Levantamento realizado pelo Ministério de Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) no período de 1º a 24 de março de 2006, prevê que a produção brasileira, para a safra 2006/2007, ficará em torno de 40,62 milhões de sacas de 60 kg, das quais 31,02 milhões de sacas serão de café arábica (76,4%) e 9,60 milhões de robusta (23,6%). O estado de Minas Gerais vem se destacando como o maior produtor nacional, com 20,10 milhões de sacas na safra atual, das quais 99,9% são de café arábica, com participação de 49,5% da produção nacional.

Estima-se que o estado de Minas Gerais possua área cultivada de 1,12 milhões de hectares (1,01 milhões em produção e 117,48 mil em formação) e participa com 48,8% da área total nacional. Nas regiões, Sul e Centro-Oeste de Minas cultivam-se 567,44 mil hectares (502,36 mil em produção e 65,08 mil em formação), o correspondente a 50,66% da área total do estado, com produção de 10,61 milhões de sacas, equivalentes a 52,8% de toda a produção mineira (CONAB, 2006).

Nos países produtores, a cultura do café é afetada por diversos problemas fitossanitários que causam perdas quando não tomadas medidas eficazes de controle. No continente Africano, *C. kahawae* ocasiona a “Coffee Berry Disease”, CBD, que ataca bagas verdes em desenvolvimento e é o

principal fator limitante à produção, com redução na produtividade entre 50% a 80%. Orozco (2003) mencionam que esta espécie patogênica de *Colletotrichum* está restrita à África.

No Brasil, distintos problemas fitossanitários acometem a cultura do café. Dentre eles a: ferrugem, cercosporiose, mancha de phoma, nematóides e as antracnoses, estão entre as principais doenças consideradas como problema (Ferreira, 2004; Ferreira et al., 2005a e Pereira, 2005).

*Colletotrichum* spp. é um importante gênero fúngico que abrange espécies saprófitas e fitopatogênicas associadas a plantas no mundo, principalmente em regiões tropicais e subtropicais (Bailey et al., 1992). O patógeno causa perdas econômicas em várias culturas, podendo as plantas serem afetadas em todos os estádios de desenvolvimento. O sintoma da doença é normalmente, conhecido como antracnoses.

A produtividade da cultura do café está sendo prejudicada pela associação de espécies de *Colletotrichum* spp. em todos os órgãos do cafeeiro: folhas, frutos, flores e ramos. A grande preocupação é a transmissibilidade deste patógeno pela semente, já que a maioria de nossas lavouras é formada a partir de mudas obtidas de sementes. Dessa forma, é de fundamental importância a obtenção de sementes 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.

A ocorrência de *Colletotrichum* é grave nas regiões cafeeiras no Brasil, principalmente quando se trata da mancha manteigosa, determinando perdas significativas de produções pelo ataque nos frutos verdes, gerando mumificações com conseqüente queda dos mesmos. Pesquisas orientadas para o 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.

Objetivou-se, neste trabalho: prover informação sobre os eventos de pré-penetração, penetração e colonização do fungo nas interações compatíveis e incompatíveis com isolados *C. gloeosporioides* inoculados em folhas de cafeeiro e verificar a colonização de *C. gloeosporioides* (mancha manteigosa) em folhas, pecíolos, nervuras, ramos, frutos e pedúnculos em condições naturais da doença (campo) através da microscopia eletrônica de varredura (MEV); avaliar a eficiência de fungicidas *in vitro* e em campo no controle da mancha manteigosa; realizar estudos epidemiológicos de dispersão espacial da doença, por meio de arranjos espaciais e da análise da dinâmica e estrutura de focos da doença; avaliar a transmissibilidade do agente da mancha manteigosa em cafeeiros (semente-planta) e estudar o efeito do tratamento de sementes de plantas doentes e sadias no referido patossistema.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 *Colletotrichum* spp. em cafeeiros

A descrição de *Colletotrichum* em cafeeiro foi feita por Noack, em 1901, referente a um isolado do Brasil, o qual denominou como *C. coffeanum* (Noack, 1902). Em 1926, no Kenya, o micologista Mc Donald relatou a variante “virulans” de *Colletotrichum* em café, associada a “Coffee Berry Disease” (CBD). Novamente, o agente causal foi identificado pelo mesmo autor, em 1923, como sendo *Colletotrichum coffeanum* Noack, ocasionando perdas de produções, já que o fungo atacava as bagas do café em todos seus estádios de formação (Vermeulen, 1979; Feitosa et al., 1977; Nutman & Roberts, 1964).

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 produção (Ferreira, 2004; Ferreira et al., 2005b; Costa et al., 2003; Vargas & González, 1972) e se encontra disseminada na maioria de nossos estados produtores de café (Minas Gerais, Espírito Santo, São Paulo e Paraná), nas espécies *arabica* e *canephora*.

O gênero *Colletotrichum* encontra-se amplamente distribuído em todas as regiões produtoras de café do mundo, ora ocorre como saprófita, ora causando doenças (Paresqui et al., 2003; Almeida et al., 2002; Orozco et al., 2002c; 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), restrita ao continente Africano e a mancha manteigosa (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.). A CBD ataca os frutos em todos os seus estádios de formação (Firman & Waller, 1977). No continente Africano, os

maiores problemas são descritos para a região do Kenya, onde há relatos de uma redução na produtividade entre 50% a 80% (Griffiths et al., 1971; Van der Graaff, 1978; Várzea et al., 2002b), devido à queda prematura dos frutos ou à sua mumificação na planta (Chen, 2002). Segundo Waller et al. (1993), Chalfoun (1997), Orozco (2003) e Várzea et al. (2002a), não se conhece nenhum relato da ocorrência da CBD confirmado no continente Americano.

No Brasil, o gênero *Colletotrichum* spp., associado ao patossistema cafeeiro, causa doenças, como antracnoses em folhas, ramos e frutos, mancha manteigosa e seca de ponteiros, entre outras (Ferreira et al., 2005; Orozco, 2003; Nechet & Abreu, 2002; Paradela Filho et al., 2001; Nechet, 1999; Alves & Castro, 1998; Dorizzoto, 1993; Almeida et al., 1979). A doença mais antiga atribuída a esse fungo é a seca de ponteiros. Os sintomas são desfolhamento e morte descendente dos ramos, 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) verificaram, no estado de São Paulo, em observações ao longo dos últimos anos, que o desequilíbrio das condições naturais de controle causa o agravamento sintomatológico da doença. As manifestações críticas e prejudiciais para o cafeeiro são aquelas em que o fungo incide sobre gemas, flores e “chumbinhos”, provocando sua morte e queda, bem como enegrecimento e morte de ramos (Paradela Filho et al., 2001 e Orozco, 2003). 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) e Pereira (2005), o patossistema cafeeiro - *Colletotrichum* 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 “sistêmica”, sem a manifestação de sintomas. Em seus estudos de caracterização bioquímica, molecular e morfológica, Orozco (2003) conclui que os isolados de *Colletotrichum* spp. do Brasil pertencem às espécies de *C. acutatum* Simmonds e *C. gloeosporioides* Penz. No mundo, 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).

Pereira (2005), por meio de estudos de compatibilidade vegetativa, caracteriza os grupos de compatibilidade vegetativa (VCG) para 23 isolados de *Colletotrichum* spp., sendo 22 de *C. gloeosporioides* e 1 isolado de *C. acutatum*, todos provenientes de cafeeiros. Dentre os *C. gloeosporioides*, 5 isolados eram de plantas com sintomas de mancha manteigosa. Foram encontrados 16 grupos de compatibilidade vegetativa, tendo a maioria sido formada por um único isolado. O isolado de *C. acutatum* foi incompatível com os demais isolados de *C. gloeosporioides*, formando um único VCG, enquanto os isolados de plantas com mancha manteigosa foram agrupados em quatro VCGs, com a maioria formada pelo o próprio isolado. Este autor afirma que a alta variabilidade encontrada entre isolados de *Colletotrichum* é pelo alto número de grupos de VCGs, o qual pode ser explicado pela reprodução sexual que há entre estes isolados. Daí vem-se configurar a complexidade de estudos com espécies de *Colletotrichum*, pois a diversidade é muito grande e pode interferir nos resultados. Na prática, verifica-se uma enorme variação patogênica entre isolados (Orozco, 2003 e Ferreira, 2004).

## **2.2 Taxonomia de *Colletotrichum* associado ao cafeeiro**

A taxonomia das espécies associadas ao gênero *Colletotrichum* no cafeeiro foi descrita por Noack, em 1902, como *C. coffeanum*. Esta designação foi utilizada por mais de 70 anos, para todos os isolados associados ao cafeeiro. Após esse período, surgiram novas propostas de classificação. Um desses estudos foi realizado por Rayner (1948), 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 culturas 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 e 1975) conduziu estudos morfológicos detalhados em isolados que ocasionavam a CBD e os classificou como: *C. coffeanum* Noack (*sensu stricto*), sendo este equivalente ao CBD var. *virulans* de Rayner (1948); *C. acutatum* Simmonds, equivalente ao ccp de Gibbis (1969) *C. gloeosporioides* Penz. *white mycelium form*, que equivale ao cca de Gibbis (1969); e *C. gloeosporioides* Penz. *greenish mycelium form*, com seu teleomorfo *Glomerella cingulata* (Stonem.) Spauld & Schronk. O mesmo autor ainda descreveu características morfológicas para separar *Colletotrichum coffeanum* (*sensu stricto*) = CBD em meio MEA e mencionou que não foi observada a forma teleomórfica nesta espécie. Posteriormente, *C. coffeanum* Noack (*sensu stricto*) passou a ser designado por todos os autores como *C. coffeanum sensu* Hindorf.

A classificação atual contempla a proposta de Waller et al. (1993), com base em características patogênicas, metabólicas e culturais de isolados de *Colletotrichum* associado ao cafeeiro no Kenya. Estes autores propuseram a alteração do nome de *C. coffeanum sensu* Hindorf para *Colletotrichum kahawae* J.M.Waller & P.D. Bridge, como se segue. A partir de colônias monospóricas de *Colletotrichum*, Waller et al. (1993) utilizaram as seguintes características para descrição de *C. kahawae*: crescimento lento de 2 a 4 mm d<sup>-1</sup> a 25°C em meio

MEA 2%, abundante micélio cinzento-esverdeado azeitona a esverdeado-escuro, sem acérvulos e esporulação em hifas simples. Quanto ao metabolismo, não se pode utilizar citrato ou tartarato como únicas fontes de carbono. Em relação à patogenicidade, esta espécie foi patogênica a frutos verdes em desenvolvimento e hipocótilos de *Coffea arabica* L. cv. SL28 e outras cultivares susceptíveis, causando lesões deprimidas típicas de antracnose. Já para *C. gloeosporioides*, nas mesmas condições, obtiveram-se crescimento rápido de 3 a 6 mm d<sup>-1</sup>, micélio branco a cinzento-claro e esporulação em acérvulos ou hifas simples. Quanto ao metabolismo, este sim, pode utilizar tartarato como única fonte de carbono. Esta espécie não foi patogênica a frutos verdes em expansão ou hipocótilos.

Esta proposta 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; Pereira, 2005).

### **2.3 Estudos de patogenicidade de *Colletotrichum* spp. em cafeeiro**

Testes de patogenicidade de isolados de *Colletotrichum* spp. causadores da mancha manteigosa têm sido realizados em várias ocasiões. No cafeeiro, os testes de patogenicidade em hipocótilos, plântulas e em frutos verdes em expansão têm revelado variáveis graus de suscetibilidade, em função do genótipo estudado (Dorizzoto & Abreu 1993b; Dorizzoto, 1993; Nechet, 1999 e 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) testaram a patogenicidade de isolados de várias espécies de *C. Kahawae*, *C. gloeosporioides* e *C. acutatum* utilizando a metodologia de infecção do hipocótilo. Plântulas de café do genótipo SL28, suscetíveis a CBD de 6-7 semanas após de semeadura, foram inoculadas por aspersão com uma suspensão de conídios ( $10^4$  esporos mL<sup>-1</sup>) provenientes do meio de extrato malte ágar 2%. Após a inoculação, as plântulas foram colocadas em ambiente saturado de 20-25°C por dois dias e, então, levadas para condições de casa-de-vegetação. Foram inoculadas de 15 a 20 plântulas por isolado e a testemunha foi pulverizada com água destilada esterilizada. O número de plântulas sobrevivente foi registrado após duas semanas e os isolados foram considerados patogênicos quando mais de 25% das plântulas foram mortas. Dentre os isolados, somente foram considerados patogênicos os que causam CBD (*C. kahawae*). Para caracterizar a patogenicidade de isolados que causam CBD, têm sido realizadas inoculações de conídios viáveis do patógeno em hipocótilos e frutos em expansão (Várzea, 1995; Várzea et al., 2002b), similarmente ao que é empregado para *C. gloeosporioides* e *C. acutatum* isolados de café no Brasil (Dorizzoto & Abreu, 1993a; Nechet & Abreu, 2002 e Orozco, 2003).

Segundo Orozco (2003), o patossistema *Colletotrichum* x cafeeiro, no Brasil, é composto por populações de espécies de *Colletotrichum* associadas ao café, ocasionando diversos sintomas ou colonizando as plantas de forma invasiva sem manifestação de sintomas. Orozco et al. (2002bd e 2003) afirmam, ainda a existência de raças patogênicas para os isolados da espécie *C. gloeosporioides* que ocasionam os sintomas de mancha manteigosa, seca de ponteiros e necrose de frutos. Esses resultados foram encontrados após teste de patogenicidade realizados no Brasil, na Universidade Federal de Lavras (UFLA)

e em Portugal, no Centro de Investigações sobre a Ferrugem do Cafeeiro (CIFC) e em estudos histopatológicos realizados no CIFC.

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 (Dorizzoto, 1993; Nechet, 1999; Dias, 2002; Nechet & Abreu, 2002 e Orozco, 2003).

Em estudos realizados por Koehler et al. (2006), por meio do uso da proteína fluorescente (GFP) na interação de *C. gloeosporioides* com *Coffea arabica*, para estabelecer a patogenicidade de um isolado, este foi transformado com GFP e, em seguida, foi inoculado em mudas de cultura de tecidos e frutos verdes (chumbinho) aderidos aos ramos. Segundo os autores, em mudas, não foram observados sintoma e nenhuma fluorescência nos tecidos analisados, enquanto que, nos frutos foi possível observar hifas fluorescentes e não fluorescentes externamente e no interior dos frutos inoculados. Com isso, os autores demonstraram a capacidade de *C. gloeosporioides* de penetrar no fruto.

Em testes de patogenicidade com, 10 isolados e *C. gloeosporioides* e 12 cultivares de *C. arabica*, Orozco (2003), utilizando plântulas no estágio palito de fósforo, confirmou a patogenicidade de isolados de mancha manteigosa sobre as cultivares Catucaí Vermelho e Catucaí Amarelo, as quais foram obtidas a partir de sementes de plantas com mancha manteigosa.

Nechet & Abreu (2002) realizaram testes de patogenicidade em plântulas e em frutos verdes com oito isolados de *Colletotrichum* spp. provenientes de café. Segundo os autores, os isolados foram patogênicos às plântulas de café, mas não foi verificada morte das mesmas até os 30 dias após a inoculação. Os sintomas que ocorreram com frequência foram lesões superficiais

castanhas e lesões mais profundas e escuras que, em alguns casos, evoluíram para lesões com início de estrangulamento de caules. Nos frutos, observaram sintomas de necrose com lesões escuras, em alguns casos com presença de acérvulos aos 30 dias após inoculação. Entretanto, sintomas de infecção em plântulas de café e frutos verdes foram observados a partir dos 10 dias após inoculação, obtendo-se infecção máxima de 51,27% e 24,55%, aos 30 dias, respectivamente.

Chen (2002), em seus estudos de patogenicidade, obteve 100% de infecção em frutos verdes, quando inoculados com *C. kahawae*, tanto por ferimentos como sem ferimentos. No entanto, quando usou um isolado de *Colletotrichum* spp., as respostas de patogenicidade foram variáveis, obtendo 3,3% de infecção em frutos sem ferimentos e 4,5% em frutos com ferimentos. O mesmo autor verificou que o estresse ao tratamento térmico (55°C por 30 segundos) em folhas destacadas e em frutos verdes de café estimulou significativamente a percentagem de germinação e a formação de apressório de *C. gloeosporioides*, bem como maior índice de infecção.

Silva et al. (1998) estudaram a patogenicidade de 17 isolados de *Colletotrichum* spp. em mudas de cafeeiro de seis meses com e sem ferimentos. Os experimentos foram conduzidos em casa-de-vegetação, à temperatura de 19°C a 36°C. A inoculação foi com suspensão de esporos de  $2 \times 10^6$  conídios mL<sup>-1</sup>. Quatro isolados foram considerados patogênicos. Os sintomas de queda de folhas e necrose de ponteiros se revelaram nas cultivares Mundo Novo e Catucaí Vermelho.

Dorizzoto (1993) estudou a patogenicidade de isolados de *Colletotrichum* spp. em plântulas de café dos genótipos Sarchimor e Catimor. As inoculações foram feitas nos estádios de “palito de fósforo” e “orelha de onça”, com suspensão de  $2 \times 10^6$  esporos mL<sup>-1</sup> e foi analisado o índice de doença. De acordo com resultados do autor, todas as progênies e a linhagem testadas se

mostraram suscetíveis, tanto em plântulas como em frutos verdes. Segundo o autor, aqueles isolados considerados patogênicos foram associados ao agente da mancha manteigosa.

No trabalho de Carrillo & Zambrano (1994), sobre patogenicidade nas cultivares Bourbón, Catuai, Caturra, Híbrido de Timor e Pacca, 10 sementes de cada foram semeadas em areia esterilizada e umidade de 85% a 90%, inoculando plântulas com seis semanas de idade. Nas avaliações, utilizaram escala de Cook (1975), composta por 12 graus (1-12) de infecção. Segundo os autores, todos os isolados produziram quadro sintomatológico semelhante, com graus de infecção variando de 1 a 4, com média entre 1,4 e 2,3. Isso indica que nenhum isolado teve sua patogenicidade positiva a nenhuma cultivar, considerando como patogênico o isolado que atingisse média de notas acima de 4.

Figueiredo & Marioto (1978) realizaram teste de patogenicidade de um isolado de *Colletotrichum* sp. proveniente de frutos de café. Para o teste, utilizaram a cultivar Mundo Novo, incubada a 22°C e esporos na concentração de  $10^8$  conídios mL<sup>-1</sup>, obtendo-se infecção de 88% em frutos verdes. Valor similar foi obtido por Dorizzoto (1993), com 71% de infecção, ao passo que Almeida et al. (1979) não obtiveram resultados de patogenicidade positivo.

No Brasil, Feitosa et al. (1977) estudaram a patogenicidade *Colletotrichum* spp. em frutos verdes de café para 1.517 isolados provenientes de ramos, folhas, pedúnculos e frutos de diferentes regiões do estado de São Paulo, no período de 1972-1974 e obtiveram baixa patogenicidade, variando entre 0% a 23,3%. Estes isolados foram identificados como *C. gloeosporioides*.

#### **2.4 Mancha manteigosa do cafeeiro**

A cafeicultura é uma atividade de grande importância para a economia brasileira, entretanto, produções econômicas máximas só são conseguidas quando se tem um bom manejo das doenças. A mancha manteigosa, cujo agente

etiológico é *C. gloeosporioides* foi relatada em *Coffea arabica*, em 1957, por Wellman (1957), na Costa Rica, reportando-se de natureza virótica, mas sem conseguir demonstrar a sua transmissão. Vargas & González (1972) demonstraram ser ocasionada pelo gênero *Colletotrichum*. No Brasil, os primeiros relatos datam de 1958, feitos por Bitancourt. Mas, somente a partir da década de 90 quando foi constatada, em lavoura cafeeira do município de Cristais, Minas Gerais, observando ataque de *Colletotrichum*, causando manchas foliares - sintomas da mancha manteigosa - e morte dos cafeeiros (Dorizzoto & Abreu 1993b), é que se começou a dar maior ênfase aos estudos deste patossistema, pois a doença afeta diretamente a produtividade (Ferreira et al., 2004).

Desde a sua aparição, na Costa Rica, como medida de controle, recomendava-se erradicar todas as plantas doentes; apesar disso, novos casos da doença surgiram (Vargas & González, 1972). Atualmente, têm-se relatos da doença nos estados de Minas Gerais, São Paulo e Paraná, na espécie *C. arabica* e nos estados de Espírito Santo, Rondônia e Amazonas, na espécie *C. canephora* (Ferreira et al., 2004). Na espécie arábica, têm sido relatados e observados sintomas da doença nas cultivares Catucaí Vermelho e Amarelo, Rubi, Mundo Novo e Catucaí Vermelho.

Orozco (2003) observou que a coloração das colônias de isolados de mancha manteigosa do Brasil é similar à dos isolados da CBD (*C. kahawae*) na África. No entanto, por meio da caracterização molecular, comparando-se isolados de CBD e mancha manteigosa, pode-se concluir que aqueles isolados da mancha manteigosa se agruparam dentro do grupo *C. gloeosporioides*, corroborando com as afirmações de Chalfoun (1997), Waller et al. (1993) e Varzea et al. (2002a), de que não se conhece nenhum relato confirmado da ocorrência da CBD no continente americano. A partir de observações de coloração e patogenicidade de isolados provenientes de mancha manteigosa,

Orozco (2003) concluiu que pode, então, tratar-se de uma nova raça patogênica e ainda sugeriu a denominação de *C. gloeosporioides*, raça mancha manteigosa.

#### **2.4.1 Sintomas e sinais da mancha manteigosa**

Wellman (1957) foi o primeiro a descrever os sintomas da mancha manteigosa. Posteriormente Vargas & González (1972), dando maior detalhamento. No Brasil, a mesma descrição foi confirmada por Bitancourt (1958) e Mansk & Matiello (1977) que, de forma detalhada, descrevem os seguintes sintomas: em folhas novas aparecem, inicialmente, manchas de cor verde-clara, de aspecto oleoso, menos brilhante que a superfície da folha, medindo de 2 a 10 mm de diâmetro. Em estágios avançados, as manchas apresentam coloração verde-pálida a amarela e bordas irregulares. Por fim, as manchas coalescem, determinando 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 em folhas e ramos novos em plantas adultas, ocorrendo necrose e seca dos ramos na parte apical, podendo levar à morte das plantas de forma descendente (Figura 1) (Ferreira et al., 2004). Esses ataques intensos observados nas folhas e ramos novos estão relacionados com a fase de maior vegetação, correspondendo ao período quente e chuvoso de outubro a fevereiro. Em cafeeiros com mancha manteigosa, a produção é afetada gradativamente, chegando a ser nula (Costa et al., 2003; Ferreira, 2004 e Ferreira et al., 2004).

Em estudos histopatológicos, por meio de microscopia eletrônica de varredura em ramos de cafeeiro com sintomas da mancha manteigosa, Pereira (2005) observou que, nos tecidos doentes, houve intensa colonização dos vasos do xilema e floema, e células do tecido cortical. Nestas regiões pode-se observar um intenso crescimento de hifas, responsáveis pela murcha e morte dos ramos.



FIGURA 1 Sintomatologia da mancha manteigosa, mostrando a gravidade da doença em campo. **A**: sintoma em folha; **B**: em fruto; **C**: mumificação de frutos; **D**: necrose de flor; **E**: sintomas em plântulas; **F**: em muda; **G**, **H** e **I**: murcha e seca de ponteiros; **J**: seca da parte apical da planta; **K**: perdas de ramos plagiotrópicos “cinturamento na planta”; **L**: recepta evidenciando sintomas em suas brotações. \*Fotos - monitoramento da mancha manteigosa realizadas por Ferreira et al. (2005).

#### **2.4.2 Importância da mancha manteigosa**

Atualmente, a mancha manteigosa é uma doença de destaque e observações em campo têm revelado o seu agravamento, principalmente quando o fungo ataca flores e frutos em expansão e as plantas doentes não conseguem produzir frutos, mesmo tendo boa floração. Na medida em que começam a se desenvolver os frutos “chumbinhos”, estes mumificam e caem ao solo, chegando a perdas totais das produções (Ferreira, 2004; Ferreira et al., 2004; Costa et al., 2003).

A mancha manteigosa é uma doença de tal complexidade que, apesar dos esforços das pesquisas, tanto na Costa Rica como no Brasil, ainda é incerta a reprodutibilidade dos sintomas. Diversas metodologias de inoculações com diferentes isolados da doença foram realizadas, mas, a característica típica da doença em folha (mancha oleosa, cor verde-pálida) ainda não foi elucidada (Ferreira, 2004; Orozco, 2003; Vargas & González, 1972). Têm-se apenas resultados positivos de necrose e morte de hipocótilos e necrose de frutos, quando estes são inoculados com isolado da mancha manteigosa (Orozco, 2003).

Em estudos de monitoramento da mancha manteigosa em campo, Ferreira (2004) verificou que, naquelas plantas com sintomas de mancha manteigosa, foi possível observar declínio vegetativo e, conseqüentemente, produtivo. Durante os dois anos de monitoramento, o autor observou perda significativa de produção, a qual chegou a ser nula em algumas plantas. Plantas recepadas tiveram suas brotações atrofiadas e, à medida que emitiam novas brotações, surgiam também sintomas da doença. Ferreira (2004) e Ferreira et al. (2004), por meio de estudos de colonização nos ovários, observam que as plantas com sintomas de mancha manteigosa foram mais suscetíveis ao *C. gloeosporioides*, com média de 27,91%, enquanto as plantas sem sintomas tiveram média de 5,83%. Por meio destes dados, os mesmos inferiram que este patógeno possui colonização sistêmica (endofítica) e o uso de recepas não

contribui para a eliminação do mesmo; sua disseminação (quando ocorre) é lenta e a sua possível transmissibilidade está vinculada às sementes de plantas doentes.

#### **2.4.3 Suscetibilidade à mancha manteigosa**

Apesar de ainda serem incertas as condições ou metodologias de inoculações que possam levar ao surgimento dos sintomas típicos da mancha manteigosa (mancha circular clorótica com aspecto oleoso), os estudos sobre esta enfermidade em cafeeiros ainda são escassos. Devem-se testar novas metodologias, combinadas com condições ambientais, para que se possa elucidar a patogenicidade de tal patossistema. Os trabalhos devem ser realizados com plantas e ou partes de plantas ainda jovens, o que pode sugerir que, na fase mais jovem, as plantas são mais suscetíveis à entrada do patógeno (Orozco, 2003 e Vargas & González 1972). Segundo Vargas & González (1972), dificilmente se isolava o fungo de folhas velhas e as lesões presentes nestas folhas, provavelmente, surgiram na folha ainda jovem.

Orozco (2003) constatou efeito patogênico para os isolados de mancha manteigosa, quando utilizou hipocótilos no estágio palito de fósforo, sendo estes provenientes de sementes colhidas em plantas doentes. Este fato também foi reportado por Vargas & González (1972), os quais acreditam que, provavelmente, há um caráter genético que predispõe estas plântulas a uma maior patogenicidade. Ferreira et al. (2004), em observações a campo, verificaram que, sob a copa de plantas doentes, existiam plântulas apresentando, em suas folhas cotiledonares, sintomas típicos da doença.

#### **2.4.4 Transmissão de *C. gloeosporioides*, agente da mancha manteigosa**

Em plantios de café aparentemente saudáveis aparecem plantas isoladas ou pequenas reboleiras sendo atacadas pela doença. Acredita-se que o fungo esteja

presente na semente (Orozco et al., 2002abc; Orozco, 2003 e Ferreira, 2004), pois existem estudos comprovando a existência e a transmissão de *Colletotrichum* spp. em semente de diferentes espécies vegetais (Neergaard, 1979; Machado, 2000 e Talamini et al., 2002). Ferreira et al. (2004) verificaram sintomas em plântulas germinadas abaixo de plantas doentes. Orozco (2003) colheu sementes em plantas doentes, plantando-as em areia estéril, isolando fungo com as mesmas características daquelas observadas em isolados de plantas adultas enfermas. Este autor acredita que a doença é expressa somente em condições especiais de suscetibilidade da planta e ou da modificação das condições ambientais. Vargas & González (1972) realizaram um experimento com enxertia de plantas sadias sobre plantas com sintomas da doença e observaram, após três anos, que os ramos provenientes dessa enxertia continuavam sadios.

Lins (2006), em suas observações por meio de microscopia eletrônica de varredura, constatou colonização por *Xylella fastidiosa* nos vasos do xilema dos pecíolos foliares de plantas com sintoma de mancha manteigosa, exceto para plantas sadias. Estudos, agora por meio de PCR (técnica de reação da polimerase em cadeia), constataram que, do lote de 40 plantas doentes com mancha manteigosa, 34% destas foram positivas a *X. fastidiosa*, enquanto que, das plantas sadias, apenas 9,3% revelaram-se positivas à bactéria. A partir desses resultados, este autor sugere a possível interação complexa entre *C. gloeosporioides-X. fastidiosa* que podem interagir por meio de enzimas, toxinas ou metabólicos, dando tal sintoma em folhas (Lins, 2006). Neste patossistema têm-se alcançado resultados positivos de patogenicidade em hipocótilos e frutos verdes quando inoculados com isolado de plantas doentes, os quais provocam necroses e morte de hipocótilos e necroses de frutos (Dorizzoto, 1993; Nechet & Abreu, 2002; Dias, 2002; Orozco, 2003; Ferreira et al., 2004; Ferreira, 2004; Pereira, 2005; Lins, 2006).

## **2.5 Estudos dos eventos da infecção de *Colletotrichum***

Segundo Perfect et al. (1999), os eventos de pré-penetração das espécies de *Colletotrichum* parecem ser análogos, porém, existem diferenças entre as espécies nos mecanismos de adesão de esporos e a relativa importância da melanização e cutinases para a penetração da cutícula da planta a partir do apressório. De acordo com os mesmos autores, é difícil generalizar os processos de infecção das diferentes espécies, principalmente em âmbito molecular. A pré-penetração, para o caso *Colletotrichum* spp., envolve o conjunto de eventos que ocorrem a partir do início da germinação do esporo até a penetração da hifa infectiva no hospedeiro, incluindo o movimento direcionado do patógeno em relação ao hospedeiro e o seu crescimento na superfície do hospedeiro com a produção de estruturas especializadas (Amorim, 1995a).

### **2.5.1 Germinação de conídios e formação do tubo germinativo**

Os conídios de *Colletotrichum* spp. são unicelulares (Sutton, 1980; Mendgen & Deising, 1993), envolvidos por abundante quantidade de material fibrilar extracelular, comumente mencionado na literatura como matriz ou mucilagem extracelular. Essa matriz caracteriza-se por ser solúvel em água, possuir altos níveis de polissacarídeos e glicoproteínas (compostas de oligômeros de manose, ramnose, galactose e glicose e altos níveis de aminoácidos hidrofóbicos e hidrofílicos) como componentes principais e enzimas associadas que podem ser importantes para a infecção das plantas hospedeiras (Mercure, Kunoh & Nicholson, 1994; Van Dyke & Mims, 1991; Hoch & Staples, 1987; Emmett & Parbery, 1975; Bergstrom & Nicholson, 1981; Porter, 1969; Bergstrom & Nicholson, 1999; Mendgen & Deising, 1993; Sugui, et al., 1998; Bailey et al., 1992). Os mesmos autores mencionam que essa matriz conidial está presente em várias espécies de *Colletotrichum* e tem um papel importante na sobrevivência, na dispersão e na patogenicidade do fungo. Essa

mucilagem também está presente nos tubos germinativos e apressórios e é, geralmente, requerida como material responsável para a aderência dessas estruturas nas superfícies do hospedeiro (Bergstrom & Nicholson, 1999; Mendgen & Deising, 1993; Bailey et al., 1992). Outra importante função relacionada à mucilagem conidial é controlar a germinação dos conídios. Assim, quando localizados em massas em acérvulos ou em suspensão com alta concentração de esporos, existe um auto-inibidor de germinação denominado micosporina-alanina (Mercure, Kunoh & Nicholson, 1994; Bergstrom & Nicholson, 1999).

Na seqüência de eventos pré-infeccionais, após a deposição dos propágulos sobre a superfície das plantas, a aderência de esporos e tubos germinativos é essencial e determina o sucesso da infecção. Apesar de bastante estudada, o mecanismo pelo qual a adesão é mediada, é pobremente entendido (Mendgen & Deising, 1993; Sugui, et al., 1998; Van Dyke & Mims, 1991), tem sido catalogado como fator de virulência (Van Dyke & Mims, 1991) e é considerado um fenômeno não específico (Bailey et al., 1992). Contudo, analogias existem entre os processos envolvidos para as diferentes espécies do gênero *Colletotrichum* que já foram estudadas. Em *C. graminicola*, duas fases de adesão dos conídios têm sido observadas no hospedeiro; a primeira acontece poucos minutos após inoculação e a segunda aproximadamente 3 horas após germinação, indicando que esta última ocorre como resultado da germinação dos conídios (Mercure, Kunoh & Nicholson, 1994). Em ensaios realizados por estes pesquisadores em membrana de diálise (usada como substrato artificial), foi observada, após a aplicação, uma série de mudanças estruturais na germinação de conídios e no desenvolvimento de apressórios de *C. truncatum* patogênicos de plantas. Assim, entre 1 a 2 horas, há uma simples divisão mitótica no conídio; de 2 a 3 horas, iniciação do tubo germinativo e formação de um septo no conídio; de 3 a 5 horas, desenvolvimento do tubo germinativo, simples divisão

mitótica no tubo germinativo e iniciação de formação de apressório; entre 5 a 6 horas, maturação e melanização de apressórios e, entre 6 a 9 horas, desenvolvimento e crescimento da hifa de penetração.

Em relação ao tempo de germinação dos conídios de *Colletotrichum* spp., Nair & Corbin (1981) observaram que, na interação *C. acutatum* f.sp. *pineae* e *Pinus radiata*, a germinação dos esporos em folhas primárias esteve, entre 6 a 96 horas após inoculação, a 25°C, com a emissão de 1 a 2 tubos germinativos da parte lateral perto do final do conídio. De forma análoga a esta informação, Mendgen & Deising (1993) mencionam que *C. lindemuthianum*, em ambiente aquoso, produz um simples tubo germinativo. Já Marks et al. (1965) relatam que a germinação de conídios e a formação de apressórios na interação de *C. gloeosporioides* e *Populus tremuloides*, ocorreram 24 horas após a inoculação em folhas. Para esta mesma espécie, porém, em frutos de solanáceas, Takatsu (1970) determinou que formas fisiológicas patogênicas do fungo tiveram 25°C a 30°C como temperaturas ótimas e 16 a 18 horas para germinação de conídios e formação de apressórios. Entretanto, nas interações de *C. fragariae* e morango, estudada por Milholland (1982), e *C. graminicola* e em milho, por Mercure, Mercure, Kunoh & Nicholson (1994) observaram que conídios germinaram em 6 horas após inoculação.

