

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E TESTES DE PATOGENICIDADE DE ISOLADOS DE *Colletotrichum* sp. OBTIDOS DE CAFEIRO¹

KÁTIA DE LIMA NECHET²
MARIO SOBRAL DE ABREU³

RESUMO – Conduziu-se este trabalho com o objetivo de caracterizar isolados de *Colletotrichum* sp. obtidos em folhas, ramos e frutos de café com sintomas, utilizando caracteres fisiológicos, tais como: Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), capacidade de esporulação (C.E) em três meios de cultura (BDA, MEA e GYA) e utilização de fonte de carbono, e morfológicos (medição de conídios) conduzidos em condições de laboratório e testes de patogenicidade em frutos verdes saudáveis, plântulas de seis semanas e mudas da cultivar Mundo Novo. Os testes de patogenicidade em frutos verdes e plântulas foram conduzidos em condições de câmara de crescimento ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) em blocos casualizados, em que avaliaram-se, a cada 5 dias, o número de frutos infectados e o grau de doença, respectivamente. O

ensaio com mudas foi conduzido em condições de casa-de-vegetação em delineamento inteiramente casualizado, sendo avaliado o número de lesões/folha após 30 dias. Todos os isolados apresentaram IVCM lento nos meios testados, sendo menor em GYA, seguido de MEA e BDA, enquanto a C.E foi maior em meio GYA, seguido de MEA e BDA. Os isolados I-1 e I-5 apresentaram conídio tipo cilíndrico curto, e os demais, tipo cilíndrico; no geral, a variação ficou entre 10-14,5 x 3-6,5 μm . Todos os isolados foram capazes de utilizar tartarato ou citrato como fonte exclusiva de carbono, e apenas o isolado I-2 apresentou resultado variável. Os isolados foram patogênicos a frutos verdes e plântulas, obtendo-se infecção máxima de 51,27 e 24,55%, aos 30 dias, respectivamente; entretanto, não foram patogênicos às mudas.

TERMOS PARA INDEXAÇÃO: *Colletotrichum* sp., café, caracterização.

MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION AND PATHOGENICITY OF ISOLATES OF *Colletotrichum* sp. FROM COFFEE

ABSTRACT – The objective of this work was to characterize isolates of *Colletotrichum* sp. obtained from leaves, stems and fruits of coffee, through physiological and morphological characters, such as velocity index of mycelial growth (VIMG) and sporulating capacity (SC) in three culture media (BDA, MEA and GYA), utilization of carbon source and measurement of conidia, under laboratory conditions. Pathogenicity tests in healthy green fruits, six-week-old seedlings and three-month-old plants of the cultivar Mundo Novo were also performed. The pathogenicity tests in green fruits and seedlings were conducted under growth chamber conditions ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) in randomized blocks, where, every 5 days, the number of infected fruits and degree of disease were evaluated. The trial with plants was conducted in greenhouse conditions in

completely randomized design and the number of lesions/leaf after 30 days evaluated. All the isolates presented slow IVMG in the media tested, with lower values in GYA followed by MEA and BDA, whereas sporulating capacity was higher in GYA medium, followed by MEA and BDA. Isolates I-1 and I-5 presented short cylindrical type conidia and the others presented cylindrical type, with size variation, in general, between 10-14.5 x 3-6.5 μm . All isolates were capable of utilizing tartarate or citrate as the unique source of carbon and only I-2 presented variable results. The isolates were pathogenic to green fruits and seedlings, with maximum infection of 51.27 and 24.55 % at 30 days, respectively. However, they were not pathogenic to three-month-old plants.

INDEX TERMS: *Colletotrichum* sp., coffee, characterization.

1. Parte da dissertação apresentada à UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS/UFLA, Caixa Postal 37 – 37200-000 – Lavras, MG, pelo primeiro autor, para obtenção do grau de Mestre em Agronomia, área de Fitopatologia.

