

CARACTERIZAÇÃO DE *Colletotrichum* spp. ASSOCIADO AO CAFEEIRO NO ESTADO DO PARANÁ

Michele R. L. SILVA¹ E-mail: michele@iapar.br, Luciana MENEGUIM¹, Juliana S. GONÇALVES², Juliana F. PISTORI² e Rui P. LEITE JR¹

¹Instituto Agronômico do Paraná, C.P. 481, 86.001-970 Londrina, PR.

²Centro Universitário Filadélfia, Av. Juscelino Kubitschek, 1626, 86.020-000 – Londrina, PR

Resumo:

No Brasil, existem diversos relatos da ocorrência de doenças em cafeeiro associadas a fungos do gênero *Colletotrichum*, como antracnose, seca-de-ramos, queda-de-frutos, seca-de-frutos e mancha-manteigosa. Entretanto, a falta de estudos mais detalhados sobre as características de *Colletotrichum* spp. que ocorrem em cafeeiro no Brasil e das doenças que eles realmente causam tem gerado dúvidas a respeito da patogenicidade desses fungos para cafeeiro e dos danos que podem causar para a cultura. Estudos foram realizados com os objetivos de obter informações sobre a identidade e características deste organismo. Os resultados obtidos nos estudos de caracterização de *Colletotrichum* spp. associados ao cafeeiro indicam que espécies desse fungo estão presentes em necroses em folhas, ramos e frutos de cafeeiro de diferentes cultivares nas diversas regiões produtoras do Estado do Paraná. O exame de mais de 400 isolados revelou que a única espécie presente em cafeeiro é *C. gloeosporioides*, sendo que para pouco mais de 5% dos isolados foi também constatada a forma perfeita *Glomerella cingulata*. Estudos adicionais devem ser conduzidos para determinar a patogenicidade desse fungo para cafeeiro, e sua capacidade de infectar diferentes partes da planta, como também determinar a possibilidade de outras espécies de *Colletotrichum* estarem associadas ao cafeeiro no Paraná.

Palavras-chave: doença, antracnose, seca de ramos, queda de frutos, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Glomerella cingulata*, *Coffea arabica*

CHARACTERIZATION OF *Colletotrichum* SPP. ASSOCIATED WITH COFFEE IN THE STATE OF PARANÁ, BRAZIL

Abstract:

There are several reports of diseases on coffee caused by species of *Colletotrichum* in Brazil, such as anthracnose, dieback, fruit drop and grease spot. However, there is a lack of studies regarding the characteristics of *Colletotrichum* spp. associated with coffee in Brazil and the real damage caused by these fungi to this crop. Studies were carried out to determine the species and characteristics of the *Colletotrichum* associated with coffee in Paraná State, Brazil. The results obtained showed that *Colletotrichum* spp. is present in diseased tissues of different parts of the coffee tree, such as leaves, branches and fruits. Among 400 isolates established, *C. gloeosporioides* was the only species identified and approximately 5% of the isolates produced the perfect stage *Glomerella cingulata*. Additional studies should be carried out to determine the pathogenicity of this fungus to coffee and its capability to infect different parts of the plant. The possibility of other species of *Colletotrichum* to cause diseases on coffee in Paraná State should also be considered.

Key words: disease, anthracnose, dieback, fruit drop, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Glomerella cingulata*, *Coffea arabica*

Introdução

A doença Coffe Berry Disease (CBD) causada por *Colletotrichum kahawae* Waller & Bridge, é uns dos principais fatores que limitam a produção de café na África (Massaba & Waller, 1992; Waller et al., 1993). A CBD ocorre em frutos de cafeeiro e pode ocasionar perdas de 20 até 80% na produção (Massaba & Waller, 1992). Entretanto, não há relatos da ocorrência dessa espécie de *Colletotrichum* no continente americano.

