

INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA E REAÇÃO DE CULTIVARES DE Coffea arabica L. A Phoma costarricensis ECHANDI

BEATRIZ MEIRELES BARGUIL

2004

57461 049342

BEATRIZ MEIRELES BARGUIL

INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA E REAÇÃO DE CULTIVARES DE CAFEEIRO A Phoma costarricensis ECHANDI

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Fitopatologia, para obtenção do título de "Mestre".

Orientador Prof. Mário Lúcio Vilela de Resende

> LAVRAS MINAS GER

> > 2("

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

Barguil, Beatriz Meireles

Indução de resistência e reação de cultivares de Coffea arabica L. a Phoma costarricensis Echandi / Beatriz Meireles Barguil. -- Lavras : UFLA, 2004.

64 p. : il.

Sector Ma

Orientador: Mário Lúcio Vilela de Resende. Dissertação (Mestrado) – UFLA. Bibliografia.

 Café. 2. Seca de ponteiros. 3. Indução de resistência. 4. Reação de cultivares. 5. Fosfito de potássio. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-633.7394

BEATRIZ MEIRELES BARGUIL

INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA E REAÇÃO DE CULTIVARES DE **CAFEEIRO A Phoma costarricensis ECHANDI**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Fitopatologia, para obtenção do título de "Mestre".

APROVADA em 13 de fevereiro de 2004

Prof. Mário Sobral de Abreu

DFP / UFLA

Prof. Rubens José Guimarães

DAG/UFLA

of. Mário Lúcio Vilela de Resende

LAVRAS MINAS GERAIS - BRASIL

DFP/UFLA (Orientador)

A Deus,

••

que tem me acompanhado por toda a vida

Aos meus pais e irmãos,

que me amam e apóiam

A Evando Júnior,

pelo amor, carinho e paciência,

OFEREÇO

Às pessoas humildes que trabalham nesse imenso País sem condições dignas de salário, saúde, alimentação e respeito,

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

A Deus pelas oportunidades recebidas;

À Universidade Federal de Lavras pela oportunidade;

À CAPES pela bolsa de estudos;

Ao professor Mário Lúcio Vilela de Resende pela orientação e amizade;

Ao professor Mário Sobral de Abreu por aceitar o convite de participar da banca;

Ao professor Rubens José Guimarães por aceitar o convite de participar da banca e pelas dúvidas resolvidas;

Aos demais professores do Departamento de Fitopatologia que contribuíram para minha formação acadêmica;

Aos funcionários do Departamento de Fitopatologia, Ana Maria, Ângela, Cleber, Edson e Heloísa, que sempre auxiliaram nas atividades durante o mestrado;

Às amigas Dejânia, Elisandra, Fabiane, Florisvalda e Mari Lúcia, que sempre me apoiaram e incentivaram;

Aos colegas da chapa 2003 do NEFIT, Enia Carvalho, Evando Júnior, Florisvalda Santos, Frederico Oliveira, Marcos Dutra, Marcos Freitas, Patrícia Barretti, Rita de Cássia e Sylvia Moraes, pela convivência e aprendizagem;

Aos colegas de turma do mestrado, Dejânia, Ellen, Fabiane, Flávia, Giltemberg, José Evando, Josimar e Letícia, pelos momentos de estudos, alegrias, estresses e descontração;

A Gutemberg Barone de A. Nojosa pelo apoio e sugestões durante a realização dos trabalhos;

A Sônia Salgado pela amizade e por me ajudar nas análises estatísticas;

Aos colegas de laboratório Sara Barreto, Fernanda Lopes, Gustavo Correia, Daniel Amaral, Fábio Rossi, Pedro Martins e, especialmente, a Carla Heloísa e Galeno Vítor pelo apoio que me deram; A Renata S. Resende por me acompanhar em todos os experimentos e me proporcionar a experiência de orientar;

A Gustavo Correia, Júlio Miranda e Marcos Dutra pelas pulverizações realizadas no experimento de campo e pelo companheirismo;

Aos colegas do Departamento José Mauro, Nilvanira Tebaldi, Juliana Franco, Anderson Almeida, Vanusia Amorim, Carlos Alberto, Zuleide Chaves, Cristiano Lima, Alessandra Keiko, Deila Magda, Jadir Borges e Fernando Rocha pelo companheirismo.

BIOGRAFIA

Beatriz Meireles Barguil, filha de José Pedro Barguil e Emília Meireles Barguil, nasceu em Fortaleza (CE), em 20 de novembro de 1976. Graduou-se em Bacharelado e em Licenciatura no Curso de Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Ceará no dia 25 de março de 2002.

Durante a graduação foi estagiária do Laboratório de Anatomia Vegetal, trabalhando sob orientação da professora Arlete Aparecida Soares com anatomia e histoquímica de ductos secretores em flores de cajazeira. Foi bolsista do CNPq sob orientação da pesquisadora da Embrapa/CNPAT Dalva Maria Bueno, por dois anos, trabalhando com crescimento vegetativo de ramos de sapotizeiro e com variação no número de sementes em clones de aceroleira. Foi bolsista Embrapa sob orientação do pesquisador da Embrapa/CNPAT Francisco das Chagas Oliveira Freire, por um ano e meio, trabalhando com fungos associados à castanha de cajú e castanha do Pará.

Em abril de 2002 iniciou o curso de mestrado em Fitopatologia na Universidade Federal de Lavras sob orientação do professor Mário Lúcio V. Resende conduzindo trabalhos visando indução de resistência em cafeeiro a *Phoma costarricensis*.

SUMÁRIO

Página

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
CAPÍTULO 1 – Indução de resistência e reação de cultivares de	
cafeeiro a Phoma costarricensis Echandi	1
INTRODUÇÃO	2
REFERENCIAL TEÓRICO	4
1 Importância da cultura do café	4
2 A mancha de Phoma	5
3 Controle	6
4 Uso de extratos vegetais na proteção de plantas	7
5 O uso de produtos de origem natural	9
6 O uso de cultivares resistentes	9
7 Uso do fosfito no controle de doenças de plantas	10
8 Hipóteses	12
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	13

CAPÍTULO 2 - Efeito de extratos vegetais e produtos à base de vitaminas e ácidos orgânicos na inibição do crescimento micelial de *Phoma costarricensis* e na proteção de mudas de cafeeiro à mancha de

Phoma	17
RESUMO	18
ABSTRACT	19
INTRODUÇÃO	20
MATERIAL E MÉTODOS	22

1 Obtenção do inóculo de Phoma costarricensis	22
2 Obtenção dos extratos vegetais	22
3 Composição e obtenção dos produtos	23
4 Material vegetal	23
5 Experimentos com os extratos e produtos	23
5.1 Experimento I	24
5.2 Experimento II	25
6 Severidade da lesão	26
RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
1 Efeito dos extratos de folha e de "casca de café" e dos produtos	
Agromil®-S e Ecolife® 40 no crescimento micelial de P.	
costarricensis	27
2 Efeito dos extratos de folha e de "casca de café" e dos produtos	
Agromil®-S e Ecolife® 40 na severidade da doença	30
CONCLUSÕES	33
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34
CAPÍTULO 3 - Reação de cultivares de Coffea arabica L. à	
inoculação com Phoma costarricensis Echandi	36
RESUMO	37
ABSTRACT	38
INTRODUÇÃO	39
MATERIAL E MÉTODOS	41
1 Obtenção do inóculo de Phoma costarricensis	41
2 Material vegetal	41
3 Experimento	42
4 Severidade da doença	43
RESULTADO E DISCUSSÃO	44

CONCLUSÕES	50
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
CAPÍTULO 4 – Efeito de fosfito no controle da mancha de Phoma em	
cafeeiros no campo	53
RESUMO	54
ABSTRACT	55
INTRODUÇÃO	56
MATERIAL E MÉTODOS	57
RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
CONCLUSÃO	61
CONSIDERAÇÕES FINAIS	62
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63

RESUMO

BARGUIL, Beatriz Meireles. Indução de resistência e reação de cultivares de *Coffea arabica* L. a *Phoma costarricensis* Echandi. 2004. 64 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

Este estudo foi realizado no Departamento de Fitopatologia - UFLA, Lavras - MG, e teve como objetivos: 1) avaliar a eficiência dos extratos de folhas de cafeeiro infectadas com Hemileia vastatrix e de resíduos da "casca do fruto de café" e de dois produtos à base de polpa cítrica na inibição do crescimento micelial de Phoma costarricensis: 2) avaliar a eficiência dos extratos de folhas de cafeeiro infectadas com Hemileia vastatrix e de resíduos da "casca do fruto de café" e de dois produtos à base de polpa cítrica na severidade de P. costarricensis em folhas destacadas de cafeeiro; 3) avaliar a resistência de cultivares de cafeeiro à mancha de Phoma; 4) verificar o efeito protetor de fosfito em campo contra à mancha de Phoma. No experimento in vitro os tratamentos com os extratos preparados com metanol e os dois produtos à base de vitaminas e ácidos orgânicos, nas diluições testadas, tiveram efeito inibidor no crescimento micelial de P. costarricensis. No experimento in vivo os dois produtos à base de polpa cítrica e o extrato aquoso de folha (diluição 1:6) reduziram significativamente a doenca. Os extratos foram mais eficientes em reduzir a área abaixo da curva de progresso da lesão (AACPL) e o progresso da área lesionada quando aplicados em doses menores, indicando uma possível ação como indutores de resistência. Nos experimentos em que se avaliou a reação de cultivares de cafeeiro à inoculação com P. costarricensis, as cultivares com menores AACPL foram Acaiá Cerrado e Mundo Novo. No experimento de campo todas as doses de fosfito utilizadas reduziram a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), não diferindo significativamente do fungicida tebuconazole.

^{*} Comitê Orientador: Mário Lúcio Vilela de Resende (Orientador), Mário Sobral de Abreu - UFLA, Gutemberg Barone de A. Nojosa - MAPA.

ABSTRACT

BARGUIL, Beatriz Meireles. Induction of resistance and cultivars reaction of *Coffea arabica* L. plants against *Phoma costarricensis* Echandi. 2004. 64 p. Dissertation (Master Program in Phytopathology) - Federal University of Lavras, Lavras, MG. *

This study was carried out at the Plant Pathology Dept., UFLA, Lavras, MG, and had as objectives to assess: 1) the efficacy of extracts from coffee leaves infected with Hemileia vastatrix, extracts from coffee berry husks and two commercial products based on citric biomass on the inhibition of the mycelial growth of Phoma costarricensis; 2) the efficacy of extracts from coffee leaves infected with Hemileia vastatrix, extracts from coffee berry husks and two commercial products based on citric biomass on the severity of Phoma spot on detached coffee leaves. 3) the level of resistance of coffee cultivars to Phoma spot 4) the protective effect of potassium fosfite against Phoma spot at field conditions. In vivo, those products and the aqueous extract of rusted coffee leaves (dilution 1:6) significantly reduced the disease. Extracts were more efficient in reducing the area under the lesion progress curve, when applied at lower doses, indicating a possible action as inducers of resistance. Cultivars with higher level of resistance to Phoma spot were Acaiá Cerrado and Mundo Novo. At the field experiment, all doses of potassium fosfite significantly reduced the disease severity.

^{*} Guidance Committee: Mário Lúcio Vilela de Resende (Major Professor), Mário Sobral de Abreu – UFLA, Gutemberg Barone de A. Nojosa - MAPA.

CAPÍTULO 1

INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA E REAÇÃO DE CULTIVARES DE Coffea arabica L. A Phoma costarricensis ECHANDI

...

INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor mundial de café e o estado de Minas Gerais é o que mais contribui para esta condição, sendo seguido pelos estados do Espírito Santo e São Paulo. A cafeicultura representa uma fatia considerável dos agronegócios brasileiros, tendo sido responsável, em 2002, pela exportação de 1.556.529 toneladas, o que corresponde a 1.201.261 dólares (Agrianual, 2004).

Dentre as principais doenças causadas por fungos em cafeeiro encontra-se a mancha de Phoma, que é causada por algumas espécies deste gênero. O principal dano causado é a "seca de ponteiros", que acontece nos ramos apicais ou laterais, podendo ocorrer também nos botões florais, flores e frutos no estádio de "chumbinho", causando a morte e mumificação desses órgãos atacados (Mansk & Matiello, 1983).