2. Mestre em Fitopatologia pela UFLA - Bolsista do CAPES/PICDT. Atualmente Pesquisadora da Embrapa Roraima.
3. Professor do Departamento de Fitopatologia da UFLA.

INTRODUÇÃO

A descrição original da ocorrência de *Colletotrichum* em café, feita a partir de um isolado do Brasil, e o posterior relato de uma espécie patogênica em regiões da África geraram confusão quanto à nomenclatura do fungo. Além disso, a sintomatologia em café varia de acordo com a espécie de *Colletotrichum*, gerando, assim, distintas nomeações para as doenças causadas por essas diferentes espécies que colonizam ramos, folhas e frutos de cafeeiros, mas sendo a de maior importância econômica *C. kahawae* Waller et al. (1993) (*C. coffeanum* Noack), que ataca frutos verdes em desenvolvimento, causando a doença conhecida como CBD (Coffee Berry Disease), ainda restrita aos países africanos. No Brasil, existem relatos da ocorrência da mancha manteigosa em café Conilon no Espírito Santo, Rio de Janeiro e Minas Gerais (Dorizzotto & Abreu, 1993) e mumificação e queda de frutos verdes de café (Figueiredo & Mariotto, 1978). Os relatos são feitos sempre procurando associações com o agente causal da CBD, mas sem conclusões definitivas a respeito da identificação dessas espécies e seu potencial epidemiológico no campo.

Caracteres morfológicos são muito variáveis, dificultando a identificação de espécies, e levando muitas vezes à confusão quanto ao agente causal da doença. Apesar disso, estudos no sentido de padronizar essas características, enfatizando o agente da CBD, vêm sendo descritos na literatura. Deve-se levar em consideração que a utilização de caracteres morfológicos e fisiológicos, bem como testes de patogenicidade, são métodos rápidos e relativamente fáceis, podendo ser desenvolvidos sem necessidade de equipamentos sofisticados, levando a diagnósticos e medidas de controle mais rápidas.

Objetivou-se com este trabalho caracterizar isolados de *Colletotrichum* sp. obtidos de café, utilizando caracteres fisiológicos, morfológicos e testes de patogenicidade em frutos verdes, plântulas e mudas de *Coffea arabica* L. cv. Mundo Novo.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção de isolados de *Colletotrichum* sp. de café

Os isolados de *Colletotrichum* sp. foram obtidos a partir de folhas, ramos e frutos verdes de café proveni-

entes de Minas Gerais e São Paulo (Tabela 1), a partir de lesões jovens desinfestadas com álcool 70% e hipoclorito de sódio 1%, e incubadas em placa de Petri com meio de cultura MEA (Extrato de Malte-Agar) por 7 dias a 25°C e fotoperíodo de 12 horas. A partir de colônias puras do fungo, obteve-se uma suspensão de esporos pela adição de 20 ml de água destilada esterilizada, que foi vertida em placas com Ágar-Água. Após 24 horas, esporos germinados foram transferidos individualmente para placas com meio MEA.

TABELA 1 – Identificação, procedência e órgão do cafeeiro utilizado para proceder ao isolamento de *Colletotrichum*.

Número do Isolado	Procedência	Órgão com Sintoma
I-1	Uberlândia-MG	Ramo
I-2	Varginha-MG	Ramo
I-4	Boa Esperança-MG	Ramo
I-5	Ibituruna-MG	Ramo
I-7	Piunhí-MG	Fruto
I-7.1	Piunhí-MG	Folha
I-10	Cajuru-SP	Ramo
I-11	Guaxupé-MG	Folha

Avaliação do crescimento micelial e capacidade de esporulação dos isolados em diferentes meios de cultura