No Brasil, existem diversos relatos da ocorrência de doenças em cafeeiro associadas a espécies de *Colletotrichum*, como antracnose, seca-de-ramos, queda-de-frutos, seca-de-frutos e mancha-manteigosa (Bianchini, 1960; Bitancourt, 1956, 1958ab; Viegas, 1957). O primeiro relato da ocorrência de fungos do gênero *Colletotrichum* em cafeeiro no Brasil foi feito por Noack (1901), tendo o fungo sido denominado *Colletotrichum coffeanum* Noack. O patógeno foi descrito causando manchas em folhas, em associação ou não com *Cercospora* sp., e em ramos de cafeeiros nos Estados de São Paulo e do Rio de Janeiro. Entretanto, a falta de estudos mais detalhados sobre as características de *Colletotrichum* spp. que ocorrem em cafeeiro no Brasil e das doenças que eles realmente causam tem gerado dúvidas a respeito da patogenicidade desses fungos para cafeeiro e dos danos que podem causar para a cultura.

Fungos do gênero *Colletotrichum* ocorrem como saprófitas em todas as regiões do mundo onde se cultiva o cafeeiro, afetando principalmente as partes externas da casca dos ramos (Nutman, 1970). Além desse caráter saprofítico, o

fungo tem sido relatado como agente causal de antracnose, seca de ramos e manchas em folhas e em frutos maduros de cafeeiro (Berry & Abrego, 1953; Bianchini, 1960; Bitancourt, 1956, 1958ab; Schieber et al., 1970; Viegas, 1957).

Estudos taxonômicos sobre o gênero *Colletotrichum* foram feitos por von Arx (1957). Dos isolamentos com forma perfeita *Glomerella cingulata* (Stonem.) Spaud & Schrenk, todos tiveram como espécie anamorfa *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. Segundo Hindorf (1975), *C. gloeosporioides*, está presente em todos os locais onde se cultiva o cafeeiro, causando *die-back*, antracnose e queima-de-frutos. A espécie originalmente descrita como *C. coffeanum* foi reclassificada como *C. gloeosporioides*, que tem como forma perfeita *G. cingulata*. Investigações recentes na microbiota de *Coffea* spp., no Quênia, mostraram diferenças dentro da população de *Colletotrichum* associada ao cafeeiro (Massaba & Waler, 1992).

Face à escassez de informações sobre as espécies de *Colletotrichum* associadas ao cafeeiro no Brasil, foram realizados estudos com os objetivos de obter informações sobre a identidade, características e patogenicidade a cafeeiro deste organismo. As informações obtidas serão certamente importantes para melhor conhecimento e controle das doenças causadas por espécies de *Colletotrichum* em cafeeiro.

Material e Métodos

Obtenção de isolados de *Colletotrichum* spp. Isolados de *Colletotrichum* spp. foram obtidos a partir de folhas, ramos, e frutos verdes de cafeeiro com sintomas de escurecimento e necrose de tecidos, provenientes das regiões Norte, Norte Pioneiro, Noroeste e Oeste do Estado do Paraná. Os isolamentos foram feitos em meio de cultura Peptona Glucose Agar (PGA). Secções do tecido doente foram desinfetadas superficialmente com álcool (70%) e hipoclorito de sódio (1%) por um minuto e após, lavadas em água destilada esterilizada. As secções foram transferidas para placas contendo o meio de cultura PGA e mantidas em incubadora a 25° C por aproximadamente 20 dias para verificação das características das colônias e presença de forma perfeita (*G. cingulata*). A morfologia dos esporos foi observada em microscópio óptico. As colônias identificadas como sendo de *Colletotrichum* sp. foram repicadas e purificadas, sendo então transferidas para tubos contendo meio de cultura PGA para manutenção por período curto e para sílica-gel para manutenção por longo período.

