

DESENVOLVIMENTO DE ANTRACNOSE CAUSADA POR *Colletotrichum gloeosporioides* EM CAFEIROS COM DIFERENTES NÍVEIS NUTRICIONAIS DE NITROGÊNIO¹

Antonio Augusto Lazarini Barboza²; Paulo Abarca Carmezini³; Michele Regina Lopes da Silva⁴; Jeanedy Maria Pazinato⁵; Rui P. Leite Jr.⁶

¹Trabalho financiado pelo Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do Café – Consórcio Pesquisa Café

²Pesquisador, D.Sc., Bolsista Consórcio Pesquisa Café, IAPAR, Londrina - PR, alazarini@iapar.br

³Graduando em Agronomia, Bolsista PIBIC/CNPq/ IAPAR, Londrina – PR, paulo_carmezini@hotmail.com

⁴Pesquisador, D.Sc., IAPAR, Londrina - PR, michele@iapar.br

⁵Pesquisador, D.Sc., Bolsista Consórcio Pesquisa Café, IAPAR, Londrina - PR, jpazinato@iapar.br

⁶Pesquisador, D.Sc., IAPAR, Londrina - PR, ruileite@iapar.br

RESUMO: O desenvolvimento de doenças em cafeeiro pode ser influenciado pelo estado nutricional da planta. Os cultivares IPR-59 e IPR-103 de *Coffea arabica*, resistente e susceptível, respectivamente, ao *Colletotrichum gloeosporioides*, agente causal da antracnose, foram utilizados em estudo para avaliar o efeito de diferentes níveis nutricionais de nitrogênio em relação ao desenvolvimento desta doença. As plantas foram submetidas a 5 diferentes níveis de adubação nitrogenada, incluindo ausência de N; ¼ da dose; ½ da dose; 1x a dose e 2x a dose de nitrogênio. Para os demais nutrientes foi mantido o nível de 1x da dose, tendo a solução de Hoagland & Arnon (1950) como padrão de nutrição. No primeiro experimento foram utilizadas folhas jovens e destacadas, desinfestadas superficialmente e inoculadas pela deposição de suspensão de inóculo (10⁶ conídios/ml) do isolado I-12 de *C. gloeosporioides* sobre cada ferimento realizado previamente com auxílio de agulha entomológica. As folhas foram mantidas sob condições de câmara úmida a 25 ± 2 °C, com fotoperíodo de 12 h, sendo avaliadas aos 7, 14 e 21 dias após a inoculação. Foram determinados o número de lesões e a área foliar lesionada. O segundo experimento foi realizado utilizando cafeeiros submetidos aos mesmos cinco níveis nutricionais de nitrogênio. Dois pares de folhas foram feridos com esponja abrasiva e inoculados por aspersão de suspensão de inóculo do isolado I-12 de *C. gloeosporioides* (10⁶ conídios/ml) e outros dois pares de folhas foram mantidos como controle, sendo inoculados com água destilada esterilizada. Durante o experimento, as plantas foram mantidas sob condições ambientais controladas, dispostas em delineamento inteiramente casualizado. O número de lesões por folha e a área foliar lesionada foram determinados aos 7, 14 e 21 dias após a inoculação. Lesões foliares necróticas com coloração marrom escura e presença de massa conidial foram observadas nas folhas das plantas em ambos os experimentos e de todos os tratamentos. Os resultados obtidos foram semelhantes para os dois experimentos, indicando maior incidência e severidade de antracnose nas plantas com maior nível de nitrogênio, particularmente para o cultivar IPR-59, considerada resistente à doença. No cultivar susceptível IPR-103 não foi observado diferença entre os níveis de nitrogênio e o desenvolvimento da doença.

PALAVRA-CHAVE: *Coffea arabica*; café; antracnose; mancha manteigosa, necrose e severidade.

DEVELOPMENT OF ANTHRACNOSE CAUSED BY *Colletotrichum gloeosporioides* ON COFFEE PLANTS UNDER DIFFERENT LEVELS OF NITROGEN