O crescimento micelial dos isolados foi verificado em três diferentes meios de cultura: MEA (extrato de malte agar), BDA (Batata-dextrose-ágar) e GYA (glucose-levedura-ágar). Discos de micélio obtidos das margens de colônias de *Colletotrichum* cultivadas, por 7 dias, em meio BDA a 20 ± 2°C, no escuro, foram transferidos para placas de Petri com os meios de cultura e incubadas a 20 ± 2°C em fotoperíodo de doze horas.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com 6 repetições, cada placa constituindo uma unidade experimental. A avaliação foi feita medindo-se diariamente o tamanho da colônia, nos dois sentidos perpendiculares da placa, durante 10 dias. O índice de

velocidade de crescimento micelial (IVCM) foi calculado utilizando a fórmula de Maguire (1962) adaptada por Oliveira (1991): $IVCM = \Sigma (D - Da) / N$, em que IVCM = Índice de velocidade de crescimento micelial, D = Diâmetro médio atual, Da = Diâmetro médio do dia anterior, e N = Número de dias após a inoculação.

Para verificação da capacidade de esporulação, no décimo dia foi obtida uma suspensão de esporos, adicionando-se 20 ml de água destilada esterilizada em cada placa. Uma alíquota de 10 μ l foi retirada para quantificação em câmara de Neubauer.

Dimensão dos conídios

Os conídios obtidos a partir de culturas monospóricas foram medidos com o auxílio de um micrômetro ocular de tambor de Huyghens, preparando-se 4 lâminas de cada isolado e medindo-se 25 conídios por lâmina, em objetiva de imersão (100X). As características avaliadas foram tamanho dos conídios e a relação comprimento/largura, determinando-se a forma dos conídios segundo Feitosa et al. (1977): Ccc = cilíndrico muito curto, relação menor que 2,00; Cc = cilíndrico curto, relação entre 2,00 e 2,50; C = cilíndrico, entre 2,50 e 3,00; f = fusiforme, entre 3,00 e 3,50; ff = fusiforme muito alongado, relação maior do que 3,5.

Testes de utilização de tartarato e citrato como fonte exclusiva de carbono

Utilizou-se o meio B ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ -1g, KCl-0,2g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ -0,2g, H_2O -1l; Lynch et al., 1981), suplementado com ácido cítrico ou tartarato de amônio (1% p/v). A cada combinação meio B + ácido cítrico e meio B + tartarato de amônio, foi adicionada glucose (controle positivo), ou não (controle negativo). Antes da esterilização em autoclave, adicionou-se aos meios 0,0005% (p/v) de bromocresol púrpuro e o pH foi ajustado para 4,5. Após distribuição desses meios em placas de Petri, um disco de micélio de 7 mm de *Colletotrichum*, cultivado em meio B, foi transferido para cada placa e o material incubado em fotoperíodo de 12 horas a $22 \pm 2^\circ\text{C}$. Após 7 dias, foi avaliada a presença ou não do crescimento micelial da colônia fúngica nos controles positivo e negativo. O crescimento micelial indicou a capacidade do isolado em utilizar o citrato ou tartarato como fonte exclusiva de carbono.

Testes de patogenicidade

a) Inoculação em plântulas de cafeeiro

O teste foi conduzido em câmara climatizada a $22 \pm 2^\circ\text{C}$, seguindo o delineamento experimental de blocos casualizados com 5 repetições, em que a unidade experimental constituiu de um vaso com 20 plântulas, no estádio "orelha de onça", aproximadamente seis semanas após a germinação. Para a formação de plântulas, foram utilizadas sementes da cultivar Mundo Novo LCP 379/19, previamente tratadas com PCNB (0,5 g i.a./Kg semente), distribuindo-as em vasos de 5Kg contendo substrato plantmax.