Obtenção e manutenção de culturas monospóricas. Após a identificação morfológica, foram estabelecidas culturas monospóricas dos isolados de *Colletotrichum* sp. Suspensões de esporos foram preparadas em água destilada acrescida de 0,01% de Tween 20. Paralelamente, foram marcados campos em forma de círculos (3 mm) na parte inferior da placa de Petri contendo meio Agar-Água (AA). Em cada campo foi depositado 0,1 µL da suspensão de esporos e com auxílio de microscópio óptico, foram selecionados campos que continham apenas um esporo. A placa foi mantida a 25°C e após 24 horas dois campos contendo apenas um esporo em fase de germinação foram transferidos, com auxílio de bisturi, para placas de meio PGA. As placas de PGA foram colocadas em incubadora a 25°C por 7 dias. As culturas monospóricas foram transferidas para tubos contendo sílica-gel para estocagem. Trezentos microlitros de suspensão concentrada de esporos, preparada em leite desnatado (5%), foram adicionados em tubos contendo sílica-gel, previamente esterilizada e armazenados a 4° C.

Caracterização morfológica. Os isolados de *Colletotrichum* spp. foram identificados ao nível de espécie com base no exame de conídios (Baxter, et al., 1985; Gunnel & Gubler, 1992; Sutton, 1980, 1990; von Arx, 1957).

Resultados e Discussão

Amostras de cafeeiro com sintomas de antracnose foram coletadas em 17 municípios da região Norte, 7 da região Norte Pioneiro, 17 da região Noroeste e 2 da região Oeste do Estado do Paraná (Fig. 1), compreendendo um total de 329 amostras. Todas as amostras coletadas foram de cultivares ou híbridos de *Coffea arabica*, incluindo os cultivares Acaia, Bourbon Amarelo, Catuaí Amarelo, Cautai Vermelho, Híbrido de Sumatra, Icatu, IAPAR 59, Mundo Novo e Tupi. Foram coletadas amostras de folhas, ramos e frutos de cafeeiro com sintomas de escurecimento e necrose de tecidos. A partir dessas amostras, foram estabelecidos mais de 400 isolados com características culturais e morfológicas de espécies do gênero *Colletotrichum*. O exame ao microscópio óptico revelou variações nas características morfológicas dos conídios dos isolados de *Colletotrichum*, que variaram de afilados, obcláveos, cilíndricos a cilíndricos/obcláveos. As características das colônias dos isolados fúngicos também apresentaram variações em relação à coloração e desenvolvimento micelial. Entretanto, todos os isolados estabelecidos foram preliminarmente identificados como *C. gloeosporioides*, com base nas características morfológicas dos conídios, sendo que destes, 22 produziram a forma perfeita *G. cingulata*. Além disso, foram obtidas culturas monospóricas de cada um dos isolados de *C. gloeosporioides*, as quais foram estocadas em tubos contendo meio PGA e também em sílica-gel para manutenção por longo período.

Os resultados obtidos neste estudo de caracterização de *Colletotrichum* spp. associados ao cafeeiro indicam que espécies desse fungo estão presentes em necroses em folhas, ramos e frutos de cafeeiro de diferentes cultivares nas diversas regiões produtoras do Estado do Paraná. O exame de mais de 400 isolados revelaram que a única espécie presente em cafeeiro é *C. gloeosporioides*, sendo que para pouco mais de 5% dos isolados foi também constatada a forma perfeita *Glomerella cingulata*. Estudos adicionais devem ser conduzidos para determinar a patogenicidade desse fungo para o cafeeiro, e sua capacidade de infectar diferentes partes da planta, como também determinar a possibilidade de outras espécies de *Colletotrichum* estarem associadas ao cafeeiro no Paraná.