A indução de resistência em plantas é certamente viável para o controle de doenças devido aos bons resultados que vem sendo obtidos, inclusive na diminuição dos custos de produção. A busca de moléculas elicitoras capazes de induzir resistência em plantas cultivadas vem sendo realizada em plantas através da obtenção de extratos vegetais, bem como em produtos à base de nutrientes, vitaminas ou ácidos orgânicos. A eficiência desses extratos no controle de fitopatógenos *in vitro* e *in vivo* tem sido observada em diversos trabalhos (Yin & Tsao, 1999; Amadioha, 2000; Gonzaga et al., 2003; Karaman et al., 2003; Okemo et al., 2003). O uso de extratos vegetais ou produtos à base de polpa cítrica ainda não foi testado em cafeeiros visando proteção contra a mancha de Phoma.

Outro método eficiente no controle de fitopatógenos é o uso de cultivares resistentes (Coleman et al., 1997; Fooland et al., 2000; O'Neill et al., 2003). Em cafeeiro ainda não foram realizados estudos de reação de cultivares à mancha de Phoma.

O uso de fosfito diminuiu a AACPSD quando aplicado em folhas destacadas de cafeeiro antes da inoculação com *P. costarricensis*, não diferindo dos fungicidas Folicur ® e Alliete ® (Nojosa, 2003). Em campo, ainda não foi avaliado o efeito protetor de fosfito à mancha de Phoma.

Portanto, objetivou-se neste trabalho:

 avaliar a eficiência dos extratos de folhas de cafeeiro infectadas e de resíduos da "casca" do café e de dois produtos à base de ácidos orgânicos e vitaminas na inibição do crescimento micelial de *Phoma costarricensis*;

 avaliar a eficiência dos extratos aquosos de folhas de cafeeiro infectadas e de resíduos da "casca" do café e de produtos à base de ácidos orgânicos e vitaminas na severidade de *P. costarricensis* em folhas destacadas de cafeeiro;

3) avaliar a resistência de cultivares de cafeeiro à mancha de Phoma;

4) verificar o efeito protetor de fosfito em campo contra a mancha de Phoma.

1983). Em frutos maduros as lesões são escuras, circulares e deprimidas, comprometendo a futura produção.

Os danos são severos sob condições de clima ameno e alta umidade. Quando ocorrem chuvas abundantes, principalmente de granizo ou quando o inverno é chuvoso, o surto é bem maior. A temperatura é muito importante, pois o micélio é infectivo a 24°C e os picnidiósporos o são a 18-19°C, quando da inoculação natural. Favorecem a doença períodos intermitentes de frio e vento frio, chuva e altitude acima de 1.000 m. Durante o ano, condições climáticas favoráveis ocorrem geralmente nos meses de março/abril e setembro/outubro. Nessas épocas, espera-se que possa ocorrer surto da doença, porém, dependendo da região e condições de clima, a doença pode evoluir em outros meses (Carvalho & Chalfoun, 1998). A mancha de *Phoma* pode ocorrer em cafeeiros de qualquer idade (Godoy et al., 1997) e constitui um problema mais sério em regiões com temperatura média de 19 a 20°C, ventos fortes e frios e áreas com umidade adequada (Mansk et al., 1976).

Almeida & Matiello (1989) quantificaram perdas que variaram de 15 a 43 % da produção em regiões favoráveis à doença, no Sul de Minas Gerais. Esta doença é apresentada como sendo um problema em vários países produtores de café, tendo sido constatada na Costa Rica, Colômbia, Guatemala e Brasil.

3 Controle

Quando se fala em controle de *Phoma*, pensa-se em medidas preventivas, o que seria a forma mais fácil e talvez mais econômica de evitar ou diminuir a incidência da doença.

A escolha das áreas onde serão implantadas as lavouras é de suma importância, devendo-se evitar áreas desprotegidas sujeitas a ventos fortes e frios. O ideal é o estabelecimento de quebra-ventos arbóreos permanentes, sendo que os temporários arbustivos e os anuais também podem ser utilizados (Carvalho & Chalfoun, 1998).

Ainda como medida preventiva, recomenda-se fazer adubações nas lavouras, evitando o desequilíbrio nutricional e, assim, o esgotamento dos ramos produtivos, o que abriria porta para a entrada do fungo.

O controle químico deve ser recomendado para lavouras com boa produção, devendo a aplicação ocorrer visando proteger a florada e as folhas novas nos meses de agosto/setembro, estendendo-se até novembro/dezembro (Carvalho & Chalfoun, 1998). Os gastos com fungicidas para controlar doenças numa lavoura de café adensado, do primeiro ao sexto ano, representam aproximadamente 36,86 % dos gastos com os insumos e materiais de consumo (Agrianual, 1999). A busca constante por altas produtividades leva à utilização intensiva de defensivos químicos na tentativa de erradicar as doenças, sendo que, na maioria das vezes, o agrossistema é prejudicado (Carvalho & Chalfoun, 1998).

4 Uso de extratos vegetais na proteção de plantas

Os produtos químicos sistêmicos desenvolvidos são mais potentes para controlar pragas ou doenças e mais seletivos ao organismo alvo, pois normalmente possuem um modo de ação específico. Entretanto, essa característica proporciona alto risco de seleção de organismos resistentes (Jespers & De Waard, 1993). O aumento dos problemas de poluição e dos efeitos tóxicos dos químicos nos demais organismos tem estimulado a investigação de substâncias antimicrobianas de origem vegetal que possam ser fontes não-fitotóxicas de pesticidas alternativos facilmente biodegradáveis (Amadioha, 2000).

A pesquisa da atividade biológica de compostos presentes em extratos brutos e/ou óleos essenciais, de plantas medicinais ou não, pode se constituir em

7

mais uma forma potencial de controle alternativo de fitodoenças (Schwan-Strada et al., 2003).

Diversos trabalhos têm mostrado a eficiência do uso de extratos vegetais no controle *in vitro* de patógenos de plantas. O extrato metanólico de *Maesa lanceolata* promoveu boa inibição no crescimento micelial de fitopatógenos como *Phytophthora cryptogea*, *Sclerotium rolfsii* e *Pyrenophora teres* (Okemo et al., 2003). Extrato aquoso de nim (*Azadirachta indica*) obtido a frio inibiu o crescimento micelial de *Pyricularia oryzae* em 68,7%, enquanto o alcoólico inibiu 76,8% (Amadioha, 2000). Já o extrato metanólico de *Juniperus oxycedrus* promoveu boa inibição do crescimento de quatro isolados de *Xanthomonas campestris* e de cinco de *Pseudomonas syringae*, enquanto que não exerceu nenhuma inibição no crescimento micelial de dois isolados de *Alternaria alternata* e dois de *Fusarium oxysporum* (Karaman et al., 2003).

O uso de extratos *in vivo* já foi utilizado por Amadioha (2000) no controle de *P. oryzae* em plantas de arroz. Foi observado que o extrato do óleo de nim se comportou como o fungicida Carbendazim, com nenhuma planta infectada quando pulverizadas 2 dias antes da inoculação. Os extratos aquoso a frio e o alcoólico, quando aplicados 2 dias antes da inoculação, também tiveram efeito protetor, pois apenas 25 % das plantas foram infectadas, ao passo que no tratamento controle todas apresentaram infecção. O extrato formulado com pimenta, cravo da Índia e molho de mostarda, na proporção de 1:1:1, reduziu em 80% o número de colônias de *Erysiphe polygoni* em feijoeiro, quando pulverizado antes da inoculação (Gonzaga et al., 2003). Valarini et al. (1994) observaram que o pó de folhas secas de capim limão (*Cymbopogon citratus*) proporcionou aumento na emergência de sementes de feijoeiro na ordem de 96,7% enquanto nos solos infestados com *Rhizoctonia solani e Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* foi de, respectivamente, 75 e 86,7%.

5 O uso de produtos de origem natural

Existem no mercado produtos a serem avaliados como possíveis indutores de resistência.

Os produtos Ecolife® 40 e Agromil® – S são elaborados à base de polpa cítrica, sendo compostos por bioflavonóides cítricos (vitamina P), ácido ascórbico (vitamina C) e fitoalexinas cítricas que podem exercer efeito protetor e/ou curativo em alguns patossistemas.

Silveira & Rios (2000a) verificaram redução de 92,51% na área foliar infectada oito dias após a pulverização de plantas de feijoeiro naturalmente infectadas com *Erysiphe polygoni*. O número de pústulas causadas por *Uromyces appendiculatus*, em plantas de feijoeiro, foi reduzido em 98% quando previamente pulverizadas com 1,5 mL/L de Ecolife® 40 antes da inoculação (Silveira & Rios, 2000b). *In vitro*, o efeito de Ecolife® 40 foi verificado contra *Cercospora coffeicola*, nas dosagens de 5,0 e 10,0 mL/L, com reduções de 37,5 e 41,3% no crescimento micelial (Barguil & Resende, 2003). Seu efeito também foi verificado no crescimento micelial de *Rhizoctonia solani*, *Fusarium semitectum* e *Sclerotium rolfsii*, que na concentração de 10000 ppm inibiu 100% do crescimento (Bernardo et al., 2001).

6 O uso de cultivares resistentes

O cultivo de variedades resistentes não apenas diminui ou elimina perdas provocadas pela doença, como também despesas com pulverizações e outros métodos de controle, evitando a contaminação do meio ambiente com químicos tóxicos. Além disso, o uso de variedades resistentes também é um método eficiente de controle para doenças que não podem ser controladas adequadamente por químicos, como as causadas por vírus e por patógenos vasculares (Agrios, 1997).

9

Mesmo após a liberação de uma cultivar resistente, medidas podem ser tomadas para prolongar sua resistência. Estratégias de manejo como tratamento de sementes ou aplicações de fungicidas que reduzam a exposição da cultivar a grandes populações do patógeno (pressão de inóculo) prolongam sua vida útil. Outra medida a ser adotada é a rotação de cultivares com diferentes fontes de resistência, a qual reduz a compatibilidade de populações do patógeno com cada variedade, podendo aumentar, assim, o tempo de duração da resistência de cada uma (Agrios, 1997).

A seleção de cultivares ou híbridos resistentes a doenças tem sido feita para fitopatógenos como vírus, bactérias e fungos (Ramos et al., 2003; Maringoni, 2002; Mario et al., 2003) em diversas culturas.

Dentre as espécies do gênero *Coffea* destaca-se a espécie *Coffea* arabica L., que é amplamente cultivada no continente americano. Cerca de 82% da produção brasileira correspondem a lavouras em que diversas cultivares desta espécie são amplamente cultivadas (Melo et al., 1998). Dentre as existentes, algumas são resistentes a doenças e/ou a pragas, à seca, têm maior produção e maturação mais uniforme, entre outras. Cultivares como Acaiá Cerrado, Catuaí Amarelo e Vermelho, Icatu Amarelo e Vermelho, Mundo Novo, Rubi e Topázio são indicadas para produção em larga escala na região do Sul de Minas Gerais por apresentarem boas características agronômicas (Melo et al., 1998). Dentre estas citadas, apenas as cultivares Icatu Vermelho e Amarelo são resistentes à ferrugem (Pereira, 2003) e em relação à cercosporiose destacam-se Catuaí Amarelo e Vermelho e Icatu Amarelo e Vermelho (Patrício et al., 2003).

7 Uso do fosfito no controle de doenças de plantas

O sucesso e a difusão dos fertilizantes foliares se devem à tentativa dos produtores de conseguir benefícios agronômicos como incremento da produção. Os fertilizantes foliares contendo fósforo estão entre os muitos citados na



literatura como indutores de resistência e estão ganhando importância no controle de patógenos (Mc Donald et al., 2001; Saindenan et al., 1988).

Tanto fosfatos como fosfitos são compostos à base de fósforo, que é um mineral importante para os organismos vivos e está envolvido em vários ciclos biológicos. A indução de resistência por fosfatos tem sido estudada em diversos patossistemas. Redução de 98% no número de pústulas de *Puccinia sorghi* foi observada quando plantas de milho foram pulverizadas duas horas antes com fosfito (Reuveni et al., 1994a). Em plantas de pepino infectadas por *Sphaerotheca fuliginea*, a aplicação de fosfito reduziu significativamente o número de colônias por planta e por folha (Reuveni et al., 1994b).

Alguns autores acreditam que o fosfito, além da ação direta sobre o patógeno, também apresente ação indireta, induzindo respostas de defesa na planta (Smille et al., 1989; Jackson et al., 2000). Em folhas de feijoeiro infectadas por *Phytophthora crytogea*, foi verificado aumento no acúmulo de fitoalexina após pulverização com fosfito. Também foi verificada redução de 82% na área foliar lesionada em plantas de feijão inoculadas com *P. crytogea* pulverizadas com fosfito (Saindrenan et al., 1988). Becot et al. (2000) verificaram que o fosfito teve efeito protetor quando aplicado em plantas de couve-flor três dias antes da inoculação com *Peronospora parasitica*, com eficácia superior a 80% a partir de 6mL/L. Quando aplicado em folhas destacadas de cafeeiro, a dose de fosfito de potássio testada reduziu em 40% a área foliar doente lesionada por *Hemileia vastatrix* e também reduziu a área abaixo da curva de severidade da doença (AACPSD) causada por *Phoma costarricensis* em mais de 50% diferindo significativamente da testemunha, em todas as doses testadas (Nojosa, 2003).