As plântulas foram colocadas em câmara úmida, no escuro por 24 horas antes da primeira inoculação e, após esse período, foram inoculadas com uma suspensão de 10^6 conídios/ml utilizando-se um atomizador De Vilbss nº 15. Essas plantas foram mantidas por mais 48 horas em câmara úmida e, em seguida, reinoculadas. Após 24 horas, as plântulas foram expostas às condições normais da câmara climatizada ($22 \pm 2^\circ\text{C}$). A testemunha foi pulverizada com água destilada e esterilizada. O isolamento do fungo foi feito a partir de plântulas com sintomas para confirmação da patogenicidade dos isolados testados.

As avaliações foram feitas em intervalos de 5 dias, observando-se individualmente os sintomas da doença no hipocótilo das plântulas, seguindo a escala adaptada de Van Der Vossen (1976), em que: 1-ausência de reação visível, 2-lesões superficiais castanhas, 3-lesões mais profundas e escuras, 4-lesões escuras com início de estrangulamento, 5-estrangulamento mais pronunciado e 6-plântula morta. As análises de variância do índice de doença (ID) foram feitas conforme fórmula proposta por Cirulli & Alexander, citado por Lima (1981): $ID = \Sigma (F \times V) / (N \times X) \times 100$, em que F = Número de plântulas com determinado grau de infecção, V = Grau de infecção, N = Número total de plântulas inoculadas, e X = Grau máximo de infecção.

b) Inoculação de frutos verdes destacados de cafeeiro

Para este ensaio foram utilizados frutos sadios em estádio verde-cana, obtidos da cultivar Mundo Novo LCP 379/19, conduzido em câmara climatizada de $22 \pm 2^\circ\text{C}$, seguindo o delineamento experimental de blocos casualizados com 5 repetições, sendo a unidade experimental constituída de 25 frutos dispostos numa caixa de Gerbox. Os frutos foram inoculados com uma gota (0,02 ml) de uma suspensão de 2×10^6 conídios/ml, colocada na superfície de cada fruto com auxílio de uma pipeta automática, sem feri-los. A testemunha foi inoculada com água destilada e esterilizada. As avaliações do número de

frutos com sintomas foram feitas em intervalos de cinco dias após a inoculação, durante 30 dias.

c) Patogenicidade em mudas de cafeeiro

Foram utilizadas mudas de café com dois pares de folhas inteiramente formados, da cultivar Mundo Novo LCP 379/19 com e sem fermento, utilizando-se carburundun, seguindo a mesma metodologia da inoculação em plântulas descrita anteriormente. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com 10 repetições, uma muda constituindo a unidade experimental, conduzido em condições de casa-de-vegetação. Após 35 dias da inoculação, retirou-se o primeiro par de folhas inteiramente formado do ápice para a base em cada planta, avaliando-se o número médio de lesões formado por folhas.

Análise de Variância dos testes de patogenicidade:

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e os dados foram transformados para $\text{Arc. sen } \sqrt{X + 0,5/100}$, uma vez que não tiveram distribuição normal e homogeneidade das variâncias do erro experimental indicado pelos testes de Shapiro & Wilk (1968) e Teste F máximo (Hartley, 1950), respectivamente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Crescimento micelial e capacidade de esporulação em diferentes meios de cultura

Foi observado que o IVCM dos isolados foi maior em meio BDA, intermediário em MEA e menor em GYA (Tabela 2). Três grupos distintos em MEA puderam ser diferenciados: os de crescimento mais rápido, obtidos de haste, os intermediários, obtidos de folhas e ramos, e o de crescimento lento, obtidos de fruto. Todos os valores de IVCM verificados em MEA estão de acordo com os valores apresentados por Waller et al., 1993 e Rodrigues et al., 1991, para caracterizar a taxa de crescimento micelial de isolados de *C. kahawae*.

Em relação à capacidade de esporulação dos isolados, observa-se na Tabela 2 que, em geral, a maior capacidade de esporulação dos isolados ocorreu em meio GYA, seguido do meio MEA e do meio BDA, com exceção dos isolados I-4, I-7, I-10 e I-11, que não apresentaram diferença estatística em relação a essa variável. Rodrigues et al. (1991) observaram que isolados de *C. coffeanum*, em meio MEA, variam na sua capacidade de esporulação de acordo com sua agressividade e os isolados testados neste ensaio apresentaram valores de capacidade de esporulação acima dos relatados para os isolados mais agressivos dessa espécie.

