

INFLUÊNCIA DA CONCENTRAÇÃO DE INÓCULO E DO TAMANHO DA PLANTA NA INCIDÊNCIA E SEVERIDADE DA CERCOSPORIOSE, CAUSADA POR *Cercospora coffeicola* EM CAFEIROS¹

Márcia Santos Silva²; Oliveiro Guerreiro Filho³; Flávia Rodrigues Alves Patrício⁴; Massako Toma Braghini⁵; Luiz Carlos Fazuoli⁶; Elaine Spindola Mantovani⁷

¹ Trabalho financiado pela FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo

² Aluna de doutorado do Curso de Pós-graduação do IAC, Campinas-SP. Bolsista FAPESP marcia@iac.sp.gov.br

³ Pesquisador, D.Sc., IAC, Campinas-SP, oliveiro@iac.sp.gov.br. Bolsista de Produtividade em Desenvolvimento Tecnológico e Extensão Inovadora do CNPq

⁴ Pesquisadora, D.Sc., IB, Campinas-SP, flavia@biologico.sp.gov.br

⁵ Bs, IAC, Campinas-SP, mako@iac.sp.gov.br. Bolsista Consórcio Pesquisa Café

⁶ Pesquisador, D.Sc., IAC, Campinas-SP, fazuoli@iac.sp.gov.br. Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq.

⁷ Bs, IAC, Campinas-SP, elainemantovani@yahoo.com. Bolsista Consórcio Pesquisa Café

RESUMO: A cercosporiose, causada por *Cercospora coffeicola* (Berk. & Cooke) tem se revelado uma das principais doenças do cafeeiro, sendo limitante para a produtividade na cultura em todas as regiões cafeeiras do Brasil. O presente trabalho teve como objetivo a definição da fase ideal do desenvolvimento de mudas de cafeeiro para a inoculação do fungo, assim como, a concentração adequada de conídios para indução dos sintomas da doença nas plantas. Mudas em dois estágios de desenvolvimentos, com 6 e 7 pares de folhas, da cultivar Bourbon Amarelo IAC J19, foram formadas em tubetes e inoculadas com solução composta por mistura de cinco isolados de *C. coffeicola*, obtidos de diferentes regiões produtoras de café. As mudas foram inoculadas com quatro concentrações do inóculo, 5×10^3 , 10^4 , 5×10^4 e 10^5 conídios mL⁻¹. Após a inoculação, as mudas permaneceram por 72 h em câmara úmida em estufa climatizada (25°C). Avaliou-se a incidência e a severidade da doença 60 dias após inoculação. Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial, com cinco repetições por tratamento e a parcela representada por uma planta. A concentração 5×10^4 revelou-se a mais adequada para a indução dos sintomas de cercosporiose em mudas de cafeeiro. As mudas não diferiram com relação ao número de pares de folhas, nas mudas com maior tamanho apresentam maior número de lesões e maior área lesionada, sendo mais adequadas para o estudo do patossistema cercosporiose em cafeeiro.

Palavras-chave: cercosporiose, resistência a doenças.

INFLUENCE OF INOCULUM CONCENTRATION AND COFFEE SEEDLING AGE ON THE INCIDENCE AND SEVERITY OF *Cercospora coffeicola*

ABSTRACT: Brown eye spot caused by *Cercospora coffeicola* (Berk & Cooke) is an important disease of coffee plants, recently associated with major losses in all Brazilian coffee producing regions. The objective of this work was to define the ideal age of the coffee seedlings to be inoculated as well as a concentration of the inoculum adequate to induce the disease symptoms. Coffee seedlings of Bourbon Amarelo IAC J19 cultivar with 6 and 7 pairs of leaves were inoculated with four conidial suspensions, 5×10^3 , 10^4 , 5×10^4 e 10^5 conidia mL⁻¹. The conidial suspension was prepared with the mixture of five *C. coffeicola* isolates, obtained from five different coffee producing regions. After the inoculation the seedlings were maintained during 72 hours in a humid chamber inside a greenhouse with temperature adjusted to 25°C. The experiment was carried out in a factorial arrangement in a completely randomized design with five replications for each treatment and the experimental plot was constituted by one seedling. The incidence and severity of the disease were evaluated 60 days after the inoculation. The concentration of 5×10^4 was the more appropriated for the induction of the brown eye spot symptoms in arabica coffee seedlings. Although there was no significant difference between the size of the seedlings, the 7 leaf pairs coffee seedlings showed more lesions and larger damaged area and are more appropriate for studies with this patosystem.

Key words: Brown eye spot, disease resistance.

INTRODUÇÃO

O café é a segunda *commoditie* do mundo, atrás apenas do petróleo. Movimenta anualmente 91 bilhões de dólares, empregando direta ou indiretamente meio bilhão de pessoas ao redor do globo, correspondendo a 8% da população mundial (Severino, 2008).