ABSTRACT: The development of diseases on coffee can be related to the nutritional condition of the plant. The coffee cultivars IPR-59 and IPR-103, resistant and susceptible, respectively, to *Colletotrichum gloeosporioides*, the causal agent of anthracnose, were used in a study to determine the relationship between different nutritional levels of nitrogen and development of this disease. Coffee plants were subject to 5 different levels of nitrogen, zero N; ¼ of the dose, ½ dose; 1x of the dose and 2x of the dose. For the other nutrients, 1x of the dose was maintained. The Hoagland & Arnon (1950) solution was the nutrition standard. In the first experiment, young, detached and superficially disinfested coffee leaves were inoculated by deposition of a drop of 10⁶ conidia/ml suspension of the isolate I-12 of *C. gloeosporioides* on wound made with entomological needle. The leaves were maintained in a wet chamber at 25 ± 2 °C, day light of 12 h. The leaves were evaluated at 7, 14 and 21 days after inoculation, by determining the number of lesions and the diseased area. In the second experiment, coffee plants were subjected to the same 5 nitrogen nutritional levels. Two leaf pairs were wounded by abrasion and inoculated by spraying a inoculum suspension of the isolate I-12 of *C. gloeosporioides* (10⁶ conidia/ml). Two other leaf pairs were sprayed inoculated with sterile water. The coffee plants were maintained under growth chamber conditions. The leaves were also evaluated at 7, 14 and 21 days after inoculation, by determining the number of lesions and the diseased area. Necrotic lesions of dark brown color and presence of conidial mass were observed on the leaves of the plants of both experiments for all treatments. Further, the results were similar for both experiments and indicated a higher anthracnose incidence and severity for the plants with the highest nitrogen level, particularly for the coffee cultivar IPR59, considered as more resistant to the disease. For the more susceptible cultivar IPR-103, no relationship was observed between nitrogen level and disease development.

KEY WORDS: *Coffea arabica*; coffee; anthracnose; butterfly spot, nitrogen.

INTRODUÇÃO

Fungos do gênero *Colletotrichum* são responsáveis por várias doenças em diversas culturas de importância econômica. Estes fungos ocorrem em várias regiões onde o café é cultivado, apresentando diferentes graus de severidade, tanto em lavouras mal manejadas como em lavouras novas e bem conduzidas (BAILEY *et al.*, 1992; Paradela Filho e Paradela, 2001; GARRIDO *et al.*, 2008). *C. gloeosporioides* são frequentemente observados em cafeeiros associados a sintomas de necrose, mumificação de frutos verdes, mancha manteigosa em folhas e queima de folhas e ponteiros (NECHET e ABREU, 2002; SERA *et al.*, 2005). A espécie *C. gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. tem sido associado a sintomas de mancha manteigosa, necroses e seca dos ramos na parte apical. Sintomas de antracnose são observados em folhas e frutos, podendo levar à morte das plantas de café de forma descendente (Ferreira *et al.*, 2009a; Ferreira *et al.*, 2009b). Embora o manejo da cultura do café esteja consolidado, há uma necessidade constante de seu aperfeiçoamento (KÜPPER, 1976; MARTINS, 1981; MALAVOLTA, 1986; RENA & MAESTRI, 2000). Como em qualquer cultura, o café necessita de nutrientes para o seu desenvolvimento. Entre estes, o nitrogênio ocupa lugar de destaque, devido às funções que exerce como constituinte de moléculas de proteínas, enzimas, coenzimas, ácidos nucleicos e citocromos. (CATANI & MORAES, 1958; MALAVOLTA, 1993). O efeito da adubação nitrogenada na resistência ou na suscetibilidade das plantas às doenças pode variar em função do patógeno, genótipo, dose, fonte do nutriente e interação entre nutrientes (Huber & Thompson, 2007). Aplicações adequadas de nitrogênio contribuem para a síntese de lignina, fitoalexinas e taninos, mas em excesso, reduz a produção desses compostos devido à demanda de carbono na fotossíntese, consequentemente, comprometendo a síntese de metabólitos secundários e contribuindo para a liberação de polissacarídeos na superfície foliar (Huber & Thompson, 2007). Este trabalho teve como objetivo examinar a ação patogênica de *C. gloeosporioides* em cafeeiros com diferentes condições nutricionais de nitrogênio, com base na incidência e desenvolvimento da antracnose.

MATERIAL E METODOS

Os cultivares de café IPR-59 e IPR-103, resistente e susceptível ao *C. gloeosporioides*, respectivamente (Marques, 2009), foram semeadas em areia e mantidas em câmara de germinação até o estágio de palito-de-fósforo. As mudas foram transplantadas para vasos plásticos de 5 L contendo substrato comercial e foram fertirrigada semanalmente com 1/10 da solução de Hoagland & Arnon (1950), até atingirem uniformidade nutricional. Quando às plantas apresentaram o oitavo par de folhas, elas foram submetidas a cinco diferentes níveis de adubação nitrogenada, incluindo ausência de N; ¼ da dose; ½ da dose; 1x a dose e 2x a dose de N. A solução de Hoagland & Arnon (1950) foi utilizada como testemunha e correspondeu ao equivalente a 1X da dose de nitrogênio, assim como para os demais nutrientes. Cada tratamento foi composto por 12 repetições, subdivididos em seis plantas de cada cultivar. Neste trabalho foram realizados dois experimentos, conduzidos separadamente utilizando folhas destacadas e também plantas de café submetidas aos tratamentos mencionados acima.