O meio GYA foi o que propiciou maior capacidade de esporulação dos fungos, devendo, portanto, ser recomendado para obtenção de inóculo para testes de patogenicidade. Os maiores valores de esporulação nesse meio foram os isolados I-1, I-5, e I-7.1 ($33,02 \times 10^5$; $39,98 \times 10^5$ e $36,44 \times 10^5$ esporos/ml, respectivamente).

TABELA 2 – Índice de velocidade do crescimento (IVCM) e esporulação em número de esporos $\times 10^5$ /ml de isolados de *Colletotrichum* sp. de café em diferentes meios de cultura.

Isolados	IVCM			Esporulação ($\times 10^5$ conídios/ml)		
	BDA	GYA	MEA	BDA	GYA	MEA
I-1	2,23 Acd	1,88 Acde	2,05 Bb	0,88 Ba	33,02 Aa	4,70 Bb
I-2	2,23 Acd	1,79 Ae	2,02 Bb	3,70 Ba	18,07 Ab	4,25 Bb
I-4	2,50 Abc	2,37 Ba	2,64 Aa	3,94 Aa	2,20 Ac	6,72 Aab
I-5	2,80 Aa	2,28 Bab	2,87 Aa	2,06 Ca	39,98 Aa	20,85 Ba
I-7	1,93 Ae	1,83 Ade	1,57 Bc	0,89 Aa	5,35 Abc	3,56 Ab
I-7.1	2,39 Abc	2,09 Bbcd	2,15 Bb	1,25 Ba	36,44 Aa	6,74 Bab

I-10	2,03 Ade	1,75 Be	1,97 Ab	0,12 Aa	2,35 Ac	0,41 Ab
I-11	2,63 Aab	2,13 Babc	1,89 Cb	0,64 Aa	7,37 Abc	2,24 Ab

Médias seguidas pela mesma letra minúscula, nas colunas e maiúsculas, nas linhas, não diferem entre si pelo teste Tukey a 1% de probabilidade. CV=10,18%.

Dimensão de conídios

Apenas os isolados I-1 e I-5 produziram conídios do tipo Cc, enquanto os demais produziram conídios do tipo C. Resultados similares foram encontrados por Feitosa et al. (1977), em 24 de 37 cepas de *Colletotrichum* estudadas, porém com conídios mais largos (4,08-7,41µm). Os isolados apresentaram uma variação de 10-14,5 x 3-6,5 µm, que está dentro da variação encontrada por Vargas & Gonzalez (1972), no estudo do agente causal da mancha-manteigosa na Costa Rica, mas abaixo da encontrada por Waller et al. (1993) para *C. kahawae*, e por Dorizzotto (1993) para conídios de *Colletotrichum* de café em Minas Gerais.

Utilização de tartarato, citrato como fonte exclusiva de carbono

Com exceção do isolado I-2, todos os demais isolados foram capazes de utilizar tartarato e citrato como fonte exclusiva de carbono, característica encontrada por Waller et al. (1993) para os isolados de *C. gloeosporioides* Penz. de café, sugerindo que essa característica esteja relacionada com a capacidade saprofítica desses isolados. Entretanto, essa característica não deve ser utilizada exclusivamente no diagnóstico da espécie, pois fatores como o pH podem interferir no crescimento micelial no controle negativo. Esse fato pode ter ocorrido com I-2, que utilizou apenas o citrato como fonte exclusiva de carbono.