8 Hipóteses

Sendo Phoma costarricensis um patógeno importante nas condições do sul do Estado de Minas Gerais, as seguintes hipóteses servem como base desse trabalho:

- 1. Extratos vegetais obtidos de cafeeiro e produtos à base de polpa cítrica podem inibir o crescimento micelial *in vitro* de *Phoma costarricensis*;
- Os extratos e produtos testados in vitro podem diminuir a severidade da lesão causada por P. costarricensis em folhas de cafeeiro;
- Existem cultivares de cafeeiro com diferentes níveis de resistência a P. costarricensis;
- 4. O fosfito tem potencial de controle à mancha de Phoma em campo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

2

AGRIOS, G. N. Plant Pathology. Orlando: Academic Press, 1997. 635 p.

AGRIANUAL 1999. Anuário da Agricultura Brasileira. São Paulo, 1999. 521 p.

AGRIANUAL 2002. Anuário da Agricultura Brasileira. São Paulo, 2002. 536 p.

AGRIANUAL. 2004. Anuário da Agricultura Brasileira. São Paulo, 2003. 496 p.

ALMEIDA, S. R.; MATIELLO, J. B. Estudo de novos produtos para controle químico a Phoma spp. em cafeeiros, a nível de campo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 15., 1989, Rio de Janeiro. Anais... Rio de Janeiro: IBC, 1989. p. 145-146.

AMADIOHA, A. C. Controlling rice blast in vitro and in vivo with extracts of *Azadirachta indica*. Crop Protection, Oxford, v. 19, n. 5, p. 287-290, June 2000.

BARGUIL, B. M. & RESENDE, M. L. V. Efeito de um produto a base de vitaminas e ácidos orgânicos no crescimento micelial de *Phoma tarda* e *Cercospora coffeicola*. Fitopatologia Brasileira 28:345. 2003. (Suplemento)

BÉCOT, S.; PAJOT, E.; Le CORRE, D.; MONOT, C.; SILUÉ, D. Phytogard® (K₂ HPO₃) induces localized resistance in cauliflower to downy mildew of crucifers. **Crop Protection**, v. 19, p.417-425. 2000.

CARVALHO, V. L.; CHALFOUN, S. M. Manejo integrado das principais doenças do cafeeiro. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v. 19, n. 193, p. 27-35, 1998.

COLEMAN, P. M.; ELLERBROCK, L. A. Reaction of selected onion cultigens to pink root under field conditions in New York. Plant Disease, St. Paul, v. 81, n. 2, p. 138-142, Feb. 1997.

FOOLAD, M. R.; NTAHIMPERA, N.; CHRIST, B. J. Comparison of field, greenhouse, and detached-leaflet evaluations of tomato germ plasm for early blight resistance. Plant Disease, St. Paul, v. 84, n. 9, p. 967-972, Sept. 2000.

GODOY, C. V.; BERGAMIN FILHO, A.; SALGADO, C. L. Doenças do cafeeiro (*Coffea arabica* L.) In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; ARMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. (Ed.). Manual de fitopatologia. São Paulo: Agronomica Ceres, 1997. v. 2, p. 184-200.

GONZAGA, F.; LEONETTI, D. B.; DRINGRA, O. D.; STADNIK, M. J. Efeito de extratos naturais de plantas no controle de oídio do feijoeiro e de bactérias fitopatogênicas. Fitopatologia Brasileira, Brasília, v. 28, p. 363, ago. 2003. Suplemento.

JACKSON, T. J.; BURGESS, T.; COLQUHOUN, I.; HARDY, G. E. S. Action of the fungicide phosphite on *Eucalyptus marginata* inoculated with *Phytophthora cinnamomi*. **Plant Pathology**, v. 49, p.147-154. 2000.

JESPERS, A. B. K.; DE WAARD, M. A. Natural products in plant protection. Netherlands Journal of Plant Pathology, Wageningen, v. 3, p. 109-117, 1993.

KARAMAN, I.; SAHIN, F.; GULLUCE, M.; OGUTÇU, H.; SENGUL, M.; ADIGUZEL, A. Antimicrobial activity of aqueous and methanol extracts of *Juniperus oxycedrus* L. Journal of Ethnopharmacology, Clare, v. 85, n. 1, p. 231-235, July 2003.

KIRK, P. M.; CANNON, P. F.; DAVID, J. C.; STALPERS, J. A. Dictionary of the fungi. 9. ed. Wallingford: CABI Bioscience, 2001. 655p.

MANSK, Z.; MATIELLO, J. B. Controle à queda de frutos do cafeeiro causada por *Phoma* spp., através da aplicação de fungicidas sistêmicos e orgânicos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 10., 1983, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: IBC/GERCA, 1983. p. 125-126.

MARINGONI, A. C. Comportamento de cultivares de feijoeiro comum à murcha- de-Curtobacterium. Fitopatologia Brasileira, Brasília, v. 27, n. 2, p. 157-162, mar./abr. 2002.

MARIO, J. L.; REIS, E. M.; BONATO, E. R. Reação de híbridos de milho à podridão branca da espiga. Fitopatologia Brasileira, Brasília, v. 28, n. 2, p. 155-158, mar./abr. 2003.

MATIELLO, J. B.; CARVALHO, F. Pesquisa cafeeira, contribuição marcante para o desenvolvimento da cafeeicultura. In: MALAVOLTA, E., YAMADA, T.; GUINDOLIN, J. A. (Ed.). Nutrição e adubação do cafeeiro. Piracicaba: Instituto da Potassa e do Fosfato, 1983. p. 1-8.

McDONALD, A. E.; GRANT, B. R.; PLAXTON, W. C. Phosphite (phosphorous acid): Its relevance in the environment and agriculture and influence on plant phosphate starvation response. Journal of Plant Nutrition, v. 24, p. 1505-1519. 2001.

MELO, B.; BARTHOLO, G. F.; MENDES, A. N. G. Café: variedades e cultivares. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v.19, n.193, p.92-96, 1998.

NOJOSA, G. B. A. Efeito de indutores na resistência de Coffea arabica L. à *Hemileia vastatrix* BERK ; BR. e Phoma costarricensis ECHANDL 2003. 102 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

OKEMO, P. O.; BARS, H. P.; VIVANCO, J. M. In vitro activities of *Maesa* lanceolata extracts against fungal plant pathogens. Fitoterapia, Amsterdam, v. 74, n. 3, p. 312-316, Apr. 2003.

O'NEILL, N. R.; BAUCHAN, G. R.; SAMAC, D. A. Reactions in the annual *Medicago* spp. core germ plasm collection to *Phoma medicaginis*. **Plant Disease**, ST. Paul, v. 87, n. 5, p. 557-562, May 2003.

PATRÍCIO, F. R.; BRAGHINI, M. T.; FAZUOLI, L. C. Reação de cultivares de cafeciro, híbridos e espécies de *Coffea* à cercosporiose. Fitopatologia Brasileira, Brasília, v. 28, p. 276, ago. 2003. Suplemento.

PEREIRA, A. A. Uso da resistência genética no manejo integrado de doenças do cafeciro. Fitopatologia Brasileira, Brasília, v. 28, p. 129-137, ago. 2003. Suplemento.

RAMOS, N. F.; LIMA, J. A. A.; GONÇALVES, M. F. B. Efeitos da interação de Potyvirus em híbridos de meloeiro, variedades de melancia e abobrinha. Fifopatologia Brasileira, Brasília, v. 28, n. 2, p. 199-203, mar./abr. 2003.

REUVENI, M.; AGAPOV, V.; REUVENI, R. Induced systemic protection to powdery mildew in cucumber by phosphate and potassium fertilizers: effects of inoculum concentration and post-inoculation treatment. Canadian Journal of Plant Pathology, Ottawa, v. 17, n. 3, p. 247-251, Sept. 1994a. REUVENI, M.; AGAPOV, V.; REUVENI, R. Foliar spray of phosphates induces growth increase and systemic resistance to *Puccinia sorghi* in maize. **Plant Pathology**, Oxford, v. 43, n. 2, p. 245-250, Apr. 1994b.

SAINDRENAN, P.; BARCHIETTO, T.; BOMPEIX, G. Modification of the phosphite induced resistance response in leaves of cowpea infected with *Phytophthora cryptogea* by α -aminooxyacetate. **Plant Science**, v. 58, p. 245-252. 1988.

SALGADO, M.; PFENNING, L. H. Identificação e caracterização morfológica de espécies de Phoma do cafeeiro no Brasil. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 1., 2000, Poços de Caldas. Anais... Brasília: Embrapa Café/MINASPLAN, 2000. p. 183-185.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. S. Uso de plantas medicinais no controle de doenças de plantas. Fitopatologia Brasileira, v. 28, p. 54-56. 2003. Suplemento.

SILVEIRA, E. M. & RIOS, G. P. Controle do oídio (*Erysiphe polygoni*) do feijoeiro comum por biofertilizantes. Fitopatologia Brasileira, v. 25, p. 422. 2000a. Suplemento.

SILVEIRA, E. M. & RIOS, G. P. Eficiência de alguns biofertilizantes no controle da ferrugem (*Uromyces appendiculatus*) do feijoeiro comum. Fitopatologia Brasileira, v. 25, p. 422. 2000b. Suplemento.

SMILLER, R.; GRANT, B. R.; GUEST, D. The mode of action of phosphite: evidence for both direct and indirect modes of action on three *Phytophthora* sp. in plants. **Phytopathology**, v. 79, p. 921-926. 1989.

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

VALARINI, J. P.; FRIGHETTO, R. T. S.; MELO, I. S. Potencial da erva medicinal *Cymbopogon citratus* (capim-limão) no controle de fitopatógenos do feijoeiro. Revista de Agricultura, v. 69, p.139-150. 1994.

YIN, M. C.; TSAO, S. M. Inhibitory effect of seven Allium plants upon three Aspergillus species. International Journal of Food Microbiology, Amsterdam, v. 49, n. 1/2, p. 49-56, Aug. 1999.

CAPÍTULO 2

EFEITO DE EXTRATOS VEGETAIS E PRODUTOS À BASE DE EXTRATO DE POLPA CÍTRICA NA INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL DE *Phoma costarricensis* E NA PROTEÇÃO DE MUDAS DE CAFEEIRO À MANCHA DE PHOMA

RESUMO

BARGUIL, Beatriz Meireles. Efeito de extratos vegetais e produtos à base de polpa cítrica na inibição do crescimento micelial de *Phoma costarricensis* e na proteção de mudas de cafeeiro à mancha de Phoma. In: ____. Indução de resistência e reação de cultivares de Coffea arabica L. a Phoma costarricensis Echandi. 2004. Cap. 2, p. 17-35. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. *

Os altos gastos com fungicidas e os problemas de poluição do meio ambiente têm propiciado investigações de pesticidas de origem vegetal. Este trabalho teve como objetivo avaliar *in vitro* a eficiência de extratos aquosos, etéricos e metanólicos de folha e de "casca de café" e de dois produtos à base de polpa cítrica no crescimento micelial de *Phoma costarricensis*. Já *in vivo*, foram avaliados apenas os extratos aquosos e os produtos supracitados na proteção de folhas de cafeeiro contra *P. costarricensis*. Os extratos aquosos e etéricos não exerceram efeito inibidor no crescimento micelial de *P. costarricensis*. Os metanólicos e os produtos inibiram o crescimento micelial, bem como o Tween utilizado para ressuspender os extratos. Os dois produtos e o extrato aquoso de casca na diluição 1:6, aplicados 7 dias antes da inoculação com *P. costarricensis*, diminuíram a AACPL em folhas destacadas de cafeeiro e foram significativamente diferentes da testemunha inoculada.

^{*} Comitê Orientador: Mário Lúcio Vilela de Resende (Orientador), Mário Sobral de Abreu – UFLA, Gutemberg Barone de A. Nojosa - MAPA.