O primeiro experimento foi realizado a partir da coleta de um par de folhas jovens de cada uma das plantas (repetições) dos tratamentos utilizando diferentes doses de nitrogênio. As folhas foram desinfestadas superficialmente por imersão em álcool 70%, hipoclorito de sódio 1% e água destilada autoclavada. Elas foram depositadas com face abaxial voltada para cima em caixas acrílicas contendo folha de papel de germinação umedecida, formando assim uma câmara úmida. As folhas foram feridas com o auxílio de agulha entomológica em ambos os lados da nervura central. Os ferimentos do lado direito da nervura central foram inoculados com suspensão aquosa (10µl) de 10^6 conídios/ml do isolado I-12 de *C. gloeosporioides*. Nos ferimentos do lado esquerdo foi aplicada água destilada autoclavada (Fig. 1). As avaliações foram realizadas periodicamente, aos 7, 14 e 21 dias após a inoculação, contando o número de lesões e determinando a área foliar lesionada.

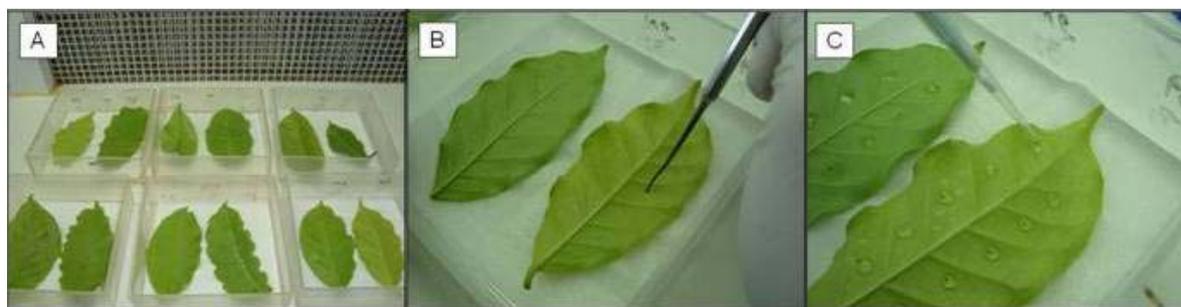


Figura. 1. (A) Distribuição das folhas em caixas de acrílico com o lado abaxial voltado para cima; (B) realização dos ferimentos com auxílio de agulha entomológica; (C) inoculação de *Colletotrichum gloeosporioides* sobre ferimentos do lado direito da nervura central e deposição de água ao lado esquerdo da nervura central como testemunha controle.

O segundo experimento foi realizado utilizando as plantas de café submetidas a diferentes condições nutricionais de nitrogênio. Quatro folhas jovens de cada planta foram feridas com auxílio de esponja abrasiva e em seguida inoculadas por aspersão, com suspensão aquosa contendo 10^6 conídios/ml do isolado I-12 de *C. gloeosporioides*. Outras quatro folhas na mesma planta foram inoculadas com água destilada e esterilizada, sendo estas consideradas testemunhas. Todas as folhas foram mantidas isoladamente em câmara úmida, utilizando sacos plásticos transparentes de polipropileno. As plantas foram mantidas em câmara de crescimento sob condições controladas de fotoperíodo (12 horas), temperatura (22 ± 2 °C) e umidade relativa (70%) (Fig. 2). As plantas de café foram distribuídas inteiramente ao acaso. As avaliações foram realizadas periodicamente, contando-se o número de lesões e determinando-se a área foliar lesionada.



Figura. 2. (A) Realização de ferimentos em folhas de cafeeiro com auxílio de esponja abrasiva; (B) inoculação por aspersão de suspensão de conídios de *C. gloeosporioides* (10^6 conídios/ml); (C) acondicionamento dos ramos inoculados em câmara úmida utilizando sacos plásticos transparentes de polipropileno; (D) distribuição ao acaso das plantas de café utilizadas no experimento; (E) aspecto geral do experimento com plantas de cafeeiro submetidas a diferentes condições nutricionais.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O desenvolvimento de sintomas de antracnose em folhas de cafeeiro demonstrou a patogenicidade do *C. gloeosporioides* para cafeeiro. Foram observadas lesões foliares necróticas e deprimidas com coloração marrom escura e presença de massa conidial nas folhas dos cafeeiros dos cultivares IPR-59 e IPR-103 submetidos aos tratamentos de fertirrigação restritiva de nitrogênio, em ambos os experimentos. Como esperado, não houve desenvolvimento de lesões necróticas nas áreas foliares inoculadas sem a realização de ferimentos prévios. Ferimentos são essenciais para a penetração de algumas espécies de *Colletotrichum* (Bailey *et al.*, 1992). Do mesmo modo, Francisco Neto *et al.* (1995) quando realizaram estudos com *C. gloeosporioides* em maracujá, relataram a manifestação de sintomas da doença somente quando a inoculação foi acompanhada de ferimento no limbo foliar.