Referências bibliográficas

- Baxter, A.P.; van Der Westhuizen, G.C.A.; Eicker, A. (1985) A review of literature on the taxonomy, morphology and biology of the fungal genus *Colletotrichum*. *Phytophylactica*, 17: 15-18.
- Berry, P.A; Abrego, L. (1953) Insects and diseases affecting some crops in El Salvador. *FAO Plant Protection Bulletin*, 1: 151-153.
- Bianchini, C. (1960) Informe resumido sobre la mancha mantecosa, chasparia y ojo de gallo del café en Costa Rica. *Café*, 2: 29-34.
- Bitancourt, A.A. (1956) As fermentações e podridões da cereja de café. *O Biológico*, 22: 205-213.
- Bitancourt, A.A. (1958a) As manchas da folha do cafeeiro. *O Biológico*, 24: 191-201.
- Bitancourt, A.A. (1958b) Um inquérito sobre a seca dos ramos do cafeeiro. *O Biológico*, 24: 19-22.
- Hindorf, H. (1975) *Colletotrichum* occurring on *Coffea arabica*: a review. *Journal of Coffee Research*, 5: 43-56.
- Gunnel, P.S.; Gubler, W.D. (1992) Taxonomy and morphology of *Colletotrichum* species pathogenic to strawberry. *Mycologia*, 84: 157-160.
- Massaba, D.; Waller, J.M. (1992) Coffee berry disease: the current status. In: Bailey, J.A.; Jeguer, M.J. (eds.). *Colletotrichum: biology, pathology and control*. CAB International, Inglaterra. pp. 237-249.
- Noack, F. J. (1901) As manchas das folhas dos cafeeiros. *Boletim da Agricultura*, 1: 5.
- Nutman, F.J. (1970) Coffee berry disease. *Annual Pathology Society*, 16: 277-286.
- Schieber, E.; Zentmyer, G.A.; Mitcheel, D.J.; Roheim, J. (1970) Coffee berry necrosis in Guatemala and Costa Rica. *Phytopathology*, 60: 1542-1545.
- Sutton, B.C. (1980) The Coelomycetes: Fungi imperfecti with pncidia, acervuli and stromata. Commonwealth Mycological Institute. pp. 523-525.
- Sutton, T.B. (1990) Bitter Rot. In: Jones, A.L.; Aldwinckle, H.S. (eds.). *Compendium of apple and pear diseases*. American Phytopathological Society, St. Paul, MN, EUA. pp. 15-16.
- Viegas, A.P. (1957) Moléstias do cafeeiro. *Café*, 32: 33-34.
- von Arx, J.A. (1957) Die Arten der Gattung *Colletotrichum* Cda. *Phytopathologische Zeitschrift*, 29: 413-468.
- Waller, J.M.; Bridge, P.D.; Black, R.; Hakiza, G. (1993) Characterization of the coffee berry disease pathogen, *Colletotrichum kahawae* sp. Nov. *Mycological Research*, 97: 989-994.

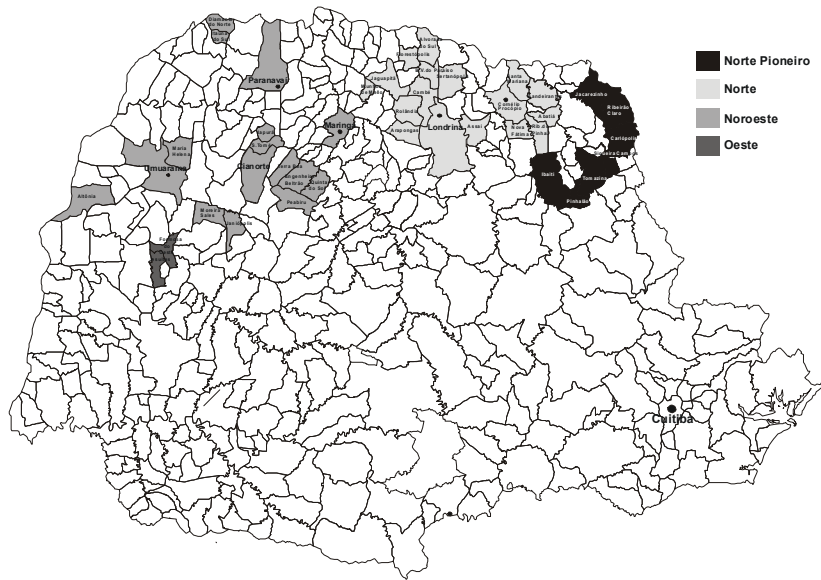


Fig. 1. Municípios do Estado do Paraná em que foram realizadas coletas de amostras de cafeeiro para isolamentos de *Colletotrichum* spp.