ABSTRACT

BARGUIL, Beatriz Meireles. Effect of plant extracts and products the base of citric pulp in the inhibition of micelial growth of *Phoma costarricensis* and in the protection of coffee seedlings to the stain of Phoma. In:____. Induction of resistance and cultivars reaction of *Coffea arabica* L. plants against *Phoma costarricensis* Echandi. 2004. Chap. 2, p. 17-35. Dissertation (Master program in Phytopathology) – Federal University of Lavras, Lavras, MG. *

The high costs with fungicides and the problems of pollution of the environment have been propitiating investigations of pesticidas of vegetable origin. This work had as objective evaluates the efficiency *in vitro* of aqueous extracts, etéricos and metanólicos of leaf and of husk of coffee and of two products the base of citric pulp in the growth micelial of *P. costarricensis*. At in vivo experiments, was just evaluated the aqueous extracts and the products supra mentioned in the protection of coffee leaves against *P. costarricensis*. The aqueous extracts and etéricos didn't exercise inhibitor effect on the micelial growth of *P. costarricensis*. The metanólicos extracts and the products inhibited the micelial growth, as well as Tween used for ressuspender the extracts. The two products and the aqueous extract of leaf in the dilution 1:6, applied 7 days before the inoculation with *P. costarricensis*, reduced AACPL in outstanding leaves of coffee and they were significaly different from the control inoculated.

^{*} Guidance Committee: Mário Lúcio Vilela de Resende (Major Professor), Mário Sobral de Abreu – UFLA, Gutemberg Barone de A. Nojosa - MAPA.

INTRODUÇÃO

O patógeno *Phoma costarricensis* causa sérios problemas em países produtores de café, dentre eles o Brasil (Echandi, 1957; Godoy et al., 1995), pois infecta várias partes do cafeeiro, o que pode proporcionar danos elevados em condições favoráveis de alta umidade e baixa temperatura. Almeida & Matiello (1989) quantificaram perdas que variaram de 15 a 43% da produção em regiões favoráveis à doença, no Sul de Minas Gerais.

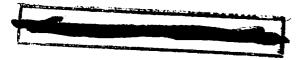
A busca constante por altas produtividades leva à utilização intensiva de defensivos na tentativa de controlar as doenças, sendo que, na maioria das vezes, o agrossistema é prejudicado (Carvalho & Chalfoun, 1998). Problemas de poluição do meio ambiente têm propiciado investigações de pesticidas de origem vegetal.

Produtos alternativos à base de extrato de polpa cítrica têm apresentado efeito protetor em algumas culturas e inibidor no crescimento micelial de fungos fitopatogênicos. Oito dias após a pulverização de plantas de feijoeiro naturalmente infectadas com *Erysiphe polygoni*, Silveira & Rios (2000a) verificaram redução de 92,51% na área foliar infectada. O número de pústulas causadas por *Uromyces appendiculatus*, em plantas de feijoeiro, foi reduzido em 98% quando previamente pulverizadas com 1,5 mL/L de Ecolife® 40 antes da inoculação (Silveira & Rios, 2000b). *In vitro*, o efeito de Ecolife® 40 foi verificado em *Cercospora coffeicola*, nas dosagens de 5,0 e 10,0 mL/L, com reduções de 37,5 e 41,3% no crescimento micelial (Barguil & Resende, 2003). Também foi verificado inibição de 100% do crescimento micelial de *Rhizoctonia solani*, *Fusarium semtfectum* e *Sclerotium rolfsii* na concentração de 10000 ppm de Ecolife® (Bernardo et al., 2001).

A eficiência de extratos vegetais e compostos no controle de fitopatógenos in vitro e in vivo tem sido observada. O extrato metanólico da casca do fruto de café quando aplicado em cacaueiro, na diluição em água de

1:1, reduziu para 21% a incidência de vassoura-de-bruxa, contra 61% na testemunha (Lopes et al., 2003). O composto de casca de café reduziu em 56% a área abaixo da curva de progresso da doença sobre o ciclo da cultura (AACPDC) causada por *Leandria mormodicae* em plantas de pepino, quando adicionado nas covas antes do transplantio (Pereira et al., 1996). A adição de composto de palha de café, na proporção de 1:1 (composto:solo), em vasos contendo plântulas de tomateiro, reduziu em 94,1% o número médio de galhas encontradas causadas por *Meloidogyne javanica* (Zambolim et al., 1996).

Objetivou-se, neste trabalho, avaliar o efeito *in vitro* de extratos aquosos, etéricos e metanólicos de folha infectadas com *Hemileia vastatrix* e da "casca do fruto de café" e de dois produtos à base de extrato de polpa cítrica no crescimento micelial de *Phoma costarricensis* e na proteção de mudas de cafeciro contra a mancha de Phoma.



MATERIAL E MÉTODOS

1 Obtenção do inóculo de Phoma costarricensis

O inóculo foi obtido a partir de folhas de cafeeiro naturalmente infectadas com *P. costarricensis*. Folhas infectadas foram coletadas e lavadas em água corrente, desinfestadas com hipoclorito de sódio a 2 % e deixadas em câmara úmida por 24 horas para esporulação. Os conídios produzidos a partir de picnídios nas lesões esporulantes foram transferidos de forma estéril para placas de Petri contendo BDA. O fungo foi mantido a 22°C (±3) até o micélio preencher a placa. Após esse período, discos de micélio de 0,5 cm de diâmetro foram retirados para utilização nos testes *in vitro* e em folhas destacadas de *C. arabica*.

2 Obtenção dos extratos vegetais

Os extratos vegetais foram obtidos a partir de folhas de cafeeiro naturalmente infectadas com *Hemileia vastatrix* e da "casca do fruto de café".

Para obtenção dos extratos aquosos (EA), as folhas foram destacadas das plantas de café e, em seguida, as áreas lesionadas por ferrugem foram picotadas em pedaços de aproximadamente 1 cm². A "casca de café", resíduo do beneficiamento do café, que é composta de exocarpo, mesocarpo e endocarpo, foi colocada para secar em estufa e posteriormente moída a pó capaz de atravessar a peneira de 24 mesh (0,710 mm). Esses materiais foram imersos em água fervente, na proporção de 1:10 (p/v), por 2 horas sob agitação, em agitador magnético. Após esse tempo foram filtrados e conservados na geladeira até o momento da utilização.

Os extratos etéricos (EE) e metanólicos (EM) foram obtidos por infusão, das folhas picotadas e da "casca" moída na proporção de 1:10 p/v, nos solventes éter etílico e metanol, respectivamente. Após 2 horas sob agitação, em agitador magnético, os extratos foram filtrados e deixados em câmara de exaustão até a completa evaporação dos solventes. Depois foram ressuspensos em Tween 80, reagente capaz de melhorar a solubilidade de substâncias, a 1 % e armazenados a 5 °C.

netine Netine Netine State

3 Composição e obtenção dos produtos

O produto Ecolife® 40 é composto de bioflavonóides cítricos, fitoalexinas cítricas, ácido ascórbico, ácido cítrico e ácido lático.

O produto Agromil® – S é um complexo de bioflavonóides cítricos, fitoalexinas cítricas, ácido ascórbico e ascorbatos, ácidos graxos cítricos, acúcares cítricos e glicerídeos.

Os dois produtos foram gentilmente cedidos pela QUINABRA S.A. (Química Natural Brasileira, São José dos Campos - SP) para a realização dos experimentos.

4 Material vegetal

Para a realização do experimento com folhas destacadas, mudas de cafeeiro da cultivar Acaiá Cerrado foram obtidas do viveiro comercial local, certificado pelo Instituto Mineiro de Agropecuária. As mudas foram suplementadas com aplicações de Iogen[®] n° 3, produto composto de N₂ (20%), P₂O₅ (10%), K₂O (10%), Mg (0,5%) e Mn (0,08%), formulado por Fertilizantes Mitsui S.A., situada no município de Poços de Caldas-MG.

5 Experimentos com os extratos e produtos

Foram realizados dois experimentos com os extratos e produtos citados anteriormente para verificação de seus efeitos no controle de *P. costarricensis*.

5.1 Experimento I

No primeiro experimento foram conduzidos dois ensaios para verificar o efeito dos extratos e dos produtos no crescimento micelial de P. costarricensis. No primeiro ensaio o meio utilizado foi o batata-dextrose-agar (BDA), os extratos foram adicionados aos frascos de meio nas diluições de 1:6 e 1:3 e posteriormente autoclavados. Também foi avaliado o tratamento contendo Tween 80 a 1 % adicionado ao meio de cultura na diluição de 1:3. No segundo, o meio base também foi o BDA, os produtos foram esterilizados sob luz ultravioleta por 30 minutos e, em seguida, adicionados ao meio já autoclavado nas dosagens de 2,5; 5,0 e 10,0 g/L para o Agromil® - S e de 2,5; 5,0 e 10,0 mL/L para o Ecolife® 40. Os meios foram distribuídos em placas de Petri e inoculados com disco de meio de cultura de 0,5 cm contendo micélio do fungo. Na testemunha, utilizou-se apenas BDA. As placas foram transferidas para a câmara de crescimento com temperatura de 23 °C e fotoperíodo de 12 horas. O ensaio foi estabelecido em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com 8 repetições de uma placa cada. As avaliações foram realizadas aos 2, 4 e 6 dias após a inoculação. O índice de crescimento micelial (ICM) foi calculado e a análise estatística foi realizada utilizando o teste de Scott & Knott (1974) no programa SISVAR.

O índice de crescimento micelial (ICM) foi determinado pela adaptação da fórmula proposta por Maguire (1962):

ICM =
$$\frac{C_1}{N_1} + \frac{C_2}{N_2} + \dots + \frac{C_n}{N_n}$$
, sendo

ICM = índice de crescimento micelial;

C₁, C₂, C_n = crescimento micelial do fungo na primeira, segunda e última avaliação;

N 1, N 2, N $_{n}$ = número de dias após a inoculação.

5.2 Experimento II

O segundo experimento foi conduzido em delineamento em blocos casualizados (DBC), com nove tratamentos e quatro repetições com dez plantas cada. As mudas foram mantidas em casa de vegetação à temperatura de 25°C até o final do experimento. As mudas foram pulverizadas com os seguintes tratamentos:

- O1) Testemunha absoluta: plantas de café não inoculadas e não pulverizadas com indutores;
- 02) Testemunha inoculada: plantas de café inoculadas com P. costarricensis e não pulverizadas com indutores;
- O3) Agromil® -S: plantas de café pulverizadas com 5,0g/L do produto em água destilada e inoculadas com P. costarricensis;
- 04) Ecolife® 40 5: plantas de café pulverizadas com 5mL/L do produto em água destilada e inoculadas com P. costarricensis;
- 05) Ecolife® 40 10: plantas de café pulverizadas com 10,0 mL/L do produto em água destilada e inoculadas com *P. costarricensis*;
- 06) EACasca 6: plantas de café pulverizadas com o extrato aquoso de "casca" na diluição de 1:6 mL/L em água destilada e inoculadas com P. costarricensis;
- 07) EACasca 3: plantas de café pulverizadas com o extrato aquoso de "casca" na diluição de 1:3 mL/L em água destilada e inoculadas com P. costarricensis;
- 08) EAFolha 6: plantas de café pulverizadas com o extrato aquoso de folha na diluição de 1:6 mL/L em água destilada e inoculadas com *P. costarricensis;*
- 09) EAFolha 3: plantas de café pulverizadas com o extrato aquoso de folha na diluição de 1:3 mL/L em água destilada e inoculadas com P. costarricensis;

Sete dias após as pulverizações com os indutores, uma folha de cada planta com textura macia e cor verde brilhante (Nojosa, 2003) foi destacada. As folhas foram levadas para o laboratório, lavadas com sabão e enxaguadas com água destilada. Após a lavagem, fez-se ferimento na face abaxial das folhas, evitando-se as nervuras principal e secundária, e sobre o mesmo colocou-se um disco de 0,5 cm de diâmetro de meio BDA contendo micélio de *P. costarricensis*. Depois, as folhas foram acondicionadas em bandejas plásticas contendo papel toalha umedecido, coberto por papel alumínio perfurado revestindo o fundo. As bandejas foram colocadas dentro de sacos plásticos transparentes para manter a umidade e permitir a incidência de luz. O experimento foi conduzido em delineamento em blocos casualizados (DBC).