Pelos resultados obtidos foi possível verificar que o tratamento com nível 2x de nitrogênio apresentou maior área foliar lesionada, principalmente para o cultivar de cafeeiro IPR-59 (Fig. 3). Este cultivar é considerado mais resistente ao patógeno. Entretanto, a cultivar IPR-103, considerada susceptível à antracnose, não apresentou diferenças significativas em relação aos tratamentos com diferentes doses de nitrogênio (Fig. 3). Os resultados evidenciam relação entre os níveis de nitrogênio e a severidade de antracnose em cafeeiro. Segundo Marschner (1995), altos teores de N estimulam o aumento na produção de novos tecidos, constituintes de ácidos nucleicos, aminoácidos e proteínas, além aumentar a concentração de aminoácidos e amidas no apoplasto e na superfície foliar, beneficiando a germinação e a infecção, principalmente por fungos. Os resultados obtidos confirmam que além de ser patogênico ao cafeeiro, o desenvolvimento desta doença causada por *C. gloeosporioides* é favorecida por níveis elevados de nitrogênio. Isto foi mais evidente em cultivares mais resistentes à antracnose, como é o caso do cultivar IPR-59 (Fig. 3). Em cultivares susceptíveis à doença, como o caso do cultivar IPR-103, aparentemente não há correlação entre o nível nutricional de nitrogênio e a severidade de antracnose. Para Engels & Marschner (1995), o excesso de nitrogênio reduz os teores de fósforo e potássio nas plantas, podendo induzir alterações em sua morfologia e desvio na rota bioquímica dos produtos da fotossíntese com alterações químicas no tecido vegetal, favorecendo assim a incidência de doenças. Deste modo, novos estudos com relação ao *C. gloeosporioides* e níveis nutricionais do cafeeiro poderão gerar informações que contribuirão para a melhor compreensão deste patossistema e o manejo das doenças causadas por este fungo.

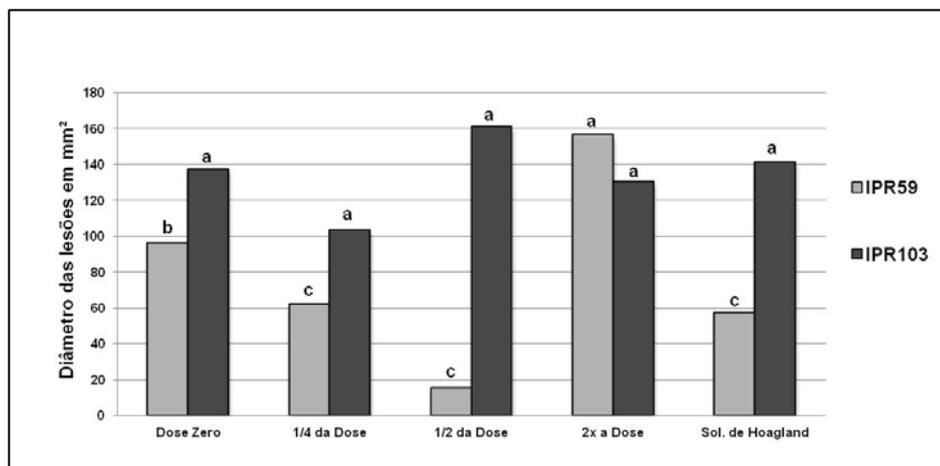


Figura 3. Severidade de antracnose causada por *Colletotrichum gloeosporioides* em cafeeiros dos cultivares IPR-59 e PR-103, submetidos a fertirrigação restritiva de nitrogênio. Área foliar lesionada com base no diâmetro das lesões em mm². Letras diferentes indicam diferença significativa de acordo com os tratamentos pelo teste Scott-Knott a 5% de significância.