### **2.5.2 Formação de apressórios**

A pré-penetração de *Colletotrichum* spp. compreende o conjunto de eventos que ocorrem a partir do início da germinação do esporo até a penetração da hifa infectiva no hospedeiro. O termo apressório foi introduzido por Frank, em 1883 (mencionado por Emmett & Parbery, 1975), para designar "órgãos tipo esporo" formados a partir de tubos germinativos de *C. lindemuthianum*. Esta estrutura tem como funções a adesão, a penetração, a sobrevivência e de serem sítios de atividade química. Também considera-se que a iniciação, a formação e

a ação do apressório são partes integrais do processo de infecção de muitos fungos fitopatogênicos, sendo a formação deste, em alguns casos, obrigatória e, em outros, opcional ou não necessária (Emmett & Parbery, 1975). O esporo do fungo adere à superfície do hospedeiro, à cutícula e o tubo germinativo pode reconhecer sítios adequados de penetração sobre o qual um apressório é formado a partir de estímulos tigmotróficos, químicos (íons de potássio e açúcares) ou por mudanças na temperatura. Os receptores de sinais para tal diferenciação são, a matriz extracelular do esporo e os mensageiros secundários (Mendgen & Deising, 1993; Hoch & Staples, 1987; Hardham, 1992).

Um apressório pode ser considerado como uma diferenciação morfológica (inchaço) do ápice de uma hifa, que forma uma elevação, a partir da qual origina-se uma hifa de penetração que invade o hospedeiro (Hoch & Staples, 1987; Ainsworth, 1995; Amorim, 1995a). Entretanto, Emmett & Parbery (1975) consideram esta definição morfológica inadequada e sugerem que o apressório seja uma estrutura básica, cuja função é permitir a entrada no hospedeiro.

Alguns autores citam que a formação deste apressório é a primeira e mais importante estrutura formada na penetração para a colonização do hospedeiro daqueles fungos nos quais esta estrutura é necessária (Hoch & Staples 1987; Emmett & Parbery, 1975). Mas, sinais indutivos na formação de apressórios podem ser heterogêneos, mesmo para fungos que infectam só folhas de plantas (Mendgen & Deising, 1993). De acordo com a literatura, existem características típicas que permitem associar esta estrutura como determinante na penetração do fungo. Por exemplo, um apressório está completamente diferenciado e maduro quando este torna-se melanizado. A presença desta melanina na parede do apressório permite-lhe sobrevivência e desenvolvimento excepcional de pressão hidrostática para a penetração mecânica na parede celular do hospedeiro (Bergstrom & Nicholson, 1999; Mendgen & Deising,

1993, Tsuji et al., 1997; Perfect et al., 1999). Recentemente, três genes têm sido identificados como responsáveis pela síntese de melanina: (*Poliketide synthase*) PKS1, (*Scytalone dehydratase*) SCD1 e (*1,3,8-THN reductase*) THR1 e têm sido clonados e analisados a partir de *C. lagenarium* (Perfect et al., 1999).

Na seqüência de eventos da pré-penetração, a maturação do apressório, sua boa localização e o tempo oportuno sobre o hospedeiro permitirão o desenvolvimento da hifa de penetração, situação que ocorre sob esta estrutura. A partir do poro apressorial, uma fina zona circular localizada na base do apressório, que não é melanizada, nasce uma hifa de penetração que tem uma nova estrutura de parede e aspectos que servem para romper a parede celular da planta (Bergstrom & Nicholson, 1999; Mendgen & Deising, 1993; Perfect et al., 1999; Brown, 1977). O diâmetro da hifa de infecção oscila entre 0,1- 0,8 mm (Brown, 1977; Marks et al., 1965; Mendgen & Deising, 1993 ). O processo de infecção é ajudado pela presença e ou produção de várias enzimas produzidas pelo fungo (cutinases e celulasas, pectinases e poligalacturonases) (Bergstrom & Nicholson, 1999; Mendgen & Deising, 1993). De acordo com estudos histopatológicos realizados por Chau & Alvarez (1983), na interação *C. gloeosporioides* e frutos de mamão sem ferimentos, a hifa de infecção penetrou a cutícula e originou-se a partir de um apressório observado 3 a 4 dias após a inoculação. Para esta mesma espécie fúngica, porém associada a tangerinas, Brown (1977) observou eventos análogos. Marks et al. (1965) relatam a formação de apressório de *C. gloeosporioides* em folhas novas suscetíveis de *Populus tremuloides*, tendo ocorrido houve uma relação compatível; contudo, foi incompatível em folhas velhas, mesmo havendo formação de apressórios. Segundo os autores, a penetração do fungo na cutícula do hospedeiro foi por pressão mecânica e, possivelmente, por um abrandamento químico produzido pelo fungo através da hifa de infecção que apresentou consistência rígida.

Penetração nas cavidades estomatais não foi observada (Chau & Alvarez, 1983; Marks et al., 1965).

Para a espécie *C. acutatum* f.sp. *pineae* na interação com *Pinus radiata*, realizadas por Nair & Corbin (1981), relatam penetração da hifa de infecção, originada sob o apressório, evento que aconteceu a partir de conídios germinados 24 horas após a inoculação. Conforme os autores, os apressórios podem-se originar diretamente do esporo ou a partir do tubo germinativo, em alguns casos e, para esta última alternativa, mais de um apressório pode ser formado. Milholland (1982) cita que os processos de pré-penetração, formação de apressórios e penetração de *C. fragariae*, em pecíolos de morango, ocorrem entre 12 a 24 horas após a inoculação, em tecidos de cultivares resistentes e suscetíveis.

De maneira antagônica ao anteriormente descrito, a partir de estudos histopatológicos, Roberts & Snow (1984), em cápsulas de algodão infectadas por *C. capsici*, demonstraram que, para esta interação, o fungo, alternativamente, pode penetrar através de aberturas estomatais, sem formação de apressório. Porto et al. (1988) observaram a penetração direta das hifas de *C. trifolii* em hastes de alfafa sem a formação de apressórios, concluindo que apressórios nem sempre são necessários para a penetração deste fungo. Outra via de penetração não comum, porém, relatada para espécies deste gênero, é por meio de tricomas glandulares (Porto et al., 1988; Nair & Corbin, 1981; Milholland, 1982). De acordo com os relatos mencionados, existe variação quanto à formação ou não do apressório e à forma de infecção a partir da hifa de penetração das espécies de *Colletotrichum* nas interações já estudadas. Entretanto, a formação de apressórios com sua respectiva melanização permite a penetração mecânica da hifa de infecção no hospedeiro e, segundo Bailey et al. (1992), isso acontece para a maioria de espécies de *Colletotrichum*, principalmente aquelas que infectam tecidos novos.

### 2.5.3 Infecção, colonização e latência

Existem vários relatos sobre relações patógeno-hospedeiro para o gênero *Colletotrichum* spp. e sabe-se que há diversidade de critérios, de acordo com a espécie botânica, a idade e o órgão da planta infectada. Para muitas espécies fitopatogênicas, após a entrada da hifa de penetração na célula do hospedeiro, uma vesícula de infecção é formada sem penetração na membrana plasmática e, a partir da mesma, inicia-se a hifa primária, ocorrendo o crescimento biotrófico do fungo por um curto período de tempo. Uma vez estabelecido nos tecidos do hospedeiro, o patógeno inicia o parasitismo como um necrotrófico, ocasionando maceração dos tecidos (Bergstrom & Nicholson, 1999).

Quanto à emissão da hifa de penetração de espécies patogênicas de *Colletotrichum*, diferentes tempos têm sido relatados, variando de acordo com a relação hospedeiro-patógeno envolvidos. Porto et al. (1988) relatam que hifas de isolados de *C. trifolii* penetraram entre 12 a 24 horas após a inoculação em hastes de alfafa. Tempos análogos foram encontrados por Chau & Alvares (1983), que mencionam a formação de "pegs" como formas de infecção de *C. gloeosporioides* em frutos de mamão 24 horas após a inoculação. Nair & Corbin (1981), na interação *C. acutatum* f.sp. *pineae* e *Pinus radiata*, relatam formação de hifas de infecção também 24 horas após a inoculação. Daykin & Milholland (1984), estudando a histopatologia de uva muscadínea e *C. gloeosporioides*, observaram a penetração do fungo uma semana após inoculação sobre frutos verdes ou em amadurecimento.

Após os eventos de pré-penetração, várias estratégias são utilizadas por *Colletotrichum* spp. na colonização dos tecidos e, de acordo com os processos de infecção em diferentes hospedeiros, três categorias são relatadas: a) hemibiotrofia intracelular em *C. lindemuthianum*, *C. gloeosporioides*, *C. graminicola*, *C. orbiculare* e *C. truncatum*; b) intramural subcuticular, relatada para *C. capsici*, *C. circinans*, *C. gloeosporioides* e *C. phomoides*; e c) espécies

que exibem ambas, infecção hemibiotrófica intracelular e intramural subcuticular, como *C. gloeosporioides* (Lopez, 2001, Perfect et al., 1999; Bailey et al., 1992).

Por meio de estudos histopatológicos realizados por Porto et al. (1988) com *C. trifolii*, em alfafa e Milholland (1982), com *C. fragariae* em morango, comprovou-se que, após a penetração do fungo nesses hospedeiros, as hifas cresceram em direção ao sistema vascular da hospedeira e a colonização foi inter e intracelular. Para infecções ocasionadas por *C. gloeosporioides* em frutos de várias espécies botânicas, o crescimento subcuticular, normalmente, é observado após a penetração (Brown, 1977; Chau & Alvarez, 1983). Entretanto, o crescimento micelial intra e intercelular também ocorre em estádios avançados nas lesões deprimidas em frutos, formadas durante o desenvolvimento do fungo no tecido do hospedeiro e ainda acontece a produção de acérvulos, completando o ciclo da doença (Brown, 1977; Chau & Alvarez, 1983; Daykin & Milholland, 1984).

A colonização dos vasos do xilema e o crescimento sistêmico na cultura de milho por *C. graminicola* já foram relatados (Bergstrom & Nicholson, 1999). Tais informações fornecem uma idéia sobre a complexidade da biologia de *Colletotrichum* e, no meio desses processos, existem outros fenômenos específicos evolutivos ou adaptativos deste fungo, associados para algumas interações, como o caso da latência.

Menciona-se que latência de *Colletotrichum* spp. já foi observada a partir dos apressórios formados na superfície do hospedeiro, mesmo sem penetração do fungo, o que explica como muitas destas espécies persistem sobre tecidos de plantas (Bergstrom & Nicholson, 1999; Binyamini & Schiffmann, 1972; Verhoeff, 1974). De acordo com os mesmos autores, a penetração pode ocorrer imediatamente a partir do apressório e o fungo permanecer em forma latente por um período na epiderme das folhas. Entretanto, segundo Bergstrom

& Nicholson (1999), latência é predominante, especialmente sobre tecidos de plantas inoculadas durante uma fase de rápido crescimento vegetativo.

Conforme Amorim (1995b), o período latente de um patógeno serve como uma indicação na avaliação da resistência do hospedeiro. Em condições favoráveis de ambiente e sob a pressão de raças agressivas do patógeno, diversas variedades de uma espécie vegetal podem ser classificadas em diferentes níveis de resistência, de acordo como a duração da latência do patógeno em questão. Ainda de acordo com a mesma autora, latência maior indica maior resistência da planta à colonização e, como consequência, menor número de ciclos do patógeno será produzido sobre aquela variedade particular e menor deverá ser a quantidade de doença no final da cultura.

A definição de infecção latente tem sido enfocada para definir a quiescência ou relação parasítica de dormência que, após certo tempo, pode mudar para uma fase ativa (Verhoeff, 1974). Existem relatos de latência para *Colletotrichum* spp. em que este fitopatógeno penetra nos frutos ainda verdes, onde permanece inativo até seu amadurecimento. Assim, frutos aparentando completa sanidade quando verdes podem vir a apresentar grande quantidade de lesões por ocasião do amadurecimento, embora a infecção tenha ocorrido muito antes (Chau & Alvarez, 1983; Verhoeff, 1974; Amorim, 1995b; Binyamini & Schiffmann, 1972).

#### **2.5.4 Efeitos citopatológicos ocasionados por *Colletotrichum***

Existem vários efeitos citopatológicos ocasionados por espécies de *Colletotrichum* em interações compatíveis. Segundo Bailey et al. (1992), após a infecção, as células do hospedeiro mostram evidências de distúrbio osmótico e, eventualmente, o citoplasma degenera gradualmente. De acordo com os autores, durante a fase saprofítica do fungo, ocorrem morte e maceração de tecidos infectados, provocadas pela ampla produção de enzimas (poligalacturonase,

pectina-liase e proteases, entre outras) que degradam os componentes estruturais dos tecidos, podendo chegar a matar as células e algumas toxinas não específicas detectadas em estudos *in vitro* (*colletotrichinas*, *aspergillo-marasminas* e *colletopironas*), que contribuem para o aparecimento do sintoma típico de antracnose. Órgãos, como os cloroplastos, são altamente sensitivos, com notáveis mudanças na célula pela invasão de hifas de *Colletotrichum* (Sziráki et al., 1984; Brown, 1977) e, segundo Sziráki et al. (1984), tais alterações na estrutura do cloroplasto são comumente observadas em tecidos infectados.

Pesquisas realizadas por Milholland (1982) permitiram a detecção do colapso e da necrose dos tecidos vasculares e do córtex de pecíolo de morango após penetração de *C. fragariae*. O mesmo autor relata o engrossamento da parede celular e a deposição de material péctico nos espaços intercelulares do córtex, assim como a acumulação de taninos nas células que rodeiam o parênquima e formação de tiloses nos vasos do xilema. Resultados análogos foram encontrados por Chau & Alvarez (1983), em estudos histopatológicos de antracnose em mamão ocasionado por *C. gloeosporioides*. Estes autores observaram eventual separação e colapso em células infectadas, invasão do tecido vascular e morte desses tecidos. Na interação *C. acutatum* f.sp. *pineae* e *Pinus radiata*, Nair & Corbin (1981) relatam o colapso de células após infecção do fungo em folhas primárias de plantas jovens.

## **2.6 Estudos epidemiológicos de *Colletotrichum* spp na cultura do café**

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 1.600 metros e quando do início das chuvas (Nutman & Roberts, 1964; Gibbs, 1969; Nutman & Roberts, 1969). Nas regiões altas, a incidência da doença é maior, pois nelas 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; Nutman & 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°C 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 temperatura 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).

No Brasil, poucos são os relatos que caracterizam estudos epidemiológicos de *Colletotrichum* spp. associado ao cafeeiro, mesmo sabendo da importância deste gênero, pois diversas doenças estão associadas à *Colletotrichum* spp. as quais provocam perdas de produções. Ferreira (2004), estudando a incidência e o progresso de *C. gloeosporioides* em folhas de cafeeiro no campo, observou o máximo de doença nos meses de março, abril e maio, período de maior volume pluviométrico, maior umidade relativa do ar, em torno de 80% e temperaturas médias de 23°C. Ferreira et al. (2004), em estudos de monitoramento da evolução sintomatológica da mancha manteigosa (*C. gloeosporioides*), verificaram que a doença foi mais severa após o florescimento das plantas. Em seguida, ocorriam mumificações dos frutos na fase chumbinho;

a agressividade da doença aumentou com o início do período chuvoso. O mesmo autor, estudando o efeito da recepa para o controle da doença (mancha manteigosa), observou que, em plantas recepadas, à medida que eram emitidas novas brotações, juntamente surgiam também sintomas da doença. Estas brotações eram totalmente debilitadas, apresentavam crescimento lento e, em pouco tempo, ocorreriam necrose e seca dos ramos. As plantas, como resposta de sobrevivência, emitiam novas brotações.

### **2.6.1 Controle do *Colletotrichum* spp. no cafeeiro**

O controle de *C. gloeosporioides* em diversas culturas é realizado, principalmente, pelo uso de fungicidas, porém, para a cultura do cafeeiro, são poucos os fungicidas registrados para o controle deste patógeno e menos ainda focando-se o controle do patótipo que causa a mancha manteigosa. Segundo o Ministério da Agricultura (MAPA), estão registrados 14 produtos para o controle de *C. coffeanum*, os quais se restringem aos fungicidas protetores do grupo químico inorgânico, sobretudo os cúpricos e do grupo químico ditiocarbamato, representado unicamente pelo mancozeb como ingrediente ativo. Quando se faz a busca por *C. gloeosporioides* associado ao cafeeiro, nenhum produto está registrado (BRASIL - Ministério da Agricultura, 2006). Em virtude deste fato, conclui-se que há uma desatualização, pois subentende-se, que *C. Coffeanum* e *C. gloeosporioides* são sinonímicas. Mas, de fato, quando se fazem pesquisas nas empresas fabricantes de fungicidas, observa-se que elas não têm priorizado os testes de produtos no controle, o que é um fato negativo pois, no campo, têm-se observado sérios problemas, principalmente de queda de frutos verdes e mumificações, ocasionando perdas na produção (Ferreira, 2004).

Em busca de alternativas para o manejo de *C. gloeosporioides* patótipo mancha manteigosa, pesquisadores realizaram recepa baixa em plantas doentes, porém não atingiram seu controle. Concluíram, então, que em plantas com

sintoma da doença, receitas não colaboram para eliminação deste patógeno, pois este coloniza o sistema vascular das plantas doentes (Pereira et al., 2005a; Ferreira, 2004; Orozco, 2003). Assim, estes pesquisadores inferiram que o uso de fungicidas de contato pode ter pouco efeito no controle desta doença e que fungicidas sistêmicos podem proporcionar melhores resultados, mas devem ser previamente testados para possíveis recomendações aos produtores.

A mancha manteigosa é uma doença grave que vem ocasionando perdas de produções em cafeeiros, pois o fungo coloniza o sistema vascular, o que dificulta as medidas de controle. Ferreira et al. (2005b) verificaram efeito de alguns fungicidas na redução da morte de ramos, causada por *Colletotrichum* spp. em cafeeiros com mancha manteigosa, destacando-se o triadimenol, tetraconazol e mancozeb, com redução de 51%, 29% e 26,5% dos ramos mortos em relação à testemunha, dados obtidos no primeiro ano de avaliação.

### 3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AINSWORTH, G. C. **Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi**. 8. ed. Surrey: CMI Kew. 1995. 616 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.

AMORIM, L. Colonização e reprodução. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995b. v. 1, Cap. 16, p. 309-324.

AMORIM, L. Infecção. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995a. v. 1, Cap. 15, p. 295-308.

BAILEY, J. A.; O'CONNEL, R. J.; PRING, R. J.; NASCH, C. Infection strategies of *Colletotrichum* species. In: BAILEY, J. A.; JEGER, M. J. (Ed.). *Colletotrichum* **Biology, pathology and control**. England: CAB, 1992.

BERGSTROM, G. C.; NICHOLSON R. L. The biology of corn anthracnose: knowledge to exploit for improved management. **Plant Disease**, St. Paul, v. 83, n. 7, p. 596-608, July 1999.

BERGSTROM, G. C.; NICHOLSON R. L. Invertase in the spore matrix of *Colletotrichum graminicola*. **Phytopathology Zeitschrift**, Berlin, v. 102, p. 139-147, 1981.

BINYAMINI, N.; SCHFFMANN-N., M. Latent infection in avocado fruit due *Colletotrichum gloeosporioides*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 62, n. 6, p. 592-594, June 1972.

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

BRASIL - Ministério da Agricultura. **Agrofit**. Disponível em: <[http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)>. Acesso em: 3 jun. 2006.

BROWN, G. E. Ultrastructure of penetration of ethylene-degreened Robinson tangerines by *Colletotrichum gloeosporioides*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 67, n. 3, p. 315-320, Mar. 1977.

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

CHAU, K. F.; ALVAREZ, A. M. A histological study of anthracnose on *Carica papaya*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 73, n. 8, p. 1113-1116, Aug. 1983.

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.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Março 2006: **SEGUNDA PREVISÃO DA SAFRA DE CAFÉ 2006/2007**. Disponível em: <[http://www.conab.gov.br/download/safra/2ºLevantamento-Safra\\_2006-07.pdf](http://www.conab.gov.br/download/safra/2ºLevantamento-Safra_2006-07.pdf)>. Acesso em: 12 abr. 2006.

COOK, R. T. A. The effect of weather conditions on infection by coffee berry disease. **Kenya Coffee**, Nairobi, v. 40, n. 2, 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.

DAYKIN, M.; MILHOLLAND, R. B. Histopathology of ripe rot caused by *Colletotrichum gloeosporioides* on muscadine grape. **Phytopathology**, St. Paul, v. 74, n. 11, p. 1339-1341, Nov. 1984.

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, MG.

DORIZZOTO, 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.

DORIZZOTO, 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.

DORIZZOTO, 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.

EMMETT, R. W.; PARBERRY, D. G. Appressoria. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 13, p. 147-167, 1975.

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.; 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**, Lavras, v. 29 n. 4 p. 880-885 jul./ago. 2005a.

FERREIRA, J. B.; SILVA, E. H.; FERNANDES, K. D.; PEREIRA, R. B.; ABREU, M. S.; PEREIRA, I. S. Efeito de fungicidas no controle da seca de ramos do cafeeiro (*C. arabica* L.) com mancha manteigosa (*Colletotrichum* spp.). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30, p. 111-111, 2005b. (Resumo). Suplemento.

FERREIRA, J. B. **Flutuação Sazonal e associação de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. a diferentes órgãos e tecidos cafeeiros (*Coffea arabica* L.)** 2004. 90 p. Dissertação (mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras.

FERREIRA, J. B.; PEREIRA, I. S.; FERNANDES, K. D.; ABREU, M. S. Prejuízos ocasionados pela mancha manteigosa em cafeeiros (*Coffea arabica* L.). In: ENCONTRO SUL MINEIRO DE CAFEICULTURA, 10.; SIMPÓSIO DE PESQUISA CAFEIEIRA DO SUL DE MINAS, 5., 2004, Lavras. **Anais...** Lavras: Necaf, 2004. 1CD-ROM

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.

FIGUEREDO, P.; MARIOTO, P. R. *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. Atacando frutos verdes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.). **O Biológico**, São Paulo, v. 44, n. 1, p. 25-26, jan. 1978.

FIRMAN, I. D.; WALLER, J. M. Coffee berry disease and other *Colletotrichum* disease of coffee. **Phytopathological Papers**, 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. **Annals Applied Biology**, London, v. 67, n. 1, p. 45-74, Jan. 1971.

HARDHAM, A. R. Cell biology of pathogenesis. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 43, p. 491-523, 1992.

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.

HOCH, H. C.; STAPLES, R. C. Structural and chemical changes among the rust fungi during appressorium development. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 25, p. 231-247, 1987.

KOEHLER, A. D.; ZAMBOLIM, E. M.; QUEIROZ, M. V.; RIBEIRO, R. A.; CAIXEITA, E. T.; ZAMBOLIM, L. Uso da proteína fluorescente na interação de *Colletotrichum gloeosporioides* com *Coffea arabica*. **Summa phytopathologica**, Botucatu, v. 32, p. 87-87, 2006. (Resumo). Suplemento.

LINS, S. R. O. **Estudos histopatológicos da mancha manteigosa em cafeeiro (*Coffea arabica* L.) e comportamento de isolados de *Colletotrichum* spp. em plantas obtidas por cultura de embrião**. 2006. 104 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

LOPEZ, A. M. Q. Taxonomia, patogênese e controle de espécies do gênero *Colletotrichum*. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 9, p. 291-338, 2001.

MACHADO, J. C. **Tratamento de sementes no controle de doenças**. Lavras: LAPS/UFLA/FAEPE, 2000. 138 p.

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.

MARKS, G. C.; BERBEE, J. C.; RIKER A. J. Direct penetration of leaves of *Populus tremuloides* by *Colletotrichum gloeosporioides*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 55, n. 4, p. 408-412, Apr. 1965.

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.

MENDGEN, K.; DEISING, H. Infection structures of fungal plant pathogens a cytological and physiological evaluation. **New Phytologist**, Cambridge, v. 124, n. 2, p. 193-213, June 1993.

MERCURE, E. W.; KUNOH, H.; NICHOLSON, R. L. Adhesion of *Colletotrichum graminicola* conidia to corn leaves: a requirement disease development. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 45, n. 6, p. 407-420, Dec. 1994.

MILHOLLAND, R. D. Histopathology of strawberry infected with *Colletotrichum fragariae*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 72, n. 11, p. 1434-1439, Nov. 1982.

NAIR, J.; CORBIN, J. B. Histopathology of *Pinus radiata* seedlings infected by *Colletotrichum acutatum* f. sp. *pineae*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 71, n. 8, p. 777-783, Aug. 1981.

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 Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 6, p. 1135-1142, nov./dez. 2002.

NEERGAARD, P. **Seed pathology**. London: MacMillan Press, 1979. 839 p.

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 arábica (*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 arábica (*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 arábica (*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 Agrônomo 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, I. S. **Compatibilidade vegetativa e sexual do complexo *Glomerella-Colletotrichum* associado ao cafeeiro e estudos histopatológicos.** 2005. 92 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

- PEREIRA, I. S.; FERREIRA, J. B.; ABREU, M. S. Pré- infecção de *Colletotrichum gloeosporioides* em hipocótilos de cafeeiros inoculados artificialmente. In: IV SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 4., 2005, Londrina. **Anais...** Londrina, PR: CBP&D-Café, 2005. n. 4, p. 1CD-ROM.
- PERFECT, S. E.; HUGHES, H. B.; O'CONNELL, R. J.; GREN, J. R. *Colletotrichum*: a model genus for studies on pathology and fungal-plant interactions. **Fungal Genetics and Biology**, San Diego, v. 27, n. 2/3, p. 186-198, July 1999.
- PORTER, F. M. Protease, cellulase, and differential localization of endo- and exopolysaccharidase in conidia and conidial matrix of *Colletotrichum orbiculare*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 59, n. 9, p. 1209-1213, Sept. 1969.
- PORTO, M. D. M.; GRAU, C. R.; DE ZOETEN, G. A.; GAARD, G. Histopathology of *Colletotrichum trifolii* on alfalfa. **Phytopathology**, St. Paul, v. 78, n. 3, p. 345-349, Mar. 1988.
- RAYNER, R. W. Latent infection in *Coffea arabica* L. **Nature**, London, v. 161, n. 4085, p. 245-246, Feb. 1948.
- ROBERTS, R. G.; SNOW, J. P. Histopathology of cotton boll rot caused by *Colletotrichum capsici*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 74, n. 4, p. 390-397, Apr. 1984.
- 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.
- 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.

SUGUI, J. A.; LEITE, B.; NICHOLSON, R. L. Partial characterization of the extracellular matrix released onto hydrophobic surfaces by conidia and conidial germlings of *Colletotrichum graminicola*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 52, n. 6, p. 411-425, June 1998.

SUTTON, B. C. **Coelomycetes**. Surrey: CMI Kew, 1980. 696 p.

SZIRÁKI, I.; MUSTÁRDY, L. A. FALUDI-DÁNIEL, Á.; KIRÁLY, Z. Alterations in chloroplast ultrastructure and chlorophyll content in rust-infected pinto beans at different stages of disease development. **Phytopathology**, St. Paul, v. 74, n. 1, p. 77-84, Jan. 1984.

TAKATSU, A. **Estudos sobre os agentes causais das antracoses dos frutos de pimentão (*Capsicum annum* L.), beringela (*Solanum melongena* L.) e jiló (*Solanum jillo Raddj*) que ocorrem nos núcleos rurais do Distrito Federal**. 1970. 69 p. Dissertação (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

TALAMINI, V.; POZZA, E. A.; MACHADO, J. C.; OLIVEIRA, F. A. Epidemiologia de doenças associadas a *Colletotrichum* spp. transmitidas por sementes. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 10, p. 219-248, 2002

TSUJI, G.; TOSHIYUKI, T.; FURASAWA, I.; HORINO, O.; KUBO, Y. Carpropamid, na anti-rice blast fungicide, inhibits scytalone dehydratase activity and apressorial penetration in *Colletotrichum lagenarium*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, San Diego, v. 57, n. 3, p. 211-119, Mar. 1997.

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

VAN DYKE, C. G.; MIMS, C. W. Ultrastructure of conidia, conidium germination, and apressorium development in the plant pathogenic fungus *Colletotrichum truncatum*. **Canadian Journal Botany**, Ottawa, v. 69, n. 11, p. 2445-2467, Nov. 1991.

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, apr./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, June 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.

VERHOEFF, K. Latent infections by fungi. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 12, p. 99-110, 1974.

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**

ESTUDOS HISTOPATOLÓGICOS DE *Colletotrichum gloeosporioides*  
INOCULADOS EM FOLHAS DE *Coffea arabica* L. E EM ÓRGÃOS DE  
PLANTAS NATURALMENTE INFECTADOS COM SINTOMAS DA  
MANCHA MANTEIGOSA

## 1 RESUMO

FERREIRA, Josimar Batista. Estudos histopatológicos de *Colletotrichum gloeosporioides* inoculados em folhas de *Coffea arabica* L. e em órgãos de plantas naturalmente infectados com sintomas da mancha manteigosa. In: **Aspectos histopatológicos, epidemiologia e controle da mancha manteigosa em *Coffea arabica* L** 2006. Cap. 2 p.43-79. Tese (Doutor em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.\*

O presente trabalho teve por objetivo prover informação sobre os eventos de pré-penetração, penetração e colonização de *C. gloeosporioides* nas interações compatíveis e incompatíveis em folhas de cafeeiros e conferir a colonização de *C. gloeosporioides*, agente da mancha manteigosa (MM), em condições naturais da doença, sobre os diferentes órgãos e tecidos: folhas, pecíolos, nervuras, ramos, frutos e pedúnculos. Utilizou-se a cv. Catucaí Vermelho. As folhas foram selecionadas, padronizadas e lavadas, demarcando-se áreas circulares de 0,5 cm de diâmetro na face abaxial, inoculando-se uma alíquota de 20 µL da suspensão de conídios. Utilizou-se um isolado da mangueira e dois de plantas com MM. Realizaram-se avaliações nos tempos de 3, 6, 8, 12, 24, 36, 48, 72, 96, 144, 240 horas após inoculação (hai). Todos os materiais foram processados, obtendo-se imagens no microscópio eletrônico de varredura. Os conídios de todos os isolados aderiram mais freqüentemente nas depressões e células-guarda dos estômatos, formando septo antes da germinação. A penetração, na maior parte, se deu por via direta e muito raramente por estômatos. Isolados da MM germinam em folhas de 6 a 8 horas, produzindo apressórios 12 horas e acérvulos de 96 a 144 hai. Já o isolado de manga germina de 6 a 8 horas com apressório de 8 a 12 hai e produzem novos conídios diretamente em hifas conidiogênicas e não formam acérvulos. Os ramos e as nervuras de folhas de cafeeiros com MM, apresentando murcha e morte descendente e hipocótilos oriundos de sementes, têm os vasos do xilema, floema e células do córtex colonizadas por *C. gloeosporioides*, já os frutos com sintoma de MM apresentam infecções nos tecidos do exocarpo, mesocarpo, endocarpo e endosperma.

---

\* Comitê de Orientação: Mario Sobral de Abreu - UFLA (Orientador); Eduardo Alves e Edson Ampélio Pozza - UFLA (Co-orientadores)

## 2 ABSTRACT

FERREIRA, Josimar Batista. Histopathology of *Colletotrichum gloeosporioides* inoculated on leaves of *Coffea arabica* and infected organs naturally affected by blister spot. In: **\_ Aspects histopathology, epidemiology and control of blister spot on *Coffea arabica* L.** 2006. Cap. 2 p.43-79. Thesis (Doctorate in Plant Pathology) – Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil.\*

The present study was carried out with the objective to provide information on the pre-penetration, penetration and colonization events of *Colletotrichum gloeosporioides* in coffee leaves in compatible and incompatible interactions and to observe the colonization of leaves, petioles, veins, shoots, fruits and stalks of fruits by *C. gloeosporioides*, the causal agent of blister spot, in natural infections in the field. The cultivar Catucaí Vermelho was used in all experiments. Coffee leaves were selected, standardized and washed in sterile water. After that, circular areas of 0.5 cm in diameter were marked on the undersurface of the leaves. In the center of each circular area 20 µL of spore suspension was deposited. One isolate from mango and two from coffee presenting blister spot were used in all trials. The time course of the experiments was 3, 6, 8, 12, 24, 36, 48, 72, 96, 144 and 240 hours after inoculation (h.a.i.). All materials were analyzed through scanning electron microscopy. The conidia of all isolates adhered more frequently on the plant tissue depressions and guard-cells forming septum before germination. The most common penetration via was the direct, although some penetration through stomata had occurred. Isolates obtained from blister spot symptoms germinated on coffee leaves after 6 to 8 h.a.i., producing appressorium after 12 h.a.i., and acervuli after 96 to 144 h.a.i. The isolate from mango germinated on the coffee leaves after 6 to 8 h.a.i. and formed appressorium after 8 to 12 h.a.i., but was unable to form acervuli, bearing conidia directly from conidiogenous hyphae on the mycelium. The shoots and veins of coffee leaves affected by blister spot presented wilt and die-back, while hypocotyls from seedlings had their xylem, phloem e cortical cells colonized by *C. gloeosporioides*. Fruits showing blister spot symptoms had their exocarp, mesocarp, endocarp and endosperm tissues colonized by *C. gloeosporioides*.

---

\* Advising Committee: Mario Sobral de Abreu - UFLA (Adviser); Eduardo Alves and Edson Ampélio Pozza– UFLA (Co-advisers)

### 3 INTRODUÇÃO

Em fitopatologia, os estudos até o momento, para o patossistema *Colletotrichum* spp. e cafeeiro no Brasil, têm sido dirigidos à etiologia do patógeno, à patogenicidade e à caracterização de isolados. Poucos estudos têm sido voltados aos aspectos histopatológicos na interação patógeno-hospedeiro. Contudo, a partir desse campo de estudo, já foi possível descrever os processos do ciclo da doença para várias espécies deste gênero em outras culturas hospedeiras. A biologia do fungo, os detalhes que ocorrem nos diferentes processos e subprocessos do ciclo da doença, têm permitido caracterizar as mudanças ou danos histopatológicos ocasionados pelo fungo nas células de interações compatíveis. Uma compreensão dos eventos de pré-penetração, de como o patógeno infecta e coloniza o hospedeiro e como a planta estabelece mecanismos de resistência pré e pós-formados, é fundamental para o estabelecimento de medidas de controle da doença (Lopez, 2001; Bailey, et al., 1992; Porto et al., 1988; Nair & Corbin, 1981; Roberts & Snow, 1984; Milholland, 1982; Hoch & Staples, 1987; Hardham, 1992).