6 Severidade da lesão

Para o experimento II foi avaliada a severidade da doença em função dos tamanhos da área foliar doente aos 2, 4 e 6 dias após a inoculação. Todas as folhas e lesões foram desenhadas e posteriormente escaneadas para as medições das áreas com auxílio do programa UTHSCSA Image Tool for Windows versão 3.00, 2002. Fez-se a regressão dos resultados, utilizando o programa Excel do Windows 98. O cálculo da área abaixo da curva de progresso da lesão (AACPL) foi realizado com o programa AVACPD da Universidade Federal de Viçosa e os resultados analisados com o teste de Scott & Knott (1974) no programa SISVAR.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1 Efeito dos extratos no crescimento micelial de P. costarricensis

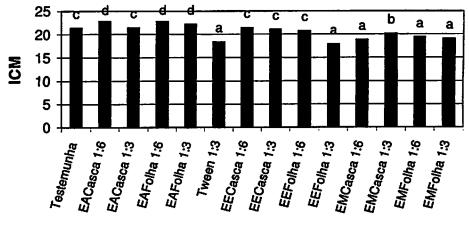
Os extratos aquosos de folha e de "casca de frutos de café" não exerceram efeito inibitório no crescimento micelial de *P. costarricensis* (Figura 1). O tratamento com o extrato aquoso de casca na diluição 1:6 proporcionou crescimento superior ao da testemunha, bem como os extratos aquosos de folha nas diluições 1:6 e 1:3 ($P \le 0.05$).

Os extratos: aquoso de casca na diluição 1:3, as duas diluições utilizadas do etérico de casca e o etérico de folha na diluição 1:6 não diferiram da testemunha ($P \le 0.05$) (Figura 1).

Já os extratos etérico de folha na diluição 1:3, o metanólico de casca e de folha nas diluições 1:6 e 1:3 e o Tween na diluição de 1:3 promoveram redução do crescimento micelial ($P \le 0,05$) (Figura 1).

Dentre os solventes utilizados, aqueles extratos que foram obtidos com metanol foram os que exerceram inibição do crescimento micelial. Essa observação coincide com aquela obtida por Karaman et al. (2003), que também verificaram que o extrato metanólico de *Juniperus oxycedrus* apresentou maior efeito inibidor no crescimento *in vitro* de bactérias e fungos do que o aquoso obtido da mesma planta. Esses autores também comentam que existe uma evidência de que o metanol é o melhor solvente para extrações de substâncias antimicrobianas quando comparado com etanol, hexano e a água. O extrato metanólico obtido de *Maesa lanceolata* também apresentou maior efeito inibidor do que os obtidos com clorofórmio ou hexano no crescimento micelial de *Pyrenophora teres, Sclerotium rolfsii e Phytophthora crytogea* (Okemo et al., 2003).

27



Tratamentos

FIGURA 1 - Efeito dos extratos no índice de crescimento micelial (ICM), em milímetros, de Phoma costarricensis. Tratamentos com a mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott & Knott a 5% (1974). UFLA, Lavras – MG, 2004.

O Tween adicionado ao meio BDA, que foi utilizado para ressuspender os extratos obtidos com éter e metanol, também teve efeito inibitório na diluição utilizada, que foi de 1:3 (Figura 1). Às vezes produtos são utilizados na formulação de tratamentos (espalhantes, óleos minerais etc) sem que seja feita a verificação do seu efeito isolado sobre o organismo teste.

Uma das possibilidades para a pouca eficácia dos extratos em inibir o crescimento micelial de *P. costarricensis* talvez se deva ao fato de estes terem sido autoclavados após serem adicionados ao meio de cultura. Conforme foi observado por Yin & Tsao (1999), o efeito inibitório dos extratos aquosos de sete espécies do gênero *Allium* diminuiu com o aumento da temperatura durante a obtenção destes. Isso pode ser devido à decomposição de componentes antifúngicos. Outra possibilidade é que seja necessário aumentar o tempo de

obtenção dos extratos, possibilitando a extração de mais substâncias com propriedades antimicrobianas.

As dosagens dos dois produtos avaliados reduziram significativamente ($P \le 0,05$) o ICM (Índice de Crescimento Micelial) de *P. costarricensis* (Figura 2). Ambos os produtos são constituídos por vitaminas e ácidos orgânicos, mas as doses de Ecolife® avaliadas reduziram mais os valores do ICM do que as de Agromil®.

Vilas-Bôas et al. (dados não publicados) também observaram que o Ecolife® reduziu mais o percentual de inibição de micélio de *Colletotrichum* sp. do que o Agromil®, nas mesmas doses avaliadas.

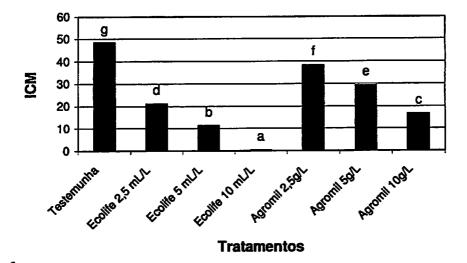


FIGURA 2 – Efeito de três doses de Ecolife® 40 e de Agromil®- S no ICM, em milímetros, de Phoma costarricensis. Tratamentos com letra iguais não diferem entre si pelo teste de Scott & Knott (1974) a 5%. UFLA, Lavras – MG, 2004.

2 Efeito dos extratos de folha e de "casca de café" e dos produtos Agromil®-S e Ecolife® 40 na severidade da doença

As áreas abaixo da curva de progresso da lesão (AACPL) dos tratamentos Agromil® (5 g/L), Ecolife® (5 mL/L) e o extrato aquoso de folha (diluição 1:6) foram menores que a da testemunha inoculada e diferiram desta a 5% de probabilidade (Figura 3).

O Ecolife® nas doses 5,0 e 10,0 mL/L, que reduziram significativamente o ICM de *P. costarricensis*, também exerceu efeito protetor, reduzindo os valores das médias de AACPL (Figura 3). A dose 5,0 mL/L de Ecolife® exerceu maior efeito protetor do que a de 10,0 mL/L ($P \le 0,05$), sendo uma evidência de indução de resistência, pois a dose menor foi a que teve maior

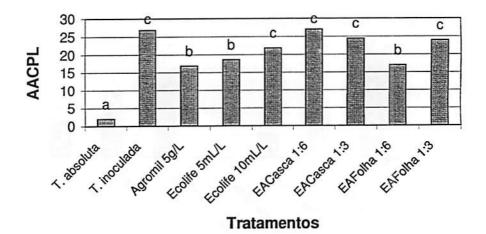


FIGURA 3 – Área abaixo da curva de progresso da lesão (AACPL) em folhas destacadas de cafeeiro inoculadas com *Phoma costarricensis*. Letras iguais não diferem pelo teste de Scott & Knott (1974) a 5%. UFLA, Lavras – MG, 2004.

efeito. A hipótese de toxidez direta é menos provável porque as folhas foram lavadas antes da inoculação. Bernardo et al. (2001), pulverizaram mesocótilos de sorgo com Ecolife® antes da inoculação com *Colletotrichum graminicola* e verificaram, após a inoculação, deposição de fitoalexinas em todas as concentrações testadas.

Já o extrato aquoso de folha, que não funcionou na inibição do ICM, proporcionou redução da AACPL também da dose mais diluída, sendo outra evidência de indução de resistência (Figura 3). Bonaldo (2001) verificou redução no número e tamanho das lesões em folhas de pepino pulverizadas com extrato de Eucalyptus citriodora (20%) 72, 48 e 24h antes da inoculação com Colletotrichum lagenarium. Extratos brutos de plantas medicinais como romã, erva cidreira, manjerona, babosa e orégano foram efetivos em induzir o acúmulo da fitoalexina deoxiantocianidina em mesocótilos de sorgo. A maior indução foi observada pelo tratamento com o patógeno Colletotrichum graminicola onde, provavelmente, deve ocorrer maior nível de reconhecimento e, portanto, maior ativação do metabolismo de defesa da planta, enquanto os tratamentos com ultravioleta e Saccharomyces cerevisiae mostraram baixa atividade elicitora (Schwan-Estrada et al., 1997). Em cotilédones de soja, extratos brutos de pitanga, cânfora, poejo, romã e cardo santo induziram a síntese da fitoalexina gliceolina. Os tratamentos com ultravioleta e Saccharomyces cerevisiae também foram eficientes (Schwan-Estrada et al., 1997).

Com a análise de regressão (Figura 4) dos dados obtidos, pode-se confirmar os resultados obtidos com a AACPL de que os tratamentos com menor área lesionada foram Agromil® 5 g/L, extrato aquoso de folha 1:6 e Ecolife® na dose 5 mL/L. A área lesionada de todos os tratamentos aumentou de acordo com os dias após a inoculação.

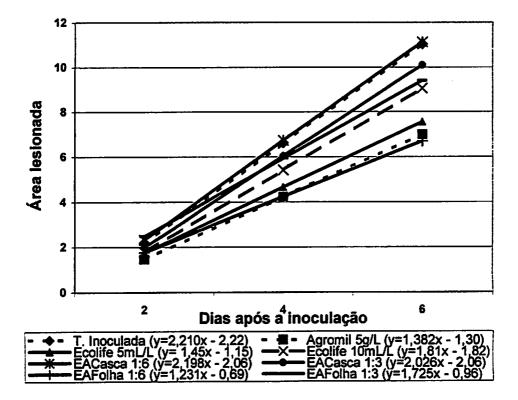


FIGURA 4 – Curvas de regressão para lesão foliar, em cm², em função da aplicação de produtos e extratos, em folhas destacadas de cafeeiro, aos 2, 4 e 6 dias após a inoculação. UFLA, Lavras – MG, 2004.

CONCLUSÕES

Os extratos aquosos de folhas de cafeciro naturalmente infectadas com *Hemileia vastatrix* e de casca moída de café não exerceram efeito inibidor no crescimento micelial de *P. costarricensis*.

Os extratos metanólicos de folha e de casca, nas diluições testadas, reduzem o ICM de P. costarricensis.

Os produtos à base de polpa cítrica reduziram o ICM de P. costarricensis em todas as doses testadas.

Os tratamentos Agromil® (5 g/L), Ecolife® (5 mL/L) e o extrato aquoso de folha (diluição 1:6) reduzem a AACPL em 39; 31 e 35%, respectivamente, comparados com a testemunha.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, S.R. & MATIELLO, J.B. Estudo de novos produtos para controle químico a *Phoma* spp. em cafeeiros, em nível de campo. Anais do 15° Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras p. 145-146. 1989.

BARGUIL, B. M.; RESENDE, M. L. V. Efeito de um produto a base de vitaminas e ácidos orgânicos no crescimento micelial de *Phoma tarda* e *Cercospora coffeicola*. Fitopatologia Brasileira, Brasília, v. 28, p. 345, ago. 2003. Suplemento.

BERNARDO, R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; FIORI, A. C. G. Efeito de extratos cítricos na indução de resistência e no crescimento micelial de fungos fitopatogênicos. Fitopatologia Brasileira, Brasília, v. 26, p. 313, ago. 2001. Suplemento.

BONALDO, S. M.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. S.; PASCHOLATI, S. F. Inibição do crescimento micelial de fungos fitopatogênicos e indução de fitoalexinas por *Eucalyptus citriodora*. Fitopatologia Brasileira, Brasília, v. 23, p. 229, ago. 1998. Suplemento.

CARVALHO, V. L.; CHALFOUN, S. M. Manejo integrado das principais doenças do cafeeiro. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v. 19, n. 193, p. 27-35, 1998.

ECHANDI, E. La quema de los cafetos causada por *Phoma costarricensis* n. sp. **Revista de Biología Tropical, San** Jose, v. 5, p. 81-102, 1957.

GODOY, C. V.; BERGAMIN FILHO, A.; SALGADO, C. L. Doenças do cafeeiro (*Coffea arabica* L.) In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CARMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. (Ed.). Manual de fitopatologia. São Paulo: Agronomica Ceres, 1995. v. 2, p. 184-200.

LOPES, F. C. A.; CORRÊA, L. G. G.; VILAS-BÔAS, C. H.; RESENDE, M. L. V. Uso do extrato de casca de café para o controle da vassoura-de-bruxa em mudas de cacau. Fitopatologia Brasileira, Brasília, v. 28, p. 353, ago. 2003. Suplemento.

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

NOJOSA, G. B. A. Efeito de indutores na resistência de Coffea arabica L. à *Hemileia vastatrix* BERK ; BR. e *Phoma costarricensis* ECHANDL 2003. 102 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

OKEMO, P. O.; BARS, H. P.; VIVANCO, J. M. In vitro activities of *Maesa* lanceolata extracts against fungal plant pathogens. Fitoterapia, Amsterdam, v. 74, n. 3, p. 312-316, Apr. 2003.

PEREIRA, J. C. R.; SILVA-ACUÑA, R.; GUIMARÃES, F. B.; CHAVES, G. M.; ZAMBOLIM, L. Novos enfoques no controle da mancha zonada (*Leandria mormodicae*) do pepino (*Cucumis sativus*). Fitopatologia Brasileira 21(1): 94-98. 1996.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. S.; PASCHOLATI, S. F. Efeito do extrato bruto de plantas medicinais na indução de fitoalexinas em soja e sorgo. Fitopatologia Brasileira, Brasília, v. 22, p. 346, ago. 1997. Suplemento.