CONCLUSÕES

1. Existe relação entre a severidade de antracnose causada por *Colletotrichum gloeosporioides* em cafeeiros e os diferentes níveis nutricionais de nitrogênio.
2. Níveis mais elevado de nitrogênio favorecem uma maior incidência de antracnose, principalmente em cultivares mais resistentes à doença.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAILEY, J. A.; O'CONNELL, R. J.; PRING, R. J.; NASH, H. C. Infection strategies of *Colletotrichum* species. In: BAILEY, J. A.; JEGER, M. J. (Ed.). *Colletotrichum: biology, pathology and control*. Wallingford: CAB International, 1992. p. 88-120.
- CATANI, R. A.; MORAES, F. R. P. A composição química do cafeeiro. *Revista de Agricultura*, Piracicaba, v. 1, p. 45-57, 1958.
- ENGELS, C.; MARSCHNER, H. Plant uptake and utilization of nitrogen. In: BACON (Ed.) *Nitrogen fertilization in the environment*. New York: Marcel Dekker, p. 41- 81, 1995.
- ^aFERREIRA, J. B.; ABREU, M. S.; PEREIRA, I. S.; FERNANDES, K. D.; PEREIRA, R. B. Sensibilidade de *Colletotrichum gloeosporioides* (Mancha manteigosa do cafeeiro) a diferentes concentrações de fungicidas. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 33, Edição Especial, p. 2052-2058, 2009.
- ^bFERREIRA, J. B.L; ABREU, M. S.; PEREIRA, R. B.; ALVES, E.; PEREIRA, I. S. 2009. Aspectos morfológicos da colonização de *Colletotrichum gloeosporioides* em órgãos de plantas de cafeeiros com sintomas de mancha manteigosa. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 33, n. 4, p. 956-964, jul./ago. 2009.
- GARRIDO, C.; CARBÚ, M.; FERNÁNDEZ-ACERO, F. J.; BOOMHAM, M.; COLYER, A. Development of protocols for detection of *Colletotrichum acutatum* and monitoring of strawberry anthracnose using real-time PCR. *Plant Pathology*, v.58, p.43-51, 2008.
- HUBER, D. M.; THOMPSON, I. A. Nitrogen and plant disease. In: Datnoff LE, Elmer WH, Huber DM (Eds.) *Mineral nutrition and plant disease*. Saint Paul MN. APS Press. pp. 31-44. 2007.
- HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. The water culture method for growing plants without soil. California. *Agricultural Experiment Station* . Cir, 347p., 1950.
- KÜPPER, A. Consumo mensal de nitrogênio pelo cafeeiro: quantidade, época e modo de adubação nitrogenada. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIEIRAS, 4., 1976, Caxambu, MG. Resumos... Caxambu: IBC/GERCA, p. 215-217. 1976.
- MALAVOLTA, E. Nutrição, adubação e calagem para o cafeeiro. In: RENA, A. B.; MALAVOLTA, E.; ROCHA, M.; YAMADA, E. (Eds.). *Cultura do cafeeiro: fatores que afetam a produtividade*. Piracicaba: Instituto da Potassa & Fósforo, p. 165-274. 1986.
- MALAVOLTA, E. Nutrição mineral e adubação do cafeeiro: colheitas econômicas e máximas. São Paulo: *Agrônoma Ceres*, 210 p. 1993.
- MARQUES, V. V. *Patogenicidade e Variabilidade Genética de Colletotrichum spp. em cafeeiro (Coffea arabica L.)*. Londrina, 2009. Tese (Doutorado). Universidade Estadual de Londrina. 2009.

- MARTINS, M. Doses e parcelamento de adubação nitrogenada e potássica na formação do cafeeiro em solos de cerrado. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIEIRAS**, 9., 1981, São Lourenço, MG. Resumos... Rio de Janeiro: IBC; GERCA, p. 378-381. 1981.
- MARSCHNER, H. Mineral nutrition of higher plants. 2ª. Ed. London. **Academic Press**. 1995.
- NECHET, K.L. Caracterização morfológica e testes de patogenicidade de isolados de *Colletotrichum* sp. obtidos de cafeeiro. **Ciência e Agrotecnologia**. v. 26, p. 1135-1142, 2002.
- PARADELA FILHO, O.; PARADELA, A. L. **O complexo *Colletotrichum* – cafeeiro**. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.). Tecnologias de produção de café com qualidade. Viçosa: UFV, Departamento de Fitopatologia, p. 269-275, 2001.
- RENA, A.; MAESTRI, M. Relações hídricas no cafeeiro. ITEM, Brasília, n. 48, p. 34-41, 2000.
- SERA, G. H.; ALTEIA, M. Z.; SERA, T.; PETEK, M. R.; ITO, D. S. Correlação entre a ocorrência de *Colletotrichum* spp. e outras características agronômicas em cafeeiros, **Bragantia**. v. 64, p. 435-440, 2005.