Tempo de duração e forma de colonização de *Colletotrichum* spp. e a existência de período latente, principalmente em frutos (Chau & Alvarez, 1983; Brown, 1977; Daykin & Milholland, 1984; Van Dyke & Mims, 1991; Binyamini & Schiffmann, 1972), têm sido estudados. Espécies deste gênero apresentam diversas estratégias na colonização dos tecidos, que vão de hemibiotrofia intracelular em *C. lindemuthianum*, *C. gloeosporioides*, *C. graminicola*, *C. orbiculare* e *C. truncatum*; a intramural subcuticular, relatada para *C. capsici*, *C. circinans*, *C. gloeosporioides* e *C. phomoides* e há espécies que exibem ambas, infecção hemibiotrófica intracelular e intramural subcuticular, como *C. gloeosporioides* (Lopez, 2001).

O cafeeiro defende-se dos agentes fitopatogênicos passiva ou ativamente. Tal capacidade permite atrasar ou evitar a entrada e ou subsequente atividade de *Colletotrichum* spp. (fatores de resistência pré e pós-formados, estruturais ou bioquímicos). Entretanto, menciona-se que o grau de envolvimento desses fatores nas respostas de resistência varia entre as diferentes interações hospedeiro-patógeno ou em função de idade da planta, órgão/tecidos afetados, estado nutricional e condições ambientais (Pascholati & Leite, 1995). Técnicas, como estudos histopatológicos, têm permitido realizar descrição de alguns mecanismos de resistência (Johansen, 1940; Nair & Corbin; 1981, Milholland, 1982; Daykin & Milholland, 1984). Na relação *Colletotrichum gloeosporioides*-cafeeiro não existem relatos nesta área de pesquisa.

Este estudo foi realizado com o objetivo de prover informação sobre os aspectos da infecção, por meio da microscopia eletrônica de varredura em folhas de cafeeiro nos eventos de pré-penetração, penetração e colonização do fungo nas interações compatíveis e incompatíveis, com isolados *C. gloeosporioides* e verificar a colonização de *C. gloeosporioides*, agente da mancha manteigosa em condições naturais da doença sobre folhas, pecíolos, nervuras, ramos, frutos e pedúnculos.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos nos Laboratórios de Diagnose e Controle de Enfermidades de Plantas e de Microscopia Eletrônica e Análise Ultraestrutural (LME) no Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG.

### 4.1 Obtenção de isolados de *Colletotrichum* spp.

Os isolados de *Colletotrichum* spp. utilizados neste estudo foram provenientes de plantas com sintomas da mancha manteigosa e de antracnose de folhas de mangueira (*mangifera indica* L.).

Foram coletadas folhas com sintomas da antracnose de mangueira, ramos e hipocótilos com sintomas de *Colletotrichum* spp. da mancha manteigosa em cafeeiros no município de Lavras, região sul do estado de Minas Gerais (Tabela 1). O material vegetativo com os sintomas do fungo foi analisado no Laboratório de Diagnose e Controle de Enfermidades de Plantas do Departamento de Fitopatologia da UFLA.

TABELA 1 - Relação dos isolados de *Colletotrichum* spp. utilizados nos estudos ultra-estrutural em folhas de cafeeiro. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Isolado	Órgão	Sintoma	Procedência	Ano
I-J2	Ramo	<sup>1</sup> Necrose	Lavras, campus UFLA.	2005
I-J6	Hipocótilo	<sup>1</sup> Necrose	Lavras, campus UFLA.	2005
I-Manga	Folha	<sup>2</sup> Necrose	Lavras, campus UFLA.	2005

<sup>1</sup> plantas com sintomas de mancha manteigosa; <sup>2</sup> mangueira.

Para o isolamento de *Colletotrichum* spp. procedeu-se da seguinte maneira: secções do tecido infectado, obtidas em locais de lesões jovens (sem

necrose), foram superficialmente desinfestadas com álcool 50% e hipoclorito de sódio 1%, por 1 minuto e transferidas para placa de Petri com meio de cultura MEA 2% (extrato de malte-ágar) e incubadas por 7 dias em câmara de crescimento a temperatura de 23°C±2 e fotoperíodo de 12 horas. Após constatação do fungo *Colletotrichum*, as colônias foram purificadas e em seguida, utilizadas para a obtenção de culturas monospóricas.

#### **4.2 Obtenção de culturas monospóricas**

A partir das colônias puras de *Colletotrichum* cultivadas em meio de cultura MEA 2%, foram realizadas suspensões de esporos pela adição de 20 mL de água destilada esterilizada. Essa suspensão foi vertida em placas de Petri contendo meio ágar-água 2%. Após 24 horas, em câmara de fluxo laminar, sob microscópio estereoscópio (40<sub>x</sub>), foram transferidos individualmente os esporos germinados para placa de Petri contendo meio MEA 2%. Para cada isolado, foram obtidos quatro isolados monospóricos. Após a obtenção das culturas monospóricas de *Colletotrichum* spp., os diferentes isolados foram preservados pelas metodologias: tubos com meio MEA 2%, tal como recomendado por Waller et al. (1993) e em água esterilizada, segundo o método de Castellani, citado por Dorizzoto (1993).

#### **4.3 Estudos de pré-penetração, penetração, infecção e colonização em folhas inoculadas**

##### **4.3.1 Seleção de material vegetativo de café para estudos histopatológicos em folhas**

Utilizou-se a cultivar Catucaí Vermelho, do campo experimental do Setor de Cafeicultura do Departamento de Agricultura da UFLA. Foram coletadas folhas de plantas com sintoma de mancha manteigosa e folhas de

plantas sem sintomas da doença, todas colhidas no terceiro par de folhas, em ramos plagiotrópicos no terço médio das plantas.

#### **4.3.2 Preparo do material para inoculações**

Folhas colhidas no campo foram padronizadas e selecionadas passando por processo de lavagens, primeiramente lavadas em solução de detergente neutro a 0,5%, em seguida em água destilada esterilizada por duas vezes (2x) para a retirada do excesso do produto e secas em papel filtro. Prosseguindo, foram feitas demarcações das áreas por meio de círculos de, aproximadamente, 0,5 cm diâmetro na face abaxial. Utilizou-se caneta de tinta permanente, dando uma orientação pontual da inoculação. Foram marcados oito pontos por folha, sendo quatro de cada lado da nervura central.

Em seguida, foram acondicionadas em bandejas forradas com espuma de poliuretano (2x40x23 cm) e papel germitest, ambos umedecidos com água destilada e esterilizada, proporcionando a manutenção da umidade. Em seguida, foram cobertos com papel alumínio perfurado.

As folhas lavadas e secas, já com o ponto de inoculação demarcado, foram dispostas paralelamente sobre a bandeja, por cima de papel alumínio perfurado num total de 14 folhas por bandeja. Em seguida, cobriu-se o ápice foliar e o pecíolo com algodão umedecido por água esterilizada, proporcionando o prolongamento da manutenção da característica fisiológica foliar (evitar perda de água por evaporação) tendo em vista os tempos de avaliações prolongarem-se por vários dias. Em seguida, procedeu-se à inoculação dos isolados.

#### **4.3.3 Inoculações e avaliações**

Nas áreas demarcadas, foram inoculadas alíquotas de 20 µL da suspensão de conídios ( $2 \times 10^6$  conídios mL<sup>-1</sup>). Utilizaram-se três isolados de *C.*

*gloeosporioides*, sendo um isolado da antracnose da mangueira e dois de plantas com sintomas da mancha manteigosa em cafeeiro.

Após inoculação, as bandejas foram revestidas com saco plástico, para formar câmara úmida, evitando a perda da água por evaporação no decorrer das avaliações. Todo o material inoculado foi acondicionado em câmaras BOD na temperatura de  $23 \pm 2$  °C.

As avaliações foram realizadas nos tempos, de 3, 6, 8, 10, 12, 18, 24, 36, 48, 72, 96, 144, 240 horas após a inoculação.

#### **4.4 Estudos da colonização de *C. gloeosporioides*, agente da mancha manteigosa, em condições naturais da doença**

Foram coletados, em plantas doentes com mancha manteigosa, diferentes órgãos e tecidos do cafeeiro: folhas, pecíolos, nervuras, hipocótilos, ramos, frutos e pedúnculos. Todos os materiais foram fixados em solução Karnovsky modificada, acondicionados em tubos “ependorfs” de 1,5 mL. Todos estes materiais sofreram processo de criofratura em nitrogênio líquido.

#### **4.5 Preparo das amostras para corte em nitrogênio líquido**

Amostras de hipocótilos, folhas, nervuras, pecíolos de folhas, pedúnculos e endosperma de frutos foram retirados e transferidos para glicerol 30%, por 30 minutos. Em seguida, foram imersos em recipiente plástico contendo nitrogênio líquido e cortados com bisturi sobre placa de metal imersa em recipiente de isopor “térmico” também contendo nitrogênio líquido. Seccionaram-se transversalmente os fragmentos das amostras e, em seguida, foram transferidos para “ependorfs” contendo água destilada.

#### **4.6 Preparo das amostras - microscopia eletrônica de varredura (MEV)**

A preparação das amostras foi realizada no laboratório de Microscopia e Análise Ultraestrutural (LME), no Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras, UFLA, MG segundo protocolo descrito por Alves, (2005).

#### **4.7 Observação de imagens em MEV**

As amostras devidamente preparadas e identificadas foram examinadas ao microscópio de varredura LEO EVO 40XVP. As imagens foram geradas e registradas digitalmente, tendo diversas fotomicrografias para cada amostra nas condições de trabalho de 20Kv e distância de trabalho variando de 9 a 12 mm. As imagens geradas foram gravadas e abertas no Software Photopaint, do pacote Corel Draw 11.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Eventos da infecção de *Colletotrichum gloeosporioides* em cafeeiro

Observaram-se diferentes aspectos histopatológicos entre os isolados de *C. gloeosporioides*. Os conídios de todos os isolados aderiram mais frequentemente nas depressões e células-guarda dos estômatos, formando septo antes da germinação (Figuras 1A, 2A, 3A e 4A). A penetração, em sua maior parte, se deu por via direta e muito raramente por estômatos (Figuras 1E e 4E). Para alguns isolados, pôde-se observar a degradação de cutícula no ponto de aderência dos apressórios (Figuras 2D, 3E e 4D). Segundo Perfect et al. (1999), os eventos envolvidos na pré-penetração e penetração das espécies de *Colletotrichum* parecem ser análogos, porém, existem diferenças entre as espécies nos mecanismos de adesão, melanização e produção de cutinases para penetração na cutícula da planta.

#### 5.1.1 Aspectos da infecção de *C. gloeosporioides* - isolado mancha manteigosa

A aderência dos conídios se deu, na maioria das vezes nas depressões foliares e na região das células-guarda dos estômatos (Figura 1A e 2A). Resultados semelhantes foram encontrados por Lins (2006), quando foram inoculados em folhas providas de plântulas de cultura de tecido. Pereira et al. (2005c), quando inocularam em hipocótilos, observaram uma maior aderência nas depressões e relataram ter ocorrido certa correlação com a topografia do hospedeiro. Neste trabalho, verificou-se que, três horas após a inoculação ocorreu o intumescimento dos conídios, formando septo, “divisão mitótica no conídio”, (até três septos por conídio) (Figuras 3A e 3B).

Lins (2006) verificou, em hipocótilos de cafeeiro inoculados, a formação de septo de 2 a 3 horas após a inoculação. Já em ensaios realizados por Mercure,

Kunoh & Nicholson (1994), em membrana de diálise (usada como substrato artificial), foi observada após a inoculação, uma série de mudanças estruturais na germinação de conídios de *C. truncatum* patogênicos de plantas. Entre 1 a 2 horas, houve uma simples divisão mitótica no conídio e, de 2 a 3 horas, iniciação do tubo germinativo e formação de um septo no conídio.

No isolado J-12 (Figura 1), observou-se uma abundante quantidade de material extracelular “mucilagem”, com forte adesão dos conídios (Figura 1B), sendo também constatada no isolado J-16 (Figura 2), porém, em menor quantidade (Figura 2B). Vários autores relatam a importância da mucilagem, a qual está envolvida na sobrevivência, na dispersão e na patogenicidade (Bergstrom & Nicholson, 1999; Mendgen & Deising, 1993; Bailey et al., 1992). Essa matriz caracteriza-se por ser solúvel em água, possuir altos níveis de polissacarídeos e glicoproteínas como componentes principais e enzimas associadas que podem ser importantes para a infecção das plantas hospedeiras (Mercure, Kunoh & Nicholson, 1994; Bergstrom & Nicholson, 1981; Bergstrom & Nicholson, 1999; Mendgen & Deising, 1993; Sugui, et al., 1998; Bailey et al., 1992). Outra importante função relacionada à mucilagem conidial é o controle da germinação dos conídios. Assim, quando localizados em massas em acérvulos ou em suspensão com alta concentração de esporos, existe um autoinibidor de germinação denominado micosporina-alanina (Mercure, Kunoh & Nicholson, 1994; Bergstrom & Nicholson, 1999).

Foi também observada a presença de mucilagem nos tubos germinativos e apressórios (Figuras 2C, 2D e 3E). Segundo Bergstrom & Nicholson (1999), ela é, geralmente, responsável pela aderência dessas estruturas nas superfícies do hospedeiro.

Com relação ao material vegetal estudado, não houve diferenças significativas nos eventos histopatológicos entre folhas de cafeeiro inoculadas com sintoma da mancha manteigosa, “manchas cloróticas de aspecto oleoso” e

folhas de plantas saudáveis. Entre 3 e 5 horas após a inoculação, não se observou a germinação de conídios, independente da origem do isolado e do material inoculado.

Na literatura, verifica-se uma enorme variação dentro do gênero *Colletotrichum* spp. no tempo de germinação, iniciando-se entre 4 a 96 horas após inoculação (Nair & Corbin, 1981; Roberts & Snow, 1984; Bailey et al., 1992, Orozco, 2003).

O início da germinação ocorreu entre 6 a 8 horas após a inoculação para os isolados da mancha manteigosa, quando alguns conídios emitiam um ou dois tubos germinativos (Figura 1C e 2B). Pereira (2005) menciona que, na interação *C. gloeosporioides*-cafeeiro, a germinação dos conídios em hipocótilos ocorreu 6 horas após a inoculação, com fermento e 12 horas em hipocótilos sem fermentos. Resultado análogo foi encontrado por Lins (2006), observando germinação de conídio 5 horas após inoculações para *C. gloeosporioides*, 12 horas para *C. acutatum* e 24 horas para *C. dematium* inoculados em folhas e hipocótilos de plântulas de cafeeiro de cultura de tecido. Para outras combinações do fungo e outros hospedeiros o tempo de germinação é bastante variável. Nair & Corbin (1981) observaram que, na interação *C. acutatum* f.sp. *pineae* e *Pinus radiata*, a germinação dos esporos em folhas primárias esteve entre 6 a 96 horas após inoculação, com a emissão de 1 a 2 tubos germinativos da parte lateral perto do final do conídio. Mendgen & Deising (1993) mencionam que *C. lindemuthianum*, em ambiente aquoso, produz um simples tubo germinativo. Já Marks, et al. (1965) relatam que a germinação de conídios e a formação de apressórios na interação de *C. gloeosporioides* e *Populus tremuloides*, ocorreram 24 horas após a inoculação em folhas. Entretanto, nas interações de *C. fragariae* e morango, estudadas por Milholland (1982) e *C. graminicola* e em milho, por Mercure, Kunoh & Nicholson (1994), os conídios germinaram em 6 horas após a inoculação.

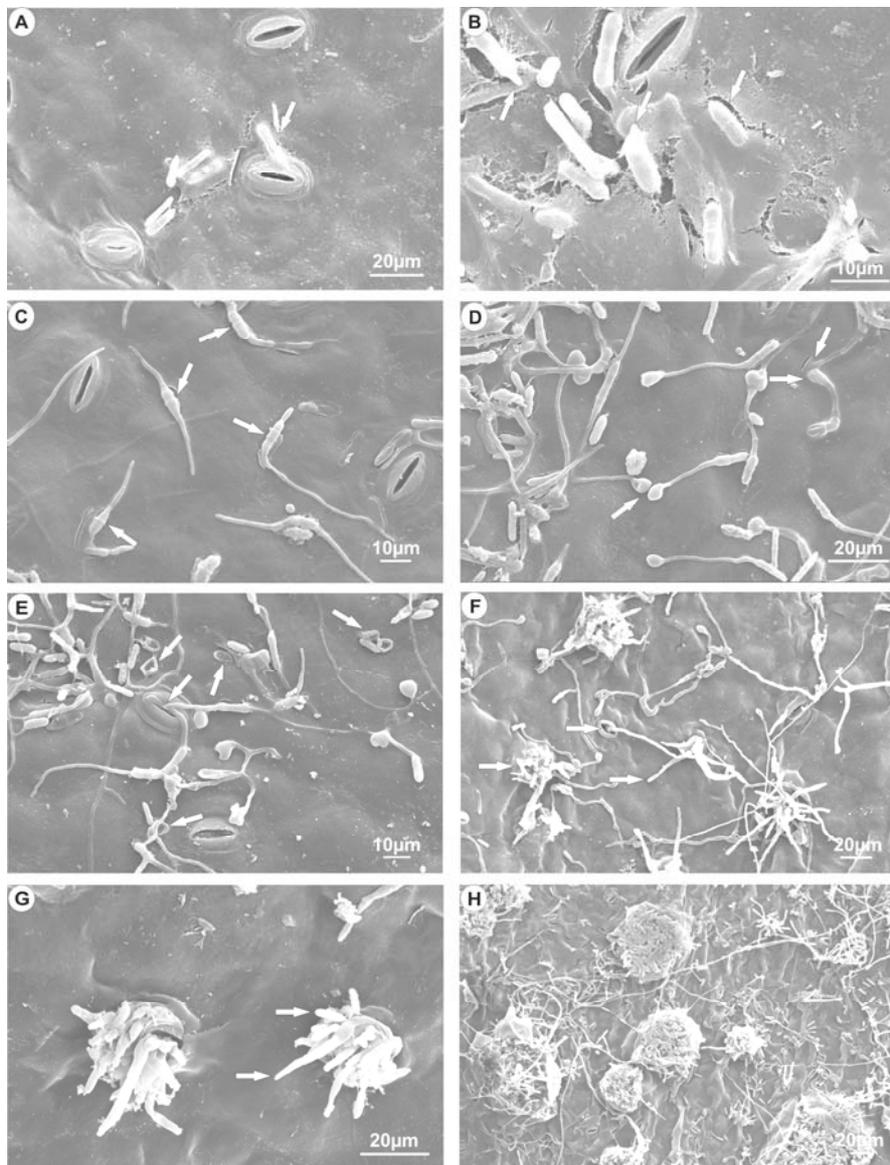


FIGURA 1 Eletromicrografias de varredura nos eventos de penetração, colonização e reprodução de isolado (J-I2) de mancha manteigosa inoculado em folhas de cafeeiro. A e B: aderência de conídios; C: germinação de conídios; D: formação de apressórios; E: penetração via estômato; F, G e H: produção de acérvulos e conídios.

Para todos os isolados verificaram-se tubos germinativos formados somente nas extremidades, tendo de um a dois tubos germinativos por conídio sendo, em sua maioria, longos, com a formação de apressório (Figuras 1D e 2D).

A emissão de mais de um tubo germinativo é comumente observada para o gênero *Colletotrichum* (Nair & Corbin 1981; Mercure, Kunoh & Nicholson 1994; Pereira et al., 2005c; Lins, 2006). Em alguns trabalhos, foi relatada a emissão de tubos germinativos nas extremidades como lateralmente (Lins, 2006; Pereira, 2005; Nair & Corbin 1981), porém, neste estudo isso não ocorreu.

A formação de apressório ocorreu 12 horas após a inoculação, sendo a maioria formada em tubos germinativos longos direcionados à região do estômato (células-guardas) (Figura 1D e 2D), porém, observaram-se também apressórios em tubos germinativos curtos (Figura 3C e 3E). A maioria dos apressórios eram globosos a subglobosos, de contorno regular, entretanto, houve alguma variação na forma, em alguns casos (Figura 3D), em forma de vírgula e (Figura 3G) trilobados. Lins (2006) observou característica semelhante quanto à forma de apressório, relatando apressórios do tipo globosos a subglobosos, em forma de vírgula e trilobados, para *C. dematium*. Pereira et al. (2005c) encontraram, em *C. gloeosporioides*, apressórios globosos a subglobosos, fato também reportado por Nair & Corbin (1981).

Os apressórios têm como funções adesão, penetração, sobrevivência e de serem sítios de atividade química. Um apressório pode ser considerado como uma diferenciação morfológica (inchaço) do ápice de uma hifa que forma uma elevação a partir da qual se origina uma hifa de penetração que invade o hospedeiro (Hoch & Staples, 1987; Ainsworth, 1995; Amorim, 1995). Nair & Corbin (1981) relatam que, na espécie *C. acutatum* f.sp. *pineae*, a formação de apressório ocorreu 24 horas após a inoculação, ocorrendo a penetração da hifa de infecção. Conforme os autores, os apressórios podem-se originar diretamente

do esporo ou a partir do tubo germinativo. Segundo Chau & Alvarez (1983), na interação *C. gloeosporioides* e frutos de mamão sem ferimentos, a hifa de infecção penetrou a cutícula, originada a partir de um apressório, a qual foi observada de 3 a 4 dias após a inoculação. Já Milholland (1982) cita que a formação de apressórios de *C. fragariae* em pecíolos de morango ocorre entre 12 a 24 horas após a inoculação em tecidos de cultivares resistentes e suscetíveis.

Na interação *Colletotrichum*-cafeeiro, poucos são os trabalhos que evidenciam os processos de pré-penetração e penetração. Pereira et al. (2005c) e Pereira (2005) verificaram a formação de apressórios 12 horas após inoculação, enquanto Lins (2006) observou-a somente a partir de 24 horas, para *C. gloeosporioides* e 12, para *C. acutatum*. Segundo Chen (2002), apenas 6 horas após a inoculação de *C. gloeosporioides* sobre folhas e frutos verdes de café foi o necessário para a formação de apressórios. Segundo o mesmo autor, o mesmo tempo foi suficiente para a produção de apressórios de *C. kahawae* inoculados em folhas e frutos verdes de café.

Nesta investigação foi possível observar a penetração de hifas em estômatos de folhas de cafeeiro inoculados com *C. gloeosporioides*, agente mancha manteigosa (Figura 1E). Em estudos histopatológicos realizados por Roberts & Snow (1984), em cápsulas de algodão infectadas por *C. capsici*, para esta interação, o fungo, alternativamente, penetrou através de aberturas estomatais, sem formação de apressório. Porto et al. (1988) observaram a penetração direta das hifas de *C. trifolii* em hastes de alfafa sem a formação de apressórios, concluindo que apressórios nem sempre são necessários para a penetração deste fungo. De acordo com os relatos mencionados, existe variação quanto à forma de infecção das espécies de *Colletotrichum* nas interações já estudadas. Entretanto, a formação de apressórios com sua respectiva melanização permite a penetração mecânica da hifa de infecção no hospedeiro e,

segundo Bailey et al. (1992), isso acontece para a maioria de espécies de *Colletotrichum*, principalmente aquelas que infectam tecidos novos.

No caso dos isolados de mancha manteigosa testados, todos apresentaram sucesso na colonização em tecidos foliares de folhas de café, pois verificou-se a formação de acérvulos (Figuras 1F,G,H e 2F,G,H), sendo mais abundante no isolado J-12 (Tabela 1), o qual iniciou às 96 horas após a inoculação (Tabela 2), saindo pelas aberturas estomatais, produzindo conídios nas extremidades de setas (Figura 1G). Já o isolado J-16 teve início às 144 horas após a inoculação. Para este isolado, 96 horas após a inoculação, se observou a esporulação diretamente em hifas de células conidiogênicas (Figura 2E).

Em relação à produção de acérvulos, Lins (2006) estudou a interação de *Colletotrichum* spp. em plântulas de cafeeiro providas de cultura de tecido, na qual observou que o isolado da haste (*C. gloeosporioides*) de plantas com sintomas da mancha manteigosa foi capaz de produzir acérvulos 72 horas após a inoculação. Para *C. dematium* em 96 horas e 144 horas após a inoculação para *C. acutatum*, todos inoculados em tecidos cafeeiros. Resultados análogos foram observados por Orozco (2003), constatando a formação de acérvulos em tecidos de cafeeiro inoculados com *C. gloeosporioides* em microscopia de luz, nove dias após a inoculação.

Dentre os isolados provenientes de plantas com sintomas de mancha manteigosa, verificou-se que o isolado da haste (J-12) foi mais severo, destacando-se pela colonização dos tecidos (Figura 1) e pela intensa produção de acérvulos e conídios (Figura 1H). Lins (2006), em seus estudos histopatológicos, verificou que, quando se utilizou isolado de haste de plantas doentes com mancha manteigosa, também ocorreu tal destaque. Não foi observado nenhum microrganismo na testemunha inoculada com água destilada autoclavada (Figuras 3H e 3I).

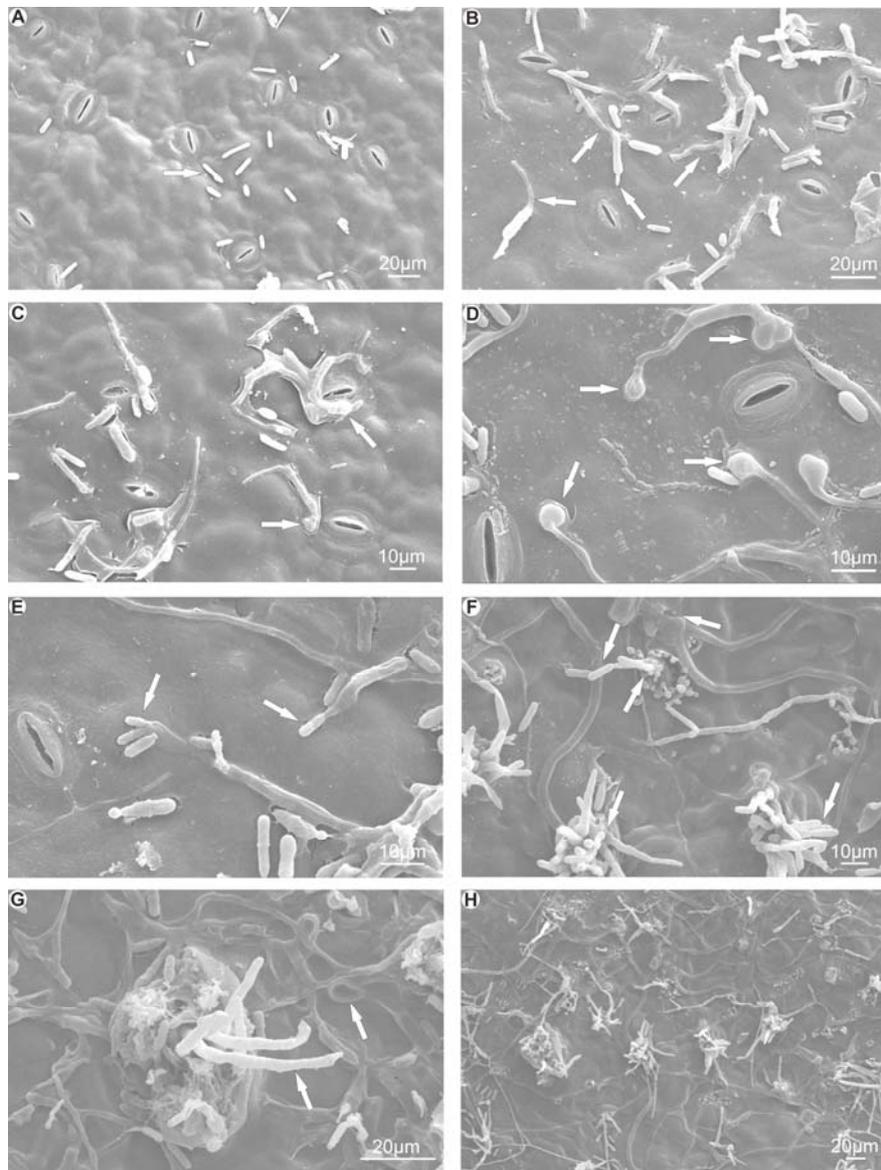


FIGURA 2 Eletromicrografias de varredura nos eventos de penetração, colonização e reprodução de isolado (J-I6) de mancha manteigosa inoculado em folhas de cafeeiro. A: aderência de conídios; B e C: germinação; D: formação de apressórios; E: produção de conídios “células conidiogênicas”; F, G e H: produção de acérvulos e conídios.

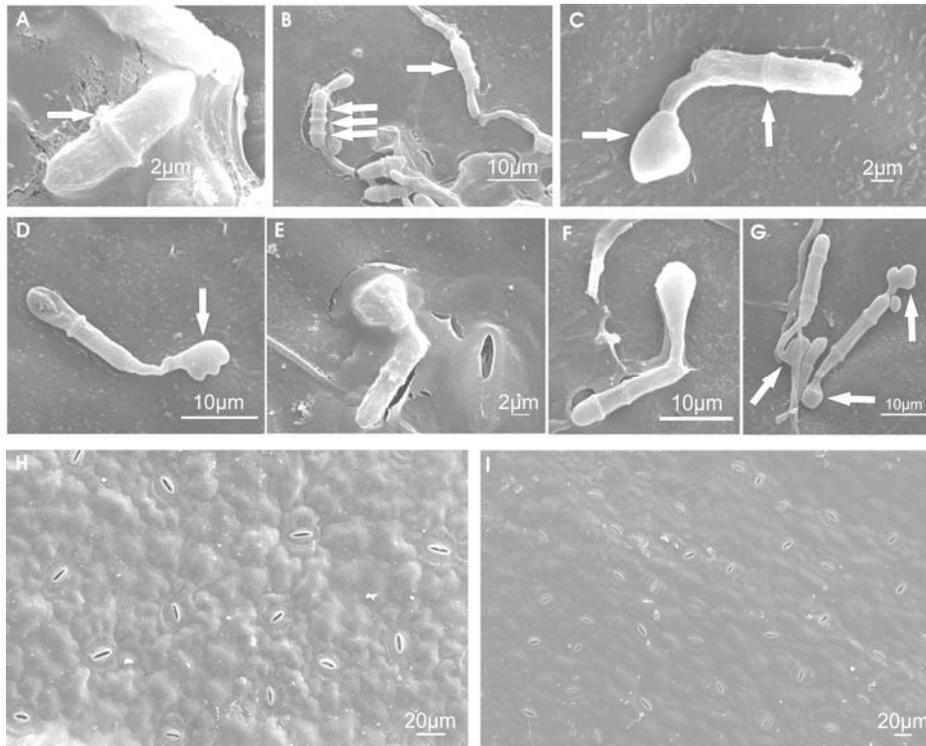


FIGURA 3 Eletromicrografias de varredura de isolado de mancha manteigosa inoculado em folhas de cafeeiro mostrando: A e B; septo ante da germinação; C, D, E, F e G: formas de apressórios; H e I: testemunha inoculada com água.

### 5.1.2 Aspectos da infecção de *C. gloeosporioides* - isolado manga

A aderência de conídios se deu similarmente ao observado nos isolados de mancha manteigosa, com maior aderência nas depressões e células guardas dos estômatos (Figura 4A). Resultados análogos foram observados por Lins (2006), Pereira (2005) e Pereira et al. (2005c), inoculando diferentes isolados de *Colletotrichum* spp. em hipocótilos de cafeeiro. Foi observada a presença de septos antes da germinação, 3 horas após a inoculação, fato também registrado para os isolados de mancha manteigosa.

O isolado de manga, quando inoculado em folhas com sintomas de mancha manteigosa, iniciou a germinação e o crescimento do tubo germinativo 8 horas após a inoculação (Figura 4B) e a formação de apressório somente a partir das 12 horas (Figuras 4C e D), mas, quando inoculado em folhas saudáveis, houve antecipação na germinação dos conídios, bem como na formação de apressório, as quais ocorreram 6 horas e 8 horas após a inoculação, respectivamente (Tabela 2). Há uma enorme variação dentro do gênero *Colletotrichum* spp. no tempo de germinação que pode variar de 4 a 96 horas após a inoculação (Nair & Corbin, 1981; Roberts & Snow, 1984; Bailey et al., 1992; Orozco, 2003; Pereira, 2005; Pereira et al., 2005c; Lins, 2006). Estudos realizados nas interações de *C. fragariae* e morango, por Milholland (1982), e *C. graminicola* e em milho, por Mercure, Kunoh & Nicholson (1994), constataram germinação de conídios 6 horas após a inoculação. Entretanto, Marks et al. (1965) relatam que a germinação de conídios e a formação de apressórios, na interação de *C. gloeosporioides* e *Populus tremuloides*, ocorreram 24 horas após a inoculação em folhas.

Com relação aos eventos de pré-penetração (formação de septo e germinação dos conídios) entre isolado de mancha manteigosa do cafeeiro e isolado de antracnose da manga, estes tiveram comportamento similares, porém, quanto ao tempo de formação de apressórios, este foi antecipado em 2 horas, com os primeiros apressórios observados às 8 horas após a inoculação (Tabela 2).

Similarmente ao observado para isolado da mancha manteigosa, verificou-se que isolado de manga penetrou via estômato, porém, muito raramente (Figura 4E). Verificou-se que, de 72 a 96 horas após a inoculação foram suficientes para a produção de conídios, sendo estes produzidos somente em células conidiogênicas formadas em hifas (Figura 4F). Às 240 horas após a inoculação, constatou-se uma vasta produção de conídios, com muitas hifas

saindo de rachaduras dos tecidos foliares, denotando sucesso na colonização pelo fungo (Figuras 4G e H).

Ao compararem-se os isolados de mancha manteigosa com isolado de manga, fato que chamou atenção foi que o isolado de manga inoculado em folhas de plantas doentes e em folhas de plantas saudas, até o tempo de 240 horas após a inoculação, não produzia acérvulos. Lins (2006), quando utilizou isolado de manga, inoculado em hipocótilos e em plântulas de café formadas por cultura de tecido, verificou que o mesmo não formou acérvulos, com a produção de conídios diretamente em células conidiogênicas.