SCOTT, A. J.; KNOTT, M. Cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. Biometrics, Washington, v. 30, n. 3, p. 507-512. 1974.

SILVEIRA, E. M. & RIOS, G. P. Controle do oídio (*Erysiphe polygoni*) do feijoeiro comum por biofertilizantes. Fitopatologia Brasileira, Brasília, v. 25, p. 422, ago. 2000a. Suplemento.

SILVEIRA, E. M. & RIOS, G. P. Eficiência de alguns biofertilizantes no controle da ferrugem (Uromyces appendiculatus) do feijoeiro comum. Fitopatologia Brasileira, Brasília, v. 25, p. 422, ago. 2000b. Suplemento.

YIN, M. C.; TSAO, S. M. Inhibitory effect of seven Allium plants upon three Aspergillus species. International Journal of Food Microbiology, Amsterdam, v. 49, n. 1/2, p. 49-56, Aug. 1999.

ZAMBOLIM, L.; SANTOS, M. A.; BECKER, W. F.; CHAVES, G. M. Agrowaste soil amendments for the control of *Meloidogyne javanica* on tomato. Fitopatologia Brasileira 21(2): 250-25. 1996.

CAPÍTULO 3

REAÇÃO DE CULTIVARES DE Coffea arabica L. À INOCULAÇÃO COM Phoma costarricensis ECHANDI

.

RESUMO

BARGUIL, Beatriz Meireles. Reação de cultivares de Coffea arabica L. à inoculação com Phoma costarricensis. In: ____. Indução de resistência e reação de cultivares de Coffea arabica L. a Phoma costarricensis Echandi. 2004. Cap. 3, p. 36-52 Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. *

O uso de cultivares resistentes é um método barato e efetivo de controlar doenças em diversas culturas. Em cafeeiro, já foram realizados diversos estudos buscando fontes de resistência contra ferrugem, cercosporiose e mancha manteigosa. Estudos de reação de cultivares à mancha de Phoma ainda não foram realizados. Neste trabalho objetivou-se verificar a resistência de cultivares de cafeeiro em relação às lesões causadas por *P. costarricensis*, utilizando a técnica de folhas destacadas. No primeiro ensaio as cultivares avaliadas foram Acaiá Cerrado, Catuaí, Mundo Novo, Rubi e Topázio. No segundo, as cultivares analisadas foram Acaiá Cerrado, Acauã, Catucaí F5, Catucaí 2SL, Icatu e Siriema. No ensaio 1 as cultivares com menor AACPL foram Acaiá Cerrado e Mundo Novo, diferindo significativamente das demais. No segundo Acaiá Cerrado continuou diferiram das demais cultivares avaliadas.

^{*} Comitê Orientador: Mário Lúcio Vilela de Resende (Orientador), Mário Sobral de Abreu – UFLA, Gutemberg Barone de A. Nojosa - MAPA.

ABSTRACT

BARGUIL, Beatriz Meireles. Reaction of *Coffea arabica* L. cultivars when inoculated with *Phoma costarricensis*. In: _____. Induction of resistance and cultivars reaction of *Coffea arabica* L. plants against *Phoma costarricensis* Echandi. 2004. Chap. 3, p. 36-52. Dissertation (Master program in Phytopathology) - Federal University of Lavras, Lavras, MG. *

The use of resistant cultivars is a cheap and effective method of controlling diseases in several cultures. In coffee plants, studies of reaction cultivars to the stain of Phoma were not still accomplished. This work had as objective verifies the resistance of coffee cultivars in relation to the lesions caused by *P. costarricensis*, using the technique of detached-leaves. The first assay evaluated the cultivars Acaiá Cerrado, Catuaí, Novo Mundo, Rubi and Topázio. In the second, cultivars analyzed were Acaiá Cerrado, Acauã, Catucaí F5, Catucaí 2SL, Icatu and Siriema. At the first assay the cultivars with smaller AACPL were Acaiá Cerrado and Novo Mundo, differing estatisticaly from the others. In the second was Acaiá Cerrado that continued to differ estatisticaly from the others cultivars analised.

- -

^{*} Guidance Committee: Mário Lúcio Vilela de Resende (Major Professor), Mário Sobral de Abreu – UFLA, Gutemberg Barone de A. Nojosa - MAPA.

INTRODUÇÃO

No Brasil, a preocupação dos programas do melhoramento do cafeeiro abrange o desenvolvimento de cultivares de elevado potencial produtivo, maturação uniforme dos frutos, tolerância a períodos de deficiência hídrica ou a solos de baixa fertilidade e, também, resistência a insetos e doenças (Guimarães et al., 2002).

O uso de cultivares resistentes é o meio mais barato e efetivo de controlar doenças de plantas em culturas (Agrios, 1997), contribuindo para a redução do impacto ambiental devido à aplicação de defensivos agrícolas.

Estudos de reação de cultivares já foram realizados em cafeeiro para ferrugem (Abreu, 1988; Pereira, 2003), cercosporiose (Patrício et al., 2003) e mancha manteigosa (Miranda, 2003). De acordo com Pereira (2003), já se dispõe de cultivares resistentes à ferrugem no mercado, como a Oeiras e a Paraíso. Patrício et al. (2003) observaram que as cultivares Ouro Verde, Tupi, Catuaí Vermelho e Icatu Vermelho apresentaram os menores índices de severidade de cercosporiose quando comparadas com as demais cultivares e híbridos testados. As cultivares com menor incidência de *Colletotrichum* sp., em frutos verdes de cafeeiro, foram Tupi, Catucaí, Icatu e Apoatã. Já em frutos no estádio cereja, entre 12 cultivares avaliadas a única com incidência de *Colletotrichum* sp. abaixo de 70% foi a Apoatã com 26%. Em plântulas das cultivares Catuaí Amarelo, Apoatã e Mundo Novo a incidência de 3 dos 10 isolados avaliados foi de 0% após 60 dias da inoculação (Miranda, 2003).

Para a mancha de Phoma, causada por algumas espécies deste gênero, este tipo de estudo ainda não foi realizado, talvez pelo fato de a doença ser considerada de importância secundária. Com isso, as pesquisas visando resistência do cafeeiro contra *P. costarricensis* são mais escassas.

39

Estudos de reação de cultivares a doenças causadas por *Phoma* já foram realizados em outras culturas. Coleman & Ellerbrock (1997) avaliaram a severidade e o rendimento de 16 cultivares de cebola (*Allium cepa* L.) quando infectadas por *Phoma terrestris*. Já O'Neill et al. (2003) testaram 37 espécies do gênero *Medicago*, com a finalidade de encontrar fontes potenciais de genes que conferem resistência a *Phoma medicaginis*.

Neste trabalho objetivamos verificar a resistência de cultivares de cafeeiro em relação às lesões causadas por *P. costarricensis*, utilizando a técnica de folhas destacadas.

MATERIAL E MÉTODOS

1 Obtenção do inóculo de Phoma costarricensis

O inóculo foi obtido a partir de folhas de cafeeiro naturalmente infectadas com *P. costarricensis*. As folhas infectadas coletadas foram lavadas em água corrente, desinfestadas com hipoclorito de sódio a 2 % e deixadas em câmara úmida por 24 horas para esporulação. Os conídios produzidos a partir de picnídios nas lesões esporulantes foram transferidos de forma estéril para placas de Petri contendo BDA. O fungo foi mantido a 22°C (\pm 3) por 10 dias, quando o micélio preencheu a placa. Após esse período, discos de micélio de 0,5 cm de diâmetro foram retirados para utilização dos testes em folhas destacadas de *Coffea arabica*.

2 Material vegetal

Para a realização deste experimento, as sementes de cafeeiro foram obtidas na Estação Experimental da EPAMIG, em Lavras – MG, e no Procafé, em Varginha - MG. De acordo com Garcia & Matiello (2002) e Mendes et al. (2002), algumas das principais características das cultivares avaliadas são:

- Acaiá Cerrado MG 1474 (seleção de Mundo Novo): ótimo desenvolvimento vegetativo, elevadas produções e tem sido indicada para plantio adensado;

- Acauã (Sarchimor x Mundo Novo): porte baixo, alto vigor e enfolhamento, tolerante a *Meloidogyne exigua* e alta resistência à ferrugem;

- Catuaí IAC 99 (Caturra Amarelo x Mundo Novo): porte baixo, mais tolerantes à ferrugem do que a Mundo Novo e maturação tardia dos frutos;

- Catucaí Amarelo multilínea F5 (Icatu x Catuaí): porte baixo, boa produtividade e vigor;

- Catucaí Amarelo 2SL (Icatu x Catuaí): porte baixo e boa tolerância à mancha de Phoma;

- Icatu Vermelho (Robusta x Bourbon Vermelho): porte alto, tolerante à ferrugem e ótima produtividade;

- Mundo Novo IAC 2945 (Sumatra x Bourbon Vermelho): porte alto, bom vigor vegetativo, longevidade e baixa tolerância à ferrugem;

- Rubi MG 1192 (Catuaí x Mundo Novo): porte baixo, excelente produtividade e alto vigor vegetativo;

- Siriema (C. arabica x C. racemosa): porte baixo, tolerância ao bicho-mineiro e resistência à ferrugem;

- Topázio MG 1190 (Catuaí x Mundo Novo): porte baixo, excelente produtividade e alto vigor.

As sementes foram plantadas em bandejas contendo areia de rio e, quando atingiram o estádio de "palito de fósforo", foram transferidas para bandejas de isopor contendo substrato Plantmax[®] (Eucatex Agro, Paulínia - SP). As mudas foram suplementadas com aplicações de Iogen[®] n° 3, produto composto de N₂ (20%), P₂O₅ (10%), K₂O (10%), Mg (0,5%) e Mn (0,08%), formulado por Fertilizantes Mitsui S.A., situado no município de Poços de Caldas-MG.

3 Experimento

O experimento foi conduzido em delineamento de blocos casualizados (DBC), 4 repetições e 10 plantas por repetição. O primeiro ensaio constou das cultivares Acaiá Cerrado, Catuaí, Mundo Novo, Rubi e Topázio. O segundo contou com as cultivares Acauã, Catucaí F5, Catucaí 2SL, Icatu, Siriema e a mais resistente no primeiro ensaio.

Aos seis meses de idade, aproximadamente, uma folha de cada planta no estádio 03, textura macia e cor brilhante, de acordo com Nojosa (2003), foi destacada. As folhas foram levadas para o laboratório, lavadas com sabão e enxaguadas com água destilada. Após a lavagem, fez-se ferimento nas folhas, evitando-se as nervuras principal e secundárias, e sobre o qual colocou-se um disco de meio de cultura de 0,5 cm de diâmetro contendo micélio de *P. costarricensis*. Depois as folhas foram acondicionadas em bandejas plásticas contendo papel toalha umedecido, coberto por papel alumínio perfurado revestindo o fundo. As bandejas foram colocadas dentro de sacos plásticos transparentes para manter a umidade e permitir a incidência de luz.

4 Severidade da doença

A severidade da doença foi avaliada em função dos tamanhos da área foliar doente aos 2, 4 e 6 dias após a inoculação. Todas as folhas e lesões foram desenhadas e escaneadas para as medições das áreas, que foram efetuadas com o programa UTHSCSA Image Tool for Windows versão 3.00, 2002. Após a obtenção dos valores, os dados foram submetidos ao programa AVACPD da Universidade Federal de Viçosa para cálculo da área abaixo da curva de progresso da lesão (AACPL) e, posteriormente, submetidos à análise com o teste de Scott & Knott (1974) no programa SISVAR. Também foi realizado o teste de regressão no programa Excel do Windows 98.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A área lesionada por *Phoma costarricensis* em folhas de cafeeiro foi significativamente diferente de acordo com a cultivar e o tempo (dias) da inoculação do fungo.

A análise da área abaixo da curva de progresso da lesão (AACPL) evidenciou que as cultivares Acaiá Cerrado e Mundo Novo apresentaram menores áreas e diferem significativamente ($P \le 0,05$) das demais cultivares avaliadas no ensaio 1 (Figura 1).

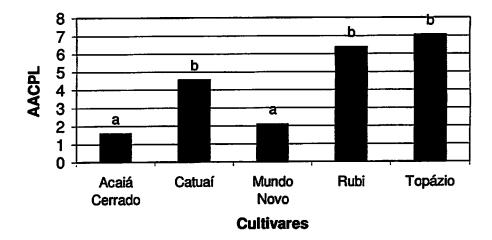


FIGURA 1 – Área abaixo da curva de progresso da lesão (AACPL) causadas por *Phoma costarricensis* em folhas destacadas de cultivares de cafeeiro. Cultivares com mesma letra não diferem entre si (P≤0,05), pelo teste de Scott & Knott (1974).