Teste de patogenicidade em plântulas

Os isolados estudados foram patogênicos às plântulas de café, mas não foi verificada morte das mesmas até 30 dias após a inoculação. Resultados similares foram verificados em plântulas de café cv. Caturra inoculadas com isolados de *C. kahawae* provenientes de diferentes regiões da África. Entretanto, na maioria dos testes de patogenicidade com isolados de *C. kahawae* em plântulas de café, são verificadas mortes de plântulas, em geral, após 15 dias da inoculação (Van der Voosen et al., 1976; Waller et al., 1993).

Neste ensaio, os sintomas que ocorreram com maior frequência foram lesões superficiais castanhas e lesões mais profundas e escuras que, em alguns casos, evoluíram para lesões com início de estrangulamento e estrangulamento mais pronunciado. Os índices de doença calculados encontram-se na Tabela 3 e verifica-se que 10 dias após a inoculação, os isolados I-1, I-4, I-5 e I-11 já causaram sintomas. A partir do 15º dia, todos os isolados apresentaram-se patogênicos, com índices de doença superior à testemunha apenas para os isolados I-1, I-4, I-7.1, I-5, e I-11, e a partir do 20º dia, isso foi verificado para todos os isolados testados. Todos os isolados apresentaram o mesmo índice de doença.

No Brasil, Dorizzotto (1993) relata sintomas em plântulas de café 25 dias após a inoculação, ao passo que, na Costa Rica, isolados de *Colletotrichum* obtidos de sintomas de mancha-manteigosa só se mostraram patogênicos a plântulas de café obtidas de sementes de plantas enfermas (Vargas & Gonzalez, 1972).

TABELA 3 – Índice de doença (%) de plântulas de café cv. Mundo Novo inoculadas com isolados de *Colletotrichum* de café em diferentes dias de avaliação.

	Índice de Doença (%)*					
	Dias Após a Inoculação					
	05	10	15	20	25	30
Testemunha	5,73 A	5,73 A	5,73 A	5,73 A	5,73 A	5,73 A
I-1	5,73 A	7,95 A	18,04 C	18,69 B	22,89 C	24,55 B
I-2	5,73 A	5,73 A	11,57 B	15,39 B	19,04 C	21,60 B
I-4	5,73 A	8,54 A	13,96 B	16,16 B	19,89 C	21,70 B
I-5	5,73 A	9,06 A	12,86 B	15,37 B	20,75 C	21,57 B
I-7	5,73 A	5,73 A	12,15 B	13,28 B	16,41 B	19,70 B
I-7.1	5,73 A	5,73 A	13,47 B	15,17 B	19,27 C	21,27 B
I-10	5,73 A	5,73 A	10,88 B	13,16 B	15,07 B	17,30 B
I-11	5,73 A	7,20 A	12,71 B	16,47 B	19,30 C	20,07 B

* Dados transformados para $\text{Arc.sen} \sqrt{X + 0,5/100}$.

Tratamentos com a mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott & Knott a 5% de probabilidade. CV= 19,17%.

Teste de patogenicidade em frutos verdes

Os primeiros sintomas foram observados em 10 dias e apenas os frutos inoculados com I-1, I-2, I-5, I-7.1 apresentaram sintomas. Aos 15 dias, todos os isolados produziram lesões nos frutos, e apenas I-10 e I-11 não diferiram significativamente da testemunha, e a partir do 20º dia, todos os isolados apresentaram porcentagem de infecção superior, mantidos até a última avaliação (Tabela 4). Maior porcentagem de frutos com lesão foi observado para I-1, I-5, I-7 e I-7.1, 30 dias após a inoculação (45,28; 44,69; 51,27; 45,44%, respectivamente).

A maior porcentagem de frutos infectados foi de 51,27%, verificada para o isolado I-7. Esse valor foi alto, se se comparar com os resultados obtidos por Dorizzotto (1993) para a mesma cultivar, mas baixo, se se comparar com outras cultivares testadas pelo autor, que chegou a obter 71% de infecção com *C. gloeosporioides* aos 35 dias de inoculação, e Figueiredo & Mariotto (1978), que obtiveram 88% de infecção, mas com inóculo superior a 10^8 esporos/ml., ao passo que Almeida et al. (1985) não obtiveram resultados de patogenicidade positivo.