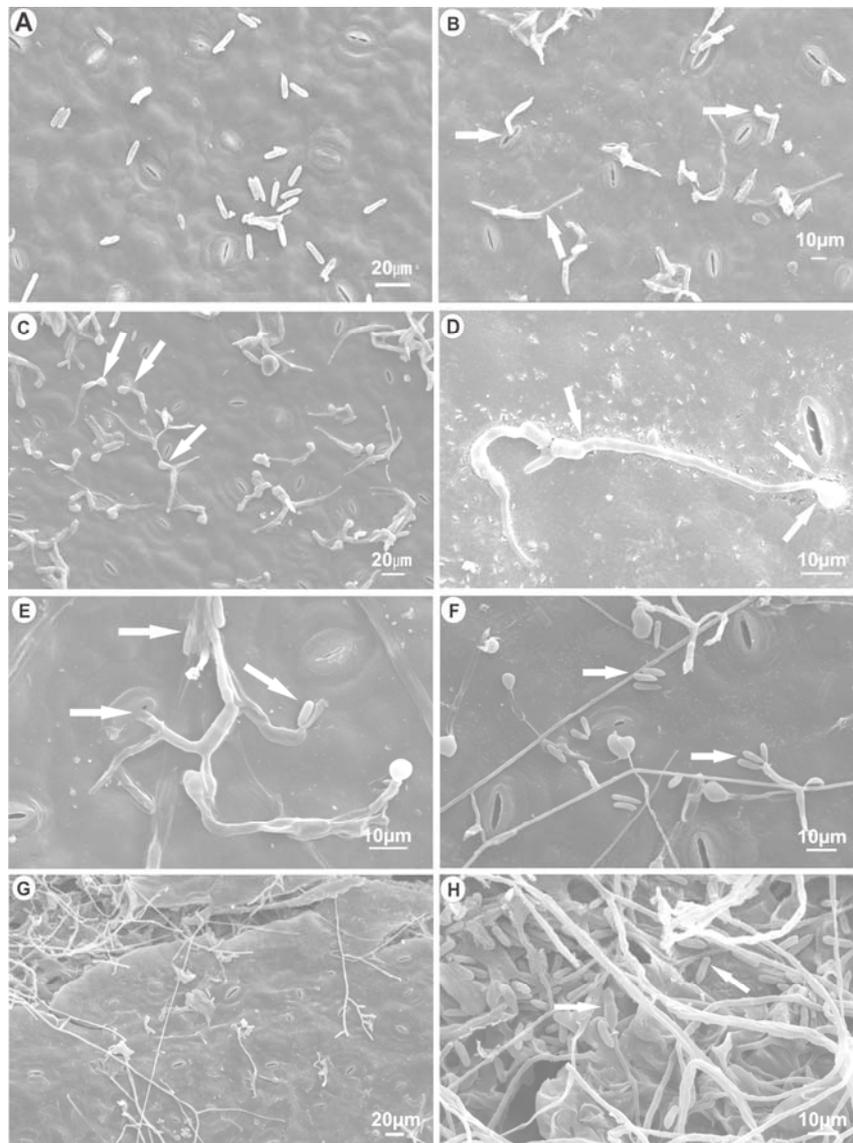


FIGURA 4 Eletromicrografias de varredura nos eventos de penetração, colonização e reprodução de isolado de manga inoculado em folhas de cafeeiro. A: aderência de conídios; B: germinação; C e D: formação de apressórios; E: penetração via estômatos; F: produção de conídios “células conidiogênicas”; G e H: rachaduras dos tecidos e produção de conídios.

TABELA 2 Estruturas formadas pela espécie de *C. gloeosporioides* isolados de plantas de café e da antracnose da mangueira inoculada em folhas de cafeeiro, considerando a evolução dos eventos de penetração, colonização e reprodução.

ISOLADOS	Inoculação - folhas com sintoma da macha manteigosa					
	Estruturas formadas (tempo após inoculações) <sup>1</sup>					
	FSAG	GC	FA	PA	PC <sup>H, A</sup>	MP
J-I2	3 horas <sup>1</sup>	8 horas	12 horas	96 horas	96 horas <sup>A</sup>	A
J-I6	6 horas	8 horas	12 horas	144 horas	144 horas <sup>A</sup>	A
IM	3 horas	8 horas	12 horas	-	72 horas <sup>H</sup>	AE
Inoculação – folhas sadias						
J-I2	3 horas	8 horas	12 horas	144 horas	144 horas <sup>A</sup>	AE
J-I6	3 horas	6 horas	12 horas	144 horas	144 horas <sup>H A</sup>	AE
IM	3 horas	6 horas	8 horas	-	96 horas <sup>H</sup>	A

FSAG: Formação de septo antes da germinação; GC: Germinação do conídio; FA: Formação de apressório; PA: Produção de acérvulos; PC<sup>H, A</sup>: Produção de conídios<sup>H</sup> hifas<sup>A</sup> acérvulos; MP: Modo de penetração: A: penetração via apressórios (pegs); AE: penetração via apressórios (pegs) e estômatos; (-) não observado até o final do experimento J-I2: Isolado da haste de plantas com sintomas de mancha manteigosa; J-I6: Isolado de hipocótilos com sintoma de mancha manteigosa; IM: Isolado de folhas de mangueira com sintoma da antracnose.

## **5.2 Colonização dos órgãos do cafeeiro com sintoma da mancha manteigosa**

A partir de material infectado naturalmente no campo, eletrofotomicrografias evidenciaram a agressividade da mancha manteigosa (*C. gloeosporioides*). Verificou-se a presença de *C. gloeosporioides* em todos os órgãos do cafeeiro, colonizando sistemicamente os tecidos do xilema, do floema, do córtex e as células de endosperma, conseqüentemente provocando morte de ramos, mumificações de frutos e queda de folhas, etc.

Constatou-se que a metodologia de cortes em nitrogênio líquido utilizando glicerol 30% como crioprotetor foi apropriada, dando totais condições para as observações das estruturas celulares dos tecidos colonizados pelo fungo.

A partir de cortes em ramos de cafeeiro expondo murcha com conseqüência morte, foi possível verificar que o fungo colonizou com sucesso todos os tecidos (Figura 5). Em cortes transversais, foi possível verificar hifas do fungo colonizando as células do tecido cortical (Figura 5A), caminhando em direção aos tecidos de xilema e floema e medular dos ramos. Nos cortes longitudinais, verificou-se significativa colonização das células do parênquima cortical (Figuras 5A e D). Nas células do xilema, houve significativa colonização; as hifas penetraram os tecidos do vaso, colonizando sistemicamente todo o ramo (Figura 5C). No patossistema cafeeiro-mancha manteigosa, segundo Orozco (2003), Pereira (2005) e Pereira et al. (2005a), o fungo coloniza sistemicamente os tecidos, no qual, a partir de um ponto, transloca-se tanto descendente como ascendente.

Diversos autores relatam à problemática da seca de ponteiros ou morte de ramos, pois é grave na cultura do café. Voltan et al. (2002), em ramos de cafeeiro expressando seca de ponteiro “*diebeck*”, observaram alterações na estrutura do córtex e do floema, devido à colonização por *Colletotrichum* spp. Tal fato é muito mais preocupante quando se trata da mancha manteigosa, pois as hifas penetram os tecidos dos ramos, colonizando-os sistemicamente (Pereira

et al., 2005a), preconizando a dificuldade no controle e no manejo desta doença (Ferreira et al., 2005a). Em busca de alternativas para o manejo de *C. gloeosporioides* patótipo mancha manteigosa, pesquisadores realizaram recepa baixa em plantas doentes, porém, não obtiveram o seu controle. Concluíram, então que, em plantas com sintoma da doença, recepas não colaboram para a eliminação deste patógeno, pois este coloniza o sistema vascular das plantas doentes (Pereira et al., 2005a).

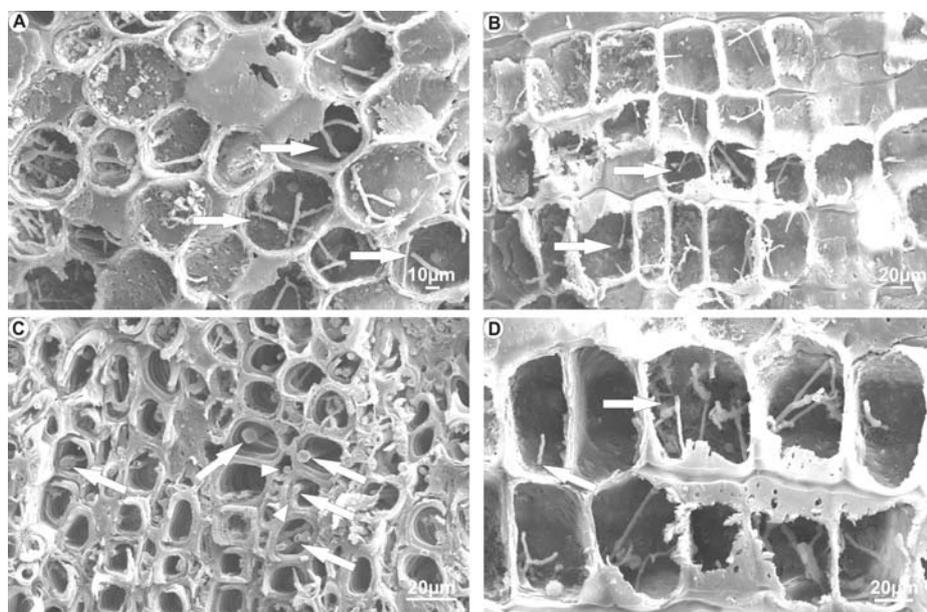


FIGURA 5 Eletromicrografias de varredura exibindo a colonização de *C. gloeosporioides* em ramos de cafeeiro com sintoma da mancha manteigosa. A, B e D: cortes transversais e longitudinais mostrando hifas colonizando células do parênquima cortical; C: colonização sistêmica por hifas nos vasos do xilema (setas).

Similarmente ao verificado em ramos, foram observados, em nervuras de folhas de cafeeiro com sintomas da mancha manteigosa, a colonização na

região do córtex (Figura 6B), expressiva presença de hifas colonizando vasos do xilema e floema (Figura 6C).

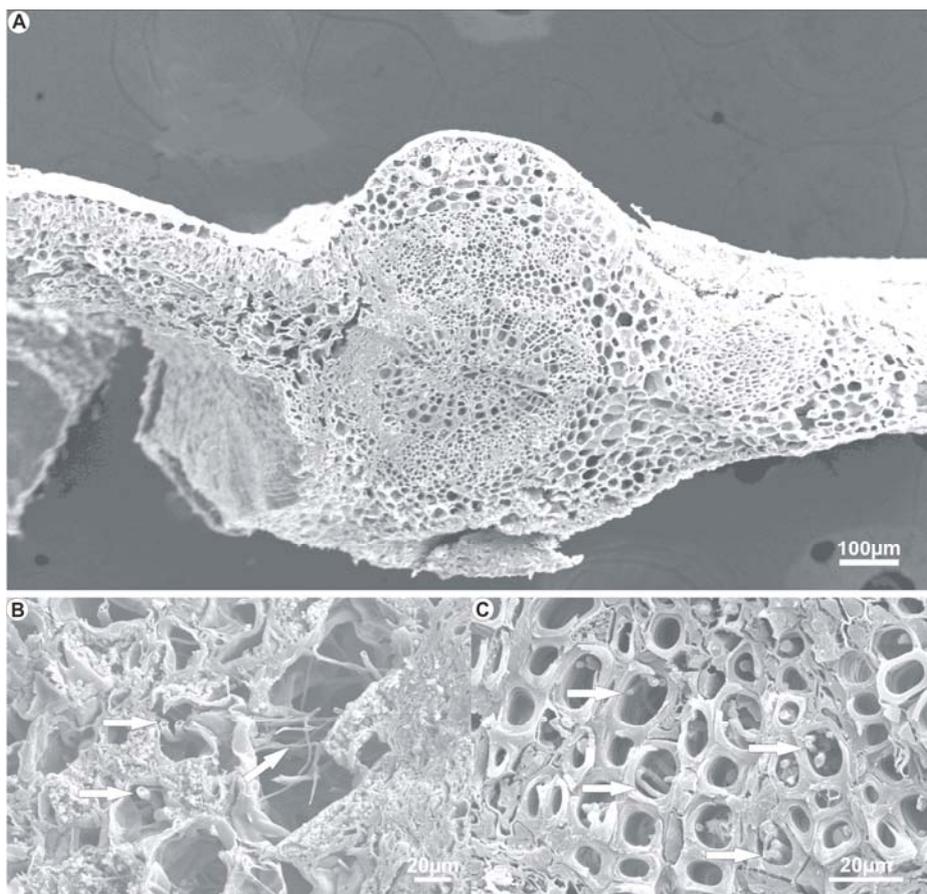


FIGURA 6 Eletromicrografias de varredura em nervuras de folhas de cafeeiro. A: corte transversal exibindo todos os tecidos anatômicos B: parênquima cortical; C: vasos do xilema.

Nas observações em endosperma, foi possível verificar presença de hifas colonizando internamente as células do endosperma (Figura 7). As primeiras observações foram realizadas na superfície do endosperma, verificando-se

rachaduras expondo hifas de *Colletotrichum* spp. (Figura 7A). Em cortes transversais, observou-se também presença de hifas (Figura 7B e D). Quando foram realizados cortes no endosperma de frutos na fase verde cana com sintomas da mancha manteigosa, estes também apresentavam hifas colonizando internamente as células do endosperma (Figuras 7C e E). Em frutos sadios, não se observou a presença de fungos, apenas grãos de amido (Figura 7F).

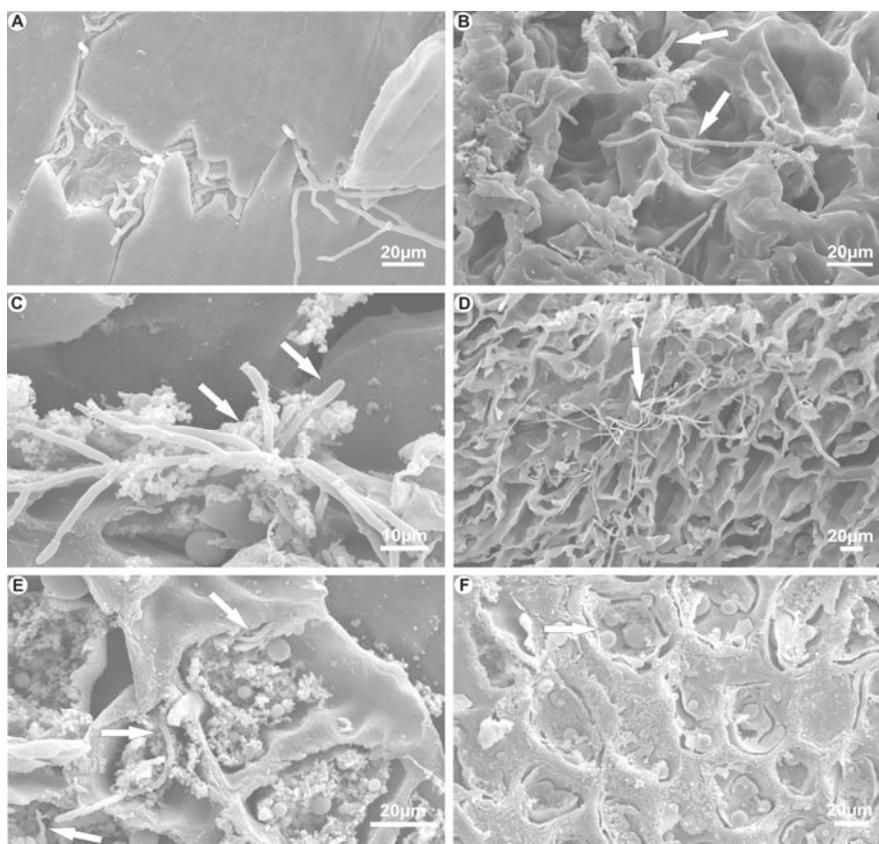


FIGURA 7 Eletromicrografias de varredura em endosperma de frutos de cafeeiro com sintoma da mancha manteigosa. A: rachadura externa expondo hifas; B e D: cortes em frutos “secos” exibindo hifas nas células do endosperma; C e E: cortes em frutos “verde-cana” com colonização de hifas (setas); F: fruto sadio.

Quando se estudou a colonização por *C. gloeosporioides*, agente da mancha manteigosa no exocarpo “casca”, observou-se uma densa colonização ao centro das lesões. As primeiras imagens foram geradas na superfície dos frutos, os quais apresentavam lesões deprimidas tipo cancro, com degradação das células da epiderme do fruto, tendo formato circular (Figura 8A), com o centro das lesões exibindo aspecto áspero (rugoso), expondo rachaduras, nas quais havia hifas de *C. gloeosporioides* colonizando os tecidos dos frutos (Figura 8B). Resultados semelhantes foram encontrados por Pereira et al. (2005b) o que verificaram diferenças no formato e no tipo de lesões entre frutos verdes e frutos maduros. Os mesmos autores, também verificaram que as lesões exibiam formato circular, com aspecto coriáceo quebradiço podendo ser observado a olho nu. Quando fez-se a fratura das amostras, pôde-se observar colonização interna, nos tecidos do exocarpo e mesocarpo, por hifas. Ferreira et al. (2005b), em estudos de colonização em frutos maduros de cafeeiro, por meio de inoculação em MEA 2%, verificaram altos índices de infecção por *Colletotrichum* spp. Nos tecidos do exocarpo e mesocarpo, observaram-se, em média, 86,6%, seguidos pelo endocarpo, com 9,72% e o endosperma, com 8,3% de infecção.

Nas observações realizadas em folhas com sintomas e sem sintomas da mancha manteigosa, não se verificou nenhuma hifa; em folhas de plantas doentes, as lesões apresentavam-se de formato irregular, tendo deformações nas células epidérmicas, que exibiam aspecto de degeneração dos tecidos (Figura 8C). Quando realizaram-se cortes transversais na área lesionada, verificou-se que os tecidos do mesófilo foliar apresentavam-se deformados, exibindo concreções, “material amorfo”, nas células do parênquima paliçádico e esponjoso (Figura 8D). Ao realizarem-se cortes em folhas sadias, estas se apresentavam normais, tendo as células dos tecidos paliçádico e esponjoso bem desenvolvidas (Figura 8F). Segundo Appezzato-da-Gloria et al. (2003), as

células do tecido paliçádico encontram-se imediatamente abaixo da epiderme. Suas células típicas são alongadas e, em secção transversal, têm forma de barras dispostas em fileiras. Já as células do tecido esponjoso variam muito na forma, podendo ser isodiamétricas ou alongadas em direção paralela à superfície da folha.

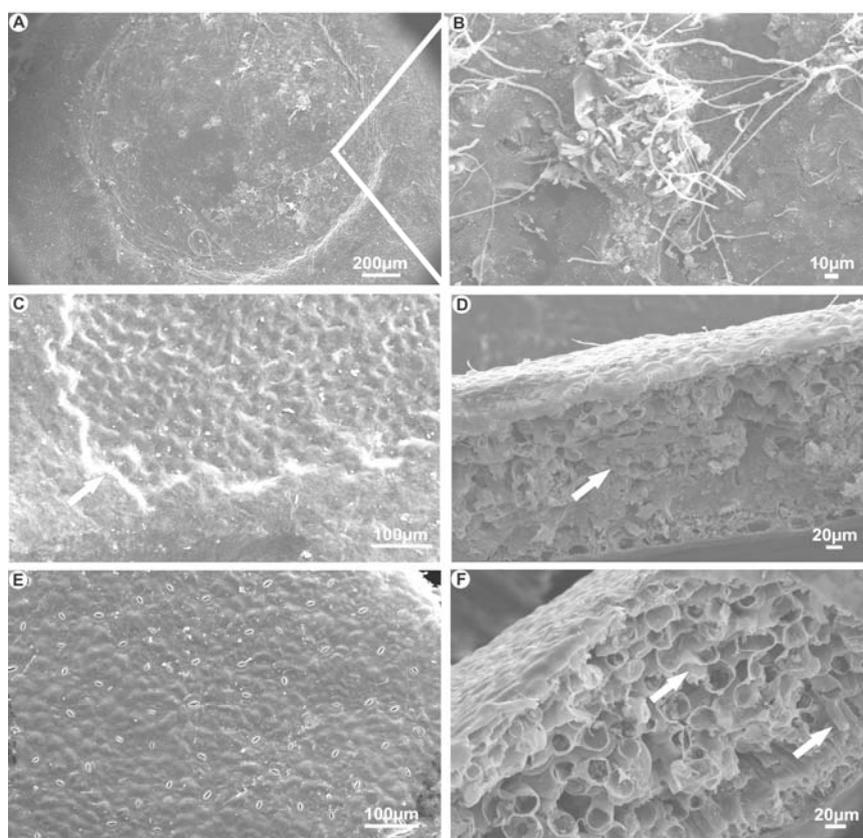


FIGURA 8 Eletromicrografias de varredura em frutos e folhas de cafeeiro com sintoma da macha manteigosa. A: lesão em frutos; B: centro da lesão com colonização de *Colletotrichum*; C: lesão em folhas; D: corte transversal na área lesionada, exibindo degeneração do mesofilo foliar; E: folha sadia; F: corte transversal em folha sadia - células do tecido esponjoso e paliçádico (setas).

Também foram realizadas investigações em hipocótilos procedentes de sementes de plantas doentes e de plantas sadia, todas semeadas em areia estéril. Observou-se que hipocótilos de plantas doentes exibiam, em seus tecidos, a colonização por *Colletotrichum*, sendo em maior proporção nas células do parênquima cortical, com degeneração e morte de células nesta região (Figuras 9A e B). Foi também verificado que, em hipocótilos com maior degeneração da região cortical, constatavam-se a presença de acérvulos (Figura 9C). Ao passo que, nas investigações realizadas em hipocótilos de plantas saudias, todos os tecidos estavam saudios, apresentando grânulos de grãos de amido na região cortical e medular (Figuras 9D e E).

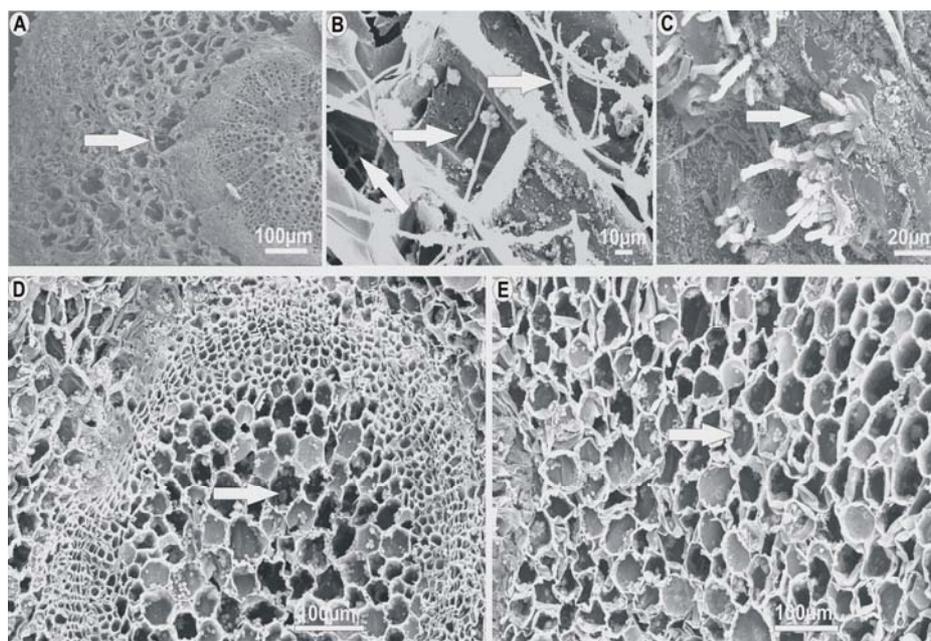


FIGURA 9 Eletromicrografias de varredura exibindo a colonização de *C. gloeosporioides* em hipocótilos de cafeeiro. A e B: degeneração e colonização por hifas na região cortical; C: produção de acérvulos D e E: corte transversal em hipocótilos de planta sadia, com presença de grânulos de amido (seta).

Segundo Lins (2006) em estudos histopatológicos de *C. gloeosporioides* isolados de plantas de café com mancha manteigosa, evidenciou-se até ao sexto dia após a inoculação a colonização dos tecidos do córtex, floema e xilema. Segundo a autora, as hifas perfuraram as células e foram colonizando o tecido do hospedeiro, em todas as direções.

No presente trabalho, foram realizadas averiguações da colonização em pecíolos de folhas e pedúnculos de frutos de plantas com sintoma da mancha manteigosa, porém não foi observada a presença de fungo ou de bactéria em nenhuma das amostras analisadas, fato que discorda daqueles encontrado por Lins (2006), em que, por meio de microscopia eletrônica de varredura, foi relatada a colonização por *X. fastidiosa* nos vasos do xilema dos pecíolos foliares de plantas com sintoma de mancha manteigosa. A partir desses resultados, esta autora sugere a possível interação complexa entre *C. gloeosporioides*-*X. fastidiosa*, os quais podem interagir por meio de enzimas, toxinas ou metabólicos, dando tal sintomatologia em folhas. Talvez, a não constatação da *X. fastidiosa* neste estudo, seja por causa do número de amostras analisadas (15 pecíolos e 10 pedúnculos), tendo em vista a má distribuição de *X. fastidiosa* nos vasos do xilema.

## 6 CONCLUSÕES

Evidenciou-se penetração e colonização de *C. gloeosporioides* (isolado de plantas com mancha manteigosa), quando inoculado em folhas de cafeeiro.

Conídios de *C. gloeosporioides* (isolado de plantas com mancha manteigosa) germinam em folhas de 6 a 8 horas, produzem apressórios em 12 horas e acérvulos de 96 a 144 horas, após a inoculação.

Conídios de *C. gloeosporioides* (isolado da mangueira) penetram os tecidos de folhas de cafeeiro, germinam de 6 a 8 horas com apressório de 8 a 12 horas após inoculações e produzem novos conídios diretamente em hifas conidiogênicas.

Conídios de *C. gloeosporioides* (isolado da mangueira), quando inoculados em folhas de cafeeiro, não produzem acérvulos.

Ramos de cafeeiros com mancha manteigosa, com sintomas de murcha e morte descendente, têm os vasos do xilema, floema e células do parênquima cortical colonizados por *C. gloeosporioides*.

Frutos de cafeeiro com sintoma da mancha manteigosa apresentam colonizações por *C. gloeosporioides* nos tecidos do exocarpo, mesocarpo, endocarpo e endosperma.

Hipocótilos oriundos de sementes de plantas doentes com mancha manteigosa têm o córtex, xilema e floema colonizados por *C. gloeosporioides*.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AINSWORTH, G. C. **Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi**. 8. ed. Surrey: CMI Kew, 1995. 616 p.
- ALVES, E. Curso introdutório à microscopia eletrônica de varredura. **Apostila**. Lavras, MG: FAEPE, UFLA, 2005. 43 p.
- AMORIM, L. Colonização e reprodução. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v. 1, Cap. 16, p. 309-324.
- APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. **Anatomia vegetal**. Viçosa: Editora UFV, 2003. v. 1, 438 p.
- BAILEY, J. A.; O'CONNEL, R. J.; PRING, R. J.; NASCH, C. Infection strategies of *Colletotrichum* species. In: BAILEY, J. A.; JEGER, M. J. (Ed.). **Colletotrichum biology, pathology and control**. England: CAB, 1992.
- BERGSTROM, G. C.; NICHOLSON R. L. The biology of corn anthracnose: knowledge to exploit for improved management. **Plant Disease**, St. Paul, v. 83, n. 7, p. 596-608, July 1999.
- BERGSTROM, G. C.; NICHOLSON R. L. Invertase in the spore matrix of *Colletotrichum graminicola*. **Phytopathology Zeitschrift**, Berlin, v. 102, p. 139-147, 1981.
- BINYAMINI, N.; SCHFFMANN-N., M. Latent infection in avocado fruit due *Colletotrichum gloeosporioides*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 62, n. 6, p. 592-594, June 1972.
- BROWN, G. E. Ultrastructure of penetration of ethylene-degreened Robinson tangerines by *Colletotrichum gloeosporioides*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 67, n. 3, p. 315-320, Mar. 1977.
- CHAU, K. F.; ALVAREZ, A. M. A histological study of anthracnose on *Carica papaya*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 73, n. 8, p. 1113-1116, Aug. 1983.

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.

DAYKIN, M.; MILHOLLAND, R. B. Histopathology of ripe rot caused by *Colletotrichum gloeosporioides* on muscadine grape. **Phytopathology**, St. Paul, v. 74, n. 11, p. 1339-1341, Nov. 1984.

DORIZZOTO, 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.; SILVA, E. H.; FERNANDES, K. D.; PEREIRA, R. B.; ABREU, M. S.; PEREIRA, I. S. Efeito de fungicidas no controle da seca de ramos do cafeeiro (*C. arabica* L.) com mancha manteigosa (*Colletotrichum* spp.). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30, p. 111-111, ago. 2005a. (Resumo). Suplemento.

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**, Lavras, v. 29, n. 4, p. 880-885, jul./ago. 2005b.

HARDHAM, A. R. Cell biology of pathogenesis. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 43, p. 491-523, 1992.

HOCH, H. C.; STAPLES, R. C. Structural and chemical changes among the rust fungi during appressorium development. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 25, p. 231-247, 1987.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. New York: McGraw-Hill, 1940. 523 p.

LINS, S. R. O. **Estudos histopatológicos da mancha manteigosa em cafeeiro (*Coffea arabica* L.) e comportamento de isolados de *Colletotrichum* spp. em plantas obtidas por cultura de embrião**. 2006. 104 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

LOPEZ, A. M. Q. Taxonomia, patogênese e controle de espécies do gênero *Colletotrichum*. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 9, p. 291-338, 2001.

MARKS, G. C.; BERBEE, J. C.; RIKER A. J. Direct penetration of leaves of *Populus tremuloides* by *Colletotrichum gloeosporioides*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 55, n. 4, p. 408-412, Apr. 1965.

MENDGEN, K.; DEISING, H. Infection structures of fungal plant pathogens a cytological and physiological evaluation. **New Phytologist**, Cambridge, v. 124, n. 2, p. 193-213, June 1993.

MERCURE, E. W.; KUNOH, H.; NICHOLSON, R. L. Adhesion of *Colletotrichum graminicola* conidia to corn leaves: a requirement disease development. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 45, n. 6, p. 407-420, Dec. 1994.

MILHOLLAND, R. D. Histopathology of strawberry infected with *Colletotrichum fragariae*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 72, n. 11, p. 1434-1439, Nov. 1982.

NAIR, J.; CORBIN, J. B. Histopathology of *Pinus radiata* seedlings infected by *Colletotrichum acutatum* f. sp. *pineae*, **Phytopathology**, St. Paul, v. 71, n. 8, p. 777-783, Aug. 1981.

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.

PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v. 1, Cap. 12, p. 417-453.

PEREIRA, I. S. **Compatibilidade vegetativa e sexual do complexo *Glomerella-Colletotrichum* associado ao cafeeiro e estudos histopatológicos**. 2005. 92 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

PEREIRA, I. S.; FERREIRA, J. B.; ABREU, M. S. Histologia de ramos de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) com mancha manteigosa causada por *Colletotrichum* spp. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 4., 205, Londrina. **Anais...** Londrina: CBP&D-Café, PR, 2005a. n. 4, 5 p. 1CD-ROM.

PEREIRA, I. S.; FERREIRA, J. B.; ABREU, M. S. Microscopia eletrônica de varredura da infecção de *Colletotrichum* spp. em frutos de cafeeiro com manchamanteigosa. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 4., 205, Londrina. **Anais...** Londrina: CBP&D-Café, PR, 2005b. 4 p. 1CD-ROM.

PEREIRA, I. S.; FERREIRA, J. B.; ABREU, M. S. Pré- infecção de *Colletotrichum gloeosporioides* em hipocótilos de cafeeiros inoculados artificialmente. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 4., 205, Londrina. **Anais...** Londrina: CBP&D-Café, PR, 2005c. 5 p. 1CD-ROM.

PERFECT, S. E.; HUGHES, H. B.; O'CONNELL, R. J.; GREN, J. R. *Colletotrichum*: a model genus for studies on pathology and fungal-plant interactions. **Fungal Genetics and Biology**, San Diego, v. 27, n. 2/3, p. 186-198, July 1999.

PORTO, M. D. M.; GRAU, C. R.; DE ZOETEN, G. A.; GAARD, G. Histopathology of *Colletotrichum trifolii* on alfalfa. **Phytopathology**, St. Paul, v. 78, n. 3, p. 345-349, Mar. 1988.

ROBERTS, R. G.; SNOW, J. P. Histopathology of cotton boll rot caused by *Colletotrichum capsici*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 74, n. 4, p. 390-397, Apr. 1984.

SUGUI, J. A.; LEITE, B.; NICHOLSON, R. L. Partial characterization of the extracellular matrix released onto hydrophobic surfaces by conidia and conidial germlings of *Colletotrichum graminicola*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 52, n. 6, p. 411-425, June 1998.

VAN DYKE, C. G.; MIMS, C. W. Ultrastructure of conidia, conidium germination, and apressorium development in the plant pathogenic fungus *Colletotrichum truncatum*. **Canadian Journal Botany**, Ottawa, v. 69, n. 11, p. 2445-2467, Nov. 1991.

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. 19.

VOLTAN, R. B. Q.; CABRAL, L. P.; PARADELA FILHO, O. Avaliação preliminar do efeito do *Colletotrichum* spp. na estrutura de plantas de cafeeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 28., 2002, Caxambu, MG. **Trabalhos apresentados...** Rio de Janeiro: MAPA/Procafé, 2002. p. 364-365.