Aos 2 dias de inoculação do fungo, a área foliar lesionada foi semelhante para todas as cultivares, de acordo com a análise de regressão (Figura 2). Entretanto, com 4 dias, as cultivares Acaiá e Mundo Novo apresentaram menor área lesionada comparada com as outras cultivares. Aos 6 dias da inoculação, Acaiá e Mundo Novo permaneceram com menor área lesionada por *P. costarricensis* (Figura 3). A cultivar Catuaí, aos 6 dias após a inoculação, comportou-se de maneira intermediária quanto à resistência. Rubi e Topázio apresentaram maior área lesionada aos 4 e 6 dias após a inoculação.

r

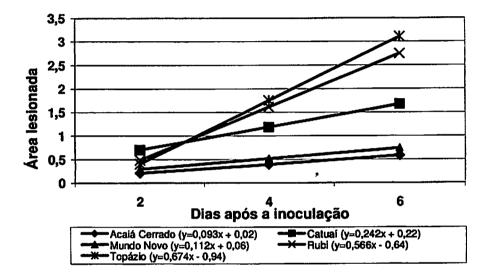


FIGURA 2 – Regressão da área foliar lesionada de cultivares de cafeeiro, aos 2, 4 e 6 dias após a inoculação com *Phoma costarricensis*. UFLA, Lavras – MG, 2004.

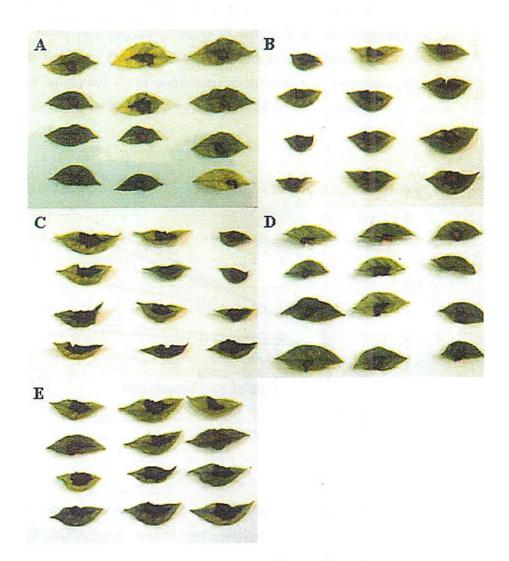


FIGURA 3 – Reação de cultivares de cafeeiro inoculadas com Phoma costarricensis avaliadas no ensaio 1: A= Acaiá Cerrado; B= Catuaí; C= Mundo Novo; D= Rubi; E= Topázio. UFLA, Lavras – MG, 2004. No segundo ensaio, a cultivar com menor área lesionada foi Acaiá Cerrado, de acordo com a análise de área abaixo da curva de progresso da lesão, diferindo significativamente das demais (Figura 4). De acordo com Garcia e Matiello (2002), tem-se verificado resistência à mancha de Phoma no campo pela cultivar Catucaí 2SL, diferindo do resultado aqui observado, talvez pela alta pressão de inóculo.

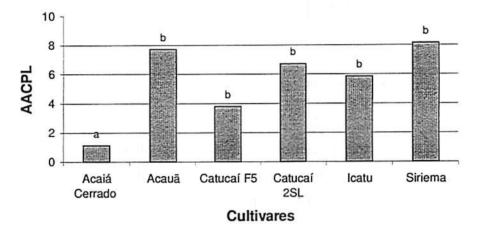


FIGURA 4 – Área abaixo da curva de progresso da lesão (AACPL) causada por Phoma costarricensis em folhas destacadas de cultivares de cafeeiro. Cultivares com mesma letra não diferem pelo teste de Scott & Knott (1974).

A partir da análise de regressão dos valores obtidos no segundo ensaio (Figura 5), pode-se verificar que o tamanho da lesão progrediu ao longo do experimento em todas as cultivares. A cultivar que, aos 6 dias após a inoculação, permaneceu com menor área lesionada foi Acaiá Cerrado (Figura 6). As demais cultivares apresentaram área foliar lesionada entre 1,4 e 4,1 cm², sendo a cultivar Siriema mais suscetível à inoculação com *P. costarricensis*.

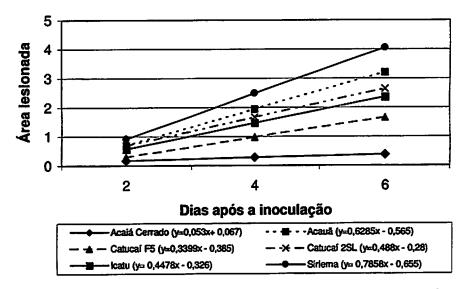


FIGURA 5 – Análise de regressão da área foliar lesionada (em cm²) de cultivares de cafeeiro, aos 2, 4 e 6 dias após a inoculação com *Phoma costarricensis*. UFLA, Lavras – MG, 2004.

Embora sejam escassos os trabalhos para avaliação da resistência de cultivares de cafeeiro a *Phoma*, verificou-se que as cultivares apresentam diferença quanto à reação ao fungo. Esse comportamento pode variar de acordo com o método de inoculação, conforme verificado por Gasperi et al. (2003). Esses autores inocularam, com *Fusarium solani* f. sp. glycines, diversas cultivares de soja utilizando o método "palito de dente" e o do "grão de sorgo" e concluíram que com o primeiro método os sintomas foram mais evidentes.

Outros pontos de variação a serem considerados são o estádio de desenvolvimento do material vegetal e o local dos testes. Fooland et al. (2000) observaram que para verificar a resistência de plantas de tomate a *Alternaria solani*, a utilização de mudas em casa de vegetação e de plantas no campo foi mais promissora que o uso de folhas destacadas.

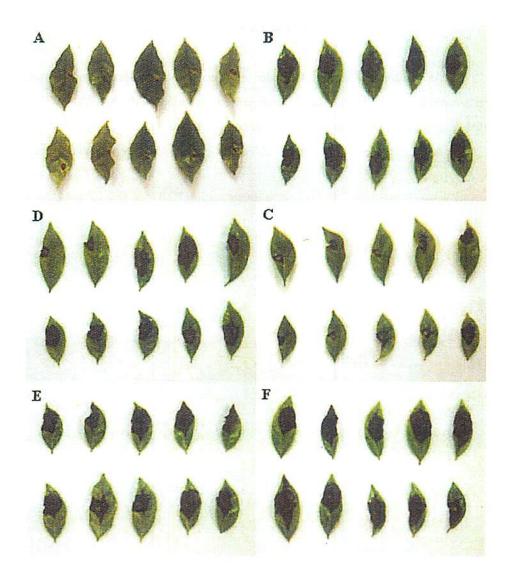


FIGURA 6 – Reação de cultivares de cafeeiro inoculadas com Phoma costarricensis avaliadas no ensaio 2: A= Acaiá Cerrado; B= Acauã; C= Catucaí F5; D= Catucaí 2SL; E= Icatu; F= Siriema. UFLA, Lavras – MG, 2004.

CONCLUSÕES

As cultivares Acaiá Cerrado e Mundo Novo apresentam maior resistência às lesões de *Phoma costarricensis*, com reduções da AACPL de 77 e 70%, respectivamente, quando comparada com a cultivar Topázio.

As cultivares apresentam diferentes níveis de resistência a P. costarricensis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, M. S. Resistência horizontal a *Hemileia vastatrix* Berk. Et. Br. Em cafeeiros descendentes do Híbrido do Timor. 1988. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

AGRIOS, G. N. Plant Pathology. 4. ed. Orlando: Academic Press, 1997. 635 p.

COLEMAN, P. M.; ELLERBROCK, L. A. Reaction of selected onion cultigens to pink root under field conditions in New York. **Plant Disease**, St. Paul, v. 81, n. 2, p. 138-142, Feb. 1997.

FOOLAD, M. R.; NTAHIMPERA, N.; CHRIST, B. J. Comparison of field, greenhouse, and detached-leaflet evaluations of tomato germ plasm for early blight resistance. Plant Disease, St.Paul, v. 84, n. 9, p. 967-972, Sept. 2000.

GASPERI, A. C.; PRESTES, A. M.; COSTAMILAN, L. M. Reação de cultivares de soja à podridão vermelha da raiz causada por *Fusarium solani* f. sp. glycines. Fitopatologia Brasileira, Brasília, v. 28, n. 5, p. 544-547, set./out. 2003.

GARCIA, A. W. R.; MATIELLO, J. B. Novas variedades de café: mais produtivas e resistentes. MAPA/PROCAFÉ, 2002. 14 p.

MENDES, A. N. G.; GUIMARÃES, R. J.; SOUZA, C. A. S. Classificação botânica, origem e distribuição geográfica do cafeeiro. In: GUIMARÃES, R. J.; MENDES, A. N. G.; SOUZA, C. A. S. (Ed.). Cafeicultura. Lavras: UFLA/ FAEPE, 2002. 317 p.

MIRANDA, E. F. O. 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.

NOJOSA, G. B. A. Efeito de indutores na resistência de Coffea arabica L. à *Hemileia vastatrix* BERK ; BR. e Phoma costarricensis ECHANDI. 2003. 102 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

O'NEILL, N. R.; BAUCHAN, G. R.; SAMAC, D. A. Reactions in the annual *Medicago* spp. core germ plasm collection to *Phoma medicaginis*. Plant **Disease**, St. Paul, v. 87, n. 5, p. 557-562, May 2003.

PATRÍCIO, F. R.; BRAGHINI, M. T.; FAZUOLI, L. C. Reação de cultivares de cafeeiro, híbridos e espécies de *Coffea* à cercosporiose. Fitopatologia Brasileira, Brasília, v. 28, p. 276, ago. 2003. Suplemento.

PEREIRA, A. A. Uso da resistência genética no manejo integrado de doenças do cafeeiro. Fitopatologia Brasileira, Brasília, v. 28, p. 129-137, ago. 2003. Suplemento.

SCOTT, A. J.; KNOTT, M. Cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. Biometrics, Washington, v. 30, n. 3, p. 507-512, Sept. 1974.

CAPÍTULO 4

EFEITO DO FOSFITO DE POTÁSSIO NO CONTROLE DE *Phoma* EM CAFEEIROS NO CAMPO

RESUMO

BARGUIL, Beatriz Meireles. Efeito de fosfito no controle de *Phoma* em cafeeiros no campo. In: _____. Indução de resistência e reação de cultivares de *Coffea arabica* L. a *Phoma costarricensis* Echandi. 2004. Cap. 4, p. 53-64. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

O uso intensivo de fungicidas, visando altas produtividades, eleva os custos de produção do cafeeiro. Em estudos anteriores, o fosfito de potássio teve efeito protetor em folhas destacadas e na inibição do crescimento micelial de *Phoma costarricensis*. O objetivo deste trabalho foi verificar se o fosfito de potássio tem potencial para proteção de cafeeiros contra *Phoma* no campo. O estudo foi conduzido em cafezal naturalmente infectado situado no município de Campo Belo – MG. Os tratamentos constaram de cinco doses de fosfito, da dose recomendada de tebuconazole e de fosetyl-Al, além da testemunha. O delineamento foi em blocos casualizados (DBC), 4 repetições com 10 plantas cada. A área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) não diferiu entre as doses de fosfito e o tebuconazole, mas todos diferiram da testemunha. O fungicida fosetyl-Al não diferiu da testemunha, apesar de ser recomendado para a cultura.

^{*} Comitê orientador: Mário Lúcio Vilela de Resende (Orientador), Mário Sobral de Abreu – UFLA, Gutemberg Barone de A. Nojosa - MAPA.

ABSTRACT

BARGUIL, Beatriz Meireles. Effect of phosphite against *Phoma* on coffee plants in the field. In:_____. Induction of resistance and cultivars reaction of *Coffea arabica* L. plants against *Phoma costarricensis* Echandi. 2004. Chap. 4, p. 53-64. Dissertation (Master Program in Phytopathology) – Federal University of Lavras, Lavras, MG.*

The intensive use of fungicides, looking for high productivity, increases the costs of production of coffee. In previous studies, potassium phosphite had protective effect on detached-leaves and on the inhibition of the micelial growth of *Phoma costarricensis*. The objective of this work was to verify if potassium phophite has potential for field protection against Phoma. This study was conducted at Campo Belo – MG, Brazil. The treatments consisted of five doses of phophite, the recommended doses of tebuconazole and phosetyl-AL, apart from the control. The randomized block design was used, with 4 replications of 10 plants each. The area below the curve of progress of the disease (AACPD) didn't differ among the phosphite doses and tebuconazole, but all of them differed from the control. The fungicide phosetyl-Al didn't differ from the control.