A porcentagem de infecção observada nesse ensaio não se assemelha aos resultados descritos para isolados de *C. kahawae*, agente da CBD. Além disso, as lesões obtidas nos frutos, neste ensaio, foram superficiais, não podendo ser classificadas como lesões ativas

descritas para o CBD (Massaba & Waller, 1992), mas sim como lesões tipo “sarna” (Muller, 1970), por ser superficial e apresentar acérvulos.

Teste de patogenicidade em mudas

No primeiro ensaio de patogenicidade de mudas, efetuado sem fermento, não foram observadas lesões nas folhas, nem necrose de ponteiros. No segundo ensaio, em que foram efetuados fermentos nas folhas antes da inoculação, apenas uma muda das 10 inoculadas com o isolado I-2 apresentou mancha nos folíolos, causado por *Colletotrichum*, confirmado após isolamento *in vitro*. Algumas manchas em folhas foram observadas para os isolados I-1, I-4, I-11 e I-7, mas que não apresentaram evolução e não permitiram sua quantificação.

Esses resultados variáveis podem estar relacionados a algum fator condicionante no campo que favorece o aparecimento da doença, como deficiência nutricional da planta e condições climáticas adversas, conforme relatado por Bitancourt (1958). Há necessidade de estudos que relatem a associação de algum fator que predisponha a planta ao patógeno, ligado às condições de cultivo ou à resistência ou susceptibilidade dessas plantas, já que dentro de um mesmo cafezal são observadas plantas com ataque generalizado da doença e outras que não apresentam incidência da doença.

TABELA 4 – Porcentagem média de frutos de café cv. Mundo Novo inoculados com isolados de *Colletotrichum* de café em diferentes dias de avaliação.

	% De Frutos Infectados*					
	Dias Após a Inoculação					
	05	10	15	20	25	30
Testemunha	4,05 A	4,05 A	4,05 A	4,05 A	4,05 A	4,05 A
I-1	4,05 A	7,27 A	15,91 B	23,56 B	32,12 C	45,28 C
I-2	4,05 A	6,10 A	11,37 B	18,17 B	23,25 B	34,00 B
I-4	4,05 A	4,05 A	12,55 B	17,35 B	24,58 B	38,79 B
I-5	4,05 A	6,10 A	12,31 B	18,46 B	27,19 B	44,69 C
I-7	4,05 A	4,05 A	13,42 B	24,21 B	33,75 C	51,27 C
I-7.1	4,05 A	6,10 A	14,36 B	22,59 B	34,02 C	45,44 C
I-10	4,05 A	4,05 A	9,32 A	20,58 B	27,07 B	38,23 B
I-11	4,05 A	4,05 A	8,15 A	17,65 B	23,07 B	35,13 B

* Dados transformados para $\text{Arc.sen} \sqrt{X + 0,5/100}$.

Tratamentos com a mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste Scott & Knott a 5% de probabilidade. CV=20,29%.

CONCLUSÕES

Apesar de os isolados testados serem patogênicos, os sintomas observados não podem ser comparados ao da CBD, mas permitem diferenciá-los de isolados saprófitas. Deve-se incluir outros caracteres morfológicos e verificar quais apresentam resultados mais contrastantes e que permitam auxiliar na diferenciação de determinadas cepas de *Colletotrichum* em uma população. As características estudadas, tais como índice de velocidade de crescimento micelial, capacidade de esporulação, medição de conídios e utilização de fonte de carbono, não devem ser utilizadas unicamente na identificação de cepas patogênicas, pois apresentam resultados variáveis que podem ser incluídos em várias espécies dentro de um mesmo gênero.