### **CAPÍTULO 3**

AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE DE *C. gloeosporioides* A DIFERENTES  
CONCENTRAÇÕES DE FUNGICIDAS E EFICIÊNCIA DE CONTROLE DA  
MANCHA MANTEIGOSA EM CAMPO

## 1 RESUMO

FERREIRA, Josimar Batista. Avaliação da sensibilidade de *C. gloeosporioides* a diferentes concentrações de fungicidas e eficiência de controle da mancha manteigosa em campo. In: \_ **Aspectos histopatológicos, epidemiologia e controle da mancha manteigosa em *Coffea arabica* L.** 2006. Cap. 3. p. 80-113. Tese (Doutor em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.\*

Com o objetivo de avaliar a eficiência de alguns fungicidas sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, (mancha manteigosa) do cafeeiro (*Coffea arabica* L.), foram conduzidos testes *in vitro* e ensaios de campo. Utilizou-se nos bioensaios o método de incorporação de fungicidas ao meio de cultura MEA 2% para a avaliação da inibição do crescimento micelial e lâmina escavada contendo água com fungicida para a germinação de conídios. Os fungicidas testados foram: tetraconazol, triadimenol, chlorotalonil e mancozeb, nas concentrações de 1, 5, 10, 25, 50, 100, 500 e 1.000 ppm (inibição do crescimento do micélio) e 1, 5, 10, 25, 50 e 100 (inibição da germinação de conídios). Nas pulverizações em campo utilizaram-se as dosagens de 1,0L/ha, 12kg/ha, 3kg/ha e 2kg/ha (tetraconazol, triadimenol, chlorotalonil e mancozeb), respectivamente. Os fungicidas tetraconazol e triadimenol apresentaram alta eficiência na inibição do crescimento micelial. O fungicida mancozeb mostrou-se ineficiente no teste *in vitro* e nos ensaios de campo. Quanto à germinação dos conídios, os fungicidas que demonstraram maior eficiência em baixas concentrações foram o chlorotalonil e o tetraconazol. Os fungicidas chlorotalonil e triadimenol foram os que proporcionaram os melhores resultados de eficiência de campo, quanto ao progresso de morte de ramos e o número de frutos, destacando a produção de frutos cereja. Verificou-se a máxima intensidade de mortes de ramos entre os meses de outubro a janeiro, influenciada pela precipitação pluvial. Plantas com mancha manteigosa, mesmo quando pulverizadas com fungicidas, têm significativa queda de frutos e plantas sadias apresentam produções 95% superiores as plantas doentes.

---

\*Comitê de Orientação: Mario Sobral de Abreu - UFLA (Orientador); Eduardo Alves e Edson Ampélio Pozza - UFLA (Co-orientadores)

## 2 ABSTRACT

FERREIRA, Josimar Batista. Assessment of *Colletotrichum gloeosporioides* sensibility to different fungicide concentrations, and efficiency of blister spot control in the field. In: **Aspects histopathology, epidemiology and control of blister spot on *Coffea arabica* L.** 2006. Cap. 3 p.80-113. Thesis (Doctorate in Plant Pathology) – Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil.\*

With the objective to assess the effect of selected fungicides on *Colletotrichum gloeosporioides*, the cause of coffee blister spot, *in vitro* tests and field trials were carried out. In the *in vitro* experiments the fungicides were incorporated into malt extract medium (MEA 2%) to evaluate the effect on the fungus growth rate, and concavity slides containing water plus fungicide to assess the conidia germination. Tetraconazol, triadimenol, chlorothalonil and mancozeb in the concentrations of 1, 5, 10, 25, 50, 100, 500 and 1.000 p.p.m. were used to evaluate the effect on the fungus growth rate, while for the assessment of the effect on the germination the doses of 500 and 1.000 p.p.m. were excluded. In the field sprayings 1 L/ha, 12 Kg/ha, 3 Kg/ha and 2 Kg/ha of tetraconazol, triadimenol, chlorothalonil and mancozeb, respectively, were used. Tetraconazol and triadimenol showed high efficiency on the mycelial growth inhibition. Mancozeb had no effect on *C. gloeosporioides* in both the *in vitro* tests and field trials. Chlorothalonil and tetraconazol reduced the conidia germination at low concentrations. In the field, chlorothalonil and triadimenol reduced the progress of die-back and increased the fruit set, with a higher number of cherries in comparison with the control plants. The increase in die-back during the period of October to January was possibly induced by the rainfall. Coffee trees affected by blister spot, even if treated with fungicides, had significant fruit drop, and the untreated healthy trees had their yield 95% superior to the diseased ones.

---

\* Advising Committee: Mario Sobral de Abreu - UFLA (Adviser); Eduardo Alves and Edson Ampélio Pozza – UFLA (Co-advisers)

### 3 INTRODUÇÃO

Diversas são as doenças que provocam danos na cultura do cafeeiro. As de origem fúngica são muito representativas e causam perdas significativas quando não são tomadas medidas de controle adequadas. Embora as principais doenças fúngicas do cafeeiro sejam relativamente bem conhecidas e já se disponham de sistemas de manejo satisfatórios para seu controle, outras doenças representam grande risco para a cafeeicultura brasileira. Na maioria das regiões produtoras de *Coffea arabica* L. no país, a “mancha manteigosa” do cafeeiro, provocada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, enquadra-se nesta categoria de risco potencial devido ao aumento de plantas com sintomas nas lavouras. (Dorizzoto & Abreu, 1993; Dorizzoto, 1993; Chen, 2002; Nechet & Abreu, 2002; Orozco et al., 2002a, b; Orozco, 2003).

O patossistema *Colletotrichum*-cafeeiro ainda é pouco explorado no Brasil e também pouco se conhece sobre o real efeito deste patógeno sobre a cultura. A literatura científica nacional, em diversos trabalhos, caracteriza como saprofítica tal interação, no entanto, trabalhos recentes observam que é sério o problema em nossas lavouras. Uma vez atacados, os frutos apresentam ligeiras depressões circulares na polpa, de cor castanha e necróticas, as quais vão se alastrando e exibindo lesões necróticas, “típicos cancos”, podendo atingir todo o fruto, que fica mumificado. Os sintomas em folhas e ramos novos ocorrem causando seca e necrose, podendo levar à morte das plantas.

A aplicação de fungicidas tem sido a base para o controle de doenças causadas por *Colletotrichum* spp. para diferentes culturas (Souza & Dutra, 2003). Os fungicidas de contato ou protetores destacam-se por apresentarem baixa toxicidade para o homem e animais, além de baixo custo, amplo espectro de ação e múltiplos sítios de ação. Agem somente se forem aplicados

diretamente no patógeno ou previamente, aguardando a sua deposição na planta. Os fungicidas sistêmicos são absorvidos, translocados e atuam sobre os patógenos já estabelecidos, após a aplicação em qualquer parte da planta, como raízes, caules, folhas ou sementes. Possuem modo de ação muito específico e pertencem a uma classe de produtos diferentes, atuando em baixas concentrações quando comparados com os produtos de contato.

Este trabalho teve por objetivo avaliar a eficiência de fungicidas *in vitro* e em campo, no controle da mancha manteigosa (*Colletotrichum gloeosporioides*).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Ensaio *in vitro*

O presente estudo foi realizado no Laboratório Diagnose e Controle de Enfermidades Fúngicas em Plantas do Departamento de Fitopatologia (DFP) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, Minas Gerais.

#### 4.1.1 Isolado utilizado

Utilizou-se neste trabalho um isolado de *Colletotrichum* obtido de haste de plantas de café com mancha manteigosa, caracterizado previamente como sendo da espécie *C. gloeosporioides*. Este isolado faz parte da coleção de fungo mantida pelo Laboratório de Diagnose e Controle de Enfermidades do DFP/UFLA. Para os bioensaios, este isolado foi crescido em MEA 2%, mantido em câmara de crescimento a 25°C ±1 por 7 dias antes de sua incorporação sobre os meios de cultura contendo os fungicidas.

#### 4.1.2 Bioensaios para avaliar a sensibilidade micelial de *C. gloeosporioides* aos fungicidas

Para este trabalho, foram testados quatro fungicidas que se enquadram em 3 grupos químicos: os triazóis (tetraconazol e triadimenol), os aromáticos (chlorotalonil) e os ditiocarbamatos (mancozeb). Os produtos comerciais utilizados foram o Domark®, Photon®, Bravonil Ultrex® e Dithane®, respectivamente. O ingrediente ativo dos fungicidas, o modo de ação e as concentrações estão descritos na Tabela 1.

TABELA 1 Fungicidas utilizados nos bioensaios do controle *in vitro* de *C. gloeosporioides* e nos ensaios em campo UFLA, Lavras, MG, 2006.

Nome comercial	I.A <sup>1</sup>	CIA <sup>2</sup>	Modo de ação	Grupo químico
Domark	Tetraconazol	100g/l	Inibidor da síntese de ergosterol	Triazol
Photon	Triadimenol	60g/kg	Inibidor da síntese de ergosterol	Triazol
Bravonil Ultrex	Chlorotalonil	825g/kg	Multissítios	Aromáticos
Dithane	Mancozeb	800g/kg	Inibidor de enzimas e proteínas	Ditiocarbamato

<sup>1</sup>Ingrediente ativo; <sup>2</sup>Concentração do ingrediente ativo

No preparo dos meios de cultura com os fungicidas, seguiu-se técnica descrita por Edgington et al. (1971), modificada por Menten et al. (1976). Cada produto utilizado foi dissolvido diretamente em água destilada e esterilizada e, posteriormente, completando seu volume até 100mL, obtendo-se uma solução estoque de 100.000 ppm do ingrediente ativo. A partir da solução estoque, procedeu-se à diluição em série, de tal maneira que cada mL dessa solução, quando adicionada a 99 mL de meio MEA fundente, produziu a concentração desejada. Após adicionar o fungicida ao meio de cultura, realizou-se a agitação para homogeneização dos mesmos. No caso do triadimenol, por ter sua formulação granulada, foi colocado sobre agitador magnético por 15 minutos para dissolver os grânulos.

Com o auxílio de um vazador de 0,5 cm de diâmetro foram retirados discos do meio de cultivo contendo um isolado de *C. gloeosporioides*, agente causal de mancha manteigosa em cafeeiro, com aproximadamente 7 dias. Esses foram colocados ao centro de placas de Petri de 9 cm de diâmetro, após solidificação dos meios.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado

(DIC), em que cada tratamento constou de 5 repetições para cada dosagem dos fungicidas. As testemunhas constaram da inoculação de discos miceliais diretamente no meio sem a adição de fungicidas.

Os tratamentos foram constituídos pelos fungicidas descritos na tabela 1, em 8 concentrações: 1, 5, 10, 25, 50, 100, 500, 1.000 ppm. As placas foram mantidas em câmara de crescimento, à temperatura de 25°C com fotoperíodo de 12 horas.

Avaliou-se diariamente o crescimento do diâmetro micelial em dois sentidos, perpendicularmente, durante 9 dias após incubação ou até que a testemunha tocasse uma das bordas da placa. O índice de crescimento micelial (ICM) foi calculado e os dados foram submetidos à análise de variância ( $p \leq 0,05$ ) e, quando significativos, à análise de regressão.

O ICM foi determinado pela fórmula:

$ICM = [(C_1/N_1) + (C_2/N_2) + \dots + (C_n/N_n)]$ , sendo: ICM= índice de crescimento micelial;  $C_1, C_2, C_n$ = crescimento micelial do fungo na primeira, segunda e última avaliação;  $N_1, N_2, N_n$ = número de dias após a inoculação.

Além disso, foi calculado o  $ED_{50}$  (concentração de ingredientes ativos capazes de inibir 50% do crescimento micelial) e a concentração mínima inibitória (CMI), ou seja, intervalo entre concentrações dos fungicidas capaz de inibir totalmente o crescimento micelial do fungo.

$$\% \text{ inibição} = \frac{(\text{cresc. da testemunha} - \text{cresc. do tratamento}) \times 100}{\text{cresc. da testemunha}}$$

Após o cálculo do  $ED_{50}$ , o isolado de *C. gloeosporioides* foi classificado em 4 categorias de sensibilidade, de acordo com a escala de Edgington et al. (1971), em que:  $ED_{50} < 1$ ppm: alta sensibilidade (AS);  $ED_{50}$  1-10ppm: moderada sensibilidade (MS);  $ED_{50}$  10-50:ppm baixa sensibilidade (BS);  $ED_{50} > 50$ ppm: insensibilidade (I).

#### **4.1.3 Sensibilidade de conídios de *C. gloeosporioides* aos fungicidas**

Para avaliar a inibição de germinação dos esporos, utilizou-se o mesmo isolado de *C. gloeosporioides* e nas mesmas condições do ensaio de inibição do crescimento micelial. A partir de culturas com 7 dias de crescimento, foi obtida uma suspensão de conídios mediante a deposição de 10 mL de água destilada esterilizada, acrescida de Tween 20 (5µl/10mL de água) sobre a superfície da placa de Petri com micélio fúngico, seguido de raspagem das colônias com alça de Drigalski. Em seguida, fez-se a separação do micélio fúngico mais conídios em camada dupla de gaze esterilizada, obtendo-se uma suspensão de conídios. A concentração conidial foi ajustada para  $2 \times 10^6$  esporos/mL com câmara de contagem de Newbawer.

O teste de inibição foi realizado com a diluição dos fungicidas descritos na tabela 1, em água destilada e esterilizada, obtendo-se as concentrações de 2, 20, 100 e 200 ppm. Aliquotas de 30µL da suspensão conidial foram depositadas em lâminas escavadas e, em seguida, 30µL da solução fúngica preparada foram depositados sobre a suspensão de conídios e misturados, obtendo-se as concentrações de 1, 5, 10, 25, 50 e 100 ppm dos fungicidas com uma suspensão conidial de  $1 \times 10^3$  conídios/mL. As lâminas escavadas foram mantidas em condições de câmara úmida e temperatura de  $25^{\circ}\text{C} \pm 1$ , no escuro.

Após as 12 horas de incubação, adicionou-se ácido láctico com o objetivo de inibir a germinação dos esporos após este período. Foram considerados conídios germinados aqueles que apresentaram tubo germinativo com comprimento de, no mínimo, uma vez o tamanho do conídio.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), com três repetições, em que cada parcela consistiu de três cavidades onde se contou 100 conídios por cavidade, totalizando 300 conídios por parcela. Para análise estatística, obteve-se a porcentagem de conídios germinados.

## **4.2 Ensaio em campo**

Dos quatro fungicidas testados, um foi aplicado via solo e os demais por pulverização. As dosagens e as aplicações foram feitas de acordo com o produto (fabricante). Os produtos à base de mancozeb, chlorotalonil e tetraconazol foram aplicados a cada 45 dias, para o período de safra de outubro a maio. No caso do triadimenol, foram feitas apenas três aplicações em épocas estratégicas: início da fase chumbinho (logo após floração), fase de expansão (enchimento dos frutos) e fase “verde cana”.

Dentre os fungicidas utilizados, o mancozeb é registrado para a cultura do café na dose de 2kg/ha para o controle de antracnose, ferrugem e cercosporiose. O tetraconazol e o triadimenol também são registrados para cultura do café, apenas para controle da ferrugem na dose de 1L/ha e 12kg/ha, respectivamente. O triadimenol foi aplicado via solo, na dose de 3,40g por planta de café. Já o chloratholonil não é registrado para a cultura do café, porém, possui registro para o controle da antracnose em melancia, pepino, melão e uva na dose de 3kg/ha.

### **4.2.1 Delineamento e avaliações**

O delineamento utilizado foi de blocos casualizados com três repetições, quatro fungicidas mais duas testemunhas “plantas doentes e sadias”, com parcelas formadas por três plantas.

Foram marcados ramos nas plantas doentes, sendo dois de cada lado da linha de plantio, os quais foram avaliados em intervalos de 20 dias, contando-se o número de folhas, número de frutos, comprimento do ramo a partir do ramo ortotrópico. Avaliou-se também o número de lesões em 4cm<sup>2</sup> de área foliar. Esta avaliação foi em uma única folha do ramo marcado, compreendendo somente folha em completo estágio de desenvolvimento. A metodologia de avaliação constou de duas medições de 2cm<sup>2</sup> quadrados, uma em cada lado da nervura

central da folha. Para a medição da área de avaliação, foi delimitado, em papel "cartolina", um retângulo de 2 cm<sup>2</sup>, o qual foi colocado sobre a folha, contando-se o número de lesões dentro da área. Foi também avaliada a produção de frutos cereja na safra de 2005/2006.

#### **4.2.2 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).

#### **4.2.3 Dados climáticos**

Os dados climáticos foram fornecidos pelo Setor de Agrometeorologia do Departamento de Engenharia (DEN) da UFLA, coletados diariamente, no período entre outubro de 2004 a maio de 2006.

Dessa forma, obtiveram-se as seguintes variáveis climáticas: precipitação (mm), temperatura máxima (°C) temperatura mínima (°C), temperatura média (°C), umidade relativa do ar (%) e insolação diária (h). 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.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Sensibilidade micelial de *C. gloeosporioides* aos fungicidas

Os dados referentes ao índice de crescimento micelial e valores médios de percentagem de inibição do isolado de *C. gloeosporioides* em diferentes concentrações de tetraconazol, triadimenol, chlorotalonil e mancozeb são apresentados nas Tabelas 2, 3 e 4.

Para o índice de crescimento micelial (ICM), o fungicida mais eficaz na menor concentração foi o tetraconazol, com o ICM de 2,4, enquanto que o mancozeb, nesta concentração, foi o que apresentou menor eficiência no ICM, com média de 8,0 cm. Já os demais fungicidas (chlorotalonil e triadimenol) apresentaram valores de ICM intermediários, não diferindo estatisticamente a 5% de probabilidade (Tabela 2). No entanto, todos os fungicidas foram eficientes quando comparados à testemunha, que teve um ICM de 8,9, em média. Verificou-se que, com o aumento da concentração, diminuía-se o ICM. De modo geral, todos os fungicidas seguiram tal padrão. Verificou-se que, para os fungicidas tetraconazol e triadimenol, a partir da concentração de 25 e 500 ppm, respectivamente, cessavam o crescimento micelial (Tabela 2), tendo alta sensibilidade do fungo ao tetraconazol, segundo Edgington et al. (1971) (Tabela 4).

TABELA 2 Índice de crescimento micelial (ICM) de *Colletotrichum gloeosporioides* para diferentes tipos de fungicidas e distintas concentrações. UFLA, Lavras, MG, 2006.

[ppm]	FUNGICIDAS			
	Mancozeb	Chlorotalonil	Tetraconazol	Triadimenol
0	9,2 A g	8,6 A h	9,0 A d	8,8 A f
1	8,0 C f	6,8 B g	2,4 A c	6,6 B e
5	7,2 D e	6,2 C f	1,0 A b	4,0 B d
10	7,0 C e	4,2 B e	0,8 A b	4,2 B d
25	6,2 D d	3,6 C d	0,0 A a	3,0 B c
50	6,0 D d	2,8 C c	0,0 A a	2,2 B b
100	5,2 C c	2,2 B b	0,0 A a	0,4 A a
500	3,6 C b	1,0 B a	0,0 A a	0,0 A a
1000	2,6 C a	0,8 B a	0,0 A a	0,0 A a

\*Médias seguidas de mesma letra, maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 0,5% de probabilidade.

TABELA 3 Valores médios de percentagem de inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* e a concentração mínima inibitória (CMI). UFLA, Lavras, MG, 2006.

FUNG.	CONCENTRAÇÕES (ppm)								
	1	5	10	25	50	100	500	1000	CMI <sup>1</sup>
Man*	13,0 <sup>2</sup>	21,7	23,9	32,6	34,7	43,4	60,8	71,7	>1000
Chlor.	20,9	27,9	51,1	58,1	67,4	74,4	88,3	90,7	>1000
Tetra.	73,3	88,8	91,1	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	10-25
Triad.	25,0	54,5	52,2	65,9	77,2	95,4	100,0	100,0	100-500

<sup>1</sup>Intervalo entre concentrações, onde podem-se encontrar valores de 100% de inibição do crescimento micelial.

<sup>2</sup>Média de cinco repetições

\*(Mancozeb; Chlorotalonil; Tetraconazol; Triadimenol)

A 25 ppm, não houve crescimento micelial para o tratamento com o tetraconazol, sendo, portanto, entre os fungicidas testados, o que apresentou menor concentração mínima inibitória (CMI) (Tabela 3). A CMI para o triadimenol ocorreu entre 100 e 500 ppm, enquanto que, para os fungicidas mancozeb e chlorotalonil, ocorrem a partir de 1000 ppm.

A 1.000 ppm, houve crescimento micelial somente nos tratamentos com mancozeb e chlorotalonil. O ICM do mancozeb foi de 2,6 cm e do chlorotalonil 0,8 cm, apresentando 71,74% e 90,70% de inibição do crescimento micelial. O tetraconazol foi o fungicida que apresentou menor índice de crescimento micelial do patógeno, menor concentração mínima inibitória (CMI) e ED<sub>50</sub> menor que 1 ppm (Tabela 4).

A eficiência de fungicidas do grupo químico dos triazóis na inibição do crescimento micelial *in vitro* de *Colletotrichum* já foi comprovada em outros trabalhos (Freeman et al., 1997). Em testes *in vitro* com tebuconazole e propiconazole, foi observada inibição do crescimento micelial de *C. acutatum* em baixas concentrações (< 1 ppm) (Kosowski et al., 2001; Tavares, 2004), assim como na inibição do crescimento micelial de *C. gloeosporioides* do mamão (Tavares & Souza, 2005) e no controle de *C. gloeosporioides* em plantas de citros da variedade Natal por tebuconazole.

TABELA 4 Efeito dos fungicidas sobre o índice de crescimento micelial e germinação de conídios de *C. gloeosporioides*. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Fungicidas	Sensibilidade micelial		Sensibilidade conídios	
	ED <sub>50</sub> <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>	ED <sub>50</sub> <sup>1</sup>	E <sup>2</sup>
Chlorotalonil	19,75	BS	<1	AS
Mancozeb	266,55	I	11,32	BS
Tetraconazol	<1	AS	5,45	MS
Triadimenol	11,4	BS	6,86	MS

<sup>1</sup>Calculo da ED<sub>50</sub> (concentração suficiente para inibir 50% do crescimento micelial);

<sup>2</sup>Eficiência do fungo aos fungicidas (AS: alta sensibilidade; BS: baixa sensibilidade; MS: moderada sensibilidade e I: insensibilidade).

Compostos sistêmicos são particularmente efetivos, devido a sua capacidade de penetrar e translocar nos tecidos do hospedeiro, erradicando infecções latentes ou quiescentes (Jefries et al., 1990). Entretanto, dentro do grupo dos triazóis, existe diferença na eficiência do ingrediente ativo, fato este já observado por Tavares & Souza (2005) para tebuconazole e propiconazole, no crescimento micelial de *C. gloeosporioides* do mamão.

Neste trabalho, o triadimenol com ED<sub>50</sub> igual a 11,4 ppm, pertencente ao grupo dos triazóis, foi classificado como de baixa eficiência, assim como o chlorotalonil, com ED<sub>50</sub> igual a 19,75 ppm (Tabela 4).

A ineficiência do chlorotalonil em testes de inibição do crescimento micelial de *C. gloeosporioides in vitro* já foi observada por Haddad et al. (2003). Segundo estes autores, os isolados de *C. gloeosporioides*, causador do mal-das-sete-voltas, não apresentavam completa inibição do crescimento micelial mesmo em altas concentrações (1.000 ppm).

O mancozeb não apresentou resultados satisfatórios nos testes *in vitro*,

sendo classificado como ineficiente ED<sub>50</sub> igual a 266,55 ppm (Tabela 4), demonstrando-se também ineficiente no controle da morte de ramos causado por *C. gloeosporioides* em plantas com mancha manteigosa (Ferreira et al., 2005), apesar de ser utilizado em programas de pulverização em pré-colheita para o controle de antracnose em frutíferas, tais como manga (Fitzell & Peak, 1984) e mamão (Alvarez & Nishijima, 1987; Tatagiba et al., 2002). Segundo Kososki et al. (2001), o mancozeb só impediu o crescimento micelial de *C. acutatum*, da flor-preta-do-morangueiro, nas concentrações de 50 e 100 ppm, demonstrando, então, sua baixa eficiência neste tipo de teste.

As curvas de regressão de ICM *in vitro* para o isolado de *C. gloeosporioides*, “isolado mancha manteigosa”, submetido a diferentes concentrações dos fungicidas testados, encontram-se na Figura 1. Foi possível observar que a maioria dos fungicidas testados diminuiu seu ICM quando aumentada à concentração do produto (Figura 1).

As análises de regressões foram analisadas com base na concentração máxima de 100 ppm, para todos os fungicidas testados desconsiderando o tratamento testemunha (Figura 1). O tetraconazol foi o que mais acentuou a redução do ICM, com aumento das concentrações (alta eficiência do produto sobre o fungo), no qual a 1 ppm apresentava redução de 73,33% do crescimento micelial (Tabelas 2 e 3). Fungos, principalmente do gênero *Colletotrichum*, tem demonstrado alta sensibilidade aos fungicidas do grupo dos inibidores da síntese ergosterol. Segundo Tavares (2004) e Tavares & Souza (2005) fungicidas como imazalil, prochloraz, propiconazole e tebuconazole demonstraram alta sensibilidade a *C. gloeosporioides* do mamão. Com 1 ppm reduziu-se, em média, 83,3% o crescimento micelial.

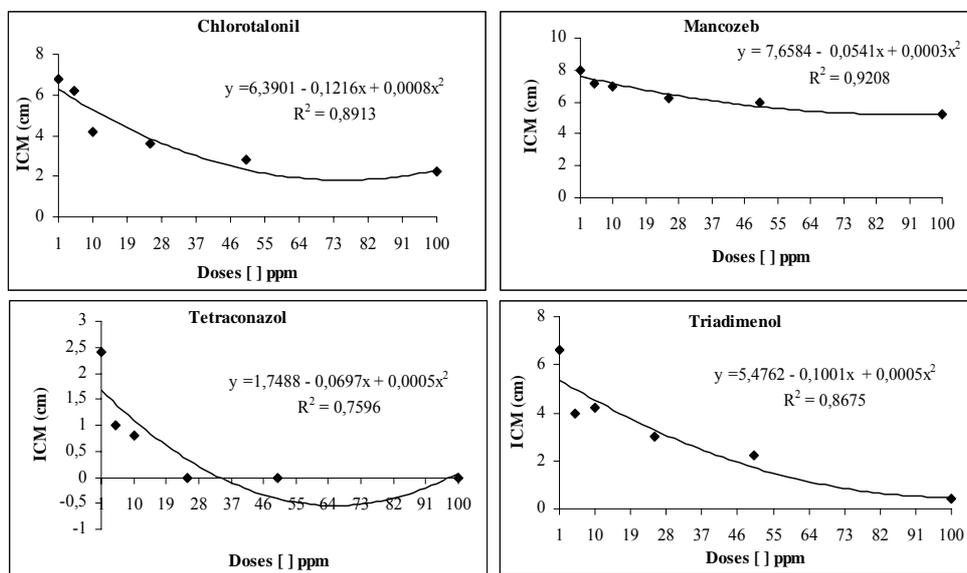


FIGURA 1 Curva de crescimento micelial de *C. gloeosporioides*, submetido as diferentes concentrações de fungicidas. Lavras, MG, UFLA, 2006.

## 5.2 Sensibilidade de conídios de *C. gloeosporioides* aos fungicidas

Os dados referentes à sensibilidade da germinação de conídios de *C. gloeosporioides* são apresentados na Tabela 5. O efeito dos ingredientes ativos sobre as taxas de germinação de conídios foi diferente dos observados para o crescimento micelial, resultando em diferentes processos biológicos mensurados a partir destas variáveis.

Em consideração à inibição da germinação, o chlorotalonil foi o fungicida que apresentou melhor desempenho em todas as concentrações (Figura 2). A 1 ppm, a germinação de conídios foi de 16,66%, enquanto que o tetraconazol, considerado o mais eficiente na inibição do crescimento micelial, teve germinação de 62,33% nesta mesma concentração (Tabela 5). O chlorotalonil apresentou um ED<sub>50</sub> menor que 1 ppm, demonstrando, assim, sua

alta eficiência na inibição de germinação de esporos, sendo classificado como um fungicida de alta sensibilidade, segundo os critérios de Edgington et al. (1971) (Tabela 4). Isso, provavelmente ocorreu pelo fato de esse fungicida agir diretamente na germinação de esporos. Este resultado é semelhante ao encontrado por Kososki et al. (2001), para a germinação de *C. acutatum* da flor-preta-do-morangueiro, porém, diverge do resultado obtido por Tavares & Souza (2005) em que, a 1 ppm ocorria germinação de 70,4% dos conídios de *C. gloeosporioides* do mamão e, a 10 ppm, a germinação era totalmente inibida. No presente trabalho, a inibição total da germinação de conídios para o chlorotalonil ocorreu entre 50 e 100 ppm (Tabela 5).

TABELA 5 Valores médios de percentagem da germinação de conídios de *Colletotrichum gloeosporioides*, em diferentes concentrações de diversos grupos de fungicidas. UFLA, Lavras, MG, 2006.

[ppm]	FUNGICIDAS			
	Mancozeb	Chlorotalonil	Tetraconazol	Triadimenol
0	82,00 a	87,00 a	86,66 a	85,33 a
1	70,66 c	16,66 a	62,33 bc	52,66 b
5	76,00 c	12,33 a	49,66 b	59,33 b
10	40,33 bc	5,00 a	38,00 b	49,66 c
25	20,66 b	3,33 a	21,00 b	20,66 b
50	6,33 ab	1,00 a	0,66 a	14,00 b
100	0,00 a	0,00 a	0,00 a	13,00 b

\*Médias seguidas de mesma letra nas linhas não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 0,5% de probabilidade.

Observou-se que, com o aumento da concentração dos fungicidas, diminuía o percentual da germinação dos conídios (Figura 2), fato mais evidente no chlorotalonil (Tabela 5). Na concentração de 100 ppm, a maioria dos fungicidas inibiu por completo a germinação, exceto o triadimenol, com

germinação de 13,0%, considerado como o fungicida que menos reduziu a germinação para todas as concentrações testadas (Tabela 5).

Os fungicidas tetraconazol e triadimenol apresentaram ED<sub>50</sub> igual a 5,45 e 6,86 ppm, respectivamente, tendo moderada sensibilidade na inibição da germinação de conídios. Já o mancozeb apresentou ED<sub>50</sub> 11,32 ppm demonstrando assim, baixa sensibilidade na inibição da germinação. Assim como no teste do índice do crescimento micelial (ICM), o mancozeb foi o fungicida de menor eficiência nos testes realizados (Tabela 4), corroborando, mais uma vez, com os resultados preliminares apresentados por Ferreira et al. (2005).

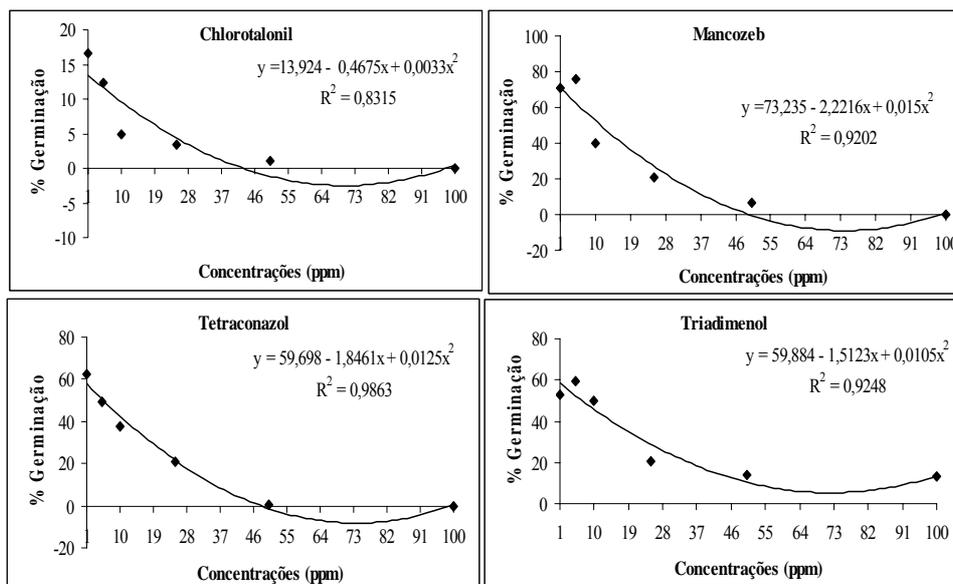


FIGURA 2 Curva de crescimento micelial de *C. gloeosporioides*, submetido as diferentes concentrações de fungicidas. Lavras, MG, UFLA, 2006.

### 5.3 Ensaio em campo

No período de monitoramento a campo, verificaram-se diferentes efeitos

entre os fungicidas. Para o progresso de mortes de ramos, na safra 2004/2005, destacou-se o triadimenol, reduzindo o número médio de morte de ramos por planta, enquanto que, na safra 2005/2006, destacou-se o chlorotalonil (Figuras 4A e B). Comparando-se os dois anos de avaliações, verificou-se maior progresso de morte de ramos no ano safra 2005/2006 (Figura 5), possivelmente devido ao prolongamento das chuvas (março e abril de 2006), em média, 290,2 mm, contra 163,2 mm, no mesmo período do ano anterior (Figura 3). Segundo Ferreira (2004), neste mesmo período, para o ano de 2003, verificaram-se médias de 70,1 mm.

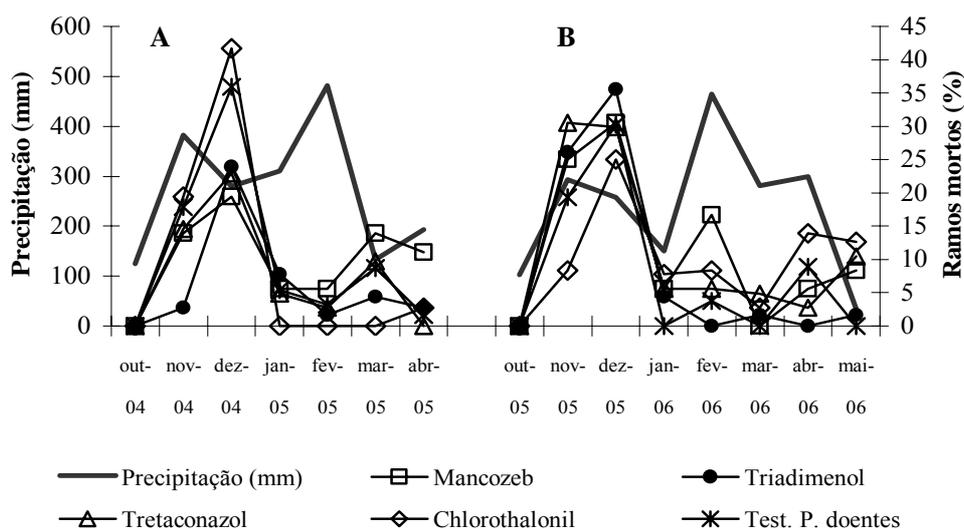


FIGURA 3 Progresso da morte de ramos do cafeeiro com sintomas de mancha manteigosa para diferentes fungicidas correlacionados com o regime de chuvas (A= safra 2004/2005) (B= safra 2005/2006). UFLA, Lavras, MG, 2006.