As pesquisas com a cultura têm priorizado estudos para minimizar as perdas nas lavouras (Souza, 2007). As deficiências nutricionais, o manejo inadequado e a incidência de pragas e doenças, são os principais responsáveis pela redução da produtividade e da eficiência no processo produtivo do cafeeiro (Garcia Júnior et al., 2003). Destaca-se entre

as doenças do cafeeiro a cercosporiose, causada por *C. coffeicola*. Trata-se de doença de ampla distribuição geográfica, até pouco tempo considerada de importância secundária, mas que atualmente causa expressivas perdas de produtividade na cultura em todas as regiões produtoras da América do Sul e América Central (Mignucci et al., 1986).

O cafeeiro pode ser infectado em todas as fases do desenvolvimento pelo fungo. Na fase de mudas, a doença pode ser severa, causando desfolha intensa e pode ser agravada se houver deficiência em nutrientes ou compactação do substrato (Zambolim et al., 2005).

Uma importante medida para o controle dessa doença, a resistência de cultivares, foi pouco estudada no Brasil. Como essa doença é dependente das condições nutricionais da planta para se manifestar, os estudos iniciais de resistência estão sendo realizados em condições controladas, com mudas. No entanto, para que esses estudos sejam conduzidos, é relevante a determinação das condições, tamanho da muda e concentração de inóculo, em que a doença pode ser mais bem diferenciada nas mudas.

Assim, o presente trabalho teve como objetivo definir a fase ideal do desenvolvimento das mudas de cafeeiros para a inoculação do fungo e a concentração de inóculo de *C. coffeicola* que resulte em indução dos sintomas da doença em níveis adequados para diferenciar as cultivares.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação localizada no Centro Experimental do Instituto Agrônomo de Campinas, SP em altitude 854m, latitude 22°50'S e longitude 47°00'W.

O experimento foi realizado com mudas da cultivar Bourbon Amarelo IAC J19, formadas em tubetes sob substrato, com dois estádios de desenvolvimento das mudas, com 6 pares de folhas, e cerca de 15 cm de comprimento, e com 7 pares de folhas, e cerca de 20 cm de comprimento.

As mudas foram inoculadas com solução composta pela mistura de cinco isolados de *C. coffeicola* obtidos de regiões representativas da cafeicultura nacional, de lavouras com alta incidência de cercosporiose, sendo, Isolado 1: IBLF280 – São Sebastião do Paraíso, MG; Isolado 2: IBLF277 – Franca, SP; Isolado 3: IBLF379 - São João de Manhuaçu, MG; Isolado 4: IBLF965 – Campinas, SP (Conilon) e Isolado 5: IBLF199 - Patos de Minas, MG.

Os isolados foram multiplicados em placas contendo meio de cultura V-8 e incubados na temperatura de 25°C, sob luz fluorescente contínua por cinco dias. Em seguida foi preparada uma suspensão contendo a mistura dos cinco isolados. Aproximadamente 15 mL de água destilada foram colocados em cada placa, na superfície do meio, que foi raspado com o auxílio de um pincel de cerdas macias, para liberação dos conídios. A suspensão foi filtrada com gaze, sendo preparadas, então, suspensões com as concentrações de 5×10^3 , 10^4 , 5×10^4 e 10^5 conídios de *C. coffeicola* mL⁻¹.

As mudas foram inoculadas por meio da aspersão das suspensões do inóculo na face inferior das folhas, utilizando-se uma pistola automática com compressor modelo Romes Gemini 100, adaptada para inoculação de patógenos, após a agitação das soluções de conídios de *C. coffeicola* com um agitador magnético sem aquecimento Modelo 761. Após inoculação, as plantas foram colocadas em uma estufa climatizada, com temperatura ajustada para 25 °C, onde permaneceram sob câmara úmida por 72 h, sendo em seguida transferidas para viveiro.

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial, com cinco repetições, sendo as parcelas representadas por uma planta. O experimento foi avaliado 60 dias após a inoculação, por meio da incidência e severidade da doença. A severidade foi estimada pelo número de lesões da doença e por uma escala de notas (1-5) (Oliveira et al., 2001). As notas foram avaliadas por três pessoas, sendo utilizadas as médias para análise estatística dos resultados.

Para as análises estatísticas, os dados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com relação às três variáveis utilizadas para avaliação da cercosporiose, incidência e severidade, estimada pelo número de lesões e por uma escala de notas, não houve interação entre os fatores. Também para o tamanho das plantas não foi verificada diferença significativa para a incidência e a severidade da doença, estimada pelo número de lesões e notas.

As mudas inoculadas com as maiores concentrações de inóculo, 5×10^4 e 10^5 conídios de *C. coffeicola* mL⁻¹, apresentaram incidência significativamente maior de cercosporiose que as mudas inoculadas com as menores concentrações, que não diferiram entre si. Também as maiores concentrações resultaram em maior número de lesões por planta e notas significativamente maiores que as menores concentrações (Tabela 1).