É necessária a continuação de estudos com esse mesmo objetivo, visando sempre a identificar isolados patogênicos e compará-los com o agente CBD, pois como ocorreu na África, onde esses não eram prejudiciais, até que o desequilíbrio na população de espécies do fungo em função do uso do controle químico de outras doenças, como a ferrugem, favoreceu seu desenvolvimento. No Brasil, o mesmo fato poderá se repetir, caso não haja um constante monitoramento da população das espécies de *Colletotrichum* em cafeeiros.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, S. R.; MANSK, Z.; MATIELO, J. B.; MULLER, R. R. A. Observações preliminares sobre queda dos frutos sob suspeita de ataque de *Colletotrichum* spp. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 7., 1985, Araxá. **Resumos...** Rio de Janeiro: IBC, 1985. p. 323-326.

BITANCOURT, A. A. Um inquérito sobre a seca dos ramos do cafeeiro. **O Biológico**, São Paulo, v. 24, n. 1, p. 19-22, jan. 1958.

DORIZZOTTO, A.; ABREU, M. S. Reação de plântulas e frutos verdes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) a *Colletotrichum coffeanum* Noack e *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 26., 1993, Aracajú. **Suplementos...** Brasília: SBF, 1993. p. 285.

DORIZZOTTO, A. **Caracterização morfológica e patogenicidade de *Colletotrichum* sp. associados a cafeeiros**

(*Coffea arabica* L.) em dois municípios de Minas Gerais. 1993. 66 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

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

FIGUEIREDO, M. B.; MARIOTTO, P. R. *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. atacando frutos verdes de cafeeiro (*Coffea arabica* L.). **O Biológico**, São Paulo, v. 24, p. 25-26, 1978.

HARTLEY, H. O. The maximum F-ratio as a short-cut test for heterogeneity of variance. **Biometrika**, London, v. 37, p. 308-312, 1950.

LIMA, E. F. **Variabilidade de *Colletotrichum gossypii* South var. *Cephalosporioides* A.S. Costa e avaliação da resistência de linhagens de algodoeiro à ramulose.** 1981. 47 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

LYNCH, J. M.; SLATER, J. H.; BENNET, J. A.; HARPER, S. H. T. Cellulose activities of some aerobic microorganisms isolated from soil. **Journal of General Microbiology**, Colchester, v. 127, n. 2, p. 231-236, Dec. 1981.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigour. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 2, p. 176-177, Mar./Apr. 1962.

MASSABA, D.; WALLER, J. M. Coffee berry disease: the current status. In: BAILEY, J. A.; JEGER, M. J. (Ed.). ***Colletotrichum* biology, pathology and control.** Wallingford: CAB International, 1992. p. 249-337.

MULLER, R. A. L'évolution de l'anthracnose des baies du caféier d'arabie (*Coffea arabica*) due à une forme de *Colletotrichum coffeanum* Noack du Cameroun. **Café Cacao Thé**, Paris, v. 14, n. 2, juin 1970.

OLIVEIRA, J. A. **Efeito do tratamento fungicida em sementes e no controle de tomabamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativus* L.) e pimentão (*Capsicum annum* L.).** 1991. 111 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

RODRIGUES, C. J.; VARZEA, V. M. P.; HINDORF, H.; MEDEIROS, E. F. Strains of *Colletotrichum coffeanum* Noack causing coffee berry disease in Angola and Malawi with characteristics different to the Kenya strain. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 131, p. 205-209, 1991.

SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. Approximations for the null distribution of the W statistic. **Technometrics**, v. 10, p. 861-866, 1968.

VAN DER VOSSEN, H. A. M.; COOK, R. T. A.; MURAKURO, N. W. Breeding for resistance to coffee berry disease caused by *Colletotrichum coffeanum* Noack (*sensu* Hindorf) in *Coffea arabica* L. I. Methods

of preselection for resistance. **Euphytica**, Wageningen, v. 25, p. 733-745, 1976.

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

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