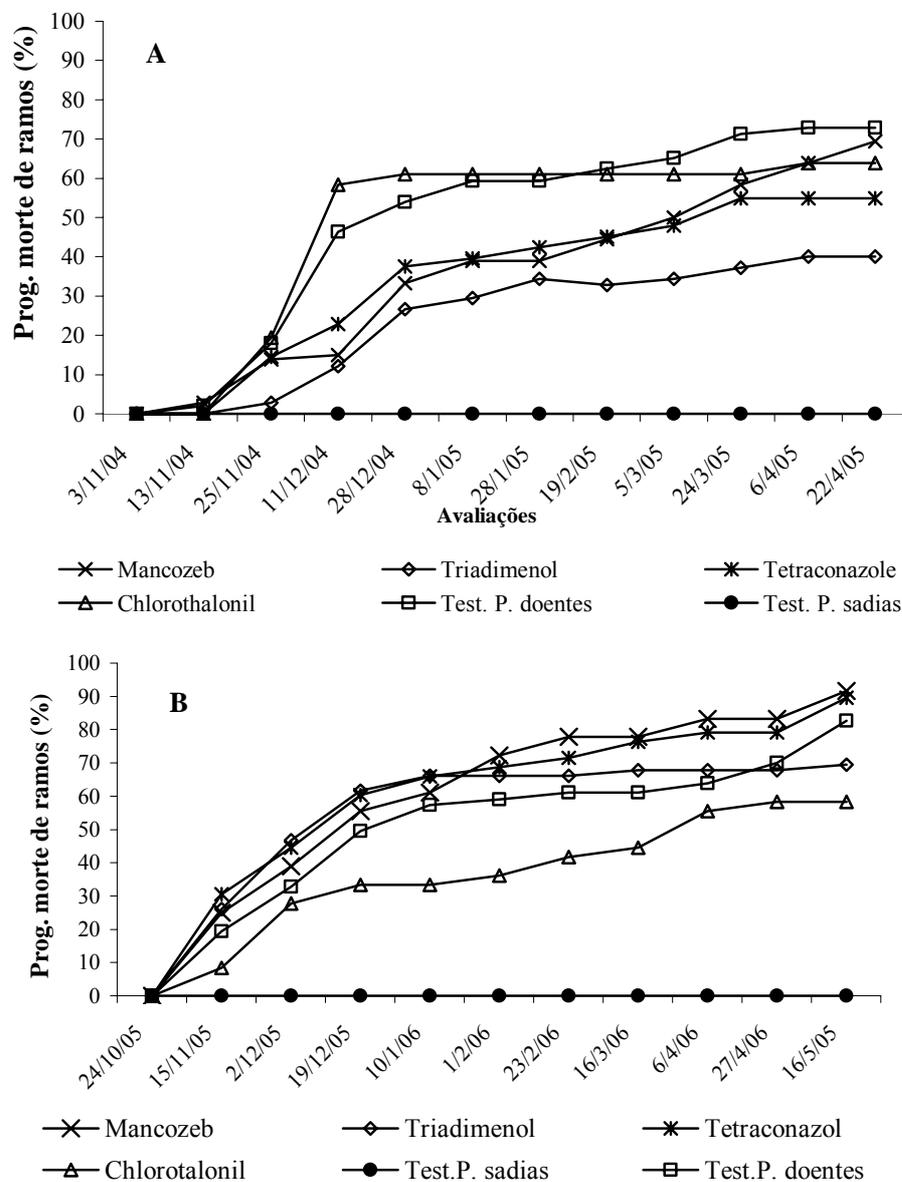


FIGURA 4 Curvas de progresso da morte de ramos do cafeeiro com sintomas de mancha manteigosa, no período de nov./2004 a maio/2006 com diferentes fungicidas (A= nov./04 a abr./05) (B= out./05 a maio/06). UFLA, Lavras, MG, 2006.

No período de monitoramento (safra 2004/2005 e 2005/2006), verificaram-se padrões similares da morte de ramos. No período de outubro a janeiro, ocorreu maior progresso de morte de ramos, com máximo no mês de dezembro, período com precipitação de 279,3 mm e temperatura máxima (média de 27,7°C) e umidade relativa (média de 80%) (Figuras 3 e 7).

Segundo Ferreira (2004) e Ferreira, et al. (2004), ataques intensos nas folhas e ramos novos estão relacionados com a fase de maior vegetação, correspondendo ao período quente e chuvoso, de outubro a fevereiro. No presente trabalho, correlaciona-se também a morte de ramos com a fase de enchimento de frutos (chumbinho), fase de intensos processos fisiológicos.

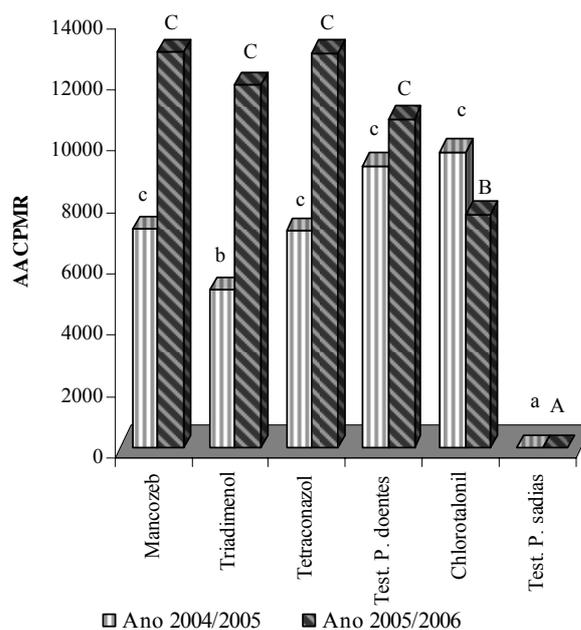


FIGURA 5 Áreas abaixo da curva de progresso da morte de ramos (AACPMR) do cafeeiro com sintomas de mancha manteigosa, no período de nov./2004 a maio/2006, submetidos a distintos fungicidas. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Segundo Ferreira (2004), em estudos de progresso da antracnose em folhas de cafeeiro, verificou-se que as maiores incidências de *Colletotrichum* spp. nas folhas estão correlacionadas com altas precipitações.

Pela análise da área abaixo da curva de progresso da morte de ramos (AACPMR), observa-se que, no período de 2004/2005, o triadimenol em aplicações via solo, foi o fungicida mais eficiente na redução da morte de ramos por *C. gloeosporioides*, em plantas com mancha manteigosa em comparação com as parcelas tratadas com tetraconazol, chlorotalonil e o mancozeb. Nestas, houve efeito semelhante na redução de mortes de ramos e, em relação ao ano safra 2005/2006, destacou-se o chlorotalonil, seguido pelo triadimenol, mancozeb e tetraconazol (Figura 5).

Segundo Salustiano et al. (2002), em testes a campo, o triadimenol não demonstrou tanta efetividade na redução de antracnose causada por *Colletotrichum* spp. em frutos de café. Por outro lado, Ferreira et al. (2005) observaram que o triadimenol, em aplicações via solo, foi o fungicida mais eficiente na redução da morte de ramos por *C. gloeosporioides* em plantas com mancha manteigosa.

Quando avaliados o crescimento médio de ramos, o número médio de folhas por ramos e o número médio de lesões em 4cm<sup>2</sup>, não se verificou efeito significativo entre os fungicidas (Figura 6). Contudo, verificou-se o aumento médio no crescimento de ramos e no número médio de folhas (Figuras 6A, B, C e D). Em relação ao número médio de lesões, verificou-se aumento do número de lesões por folhas ao longo do tempo, com maior evidência nas plantas não pulverizadas (testemunha) (Figura 6C). Na safra 2005/2006, verificou-se menor número de lesões, comparada à safra 2004/2005, porém, não houve diferenças entre os fungicidas com o decorrer das avaliações e pulverizações (Figura 6F).

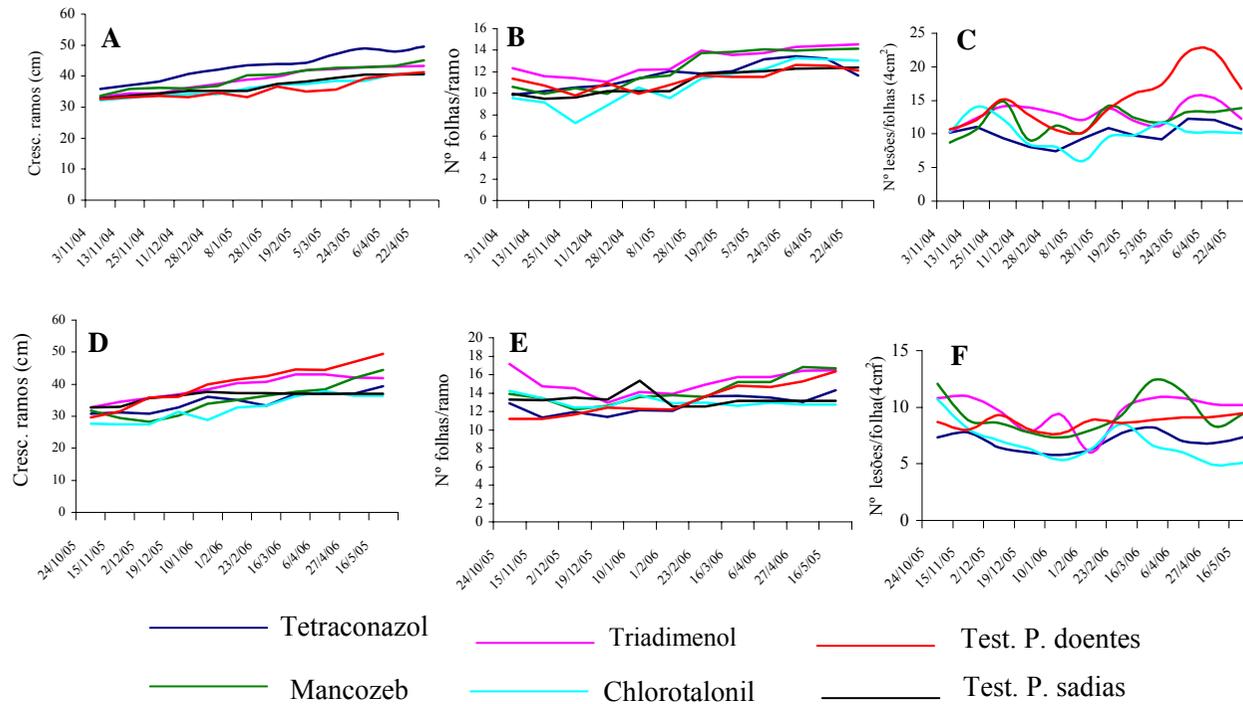


FIGURA 6 Curvas de progresso do crescimento de ramos, números de folhas por ramos e número médio de lesões por 4cm<sup>2</sup> de folha em cafeeiro *Coffea arabica* L. com sintomas da mancha manteigosa no período de nov./2004 a maio/2006 com diferentes fungicidas (A, B e C ano safra 2004/2005 e D, E e F ano safra 2005/2006). UFLA, Lavras, MG, 2006.

Em busca de alternativas para o manejo de *C. gloeosporioides* “isolado mancha manteigosa”, pesquisadores realizaram receitas baixas em plantas doentes, porém, não obtiveram o seu controle. Concluíram que, em plantas com sintoma da doença, receitas não colaboram para a eliminação deste patógeno, pois este coloniza o sistema vascular das plantas doentes (Orozco, 2003; Ferreira, 2004; Pereira et al., 2005a). Inferiram que o uso de fungicidas de contato poderia ter pouco efeito no controle desta doença e que fungicidas sistêmicos poderiam proporcionar melhores resultados. Segundo Vargas & González (1972), na Costa Rica, como medida de controle recomendavam erradicar todas as plantas doentes. Apesar disso, surgiam novos casos.

No período de avaliações, quantificou-se o número de frutos por ramos ao longo do tempo (Tabela 7). No primeiro ano de avaliações (safra 2004/2005), não se verificou efeito significativo entre os fungicidas apenas quando comparados com o número de frutos em ramos de plantas sadias (sem pulverizações) (Tabela 7). Plantas com mancha manteigosa têm significativa queda de frutos. Na safra 2004/2005, com relação ao progresso de frutos em plantas doentes, verificou-se que o triadimenol e o chlorotalonil foram os mais promissores, apresentando, em média, 6 e 4 frutos/ramos, respectivamente, seguidos pelo mancozeb e o tetraconazol, com 2 e 1 frutos/ramos na última avaliação, enquanto que, nas plantas doentes sem pulverizações, não existiam fruto nos ramos (Tabela 7).

No ano safra 2005/2006, verificou-se um maior número de frutos, quando comparado ao ano anterior (ano de alta carga pendente), apresentando, nas plantas sadias, média de 943 frutos chumbinho por ramos e nas plantas doentes não pulverizadas média de 339 frutos. Observou-se, nas plantas doentes tratadas, maior número de frutos chumbinho para o tratamento com triadimenol (578 frutos), seguido pelos tratamentos com tetraconazol e chlorotalonil (287 e 237 frutos, respectivamente) (Tabela 7).

TABELA 7 Progresso do número de frutos em ramos e produções médias de plantas de cafeeiro *Coffea arabica* L. com sintoma da mancha manteigosa submetidas a diferentes fungicidas, no período de nov. 2004 a maio/2006. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Ano Safra - 2004/2005															
Tratamentos	Avaliações												Média <sup>1</sup>	AACPF <sup>2</sup>	Produção <sup>3</sup>
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12			
Mancozeb	182	125	65	41	22	16	7	4	2	2	2	2	39 b	5432 b	-
Triadimenol	115	75	40	30	21	16	12	11	10	8	7	6	29 b	4331 b	-
Tetraconazol	91	69	48	27	16	6	4	3	1	1	1	1	22 b	3214 b	-
Chlorotalonil	164	99	52	16	11	6	5	4	4	4	4	4	31 b	4070 b	-
Test.P.doentes	203	99	59	22	12	5	2	1	1	1	0	0	34 b	4224 b	-
Test.P.sadias	362	345	344	322	322	321	304	303	291	278	265	261	310 a	55430 a	-
Ano Safra - 2005/2006															
Mancozeb	175	70	29	14	3	0	0	0	0	0	0	-	27 c	4161 c	90,667 d
Triadimenol	578	185	72	42	17	12	8	9	9	7	7	-	86 b	13437 ab	535,000 b
Tetraconazol	287	110	29	9	2	2	1	0	0	0	0	-	40 bc	6098 b	157,000 c
Chlorotalonil	237	174	89	65	51	25	15	12	6	4	4	-	62 b	11293 b	483,000 b
Test.P.doentes	339	161	99	62	31	5	6	6	3	1	1	-	65 b	10882 b	223,000 c
Test.P.sadias	943	930	927	887	868	741	737	737	696	693	692	-	805 a	164766 a	10960,333 a

Dados transformados  $\log_{(x)}$  <sup>1</sup>CV= 50,87%; CV= 50,10%; <sup>2</sup>CV=9,93% CV=9,24%; <sup>3</sup>produções média(g) em três plantas Cv=29,87% Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si, pelo teste de Tukey (p≤0,05)

No segundo ano, verificaram-se efeitos significativos entre os fungicidas, pela análise da área abaixo da curva de progresso de frutos (AACPF). O triadimenol se destacou, seguido pelo chlorotalonil tendo o mancozeb teve a menor AACPF. Nas últimas avaliações não existiam frutos nos ramos tratados com mancozeb e com tetraconazol. Já o triadimenol e o chlorotalonil apresentaram em média, 7 e 4 frutos/ramos, respectivamente (Tabela 7). Neste último ano foi avaliada a produção média por tratamento. Entre os fungicidas testados, destacou-se o triadimenol, seguido pelo chlorotalonil, com médias de 535 e 483 g, respectivamente, tendo o mancozeb a menor, produção com 90,66 g, seguido pelo tetraconazol, com 157 g, ambos com produções inferiores à das plantas doentes não pulverizadas com média de 223 g. (Tabela 7). Esta produção (plantas doentes não pulverizadas) maior do que em algumas plantas tratadas, talvez seja devido a uma menor queda de frutos ao longo do tempo, pois, na última avaliação verificou-se, em média, 1 fruto/ramo (Tabela 7). Mesmo com as aplicações em plantas doentes (duas safras consecutivas), quando se compara produções de plantas sadias (sem sintoma da mancha manteigosa) com produções de plantas doentes, verifica-se uma enorme diferença, em torno de 95% (Tabela 7).

Nestas observações a campo, revelou-se um agravante na sintomatologia da doença. Mesmo naquelas plantas que sofreram tratamento químico por fungicidas, constatou-se um forte definhamento, com grande número de ramos mortos, provocando declínio vegetativo e, conseqüentemente, produtivo, com altos percentuais de quedas de frutos.

Ataques intensos são observados em folhas e ramos novos em plantas adultas, ocorrendo necrose e seca dos ramos na parte apical, podendo levar à morte das plantas de forma descendente (Ferreira et al., 2004). Esses ataques intensos observados nas folhas e ramos novos estão relacionados com a fase de maior vegetação, correspondendo ao período quente e chuvoso, de outubro a

fevereiro. Em cafeeiros com mancha manteigosa, a produção é afetada gradativamente, chegando a ser nula (Costa et al., 2003; Ferreira, 2004 e Ferreira, et al., 2004).

Em estudos de monitoramento da mancha manteigosa em campo, Ferreira (2004) verificou que, naquelas plantas com sintomas de mancha manteigosa, foi possível observar declínio vegetativo e, conseqüentemente, produtivo: ramos plagiotrópicos com internódios curtos, florescimento sem o total vingamento, acarretando em baixos percentuais de chumbinho e mumificação com o desenvolvimento e crescimento destes frutos. Durante os dois anos de monitoramento, houve perda significativa de produção, a qual chegou a ser nula em algumas plantas. Plantas recepadas tiveram suas brotações atrofiadas e, à medida que emitiam novas brotações, surgiam também sintomas da doença. Ferreira (2004) e Ferreira et al. (2004), por meio de estudos de colonização nos ovários, observaram que as plantas com sintomas de mancha manteigosa foram mais suscetíveis ao *C. gloeosporioides*, com média de 27,91%, enquanto as plantas sem sintomas tiveram média de 5,83%.

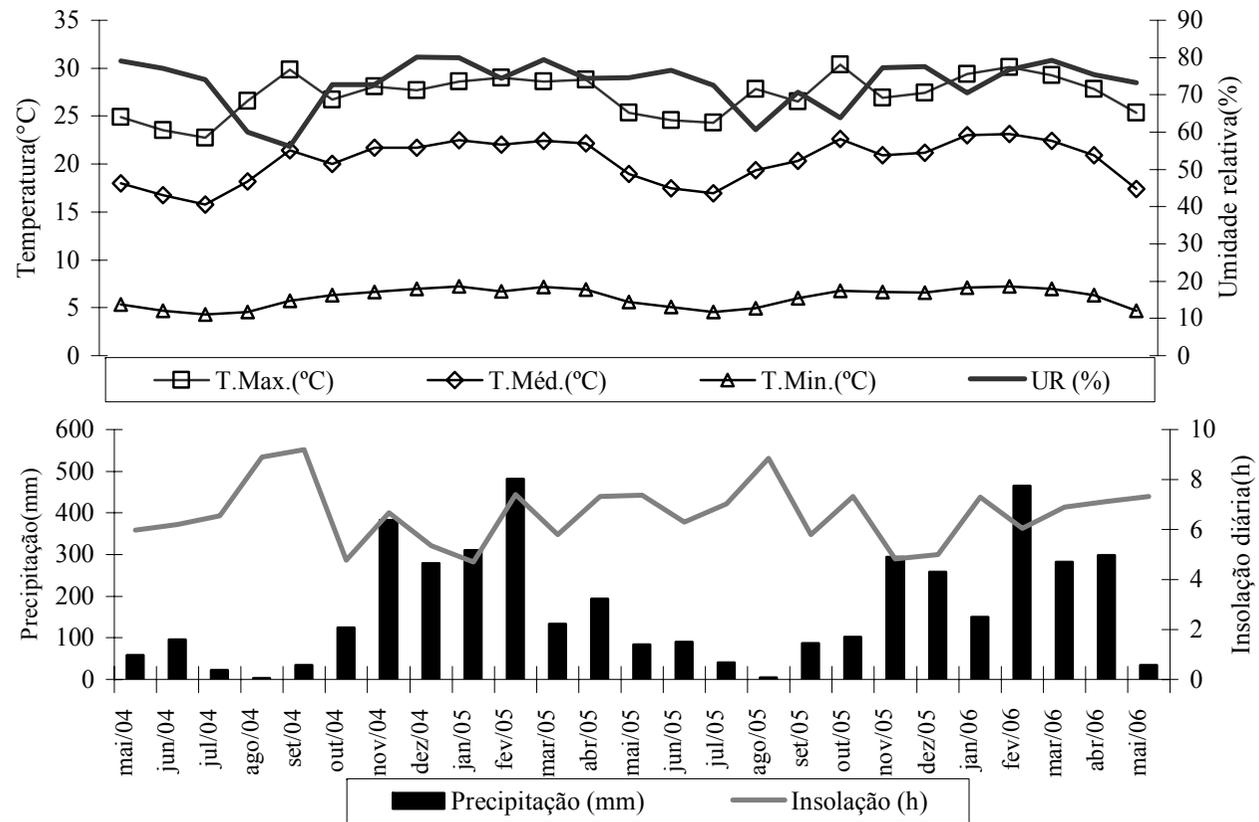


FIGURA 7 Variáveis climáticas no período de mai./04 a mai./06. UFLA, Lavras, MG, 2006.

## 6 CONCLUSÕES

O tetraconazol foi o fungicida que determinou menor índice de crescimento micelial do patógeno, menor concentração mínima inibitória e ED<sub>50</sub> menor que 1ppm.

O mancozeb não apresentou resultados satisfatórios nos testes *in vitro* e no ensaio em campo.

O chlorotalonil em relação à inibição da germinação foi o fungicida que apresentou melhor desempenho.

Os fungicidas mancozeb e triadimenol apresentaram baixa eficiência na inibição da germinação de *C. gloeosporioides*.

Os fungicidas chlorotalonil e triadimenol considerando-se, o progresso de morte de ramos, o número de frutos/ramos e a produção de frutos cereja, foram os que proporcionaram os melhores resultados de eficiência em campo.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVAREZ, A. M.; NISHIJIMA, W. T. Post harvest diseases of papaya. **Plant Disease**, St. Paul, v. 71, n. 8, p. 681-686, Aug. 1987.

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

COSTA, H.; VENTURA, J. A.; FERRÃO, M. A. Mancha mantejgosa 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.

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

EDGINGTON, L. V.; KHEW, K. L.; BARRON, G. L. Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds, **Phytopathology**, St. Paul, v. 61, n. 1, p. 42-44, Jan. 1971.

FERREIRA, J. B. **Flutuação Sazonal e associação de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. a diferentes órgãos e tecidos cafeeiros (*Coffea arabica* L.)**. 2004. 90 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

FERREIRA, J. B.; PEREIRA, I. S.; FERNANDES, K. D.; ABREU, M. S. Prejuízos ocasionados pela mancha manteigosa em cafeeiros (*Coffea arabica* L.). In: ENCONTRO SUL MINEIRO DE CAFEICULTURA, 10.; SIMPÓSIO DE PESQUISA CAFEIEIRA DO SUL DE MINAS, 5., 2004, Lavras. **Anais...** Lavras: Necaf, 2004. 1CD-ROM

FERREIRA, J. B.; SILVA, E. H.; FERNANDES, K. D.; PEREIRA, R. B.; ABREU, M. S.; PEREIRA, I. S. Efeito de fungicidas no controle da seca de ramos do cafeeiro (*C. arabica* L.) com mancha manteigosa (*Colletotrichum* spp.). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30, p. 111-111, ago. 2005. (Resumo). Suplemento.

FITZELL, R. D.; PEAK, C. M. The epidemiology of anthracnose disease of mango: inoculum sources, spore production and disposal. **Annals Applied Biology**, Warwick, v. 104, n. 1, p. 53-59, Jan. 1984.

FREEMAN, S.; NIZANI, F.; DOTAN, S.; EVEN, S.; SANDO, T. Control of *Colletotrichum acutatum* in strawberry under laboratory, greenhouse and field conditions. **Plant Disease**, St. Paul, v. 81, n. 7, p. 749-752, July 1997.

HADDAD, F.; MAFFIA, L. A.; MIZUBUTI, E. S. G. Avaliação de fungicidas para o controle de *Colletotrichum gloeosporioides* em cebola. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 4, 435-437, jul./ago. 2003.

JEFFRIES, P.; DOODD, J. C.; JEGER, M. J.; PLUMBIEY, R. A. The biology and control of *Colletotrichum* species on tropical fruits crops. **Plant Pathology**, Oxford, v. 39, n. 3, 343-366, Sept. 1990.

KOSOSKI, R. M.; FURLANETTO, C.; TOMITA, C. K.; FILHO, A. C. C. Efeito de Fungicidas em *Colletotrichum acutatum* e Controle da Antracnose do Morangueiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, jul. 2001. Resumo.

MENTEN, J. O. M. et al. Efeito de alguns fungicidas no crescimento micelial da *Macrophomina phaseolina in vitro*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 1, p. 57-66, fev. 1976.

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, 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. 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.

PEREIRA, I. S. **Compatibilidade vegetativa e sexual do complexo *Glomerella-Colletotrichum* associado ao cafeeiro e estudos histopatológicos.** 2005. 92 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SALUSTIANO, M. E.; OROZCO, M. E.; ABREU, M. S. E.; POZZA, E. A. Efeito de Fungicidas Recomendados para o Controle de Ferrugem do Cafeeiro sobre *Colletotrichum* spp. In: CONGRESSO DE PÓS GRADUAÇÃO, 11., 2002. Lavras, MG.

TATAGIBA, J. S.; LIBERATO, J. R.; ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J. A.; COSTA, H. Controle e condições climáticas favoráveis à antracnose do mamoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, p. 186-192, mar./Abr. 2002.

TAVARES, G. M.; SOUZA, P. E. Efeito de Fungicidas no Controle *in vitro* de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente etiológico da Antracnose do Mamoeiro (*Carica papaya* L.). **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 1, p. 52-59, jan./fev. 2005.

TAVARES, G. M. **Controle químico e hidrotérmico da antracnose em frutos de mamoeiro (*Carica papaya* L.) na pós-colheita.** 2004. 55 p. Dissertação (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, apr./jun. 1972.

## **CAPÍTULO 4**

### **ANÁLISE DA DINÂMICA, ESTRUTURA DE FOCOS E ARRANJO ESPACIAL DA MANCHA MANTEIGOSA EM CAMPO**

## 1 RESUMO

FERREIRA, Josimar Batista. Análise da dinâmica, estrutura de focos e arranjo espacial da mancha manteigosa em campo. In: **Aspectos histopatológicos, epidemiologia e controle da mancha manteigosa em *Coffea arabica* L.** 2006. Cap. 4. p. 114-138. Tese (Doutor em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.\*

A mancha manteigosa, doença que causa declínio de lavouras cafeeiras ocasiona acentuada redução 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. Nos últimos anos, tem sido observado ataque severo da doença, ocasionando perdas de produções, devido o não vingamento da flor e a mumificações dos frutos. Objetivou-se, neste estudo, realizar estudos epidemiológicos de dispersão espacial da doença, por meio de arranjos espaciais e da análise da dinâmica e estruturas de focos da doença. A área experimental utilizada, cultivada com a cv. Catucaí Vermelho, localiza-se no campus da Universidade Federal de Lavras (UFLA) no Setor de Cafeicultura. Foi realizado monitoramento por três anos consecutivos. Neste período de acompanhamento, não houve progresso da doença no campo. Verificou-se que, abaixo de planta doente, surgiam mudas com sintomas da doença, dando forte indicio da transmissibilidade via semente. Na área estudada, constatou-se um total de 10 focos, com média de 2,5 plantas/foco, com tendência destes focos (maior número de plantas sintomáticas) na direção das linhas de plantios, tendo disposição de forma elíptica. Observou-se número elevado de focos unitários, correspondendo a 52% das plantas doentes. Pelas análises de arranjo espacial (seqüências ordinárias *runs* e *doublet*) verificou-se padrão espacial aleatório. Tal fato indica que a mancha manteigosa ocorre a partir de plantas isoladas (focos unitários) e, ainda, que tal característica se deve ao fato de que, neste patossistema, a principal via de transmissão é a semente (semente-planta-semente).

---

\* Comitê de Orientação: Mario Sobral de Abreu - UFLA (Orientador); Eduardo Alves e Edson Ampélio Pozza - UFLA (Co-orientadores)

## 2 ABSTRACT

FERREIRA, Josimar Batista. Analysis of the dynamics, foci structure and spatial arrangement of the blister spot in the field. In: **Aspects histopathology, epidemiology and control of blister spot on *Coffea arabica* L.** 2006. Cap. 4 p.114-138. Thesis (Doctorate in Plant Pathology) – Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil.\*

The blister spot is responsible for the decline in the coffee plantations and considered yield reduction. Severe disease symptoms are observed on the leaves and young shoots leading to the blight and necrosis in the tips of the shoots, and sometimes causing the death of the whole tree. In the last years severe disease attack have been observed leading to yield reduction due to the lack of fertilization of flowers and fruit mummification. The aim of the present work was to study the epidemiology of the spatial dispersion pattern of the disease through spatial arrangements and the analysis of the dynamics and foci structure of the disease. Experiments were carried out in a plantation of ‘Catucaí Vermelho’ in the coffee research area of the Universidade Federal de Lavras, UFLA. The area was monitored during three years. No disease progress was observed in this area during the period of study. Plantlets showing disease symptoms were found under the canopy of diseased trees, strongly indicating that the disease can be transmitted through the seeds. Ten foci with 2.5 trees per focus were observed in the studied area. The foci were distributed following the plant rows with elliptical shape. Unitary foci predominated in the area in 52% of the diseased trees. Analyses of runs and doublets showed a random spatial pattern of the disease. These results evidenced that the blister spot occurs from isolated plants (unitary foci) and this characteristic can possibly be explained if the seeds are the principal disease transmission via (seed-plant-seed).

---

\* Advising Committee: Mario Sobral de Abreu - UFLA (Adviser); Eduardo Alves and Edson Ampélio Pozza – UFLA (Co-advisers)

### 3 INTRODUÇÃO

Na cultura do café, são poucos os estudos epidemiológicos no patossistema cafeeiro-*Colletotrichum* e, menos ainda, focando-se a mancha manteigosa. Os sintomas característicos da doença são aqueles observados em folhas. Inicialmente, manchas de cor verde-clara, de aspecto oleoso, menos brilhante que a superfície da folha e em estágios avançados, as manchas apresentam coloração verde-pálida a amarela e bordas irregulares. Já nos ramos e frutos, as lesões são menores, deprimidas, necróticas de cor marrom clara e bordas irregulares. Nos últimos anos, a mancha manteigosa tem revelado um agravante na sintomatologia. No campo, observa-se um forte definhamento com grande número de ramos mortos, provocando declínio vegetativo e, conseqüentemente, produtivo (Ferreira et al., 2005).

Historicamente, a literatura científica nacional diverge quanto aos danos ocasionados por este patógeno. Há técnicos que consideram o gênero *Colletotrichum* associado ao cafeeiro como um patógeno primário, que ataca diretamente os tecidos da planta provocando danos e perdas de produções e outro grupo (técnicos) o considera como um patógeno secundário. É certo que a ocorrência de *Colletotrichum* spp. é grave nas regiões cafeeiras do Brasil, pois têm-se observado perdas significativas de produção pelo ataque do fungo em frutos verdes, gerando mumificações com conseqüente queda dos mesmo (Ferreira et al., 2004).

A cultura do café vem sendo comprometida pela associação de espécies de *Colletotrichum* spp. em todos os estádios dos órgãos do cafeeiro: folhas, frutos, flores e ramos. Neste contexto, destaca-se a “mancha manteigosa”, doença que ocasiona acentuada redução na produção, morte de ramos, queda e mumificação de flores e de frutos chumbinho (Ferreira, 2004). Desde sua

aparição, na Costa Rica, como medida de controle, recomendava-se erradicar todas as plantas doentes, apesar disso, novos casos da doença surgiram (Vargas & González, 1972). Atualmente, existem relatos da doença nos estados de Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Espírito Santo, Rondônia e Amazonas, nas espécies *C. arabica* e *C. canephora*, nas cultivares Catucaí Vermelho e Amarelo, Rubi, Mundo Novo, Catucaí Vermelho e Conilon.

Estudos epidemiológicos relacionados à transmissão e dispersão são necessários para subsidiar, principalmente, como se proceder no manejo da enfermidade.

Objetivou-se, neste trabalho, realizar estudos epidemiológicos de dispersão espacial da doença, por meio de arranjos espaciais e da análise da dinâmica e estrutura de focos da doença.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Monitoramento da doença

Foi realizado o monitoramento da mancha manteigosa, no campo, no período de maio de 2004 a maio 2006, para estudos da dispersão espacial.

### 4.2 Área experimental

Como área experimental foi utilizada uma lavoura da cultivar Catucaí Vermelho, localizada no campus da UFLA, com aproximadamente 0,3ha, com espaçamento de 3,5 x 0,8m. Nesta área, há uma grande população de plantas que expressam sintomas de mancha manteigosa. Nestas plantas foram realizados monitoramentos da incidência da doença, por período de três anos consecutivos.

### 4.3 Estudo espacial da doença

Foram realizadas avaliações a cada seis meses, verificando-se o número de plantas doentes na área, sendo analisados padrões espaciais da doença nas linhas de plantio por meio de teste de *doublet* e teste de *run* (Bergamin Filho et al., 2004).

#### 4.3.1 Mapeamento da doença na área

Para o mapeamento foi utilizado o sistema de posicionamento global (GPS). A área experimental foi mapeada, georreferenciando a localização das plantas doentes dentro das linhas de plantios.

#### 4.3.2 Arranjo espacial da doença

##### 4.3.2.1 Análise de *doublet*

Na análise de *doublet* ( $D$ ), é utilizado como critério de decisão, duas plantas adjacentes doentes, que é igual  $1(D)$ . Foram caracterizados, nas linhas de plantio os números de plantas sadias (-) e doentes (+). Foi calculado o número esperado de *doublets*  $E(D)$  e sua variância  $s^2(D)$ . Calculou-se o valor padronizado de  $Z_D$  com base na distribuição normal, considera-se  $Z_D > 1,64$  ( $P=0,05$ ) define-se com padrão agregado e, quando  $Z_D < 1,64$  ( $P=0,05$ ) padrão acaso. As fórmulas seguintes descrevem o processo dos cálculos:

$$E(D) = m(m-1) / N;$$

$$s^2(D) = [m(m-1)[N(N-1) + (2N(m-2) + N(m-2)(m-3) - (N-1)m(m-1))] / N^2(N-1)];$$

$$Z_D = [(D + 0,5 - E(D)) / s(D)];$$

Em que:  $D$ : número de *doublet*;  $m$ : número de plantas doentes;  $N$ : número de plantas na linha;  $s(D)$  desvio padrão.