^{*} Guidance Committee: Mário Lúcio Vilela de Resende (Major Professor), Mário Sobral de Abreu – UFLA, Gutemberg Barone de A. Nojosa - MAPA.

INTRODUÇÃO

O fungo *Phoma* ataca várias partes do cafeeiro como ramos, folhas e brotos jovens e, em condições adequadas de temperatura e umidade, pode causar perdas de 15 a 43 % na produção (Almeida & Matiello, 1989). De acordo com Matiello et al. (2000b), na região de Vitória da Conquista - BA, onde a média esperada era de 5-6 litros de frutos por planta, os cafeeiros não produziram mais do que 0,5 litros devido ao ataque de *Phoma* nos ramos.

Vários trabalhos já foram realizados com diferentes fungicidas visando controlar a mancha de Phoma em campo. O fungicida tebuconazole nas doses de 120 e 200mL (i.a./ha) e o fungicida iprodione (500g i.a./ha) não diferiram significativamente entre si, mas diferiram da testemunha, quando aplicados em plantas de cafeeiro da cultivar Catuaí Vermelho (Matiello et al., 2000a), sendo considerado eficiente no controle à mancha de Phoma. O fungicida fosetyl-AL também controlou a mancha de Phoma, diminuindo o percentual de folhas e de ramos atacados, diferindo significativamente da testemunha (Mansk & Matiello, 1983b). Também foram testados, pelos autores, os fungicidas Trill®, iprodione e captafol, sendo que o mais efetivo foi o Trill seguido de fosetyl-Al.

O fosfito de potássio também já foi aplicado em mudas de cafeeiro visando proteção contra a mancha de Phoma (Nojosa, 2003). Esse autor observou que as doses de fosfito avaliadas reduziram a área abaixo da curva de progresso da severidade da doença (AACPSD), tanto quanto os fungicidas tebuconazole e fosetyl-Al, diferindo significativamente da testemunha inoculada, quando aplicados em folhas destacadas.

Como seu efeito ainda não havia sido testado em campo, objetivamos avaliar o efeito protetor de fosfito de potássio contra mancha de Phoma em cafeeiros naturalmente infectados no campo.

56

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no Município de Campo Belo – MG, em cafezal formado por plantas da cultivar Mundo Novo, com 9 anos de idade, naturalmente infectadas por *Phoma* sp. Foi conduzido em delineamento de blocos casualizados (DBC), 4 repetições e 10 plantas por repetição. Quatro ramos, com 3 pares de folhas, foram marcados em cada planta.

O experimento foi iniciado em junho de 2003 e as aplicações dos produtos foram realizadas mensalmente até dezembro, com o auxílio de um pulverizador costal manual com vazão de 800 L/ha.

Como fonte de fosfito de potássio foi utilizado o produto Hortifós® PK (Agrichem Ltda., Ribeirão Preto – SP) e como tratamentos controle positivos foram utilizados os fungicidas Folicur® e Aliette® (Bayer Crop Science, Rio de Janeiro – RJ).

Os tratamentos utilizados foram:

1) Testemunha: sem aplicação de produtos, apenas pulverizada com água;

2) Hortifós PK (fonte de fosfito de potássio) 0,625: aplicação de 0,625 mL do p.c. /L de água;

3) Hortifós PK 1,25: aplicação de 1,25 mL do p.c. /L de água;

4) Hortifós PK 2,5: aplicação de 2,5 mL do p.c. /L de água;

5) Hortifós PK 5,0: aplicação de 5,0 mL do p.c. /L de água;

6) Hortifós PK 10,0: aplicação de 10,0 mL do p.c. /L de água;

7) Folicur 200CE (tebuconazole): aplicação de 2,5 mL do p.c. /L de água;

8) Aliette (fosetyl-Al): aplicação de 2,5 mL do p.c. /L de água.

Foram realizadas três avaliações de severidade da doença de acordo com a seguinte escala:

0 = 0 % 1 = 1 a 5 % 2 = 6 a 15 % 3 = 15 a 30 % 4 = 31 a 50 %5 = acima de 50 %

As notas estabelecidas para as folhas foram somadas, obtendo-se a nota do ramo. Em seguida, fez-se a média dos valores dos 4 ramos para obtenção da nota da planta. As avaliações foram realizadas após a 5°, 6° e 7° aplicações dos produtos, ou seja, nos meses de novembro e dezembro de 2003 e janeiro de 2004.

Os dados referentes à severidade da doença foram submetidos ao programa AVACPD da Universidade Federal de Viçosa, para cálculo da área abaixo da curva de progresso da severidade da doença (AACPD) e, posteriormente à análise estatística com o teste de Scott & Knott (1974) no programa SISVAR.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise da AACPSD indica que todas as doses de fosfito de potássio e a dose de tebuconazole utilizadas diferiram significativamente da testemunha (Figura 1). A eficiência de tebuconazole para o controle da mancha de Phoma já foi observado por Gonçalves (2002) e por Menegazzo et al. (2001) em cafeeiros infectados em diferentes regiões do Estado de Minas Gerais.

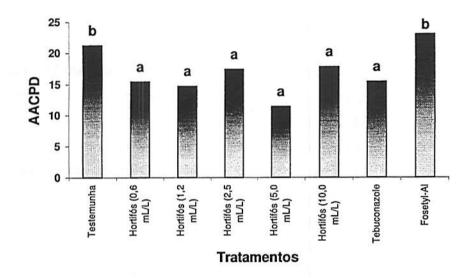


FIGURA 1 – Área abaixo da curva de progresso da severidade da doença (AACPSD) em cafeeiros infectados com Phoma tratados com fungicidas e doses de fosfito de potássio (Hortifós®). Tratamentos com letras iguais não diferem pelo teste de Skott & Knott (1974) a 5 %. UFLA, Lavras – MG, 2004.

O tratamento com fosetyl-AL não diferiu significativamente da testemunha (Figura 1), coincidindo com os resultados obtidos por Silva & Silveira (1997) para *Ascochyta* onde a incidência em cafeeiros tratados com Alliete® foi de 25,08 e na testemunha 26,28%. Embora, as doses de 1 e 2 kg/ha, tenham proporcionado aumento em torno de 15% na produção, não diferiram da testemunha, além de não reduzirem mais do que 48% o percentual de infecção (Almeida & Matiello, 1989). Trabalhos como o de Mansk & Matiello (1983a) demonstraram controle satisfatório da mancha de Phoma com a utilização deste fungicida, onde também foi eficiente na retenção de frutos de cafeeiro com percentual de 57% contra 48% da testemunha.

Analisando-se as curvas obtidas com a análise de regressão, pode-se verificar que os produtos exerceram o mesmo efeito no controle à mancha de Phoma (Figura 2), quando comparado com os resultados da AACPD. Foi verificada diminuição na severidade da doença, ao longo das avaliações, independentemente dos tratamentos utilizados.

O comportamento das curvas da análise de regressão, onde a severidade é maior na primeira avaliação, condiz com as condições de temperatura e umidade mais favoráveis à doença. Esse resultado foi observado por Matiello et al. (2000b), que verificou que as maiores precipitações de chuva, durante o ano avaliado, ocorreram em novembro e dezembro, possibilitando alta umidade, temperaturas amenas contribuindo, portanto, para a dispersão da doença no campo. Mansk & Matiello (1989) também verificaram que o pico da doença foi nos meses de outubro e novembro, sendo a melhor época para avaliação de experimentos com esse patossistema,

60

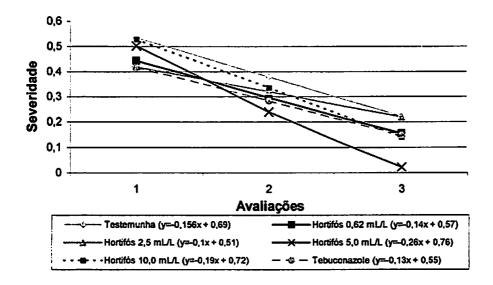


FIGURA 2 – Análise de regressão dos tratamentos (Hortifós 1,2 mL/L e Fosetyl-Al não foram analisados) utilizados em Campo Belo – MG. UFLA, Lavras – MG, 2004.

CONCLUSÃO

Os tratamentos com fosfito têm efeito protetor no controle da mancha de Phoma em cafeeiro no campo.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diversos aspectos ainda devem ser investigados no patossistema Coffea arabica – Phoma sp. Recomenda-se o uso de tratamentos onde as folhas pulverizadas com possíveis indutores são lavadas e outras não, antes da inoculação. Experimentos de resistência de cultivares de cafeeiro à mancha de Phoma devem ser feitos em condições de campo naturalmente infectado e com acompanhamento das condições climáticas. Finalmente, faltam estudos de reação de frutos verdes e/ou cereja de diversas cultivares à infecção por Phoma sp.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, S. R.; MATIELLO, J. B. Estudo de novos produtos para controle químico a *Phoma* spp. em cafeeiros, a nível de campo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 15., 1989, Rio de Janeiro. Anais... Rio de Janeiro: IBC, 1989. p. 145-146.

GONÇALVES, S. Avaliação do efeito de fungicidas na eliminação da seca de ponteiros na face poente de cafeeiros no Sul de Minas Gerais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 28., 2002, Caxambú. Anais... Rio de Janeiro: MAPA/PROCAFE, 2002. p. 87-88.

MANSK, Z.; MATIELLO, J. B. Controle à queda dos frutos do cafeeiro causada por *Phoma* spp., através da aplicação de fungicidas sistêmicos e orgânicos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 10., 1983, Rio de Janeiro. Anais... Rio de Janeiro: IBC, 1983a. p. 125-126.

MANSK, Z.; MATIELLO, J. B. Estudo de doses de fungicidas sistêmicos e orgânicos no controle à *Phoma* spp. em cafeeiros (*Coffea arabica* L.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 10., 1983, Rio de Janeiro. Anais... Rio de Janeiro: IBC, 1983b. p. 392.

MANSK, Z.; MATIELLO, J. B. Seleção de novos fungicidas orgânicos e sistêmicos e efeito de doses no controle a *Phoma* do cafeeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 1989, Rio de Janeiro. Anais... Rio de Janeiro: IBC, 1989. p. 86-87.

MATIELLO, J. B.; ALMEIDA, S. R.; FERREIRA, R. A.; MANSK, Z. Teste de novos fungicidas para o controle de *Phoma costarricensis* em cafeeiros, no Espírito Santo e Sul de Minas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 26., 2000, Marília. Anais... Rio de Janeiro: MAPA/PROCAFE, 2000a. p. 33-35.

MATIELLO, J. B.; BRITO, G.; KHROELING, C. Danos severos na produção de café em regiões com clima frio/úmido na zona cafeeira do Planalto de Conquista-BA e Marechal Floriano-ES, em 1999/2000. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 26., 2000, Marília. Anais... Rio de Janeiro: MAPA/PROCAFE, 2000b. p. 32-33.

MENEGAZZO, O. A.; LESSI, R. A.; MATIELLI, A.; MATIELLO, J. B. Efeito de novos fungicidas foliares no controle de Phoma na região do Triângulo

Mineiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 27., 2001, Uberaba. Anais... Rio de Janeiro: MAPA/PROCAFE, 2001. p. 73-74.

NOGUEIRA, F. D.; SILVA, F. A. M.; GUIMARÃES, P. T. G.; SILVA, E. B., GODINHO, A.; MALTA, M. R. Respostas de mudas de cafeeiro (*Coffea* arabica L.) à aplicação de fosfato natural e ácido cítrico. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA CAFEEIRA DO SUL DE MINAS GERAIS, 11., 2001, Lavras. Anais... Lavras: UFLA, 2001.

NOJOSA, G. B. A. Efeito de indutores na resistência de Coffea arabica L. à *Hemileia vastatrix* BERK; BR. e *Phoma costarricensis* ECHANDL 2003. 102 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SCOTT, A. J.; KNOTT, M. Cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, Washington, v. 30, n. 3, p. 507-512, Sept. 1974.

SILVA, O. A. & SILVEIRA, C. A. Avaliação da eficiência de fungicidas para o controle simultâneo de *Cercospora*, *Phoma* e *Ascochyta* em folhas de cafeeiros. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 23., 1997. Anais... Rio de Janeiro: MAPA/PROCAFE, 1997. p. 194.