Neste estudo foi observado que concentrações de 5×10^4 e 10^5 conídios de *C. coffeicola* mL⁻¹ proporcionaram níveis adequados de cercosporiose nas folhas de cafeeiros e poderão ser utilizadas em experimentos de melhoramento e outros relacionados a esse patossistema. Em estudo anterior, em condições muito favoráveis para a doença que não ocorreram durante a condução deste experimento, a inoculação de mudas de cafeeiro de diferentes cultivares com a concentração de 10^5 conídios de *C. coffeicola* mL⁻¹ resultou em níveis muito elevados de incidência e severidade da doença (Patricio et al., 2010). As mudas com sete pares de folhas foram as que tiveram maior incidência e severidade da

doença, embora não tenham diferido das mudas menores. Sugere-se, portanto, que a concentração de 5×10^4 conídios de *C. coffeicola* mL⁻¹ e mudas com sete pares de folhas sejam utilizadas em experimentos com este patossistema.

Tabela 1. Incidência e severidade, estimada pelo número de lesões e por notas (1 a 5), de cercosporiose em mudas de cafeeiro Cultivar Bourbon Amarelo IAC J19, com 6 e 7 pares de folhas, inoculadas com diferentes concentrações de conídios de *Cercospora coffeicola*.

| Fatores | Incidência (%) | Severidade | |
|--|----------------|--------------------------|-------------|
| | | Número de lesões /planta | Notas (1-5) |
| Concentração de conídio de <i>Cercospora coffeicola</i> mL ⁻¹ | | | |
| 5×10^3 | 33,33 b | 0,60 b | 1,37 b |
| 10^4 | 20,55 b | 0,15 c | 1,21 b |
| 5×10^4 | 60,56 a | 2,82 a | 1,80 a |
| 10^5 | 66,67 a | 5,23 a | 1,84 a |
| Tamanho da planta | | | |
| 6 pares de folhas | 39,17 a | 1,58 a | 1,47 a |
| 7 pares de folhas | 51,39 a | 2,82 a | 1,64 a |
| CV _(%) | 22,66 | 127,30 | 47,01 |

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

CONCLUSÕES

A concentração 5×10^4 conídios de *C. coffeicola* mL⁻¹ revelou-se a mais adequada para estudos do patossistema cercosporiose em mudas de cafeeiro.

Plantas de maior tamanho apresentam maior número de lesões e maior área lesionada, sendo mais adequadas para os estudos de cercosporiose em mudas de cafeeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- GARCIA JÚNIOR, D.; POZZA, E.A.; POZZA, A.A.A.; SOUZA, P.E.; CARVALHO, J.G.; BALIERO, A.C. Incidência e severidade da cercosporiose-do-cafeeiro em função do suprimento de potássio e cálcio em solução nutritiva. **Fitopatologia Brasileira**. v.28, n.3, p.286-291, 2003.
- MIGNUCCI, J.S.; VARELA, F.; RODRIGUES, S.C.; VELEZ, R.A.J.; BALLESTER, J. Coffee berry disease losses and chemical control. **Phytopathology (EUA)**, v.76, 1986, p.375.
- OLIVEIRA, C.A.; POZZA, E.A.; OLIVEIRA, V.B.; SANTOS, R.C.; CHAVES, Z.M. Escala diagramática para avaliação da severidade de cercosporiose em folhas de cafeeiro. In: Simpósio Brasileiro de Pesquisa dos Cafés do Brasil (2. : 2001 : Vitória, ES). **Anais**. Brasília, D.F. : Embrapa Café, 2001. (CD-ROM), p. 1151-1157
- PATRICIO, F.R.A.; BRAGHINI, M.T.; FAZUOLI, L.C. Resistência de plantas de *Coffea arabica*, *coffea canephora* e híbridos interespecíficos à cercosporiose. **Bragantia**, v. 69, p.883-890, 2010.
- SEVERINO, F.E. Isolamento e caracterização de um gene que codifica uma isoflavona redutase like de café (*Coffea arabica* L.) e análise de sua região promotora. Botucatu-SP. Universidade Estadual Paulista. 97p., 2008. (Dissertação Mestrado).
- SOUZA, A.G.C. Variabilidade fisiológica de isolados de *Cercospora coffeicola*. Viçosa. UFV- Universidade Federal de Viçosa. 31p., 2007. (Dissertação Mestrado).
- ZAMBOLIM, L.; VALE, F.X.R.; ZAMBOLIM, E.M. Doenças do cafeeiro (*Coffea arabica* e *C. canephora*). In: Kimat,H.; Rezende, J.A.M.; Filho,A.B.; Camargo,L.E.A. (eds.). Manual de Fitopatologia. ESALQ, v.2, 2005.