#### 4.3.2.2 Análise de *run*

Neste teste, o número de *runs* é definido como uma seqüência de um ou mais símbolos idênticos (- - ++ - +) na linha de plantio. Foram calculados o número esperado de *runs*  $E(R)$  e a sua variância  $s^2(R)$ . Calculou-se o valor padronizado de  $Z_R$  com base na distribuição normal, considera-se  $Z_R > 1,64$  ( $P=0,05$ ) com padrão acaso e, quando  $Z_R < 1,64$  ( $P=0,05$ ) padrão agregado. Assim, caso existam ' $N$ ' plantas numa linha e ' $m$ ' dentre elas estejam doentes, as fórmulas seguintes descrevem o processo dos cálculos:

$$E(R) = 1 + 2m(N-m) / N;$$

$$s^2(R) = 2m(N-m)[2m(N-m) - N] / [N^2(N-1)];$$

$$Z_R = [R + 0,5 - E(R)] / s(R);$$

Em que:  $R$ : número de *runs*;  $m$ : número de plantas doentes;  $N$ : número de plantas na linha;  $s(R)$  desvio padrão.

#### **4.3.3 Índice de dispersão**

Foi realizado o cálculo do índice de dispersão (D), que é a relação entre (Variância ( $s^2$ )/Média (x)). Quando ( $D < 1$ ), indica padrão espacial regular, ( $D = 1$ ), aleatório e ( $D > 1$ ), agregado (Campbell & Madden, 1990). Com base no mapa da distribuição espacial da doença, foram agrupados conjuntos de cinco plantas, contando-se o número de plantas doentes. Montou-se, então, o quadro de distribuição e em seguida fizeram-se cálculos da variância e da média para designar o índice de dispersão.

#### **4.3.4 Análise da dinâmica e estrutura de focos (ADEF)**

Com base no mapa da distribuição espacial da doença, foram realizados cálculos da análise de estrutura de focos (ADEF) (Bergamin Filho et al., 2004). Consideraram-se como foco aquelas plantas com sintomas imediatamente adjacentes no padrão de proximidade vertical, horizontal ou diagonal. Foram avaliados os números de focos unitários (NFU), compreendendo aquele composto por uma planta afetada; estimou-se o número de focos (NF) na área; avaliaram-se o número de plantas por foco (NPF); o índice de forma de focos (IFF); o índice de compactação de focos (ICF). Para cada foco designado, quantificou-se o número máximo de linhas (lf) e colunas (lc) ocupadas, sendo utilizados nos cálculos do  $IFF = [(lf/lc)]$  e o  $ICF = [(lf*lc)/NPF]$ .

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Monitoramento da doença

Na primeira avaliação, no ano de 2004, foram encontradas 52 plantas doentes, dentre as 423 plantas averiguadas. Nos anos de 2005 e 2006, realizaram-se novas averiguações, porém, verificou-se comportamento similar ao do ano de 2004, não tendo sido constatado o progresso da doença em campo. Neste período de monitoramento, observou-se que abaixo de planta doente, existiam mudas com sintomas da doença, dando forte indício da transmissibilidade via semente. Orozco et al. (2002a) em sementes de plantas doentes com mancha manteigosa, quantificaram-se, em média, 14% de infecção por *Colletotrichum* spp. no endosperma. Possivelmente, na formação desta lavoura (material utilizado em seleção para resistência à ferrugem) empregaram-se sementes colhidas em plantas doentes, fato que vem explicar o surgimento e a estagnação da doença nesta área.

No Brasil, os primeiros relatos da doença datam de 1958, feitos por Bitancourt. Mas, somente a partir da década de 90 quando foi relatada, em Minas Gerais, causando prejuízos à produção local, é que se começou a dar maior ênfase aos estudos deste patossistema (Dorizzoto & Abreu, 1993). Desde sua aparição, na Costa Rica, como medida de controle, recomendavam-se erradicar todas as plantas doentes. Apesar disso, novos casos da doença surgiram (Vargas & González, 1972). Em estudos de monitoramento da mancha manteigosa em campo, Ferreira (2004) verificou que, naquelas plantas com sintomas de mancha manteigosa, observou-se declínio vegetativo e, conseqüentemente, produtivo com perda significativa de produção, a qual chegou a ser nula em algumas plantas. Ferreira et al. (2004), em estudos de colonização nos ovários, observaram média 27,91% de colonização por *C.*

*gloeosporioides* em plantas com sintomas e média de 5,83% em plantas sem sintomas.

## **5.2 Estudo espacial da doença**

Por meio do sistema de posicionamento global (GPS), fez-se o mapeamento da área, georreferenciando plantas doentes e plantas sadias em três anos consecutivos (2004, 2005 e 2006), verificando-se que a distribuição espaço temporal de plantas doentes e sadias permaneceu idêntica nas três avaliações realizadas. A distribuição espacial da doença ao longo de três anos está esquematizada na Figura 1. Com base no sistema de posicionamento global, verifica-se disposição das linhas de plantios no sentido sudeste a noroeste. Em relação ao agrupamento da doença nas linhas de plantios, houve aglomeração máxima de três plantas, verificada em apenas uma das linhas. O maior número de agrupamentos foi de duas plantas doentes consecutivas, num total de sete grupos, observados em seis das oito linhas de plantios (Figura 1). Observou-se também elevado número de focos unitários, num total de 27 focos distribuídos aleatoriamente por todas as linhas de plantios (Figura1).

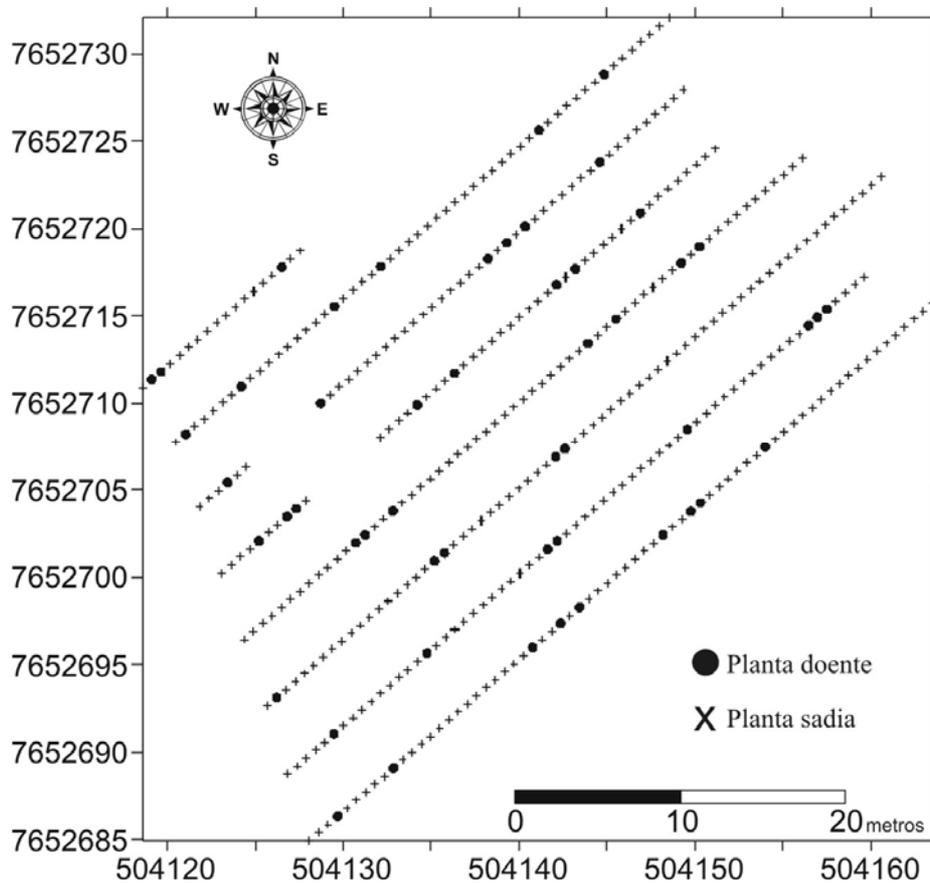


FIGURA 1 Mapeamento da distribuição espacial da mancha manteigosa em plantas de cafeeiro (cv. Catucaí Vermelho), por meio de sistema de posicionamento global. UFLA, Lavras, MG, 2006.

### 5.2.1 Dispersão da doença

A análise do índice de dispersão (D) foi designada por meio do agrupamento de cinco plantas computando-se o número de plantas doentes. A partir de então, realizaram-se os cálculos do D. Verificou-se o índice de dispersão para a área avaliada, num total 420 plantas agrupadas de cinco em cinco (média 0,61, variância de 0,55), obtendo-se D igual 0,90. Segundo

Campbell & Madden (1990) e Bergamin Filho et. al. (2004), quando ( $D < 1$ ) indica padrão espacial regular; ( $D = 1$ ) aleatório; ( $D > 1$ ) agregado. Porém, neste trabalho, o D foi igual a 0,90 (padrão espacial regular), muito próximo do padrão aleatório. Pelo mapa de distribuição (plantas doentes e sadias) (Figura 1) observa-se que o padrão aleatório é o mais representativo para elucidar a dispersão espacial da mancha manteigosa.

Laranjeira et al. (2004) utilizaram o D para estudos da dinâmica espacial da clorose variegada dos citros (CVC), em três regiões do estado de São Paulo. Segundo os autores não houve tendência clara para a maioria das avaliações pelo uso do D, porém, não foi observado um padrão que, biologicamente, fizesse sentido. Pelo o uso do D, é possível indicar se, em uma dada área ou em uma dada avaliação, as plantas doentes estariam agregadas ou não. Porém, neste estudo, o índice de dispersão (D) não foi satisfatório para a descrição do padrão espacial da doença.

### **5.2.2 Número de focos e tamanho dos focos**

Foram considerados como foco plantas com sintoma da mancha manteigosa imediatamente adjacente em padrão de proximidade vertical, horizontal ou diagonal. Tais critérios são adotados por diversos pesquisadores, nos mais diferentes patossistemas: morte súbita dos citros, amarelecimento fatal do dendezeiro e clorose variegada dos citros (Nelson, 1996; Laranjeira et al., 1998a; Laranjeira et al., 1998b; Jesus Junior & Bassanezi, 2004).

Na área estudada verificou-se um total de 10 focos, com média de 2,5 plantas por focos, sendo no máximo, quatro plantas e, no mínimo, duas plantas por focos (Tabela 1).

TABELA 1 Número de focos (NF), número de plantas por focos (NPF), número de plantas doentes na maior linha (lf), número de plantas doentes na maior coluna (lc), índice de forma de focos (IFF) e índice de compactação de focos (ICF) avaliados em 0,3 hectares de cafeeiro cultivar Catucaí Vermelho infectado com mancha manteigosa. UFLA, Lavras, MG, 2006.

<b>NF</b>	<b>NPF</b>	<b>lc</b>	<b>lf</b>	<b>IFF</b>	<b>ICF</b>
1	3	2	2	1,00	0,75
2	2	1	2	0,50	1,00
3	4	2	2	1,00	1,00
4	2	1	1	1,00	2,00
5	2	1	2	0,50	1,00
6	3	2	2	1,00	0,75
7	2	1	2	0,50	1,00
8	2	1	2	0,50	1,00
9	3	1	3	0,33	1,00
10	2	1	2	0,50	1,00
Média	2,5	1,3	2	0,68	1,05

Nesta área de aproximadamente 0,3 ha. foram mapeadas 423 plantas, das quais 52 estavam doentes com mancha manteigosa, com incidência de 12,3% (Tabela 2).

Foi computado o número de focos unitários por linha de plantio, observando, no máximo, sete focos unitários por linha, com média de 3,4 focos unitários por linha de plantio. (Tabela 2). Observou-se número elevado de focos unitários com total de 27 focos, o que correspondente a 52% das plantas com sintomas da mancha manteigosa (Tabela 2).

TABELA 2 Número de linhas, número de plantas por linhas, número de plantas doentes (NPD), porcentagem de plantas doentes (%PD), número de focos unitários (NFU) avaliados em 0,3 hectares de cafeeiro cultivar catucaí vermelho infectados com mancha manteigosa. UFLA, Lavras, MG, 2006.

<b>Nº linha</b>	<b>Nº plantas</b>	<b>NPD</b>	<b>%PD</b>	<b>NFU</b>
1	17	3	17,64	1
2	54	6	11,11	5
3	46	6	13,04	4
4	47	8	17,02	3
5	61	7	11,47	3
6	67	5	7,46	1
7	63	8	12,69	3
8	68	9	13,23	7
Área 0,3 ha	423	52	12,3 (%)	27 (52,0%)

Jesus Junior & Bassanezi (2004), em estudos da análise da dinâmica e estrutura de focos da morte súbita do citros, avaliando o número de focos por 1.000 plantas (NFM) de acordo com a incidência, constataram o número máximo de focos em talhões com incidência de 18% estimado em 64 focos/1.000 plantas; à medida que aumentou a incidência, diminuía o NFM. Quando estudaram o número de focos unitários por 1.000 plantas (NF1M), os mesmos autores, verificaram o máximo de focos unitários em talhões com incidência de 13% estimado em 34 focos/1.000 plantas, diminuindo com o aumento dos níveis de incidência.

No presente trabalho, verificou-se que, na área estudada (incidência de 12,3%), 52% eram formados por focos unitários. Tal fato indica que, em geral, o início das epidemias de mancha manteigosa se dá por meio de plantas isoladas, reafirmando que, neste patossistema (mancha manteigosa-cafeeiro), a principal via de transmissão da doença é a semente-planta-semente. Verificou-se, que à

medida que aumentava o número de plantas observadas, aumentava também o percentual do número de focos unitários (Figura 2B). Isso se justifica pelo fato da transmissão ser, basicamente, via semente, originando plantas adultas doentes em campo, com maior probabilidade de ocorrer focos unitários. Jesus Junior & Bassanezi (2004), trabalhando com morte súbita do citros, verificaram que em talhões com até 2% de plantas com sintomas, 85% dos focos eram formados por uma única planta e, nos casos de até 10% de incidência, mais de 65% dos focos eram unitários. Segundo os autores, o início das epidemias da morte súbita dos citros se dá por meio de plantas isoladas, fato também reportado para clorose variegada dos citros (CVC) (Laranjeira et al., 1998a; Nelson, 1996; Nunes et al., 2001), verificando-se que, quando a incidência de CVC foi de 10%, cerca de 60% dos focos eram unitários.

Verificou-se variação quanto ao número de plantas por focos (NPF) (Figura 2A), dos quais 60% eram formados por duas plantas adjacentes, considerando aproximação vertical, horizontal ou diagonal. Já os focos formados por três e quatro plantas equivalem a 30% e 10%, respectivamente, do total de focos. Diante de tais observações, conclui-se que a mancha manteigosa é uma doença complexa, pois não se tem observado a transmissão planta a planta, tampouco o aumento do número de focos ao longo do tempo (três anos de avaliações). Sabe-se que plantas doentes a campo têm revelado um grande número de ramos mortos, provocando declínio vegetativo e produtivo e que o uso de manejo por meio de receitas não é satisfatório, pois à medida que são emitidas novas brotações, surgem também os sintomas da doença (Ferreira et al., 2005; Pereira, 2005; Ferreira, 2004, Orozco, 2003).

### **5.2.3 Formato e compacidade dos focos**

Neste trabalho, pôde-se verificar uma tendência de agrupamento das plantas mais nas linhas do que nas colunas, pelos valores observados entre o

número de plantas doentes na maior linha (lf) com o número de plantas doentes na maior coluna (lc) (Tabela 1). Tal fato ocorreu, provavelmente, devido aos elevados índices de focos compostos por apenas duas plantas adjacentes nas linhas (Figura 1). Nesse tipo de análise, segundo Jesus Junior & Bassanezi (2004), a interpretação da forma e da compacidade dos focos deve ser cuidadosa, principalmente em situações com incidências relativamente elevadas. Porém neste trabalho, a incidência observada foi de 12,3%. Segundo os autores, a partir de determinada incidência, a forma do talhão avaliado começa a interferir nos resultados do IFF e do ICF. Normalmente, quando a incidência de plantas doente é relativamente alta (maior que 35%), é comum que um foco ocupe todas as linhas ou plantas de uma linha do talhão e que o seu crescimento só ocorra em uma direção por falta de mais linhas ou plantas. Este tipo de interferência devido à forma do talhão também havia sido reportada por Laranjeira et al. (1998a), em análises de talhões com CVC.

Para a análise do índice de forma de focos (IFF), foram apenas computados focos com plantas doentes adjacentes, descartando os focos unitários. Verificaram-se, na maioria dos focos, valores iguais ou menores que um, respectivamente, em 60% e 40% dos casos, sendo na maioria, em torno de 0,5 (média =0,68, desvio padrão 0,26) (Figura 2D e Tabela 1). Observou-se que, nos casos em que predominam focos com o número de linha (lf) igual ao número de colunas (lc) ou focos formados por uma única planta, o IFF é igual a 1,0. Segundo Jesus Junior & Bassanezi (2004), a morte súbita do citros (MSC) mostrou tendências dos valores do IFF serem próximos de 1,0, principalmente quando se trata de elevado número de focos unitários. Estes mesmo autores analisaram o índice de forma de foco não unitários (IFFNU), o que, segundo eles, permite melhor visualização da forma do foco e uma melhor interpretação do modo de disseminação da doença entre plantas. No presente estudo, também

se verificou altos índices de focos unitários em torno de 52%, porém, não foram utilizados nos cálculos do IFF.

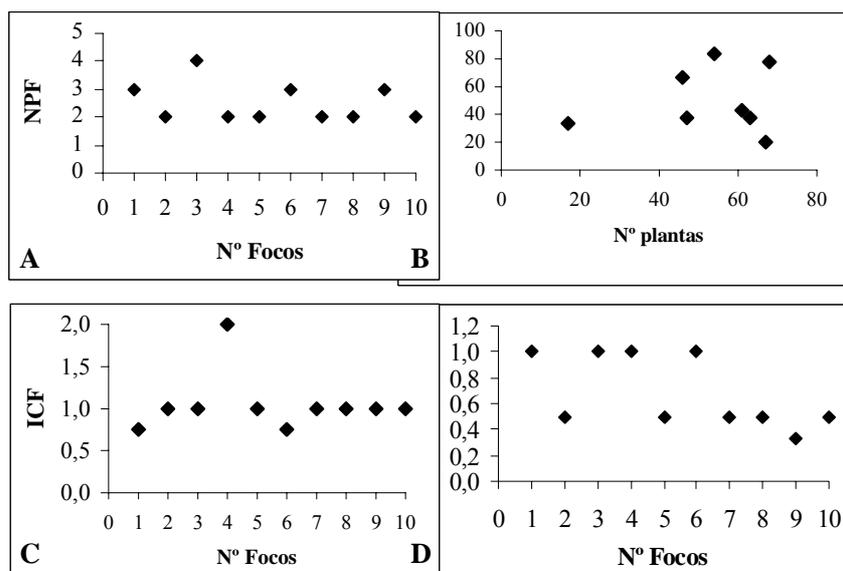


FIGURA 2 Estudos do comportamento epidemiológico de focos da mancha manteigosa em cafeeiro *Coffea arabica* L. **A:** NPF: Número de plantas por foco; **B:** %FU: porcentagem de focos unitários; **C:** ICF: índice de compactação de focos; **D:** IFF: índice de forma de focos (tirados focos unitários). UFLA, Lavras, MG, 2006.

Mesmo em área reduzida, com apenas 423 plantas de cafeeiro, foi possível verificar tendência dos focos com maior número de plantas sintomáticas na direção das linhas do que entre linhas de plantios, tendo disposição de forma elíptica e não isodiamétrica, como observado para CVC (Nelson, 1996 e Laranjeira et al. 1998a). Jesus Junior & Bassanezi (2004) também verificaram forma elíptica em estudos de dinâmica e estrutura de focos para MSC. No caso desta área avaliada (cv. Catucaí Vermelho-mancha manteigosa), a disposição do plantio é de: 0,80cm entre plantas e 3,80cm entre linhas. A proximidade entre as

plantas dispostas nas linhas em relação à distância entre linhas, facilitará a transmissão do patógeno, caso este tenha transmissão planta-planta. Até o momento, isso ainda não foi elucidado, porém, sabe-se que uma das formas de transmissão é via semente oriunda de planta doente.

Em referência à compacidade dos focos, verificou-se um forte agrupamento, observando-se que a maioria dos focos analisados teve valores próximos de 1,0 (média=1,05 e desvio padrão=0,33), considerados com focos compactos (Figura 2C). Focos mais compactos possuem valores de ICF próximos a 1,0 e os menos compactos, valores menores (Nelson, 1996). Jesus Junior & Bassanezi (2004), para a MSC, verificaram que à medida que aumentava a incidência, diminuía o ICF. Comportamento semelhante foi citado por Laranjeira et al. (1998a), para o patossistema CVC. A compacidade observada nas plantas de cafeeiro com sintomas da mancha manteigosa (focos compactos), vem corroborar com as informações de que a via principal da transmissibilidade da doença (mancha manteigosa) seja pelas sementes, oriundas de plantas doentes (planta-semente-planta).

#### **5.2.4 Arranjo espacial da mancha manteigosa**

Pelas análises de seqüências ordinárias, “*ordinary runs*”, foi constatado em 100% das linhas de plantio, arranjo espacial aleatório (casual) de plantas doentes nos três anos de monitoramento (2004, 2005 e 2006) da área “Figura 1” (Tabela 3A). Verificou-se que o número médio de *runs* ( $R$ ) nas linhas de plantios foi 11,6 definidos como uma seqüência de um ou mais símbolos idênticos (- - ++ - +) nas linhas de plantios. Observou-se que o número médio esperado de *runs*  $E(R)$  foi 11,34, sendo relativamente próximo ao número de *runs* observados (Tabela 3A). Com base na distribuição normal, verificou-se que os valores padronizados de  $Z_R$  em todas as linhas de plantios foi menor que 1,64, definindo-se como padrão espacial ao acaso, a 5% de probabilidade.

Com relação às análises de seqüências ordinárias “*ordinary doublet*” foi constatada a predominância do arranjo espacial aleatório em 62,5% das linhas de plantios (Tabela 3B). A porcentagem de linhas indicando agregação foi baixa, observada em apenas três das oito linhas de plantio. Tal agregação se deu somente naquelas linhas de plantios em que se observou agrupamento de plantas doentes adjacentes dentro da linha de plantio (Figura1). Na análise de *doublet (D)*, observou-se número médio de 1,12 *doublets* nas linhas de plantios, tendo número médio de  $E(D)$  (*doublets* esperado) igual a 0,71. Pela análise de *doublet* considerando o somatório do número de *doublets* e o número esperado de *doublets*  $E(D)$ , verificou-se que o valor estandardizado de  $Z_D$  foi igual a 1,09, sendo menor que 1,64 ( $P=0,05$ ) definindo-se como padrão espacial ao acaso (Tabela 3B).

Comparando-se os dois métodos de análises de arranjo espacial (seqüências ordinárias *runs* e *doublet*), verificou-se, em ambas as análises, padrão espacial ao acaso (aleatório). Tal fato indica que a mancha manteigosa ocorre por meio de plantas isoladas (focos unitários) e tal característica se deva ao fato de que, neste patossistema (mancha manteigosa-cafeeiro), a principal via de transmissão é semente-planta-semente. Orozco et al. (2002a) observaram que, em sementes de plantas doentes com mancha manteigosa, havia, em média, 14% de *Colletotrichum* spp. no endosperma. Na literatura, há diversos relatos comprovando a existência e a transmissão de *Colletotrichum* spp. em semente de diferentes espécies vegetal (Neergaard, 1979; Machado, 2000; Talamini et al., 2002). Ferreira et al. (2004) verificaram sintomas em plântulas germinadas abaixo de plantas doentes. Este autor acredita que o sintoma da doença se expressa somente em condições especiais de suscetibilidade da planta e ou da modificação das condições ambientais. Já Vargas & González (1972) acreditam que, provavelmente, há um caráter genético que predispõe as plântulas de mancha manteigosa a uma maior patogenicidade.

Silva et al. (2001), em análise de seqüências ordinárias para descrição do arranjo espacial do vira-cabeça do fumo (*Groundnut ringspot vírus*, GRSV), constataram predominância do arranjo aleatório de plantas doentes e baixo percentuais de agregação nas linhas de plantios. Os arranjos espaciais de plantas com viroses são influenciados pela interação de vários fatores, incluindo ambiente e vetores (Madden et al., 1982). Segundo Silva et al. (2001), a predominância do arranjo aleatório de plantas doentes indica que a infecção das plantas de fumo com GRSV pode ter sido originária de uma fonte exógena à área de plantio ou decorrente de mudas infectadas.

No presente estudo, foi monitorada a incidência da mancha manteigosa por período de três anos consecutivos, porém, não se observou o avanço da doença. Conclui-se que a mancha manteigosa é uma doença complexa, pois não se tem observado a transmissão planta a planta, mesmo quando se trata de plantios adensados, com presença de ramos de plantas doentes entrelaçados com ramos de plantas sadias. Sabe-se que plantas doentes, em campo, têm revelado grande número de ramos mortos provocando declínio vegetativo e produtivo (Ferreira et al., 2005; Pereira, 2005; Ferreira, 2004, Orozco, 2003).

Com base nestes parâmetros - dispersão da doença, análise da estrutura e forma de focos e arranjos espaciais – pôde-se concluir que a mancha manteigosa tem a semente como a principal ou única via de disseminação da doença. Especula-se que o fungo esteja presente na semente (Orozco et al., 2002abc; Orozco, 2003 e Ferreira, 2004), pois existem estudos comprovando a existência e a transmissão de *Colletotrichum* spp. em semente de diferentes espécies vegetais (Neergaard, 1979; Machado, 2000; Talamini et al., 2002).

TABELA 3 Análise de arranjo espacial da mancha manteigosa (*C. gloeosporioides*) em cafeeiro *Coffea arabica* L. analisado por seqüências ordinárias (teste *runs* e *doublet*) UFLA, Lavras, MG. 2006.

<b>A</b>			<b>Teste <i>runs</i></b>					P=0,05
<b>linha</b>	<b>N</b>	<b>m</b>	<b>R</b>	<b>E(R)</b>	<b>s<sup>2</sup>(R)</b>	<b>s(R)</b>	<b>ZR</b>	<b>Decisão</b>
1	17	3	4,0	5,0000	2,3173	1,5222	-0,3284	casual.
2	54	6	13	10,6851	4,6070	2,1464	1,3114	casual.
3	46	6	13	10,4565	5,8524	2,4191	1,2580	casual.
4	47	8	15	13,2978	14,6800	3,8314	0,5747	casual.
5	61	7	13	12,4098	6,5519	2,5596	0,4258	casual.
6	67	5	7,0	9,2686	1,6827	1,2972	-1,3634	casual.
7	63	8	11	13,9841	9,9018	3,1467	-0,7894	casual.
8	68	9	17	15,6323	13,2513	3,6402	0,5130	casual.
<b>TOTAL</b>	423	52	93(*11,6)	91,2(*11,3)	388,7249	19,7161	0,0904	casual.
<b>B</b>			<b>Teste de <i>doublet</i></b>					P=0.05
<b>Linha</b>	<b>N</b>	<b>m</b>	<b>D</b>	<b>E(D)</b>	<b>s<sup>2</sup>(D)</b>	<b>s(D)</b>	<b>ZD</b>	<b>Decisão</b>
1	17	3	1	0,3529	0,3395	0,5826	1,9685	agreg.
2	54	6	0	0,5555	0,5522	0,7431	-0,0747	casual.
3	46	6	0	0,6521	0,6476	0,8047	-0,1890	casual.
4	47	8	1	1,1914	1,1855	1,0888	0,2833	casual.
5	61	7	1	0,6885	0,6854	0,8279	0,9801	casual.
6	67	5	2	0,2985	0,2967	0,5447	4,0411	agreg.
7	63	8	3	0,8888	0,8855	0,9410	2,7747	agreg.
8	68	9	1	1,0588	1,0555	1,0273	0,4294	casual.
<b>TOTAL</b>	423	52	9(*1,12)	6,26(*0,71)	6,239861	2,497971	1,093086	casual.

\*valores médios; N: n°. plantas; m: plantas doentes; R: *runs*; E(R): *runs* esperados; D: *doublet*; E(D): *doublet* esperados; s<sup>2</sup>: variância; s: desvio padrão; casual.: casualizado; agreg.: agregado.

## 6 CONCLUSÕES

Não há progresso da doença no campo, ao longo do tempo.

Verificaram-se poucos focos, com média de 2,5 plantas/focos sendo estes de forma elíptica, com maior número de plantas sintomáticas na direção das linhas do que entre linhas de plantios.

Observou-se número elevado de focos unitários correspondendo a 52% das plantas doentes.

Pelas análises de arranjo espacial (seqüências ordinárias *runs* e *doublet*), verificou-se padrão espacial aleatório da mancha manteigosa a campo.

A transmissão da doença é via semente (semente-planta-semente).

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERGAMIN FILHO, A.; HAU, B.; AMORIM, L.; JESUS JUNIOR, W. C. de. Análise espacial de epidemias. In: RIBEIRO DO VALE, F. X.; JESUS JUNIOR, W. C. de; ZAMBOLIM, L. (Ed.) **Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas**. Belo Horizonte: Perfil, 2004. p. 195-240.

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

DORIZZOTO, 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.

FERREIRA, J. B.; SILVA, E. H.; FERNANDES, K. D.; PEREIRA, R. B.; ABREU, M. S.; PEREIRA, I. S. Efeito de fungicidas no controle da seca de ramos do cafeeiro (*C. arabica* L.) com mancha manteigosa (*Colletotrichum* spp.). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30, p. 111-111, 2005. (Resumo). Suplemento.

FERREIRA, J. B. **Flutuação Sazonal e associação de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. a diferentes órgãos e tecidos cafeeiros (*Coffea arabica* L.)**. 2004. 90 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

FERREIRA, J. B.; PEREIRA, I. S.; FERNANDES, K. D.; ABREU, M. S. Prejuízos ocasionados pela mancha manteigosa em cafeeiros (*Coffea arabica* L.). In: ENCONTRO SUL MINEIRO DE CAFEICULTURA, 10., SIMPÓSIO DE PESQUISA CAFEIEIRA DO SUL DE MINAS, 5., 2004, Lavras. **Anais...** Lavras: Necaf, 2004. 1CD-ROM.

JESUS JUNIOR, W. C. de; BASSANEZI, R. B. Análise da dinâmica e estrutura de focos da morte súbita dos citros. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 4, p. 399-405, jul./ago. 2004.

LARANJEIRA, F. F.; AMORIM, L.; BERGAMIM FILHO, A.; BERGR, R. D.; HAU, B. Análise espacial do amarelinho fatal do dendezeiro como ferramenta para elucidar sua etiologia. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 4, p. 397-403, out./dez. 1998b.

LARANJEIRA, F. F.; BERGAMIM FILHO, A.; AMORIM, L. Dinâmica e estrutura de focos da clorose variegada dos citros (CVC). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 1, p. 36-41, jan./mar. 1998a.

LARANJEIRA, F. F.; BERGAMIM FILHO, A.; AMORIM, L.; GOTTWALD, T. R. Dinâmica Espacial da Clorose Variegada dos Citros em Três Regiões do Estado de São Paulo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 1, p. 56-65, jan./fev. 2004.

MACHADO, J. C. **Tratamento de sementes no controle de doenças**. Lavras: LAPS/UFLA/FAEPE, 2000. 138 p.

MADDEN, L. V.; LOUIE, R.; ABT, J. J.; KNOKE, J. K. Evaluation of tests of randomness of inflected plants. **Phytopathology**, St. Paul, v. 72, n. 2, p. 195-198, Feb. 1982.

NEERGAARD, P. **Seed pathology**. London: MacMillan Press, 1979. 839 p.

NELSON, S. C. A simple analysis of disease foci. **Phytopathology**, St. Paul, v. 86, n. 4, p. 332-339, Apr. 1996.

NUNES, W. M. C. de.; MACHADO, M. A.; CORAZZA-NUNES, M. J.; FURTADO, E. L. Dinâmica espacial de foco da clorose variegada dos citros (CVC) avaliada por meio da sintomatologia e serologia. **Acta Scientiarum**, Maringa, v. 23, n. 5, p. 1215-1219, Oct. 2001.

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 arábica (*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 arábica (*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 arábica (*Coffea arabica*). In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 7., 2002, Sete Lagoas-MG. **Anais...** Sete Lagoas, 2002c. p. 93.

PEREIRA, I. S. **Compatibilidade vegetativa e sexual do complexo *Glomerella-Colletotrichum* associado ao cafeeiro e estudos histopatológicos.** 2005. 92 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SILVA, J. N.; MICHEREFF, S. J.; PIO-RIBEIRO, G.; ANDRADE, G. P. Arranjo espacial do vira-cabeça do fumo em Arapiraca, Estado de Alagoas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26 n. 4 p. 721-725, out./dez. 2001.

TALAMINI, V.; POZZA, E. A.; MACHADO, J. C.; OLIVEIRA, F. A. Epidemiologia de doenças associadas a *Colletotrichum* spp. transmitidas por sementes. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 10, p. 219-248, 2002

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, apr./jun. 1972.

## **CAPÍTULO 5**

TRANSMISSIBILIDADE E EFEITO DE TRATAMENTO FUNGICIDA EM  
SEMENTES DE CAFEEIROS COM MANCHA MANTEIGOSA

## 1 RESUMO

FERREIRA, Josimar Batista. Transmissibilidade e efeito de tratamento fungicida em sementes de cafeeiros com mancha manteigosa. In: **Aspectos histopatológicos, epidemiologia e controle da mancha manteigosa em *Coffea arabica* L.** 2006. p. 139-157. Tese (Doutor em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.\*

Atualmente, a mancha manteigosa (MM) é uma doença de destaque, devido aos ataques do fungo em ramos, flores e frutos em expansão ocasionando reduções na produção. Objetivou-se, neste estudo, avaliar a transmissibilidade semente-planta da MM e estudar o efeito do tratamento de sementes por fungicidas. Sementes foram colhidas em plantas doentes e plantas sadias da cultivar Catucaí com o propósito de verificar a transmissibilidade natural do fungo. Retirou-se o endocarpo e procedeu-se à semeadura em areia estéril. A avaliação constou da observação dos sintomas e progresso de morte nos hipocótilos. Procedeu-se também à avaliação da incidência de *Colletotrichum*, pelo teste em papel de filtro (*blotter test*), de sementes previamente tratadas e não tratadas com fungicida. Observou-se, com o desenvolvimento das plântulas, um grande número de morte de hipocótilos de sementes de plantas com MM. Nos hipocótilos oriundos de plantas com MM, observou-se incidência de *C. gloeosporioides* de 94,8% com severidade de 86,8%, enquanto que sementes colhidas em plantas sadias apresentavam plântulas vigorosas e em pleno desenvolvimento. Quando do desenvolvimento das plântulas com MM, apenas 5,2% estavam aparentemente sadias e, com a aberturas dos primeiros pares de folhas, observaram-se sintomas típicos da doença. Com uso do tratamento das sementes (benzimidazol+dimetilditiocarbamato), resultados satisfatórios foram observados (nenhuma presença de agentes fúngico), tanto em sementes oriundas de plantas com MM, como em plantas sadias. Verificou-se incidência de *Colletotrichum* spp. em 29,8% das sementes de plantas com MM, contra 1,2% de plantas sadias. Neste patossistema (cafeeiro x mancha manteigosa), a principal via de transmissão é a semente (semente-planta-semente).

---

\* Comitê de Orientação: Mario Sobral de Abreu - UFLA (Orientador); Eduardo Alves e Edson Ampélio Pozza - UFLA (Co-orientadores)

## 2 ABSTRACT

FERREIRA, Josimar Batista. Transmission and effect of fungicide treatment on seeds of coffee trees affected by blister spot. In: **Aspects histopathology, epidemiology and control of blister spot on *Coffea arabica* L.** 2006. Cap. 5 p.139-157. Thesis (Doctorate in Plant Pathology) – Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil.\*

Blister spot is currently in evidence due to the outbreaks of *Colletotrichum gloeosporioides* on the shoots, flowers and young fruits, leading to yield reduction. It was aimed in this study (i) to assess the transmission of blister spot from seed to plant, and (ii) to study the effect of the seed treatment with fungicides. The natural transmission of the fungus was studied in seeds collected from both healthy and diseased ‘Catucaí’ coffee trees. The endocarp of the seeds was removed and the seeds were sowed in sterilized sand. Symptoms and the death progress of hypocotyls were evaluated. Additionally, the incidence of *Colletotrichum* was assessed through blotter test both in fungicide treated and in untreated seeds. A high number of hypocotyls death in seeds obtained from blister spot trees was observed. In the hypocotyls of seedlings originated from seed collected from trees with blister spot, the incidence of *C. gloeosporioides* was 94.8%, and the blister spot severity was 86.8%, while seeds collected from healthy trees produced health seedlings. A total of 5.2% of the seedlings from blister spot trees were apparently healthy, but after the completion of the development of the first pair of leaves blister spot symptoms were observed. Seeds from blister spot and healthy trees when treated with fungicides (benzimidazol + dimethyldithiocarbamate) were free of fungi. Seeds collected from blister spot trees had 29.8% of *Colletotrichum* incidence while seeds collected from healthy trees had 1.2% of incidence. It is proposed that in the pathosystem coffee tree-blister spot the main disease transmission via is through the seeds (seed-plant-seed).

---

\*Advising Committee: Mario Sobral de Abreu - UFLA (Adviser); Eduardo Alves and Edson Ampélio Pozza – UFLA (Co-advisers)

### 3 INTRODUÇÃO

A cafeicultura é uma atividade de grande importância para a nossa economia, entretanto, produções econômicas máximas só são conseguidas quando se tem um bom manejo. Diversas enfermidades, destacando-se a mancha manteigosa, preocupam os cafeicultores, na medida em que plantas afetadas podem ter produção nula. Ferreira et al. (2004), em observações a campo, verificaram que, sob a copa de plantas doentes com mancha manteigosa, existiam plântulas apresentando em suas folhas cotiledonares sintomas típicos da doença. Daí questiona-se: como a mancha manteigosa surge em plantas de café? Em plantios de café aparentemente saudáveis, aparecem pequenos focos de plantas doentes, em sua maioria formada por uma única planta, tendo a doença distribuída aleatoriamente por toda a área. Especula-se que o fungo esteja presente na semente (Orozco et al., 2002b; Orozco, 2003 e Ferreira, 2004), pois existem estudos comprovando a existência e a transmissão de *Colletotrichum* spp. em semente de diferentes espécies vegetais (Neergaard, 1979 e Machado, 2000).

A propagação predominante do cafeeiro é feita por meio de mudas oriundas de sementes. Em futuro próximo, sérios problemas poderão surgir, pois sementes produzidas em plantas doentes poderão gerar mudas deformadas, com baixa qualidade fisiológica ou, mesmo, tornarem-se doentes. Julga-se de extrema importância o fato de que danos decorrentes da associação de patógenos com sementes não se limitam apenas a perdas diretas de população de plantas no campo, mas abrangem também uma série de outras implicações que, de forma mais acentuada, podem levar a danos irreparáveis a todo o sistema agrícola (Machado, 2000). Para grande número de doenças, as sementes portadoras de

seus agentes causais constituem a única forma de disseminação e de perpetuação na natureza (Machado, 2000).

Objetivou-se, neste trabalho, avaliar a transmissibilidade do agente da mancha manteigosa em cafeeiros (semente-planta) e estudar o efeito do tratamento de sementes de plantas doentes e sadias no referido patossistema.

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

Os experimentos foram conduzidos nos Laboratórios de Diagnose e Controle de Enfermidades de Plantas sob condições de casa-de-vegetação do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG.

### **4.1 Transmissibilidade semente-planta**

Utilizaram-se sementes colhidas de plantas doentes e plantas sadias da cultivar Catucaí, com propósito de verificar a transmissibilidade natural do fungo pela semente.

#### **4.1.1 Procedência dos lotes de sementes**

Foram utilizados lotes de sementes dos municípios de Lavras, MG (campus UFLA), Carmo de Minas, MG (produtor) e Londrina, PR (campus IAPAR), todos da cultivar Catucaí, safra 2005/2006.

As sementes foram colhidas em plantas com sintomas da mancha manteigosa, (despolpamento manual e secagem a sombra).

#### **4.1.2 Germinação e formação das plântulas**

Foram retirados os pergaminhos das sementes e colocados em água destilada por 24 horas (uniformização da umidade). Foram semeadas em bandejas contendo areia esterilizada e levadas para casa-de-vegetação.

Nos testes de germinação, foram semeadas 50 sementes de cada lote, quantificando-se o percentual de plântulas formadas.

Para a formação das plântulas, foram agrupadas todas as sementes de planta com mancha manteigosa (Lavras, Carmo de Minas e Londrina),

compondo-se um único lote. Para efeito de comparação, utilizou-se um lote de sementes de plantas sadias (cv. Catucaí Vermelho). Em seguida, procedeu-se à semeadura em areia estéril. Foram selecionados 250 hipocótilos de cada lote (palito de fósforo) e, em seguida, foram feitos os transplantios para bandejas com substrato Plantmax®, avaliando-se o desenvolvimento das plântulas.

#### 4.1.3 Avaliações

Foram realizadas avaliações semanais da incidência e da severidade de morte de hipocótilos. A incidência de *Colletotrichum* spp. nos hipocótilos foi obtida a partir do número total de hipocótilos colonizados por *Colletotrichum* e o número total de hipocótilos avaliados, aplicando-se a equação:

$$I(\%) = \frac{(NTC)}{(NTA)} \times 100$$

I(%)= incidência em porcentagem; NFC= número total de hipocótilos colonizados; NTF= número total de hipocótilos avaliados.

A severidade da doença foi obtida por meio da escala de notas descrita por van der Vossen modificada, citada por Nechet (1999) (Tabela 1).

Para ponderar a severidade, foi aplicado o índice de McKinney (1923) (ID), utilizada por Nechet (1999) e Dorizzoto (1993) e Araújo (2004), em que:

$$ID = \frac{\sum (f \cdot v)}{n \cdot x} \times 100$$

ID = índice de doença; f = número de plântulas com determinado grau de infecção; v = grau de infecção; n = número total de plântulas inoculadas; x = grau máximo de infecção.

TABELA 1 Escala para avaliação do espectro de reação a *Colletotrichum* spp. apresentada por plântulas de café.

NOTAS	severidade/sintomas
0	Ausência de sintomas
1	Lesões superficiais castanhas
2	Lesões mais profundas e escuras
3	Lesões escuras com início de estrangulamento
4	Estrangulamento mais profundo
5	Plântula morta

## 4.2 Tratamento das sementes

Foram utilizados dois lotes de sementes (plantas doentes e sadias) procedentes da cultivar Catucaí Vermelho, da área experimental do Setor de Cafeicultura (campus UFLA), município de Lavras, MG, safra 2006/2007.

As sementes foram colhidas em plantas com sintomas da mancha manteigosa e plantas sadias. Foram retirados os pergaminhos das sementes e, em seguida, montaram-se os seguintes tratamentos: semente de plantas doentes tratadas e não tratadas e sementes de plantas sadias tratadas e não tratadas.

As sementes foram tratadas com Derosal Plus®, (benzimidazol + dimetilditiocarbamato), na concentração do i.a. de 150g/L + 350g/L. Utilizou-se dosagem comercial do produto de 300 mL/100 kg de sementes.

### 4.2.1 Teste de sanidade das sementes

As sementes tratadas e não tratadas foram submetidas ao teste de sanidade por meio “*blotter test*”, em placas de 15 cm contendo papel filtro umedecido. Foram depositadas 25 sementes por placa, num total de quatro repetições por tratamento, incubado-as em câmara de crescimento vegetal (temperatura de 23°C e fotoperíodo de 12 horas). Foram incubadas por 15 dias e depois as placas foram analisadas em microscópio estereoscópio, considerando a incidência de patógeno, dada em porcentagem.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Transmissibilidade de *C. gloeosporioides* (mancha manteigosa) em cafeeiro

Verificou-se que não houve diferenças significativas no percentual de germinação entre sementes de plantas doentes e de plantas saudas (Figura 1). Segundo Babadoost (1984), analisando o efeito de *Septoria nodorum* em sementes de trigo, verificou que não houve diferenças na germinação entre os diferentes níveis de infecção. Araújo (2004) também chegou a resultados semelhantes. Segundo este autor, não houve diferença na germinação, quando se testaram níveis de inóculos de (0%, 2%, 4%, 8% e 16%) de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*.

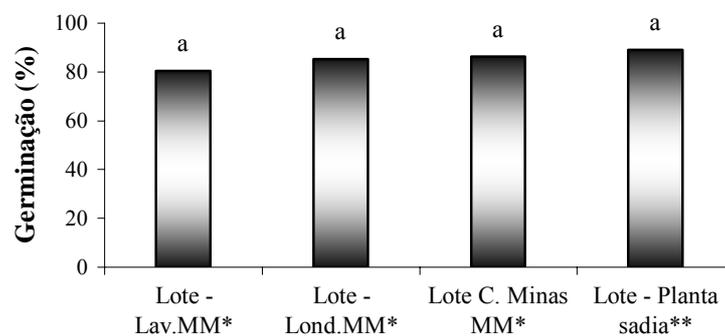


FIGURA 1 Percentual de germinação de sementes de *Coffea arabica* L. MM\*: lotes procedentes de plantas com mancha manteigosa; \*\*: lote de plantas saudas. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Observou-se, com o desenvolvimento das plântulas, um grande número de morte de hipocótilos em sementes de plantas com mancha manteigosa (Figura 2). Pela análise do índice de doença (ID), observou-se o aumento do ID com o decorrer das avaliações (Figura 2).

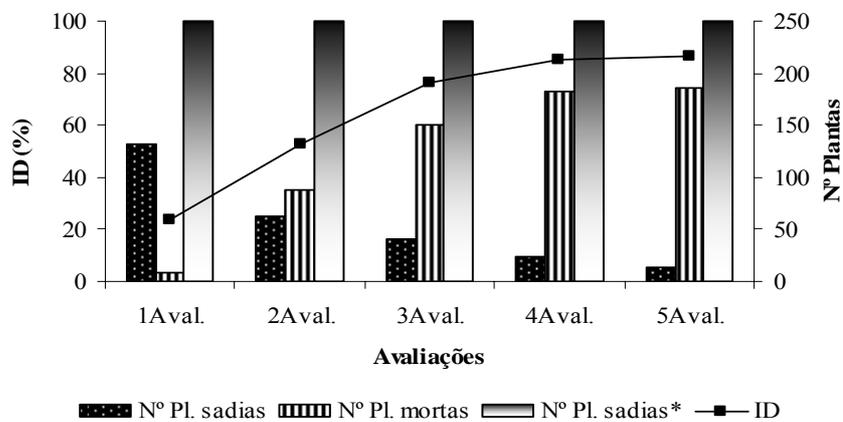


FIGURA 2 Avaliações do progresso de morte de plântulas do cafeeiro, provenientes de sementes de plantas com mancha manteigosa. ID: índice de doença; Nº. Pl. sadias: Nº. de plantas sadias; Nº. Pl. mortas: Nº. de plantas mortas; Nº Pl. sadias\*: Nº. de plântulas sadias (material planta sadia). UFLA, Lavras, MG, 2006.

Pode-se observar tendência linear de aumento da severidade e da incidência de *C. gloeosporioides* em hipocótilos de cafeeiro (mancha manteigosa) ao longo do tempo (Figura 3). Os maiores índices da doença foram encontrados aos 28 dias após o transplante, observando-se uma severidade de 86,8% e uma incidência de 94,8% (Figura 3).

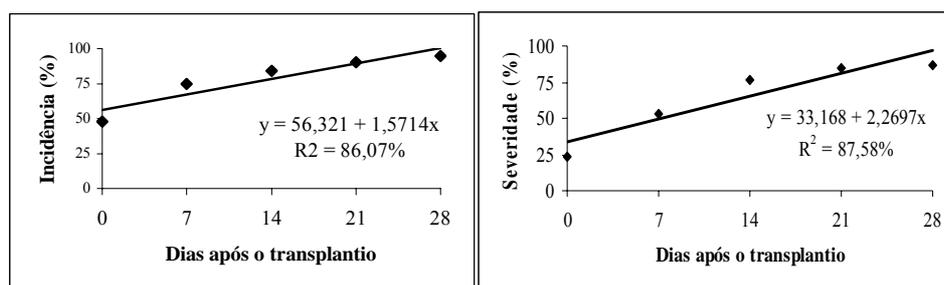


FIGURA 3 Incidência e severidade dos sintomas de necrose em hipocótilos de cafeeiros oriundos de sementes de cafeeiro com sintoma da mancha manteigosa. UFLA, Lavras, MG, 2006.

Ferreira et al. (2004), estudando a incidência de *Colletotrichum* spp. em ovários de flores de cafeeiro, observaram em plantas com sintomas de mancha manteigosa, média de 27,91% contra 5,83% de incidência em plantas sadias. Especula-se que o fungo esteja presente na semente (Orozco et al., 2002bc; Orozco, 2003 e Ferreira, 2004), pois existem estudos comprovando a existência e a transmissão de *Colletotrichum* spp. em sementes (Neergaard, 1979; Machado, 2000; Talamini et al., 2002). Ferreira, et al. (2004) verificaram sintomas em plântulas germinadas abaixo de plantas doentes. Segundo Orozco (2003) o sintoma da doença em folhas expressa-se somente em condições especiais de suscetibilidade da planta e ou da modificação das condições ambientais. Vargas & González (1972) acreditam que, provavelmente, exista um caráter genético que predispõe estas plântulas oriundas de sementes de plantas doentes a uma maior suscetibilidade bem como, na reprodução típica dos sintomas em folhas.

Através deste estudo, pôde-se elucidar a transmissão da mancha manteigosa por sementes oriundas de plantas enfermas. Foram feitos isolamentos naqueles hipocótilos oriundos de plantas com sintomas da mancha manteigosa, recuperando-se colônias típicas de *C. gloeosporioides*, com as mesmas características daqueles isolados de plantas enfermas a campo. Enquanto que, em hipocótilos oriundos de sementes de plantas sadias não foi recuperado nenhum agente fúngico do gênero *Colletotrichum*. Segundo Talamini et al. (2002), as sementes são eficientes meio de disseminação de fitopatógenos, principalmente espécies pertencentes ao gênero *Colletotrichum*. Os agentes etiológicos de doenças podem ser transportados em mistura, na superfície ou no interior de sementes e, em ambiente favorável, podem desencadear nos focos da doença (Pozza et al., 1999; Baker & Smith, 1996; Neergaard, 1979; Machado, 2000; Talamini et al., 2002). Patógenos associados

às sementes sobrevivem por mais tempo, além de manter sua viabilidade e características originais (Tanaka & Machado, 1985).

A propagação predominante do cafeeiro é feita por mudas oriundas de sementes. Segundo Ferreira et al. (2005), espécies de *Colletotrichum* spp. estão presentes em todos tecidos do fruto. Estes autores verificaram, no exocarpo+mesocarpo, endocarpo e endosperma de frutos sadios incidência de *Colletotrichum* spp. de 84,72%, 9,72% e 1,39%, respectivamente. Para diversos patossistemas há relatos da transmissão de *C. gloeosporioides* em sementes. Já foi detectado *C. gloeosporioides*, em sementes de pimenta vermelha, ocasionando antracnose (Lee & Chung, 1995); em sementes de cebola, doença conhecida como mal-das-sete-voltas, o que segundo Boof (1990) está é a principal via de disseminação do fungo; em sementes de mandioca, doença de grande importância nos trópicos (Fokunang et al., 1997); em sementes de soja, ocasionando tombamento de plântulas (Lenné, 1992); em sementes de espécies de *Stylosanthes* (Lenné & Sonoda, 1982) e em espécies de leguminosas, como alfafa, leucena e trevo forrageiro (Lenné, 1992).

Verificou-se aumento do número de plântulas mortas ao longo do tempo (aos 28 dias após o transplântio 74% de morte). Ao final do experimento, sobreviveram do lote de sementes procedentes de plantas com mancha manteigosa, apenas 5,2% de plântulas (Figura 4B). Em algumas destas, observaram-se sintomas típicos da doença nas folhas cotiledonares. Enquanto que, em hipocótilos de plantas sadias verificaram-se 100% de sobrevivência das plântulas (Figura 4A).

Hipocótilos oriundos de sementes de planta com mancha manteigosa exibem lesões inicialmente superficiais castanhas, passando a lesões mais profundas e escuras, provocando estrangulamento e culminando com a morte dos mesmos, enquanto que hipocótilos de plantas sadias permanecem sadios (Figura 5).

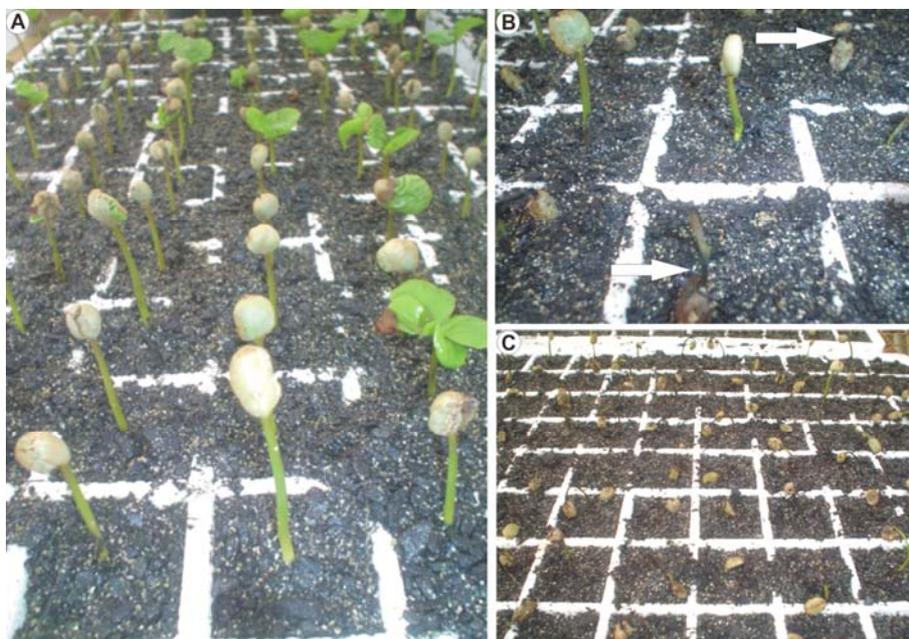


FIGURA 4 Germinação e progresso de morte de hipocótilos em cafeeiro. A: hipocótilos de sementes de planta sadia; B e C: morte de hipocótilos de sementes de planta com mancha manteigosa. UFLA, Lavras, MG, 2006.

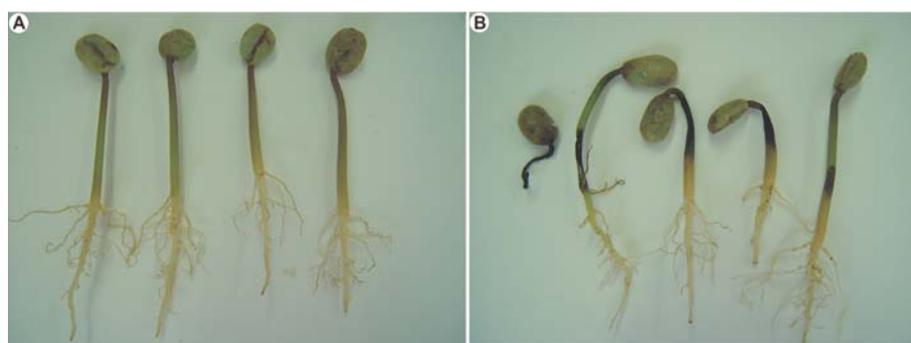


FIGURA 5 Sintomas de *C. gloeosporioides* em hipocótilos de cafeeiro. A: hipocótilos saudáveis (sementes de planta sadia); B: hipocótilos exibindo lesões (sementes de planta com mancha manteigosa). UFLA, Lavras, MG, 2006.

## 5.2 Tratamento de sementes de *Coffea arabica* L.

No teste de sanidade de sementes de cafeeiro (cv. Catucaí Vermelho) oriundas de plantas com e sem sintomas da mancha manteigosa, constatou-se a presença dos seguintes gêneros de fungos: *Colletotrichum* spp., *Fusarium* sp., *Cladosporium* sp e *Phoma* sp. (Figura 6).

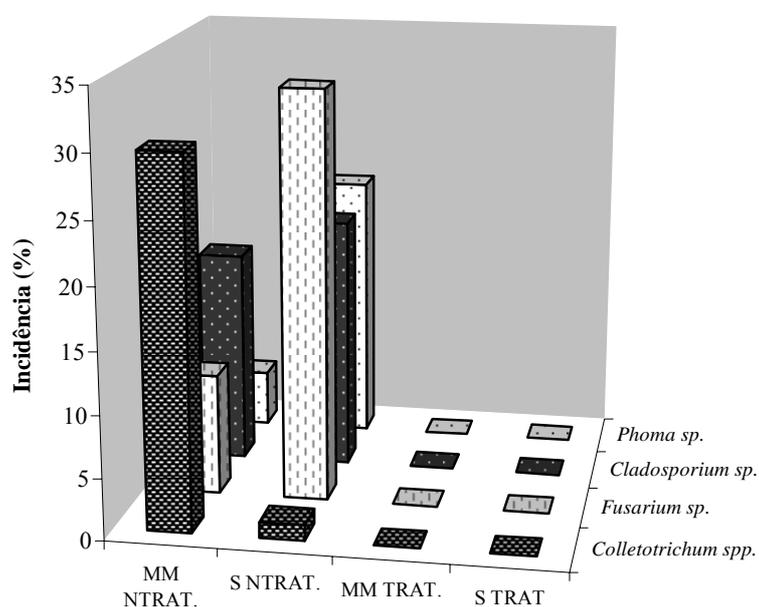


FIGURA 6 Incidência de fungos associados em sementes de *Coffea arabica* L. MM. NTRAT: lote de planta com mancha manteigosa (MM) não tratada; S. NTRAT: lote de planta sadia não tratada; MM. TRAT: lotes MM tratado.; S. TRAT: lotes planta sadia tratado UFLA, Lavras, MG, 2006.

A incidência de *Colletotrichum* spp. foi maior em sementes oriundas de plantas com mancha manteigosa, 29,8%, seguido por *Cladosporium* sp. *Fusarium* sp. e *Phoma* sp., 17,3%, 9,8% e 4,5%, respectivamente (Figura 6). Sementes oriundas de plantas sadias apresentaram incidência de *Fusarium* sp,

*Phoma* sp. e *Cladosporium* sp., 33%, 21% e 20%, respectivamente, tendo apenas 1,2% de incidência de *Colletotrichum* spp. (Figura 6). Orozco et al. (2002abc) colheram sementes em plantas doentes com mancha manteigosa e verificaram incidência de 14% de *Colletotrichum* spp nos endosperma. Segundo estes autores (quando semearam em areia estéril), as sementes positivas ao teste (*blotter test*), no isolamento, apresentaram o fungo *C. gloeosporioides*, com as mesmas características observadas em isolados de plantas adultas enfermas.

Braccini et al. (1999), estudando a incidência de microrganismos em sementes de café robusta durante o armazenamento, identificaram fungos dos gêneros: *Fusarium*, *Colletotrichum*, *Alternaria*, *Aspergillus* e *Penicillium*. Houve maior predominância do gênero *Fusarium* e de *Alternaria* variando de 63%-73% e 7%-11%, respectivamente. Com relação à *Colletotrichum* spp., verificaram incidência variando de 4%-1% não tendo mais, a partir dos seis meses de armazenamento, não constatada a presença do fungo.

No presente trabalho, o tratamento das sementes com fungicidas (benzimidazol+dimetilditiocarbamato) possibilitou resultados satisfatórios (nenhuma presença de agentes fúngicos), tanto em sementes oriundas de plantas enfermas (mancha manteigosa), como em sementes de plantas sadias (Figura 6).

## 6 CONCLUSÕES

Observou-se morte de até 74% de hipocótilos oriundos de sementes de plantas com mancha manteigosa (MM).

Sobreviveram do lote de sementes com MM, apenas 5,2% de plântulas e, em algumas destas, observaram-se sintomas típicos da mancha manteigosa nas folhas cotiledonares.

Não foram observados agentes fúngicos em sementes tratadas com fungicidas (benzimidazol e dimetilditiocarbamato).

Sementes não tratadas de plantas com MM evidenciaram incidência em *blotter test* de 29,8% de *Colletotrichum* spp. contra 1,2% de plantas sadias.

Neste patossistema (cafeeiro x mancha manteigosa) é a semente a principal via de transmissão (semente-planta-semente).

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, D. V. **Níveis de inóculos de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides* nas sementes e sua influencia na epidemia da ramulose do algodoeiro.** 2004. 87 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

BABADOOST, M.; HEBERT, T. T. Incidence Of *Sepetoria nodorum* in wheat seed and its effects on plant growth and grain yield. **Plant Disease**, St. Paul, v. 68 n. 2, p. 125-129, Feb. 1984.

BAKER, K. F.; SMITH, S. H. Dynamics of seed transmission of plant pathogens. **Annual Review Phytopathology**, Palo Alto, v. 3 p. 311-334, 1966.

BOOF, P. Ocorrência da antracnose-foliar (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz. (Senso Arx. 1957) f. sp. *cepae*) na cultura da cebola em Santa Catarina. **Fitopatologia brasileira**, Brasília, v. 15, p. 154, ago. 1990. Suplemento.

BRACINI, A. de L. e.; SCAPIM, C. A.; BRACCINI, M. C.; ANDRADE, C. A. B.; VIDIGAL FILHO, P. S. Incidência de microorganismos em sementes de café robusta durante o armazenamento. **Bragantia**, Campinas, v. 58, n. 2, p. 305-315, 1999.

DORIZZOTO, 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.; 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**, Lavras, v. 29, n. 4, p. 880-885, jul./ago. 2005.

FERREIRA, J. B. **Flutuação Sazonal e associação de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. a diferentes órgãos e tecidos cafeeiros (*Coffea arabica* L.).** 2004. 90 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

FERREIRA, J. B.; PEREIRA, I. S.; FERNANDES, K. D.; ABREU, M. S. Prejuízos ocasionados pela mancha manteigosa em cafeeiros (*Coffea arabica* L.). In: ENCONTRO SUL MINEIRO DE CAFEICULTURA, 10., SIMPÓSIO DE PESQUISA CAFEIEIRA DO SUL DE MINAS, 5., 2004, Lavras. **Anais...** Lavras: Necaf, 2004. 1CD-ROM.

FOKUNANG, C. N.; IKOTUN, T.; DIXON, A. G. O.; AKEM, C. N. First report of *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *manihotis*, cause of cassava anthracnose disease, being seed-borne and seed-transmitted in Cassava. **Plant Disease**, St. Paul, v. 81, n. 6, p. 695, June 1997.

LEE, T.; CHUNG, H. Detection and transmission of seed-borne *Colletotrichum gloeosporioides* in redpepper, *Capsicum annuum*. **Seed Science & Technology**, Zurich, v. 23, n. 2, p. 533-541, 1995.

LENNÉ, J. M. *Colletotrichum* diseases of legumes. In: BAILEY, J. A.; JEGER, M. J. (Eds.). **Colletotrichum: biology, pathology and control**. Wallingford: CAB International, 1992. p. 134-166.

LENNÉ, J. M.; SONODA, R. M. Effect of anthracnose on yield of the tropical forage legume *Stylosanthes hamata*. **Phytopathology**, St. Paul, v. 72, p. 945-951, 1982.

MACHADO, J. C. **Tratamento de sementes no controle de doenças**. Lavras: LAPS/UFLA/FAEPE, 2000. 138 p.

McKINNEY, H. H. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. **Journal of Agricultural Research**, Washington, v. 26 n. 5, p. 195-219, Nov. 1923.

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.

NEERGAARD, P. **Seed pathology**. London: MacMillan Press, 1979. 839 p.

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 arábica (*Coffea arabica*) no estado de Minas Gerais. 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. Transmissão de *Colletotrichum* spp. por sementes de café arábica (*Coffea arabica*). In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 7., 2002, Sete Lagoas-MG. **Anais...** Sete Lagoas, 2002b. p. 93.

POZZA, E. A.; TALAMINI, V.; PINTO, A. C. S.; SANTOS, D.; GARCIA JUNIOR, D.; SALES, N. L. P. Relação entre níveis de *Colletotrichum lindemuthianum* em sementes de feijão e o progresso da antracnose no cultivo da seca e das águas. **Fitopatologia brasileira**, Brasília, v. 24, p. 318, ago. 1999. Suplemento.

TALAMINI, V.; POZZA, E. A.; MACHADO, J. C.; OLIVEIRA, F. A. Epidemiologia de doenças associadas a *Colletotrichum* spp. transmitidas por sementes. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 10, p. 219-248, 2002

TANAKA, M. A. S.; MACHADO, J. C. Patologia de sementes. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 11, p. 40-46, 1985.

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, apr./jun. 1972.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A mancha manteigosa (MM) causada por *Colletotrichum gloeosporioides* tem determinado perdas de produção em plantas doentes. A importância desta doença liga-se à sua complexidade, pois no campo não há progresso da doença (planta – planta), sabe-se que é disseminada por sementes colhidas em plantas doentes, daí tem-se a preocupação de fazer seleção das plantas de cafeeiro no momento da colheita das sementes e, ainda, em campos de produção de sementes faça o *roguing* de plantas doentes e se estabeleça padrões fitossanitários para o inóculo nas sementes, bem como o uso do tratamento de sementes como uma alternativa no controle dos patógenos associados às sementes.

Pelos danos ocasionados: frutos verdes lesionados ou mumificados, morte de ramos e depauperamento das plantas, culminando com a perda total de produção em plantas doentes, esta doença é potencialmente um risco à cafeicultura, caso este patógeno venha a se disseminar planta a planta tendo em vista as dificuldades de controle.

Neste patossistema empregaram-se técnicas de controle da doença, por meio de recepas de plantas doentes e por controle químico (fungicidas). Em plantas recepadas à medida que eram emitidas novas brotações surgiam também os sintomas da doença. Na tentativa de evidenciar o controle da doença, empregaram-se fungicidas do grupo triazóis, aromáticos e ditiocarbamatos, porém não se conseguiu evidenciar o controle. É uma doença de difícil controle, pois mesmo com sucessivas pulverizações, ainda se verificava elevada queda de frutos e morte de ramos plagiotrópicos.

Esta doença está distribuída por todos os estados produtores, nas mais diferentes cultivares causando prejuízos aos cafeicultores. A grande preocupação

se deve à sua transmissão pela semente, visto que a maioria das lavouras é formada a partir de mudas. Em lavouras cafeeiras com sintoma da MM, verificam-se elevado número de focos unitários, com padrão espacial aleatório, tal característica se deve ao fato de que, neste patossistema a principal ou única via de transmissão é a semente, pois não se tem verificado o progresso da doença ao longo do tempo em campos infectados.

A grande dificuldade encontrada neste patossistema é a reprodução típica dos sintomas em folhas (mancha circular clorótica com aspecto oleoso). Diversas metodologias foram testadas inoculando-se *C. gloeosporioides* em plântulas e mudas, porém observaram-se apenas necrose e morte de hipocótilos, lesões necróticas e queda de folhas. Especula-se que tal sintomatologia da doença na folha, seja devido às reações metabólicas do fungo, não tendo ação direta. Nas regiões da folha com sintoma da MM, não se verificaram presença de hifas de fungos, apenas algumas modificações nos tecidos do mesófilo com deformações nas células epidérmicas, degeneração das células do parênquima paliçádico e esponjoso exibindo concreções (material amorfo).

Na interação *C. gloeosporioides*(MM)–cafeeiro verifica-se colonizações pelo fungo em ramos, hipocótilos e nervuras de folhas com murcha e morte descendente (vasos do xilema e floema e células do córtex) e nos frutos (tecidos do exocarpo, mesocarpo, endocarpo e endosperma).

Como sugestões para futuras pesquisas neste patossistema, citam-se: verificar o efeito de extratos metabólicos de isolados de *C. gloeosporioides* (MM) aplicados em plântulas (cultura de tecido); observar por meio de estudos bioquímicos e anatômicos as possíveis reações dos sintomas típicos em folhas e se há efeito de resistência ou suscetibilidade no material vegetal pela expressão dos sintomas cloróticos observados em folhas.