



FELIPE AUGUSTO MORETTI FERREIRA PINTO

**CONTROLE DA MANCHA MANTEIGOSA
COM FUNGOS SAPRÓBIOS EM CAFEIEIRO**

**LAVRAS-MG
2013**

FELIPE AUGUSTO MORETTI FERREIRA PINTO

**CONTROLE DA MANCHA MANTEIGOSA COM FUNGOS
SAPRÓBIOS EM CAFEIEIRO**

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

Orientador

Prof. Dr. Mario Sobral de Abreu

Co-orientador

Prof. Dr. Flávio Henrique Vasconcelos de Medeiros

**LAVRAS
MINAS GERAIS-BRASIL
2013**

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca da UFLA**

Pinto, Felipe Augusto Moretti Ferreira.

Controle da mancha manteigosa com fungos sapróbios em
cafeeiro/ Felipe Augusto Moretti Ferreira Pinto. – Lavras : UFLA,
2013.

72 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2013.

Orientador: Mário Sobral de Abreu.

Bibliografia.

1. Controle biológico. 2. *Colletotrichum gloeosporioides*. 3.
Coffea arabica. 4. Triagem. 5. *Phialomyces macrosporus*. I.
Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 632.43

ELIPE AUGUSTO MORETTI FERREIRA PINTO

**CONTROLE DA MANCHA MANTEIGOSA COM FUNGOS
SAPRÓBIOS EM CAFEIEIRO**

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

Aprovada em 13 de maio de 2013

Prof. Dr. Vicente Paulo Campos	UFLA
Prof. Dr. Samuel Pereira de Carvalho	UFLA

Prof. Dr. Mario Sobral de Abreu
Orientador

Prof. Dr. Flávio Henrique Vasconcelos de Medeiros
Co-orientador

**LAVRAS
MINAS GERAIS-BRASIL
2013**

Aos meus pais Alcides Ferreira Pinto (*in memoriam*) e Roseti Moretti por me valorizarem e tornarem possível a minha formação.

Ao meu irmão Pedro Ferreira Pinto Neto pelo incentivo, amor e carinho.

À minha namorada, Lívia Maria Roberti Carvalho, pelo amor, carinho e companheirismo.

À minha avó Alzira dos Santos Ferreira, por me passar a força de vontade para viver.

DEDICO!

Agradecimentos

A Deus, por ter me dado a oportunidade de estudar e compreender melhor minha jornada.

Aos meus familiares pelo incentivo, em especial aos meus irmãos Edison, Sandra Alcides Filho, aos meus sobrinhos Marlene, Daniel e Raphael, aos meus cunhados Maurício, Fátima e Luciana.

Ao meu orientador, Dr. Mario Sobral de Abreu pelas oportunidades, ensinamentos, ajuda na minha formação, como profissional e como homem.

Ao meu co-orientador, Dr. Flávio Henrique Vasconcelos de Medeiros pela ajuda, sugestões e paciência no desenvolvimento do trabalho realizado.

Ao Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras, pela oportunidade concedida para a realização do mestrado.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo incentivo à pesquisa por meio da concessão das bolsas de estudos.

Aos professores, Dr. Vicente Paulo Campos e Dr. Samuel Pereira de Carvalho, pela disposição e colaboração para melhoria de meu trabalho.

Aos demais Professores do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras, pelos ensinamentos passados durante o mestrado.

Ao Claudio Ogoshi, ao Felipe França e a Rafaela Balisa pela ajuda durante a realização deste trabalho.

Aos meus amigos de Laboratório Helon, Gilvane, Bruno, Marcelo.

Aos amigos de outros Laboratórios do Departamento de Fitopatologia.

Aos meus irmãos da República Arueira, pela convivência e amizade.

A todos meus amigos não citados antes, sem vocês não conseguiria concluir esta etapa.

RESUMO

O presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar os efeitos de fungos sapróbios no controle de *Colletotrichum gloeosporioides*. Foram realizados quatro experimentos. Mudanças de café foram tratadas com fungos sapróbios e sete dias após o tratamento foram inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides*. A seguir foram realizados testes in vitro para compreender os mecanismos envolvidos na defesa. Os fungos *Memmoniella echinata*, *Chloridium virescens var chlamydosporium* e *Phialomyces macrosporus* apresentaram redução de 49, 51 e 59%, respectivamente na área abaixo da curva de progresso da doença, obtida com base nos índices de severidade, de acordo com Shaner & Finney (1977). O fungo *Phialomyces macrosporus* foi testado in vitro em três experimentos. Em cultura pareada com *Colletotrichum gloeosporioides*, reduziu o diâmetro final da colônia do patógeno em três meios; em MEA, a redução foi de 75%. No teste de Cruz de Malta, *Phialomyces macrosporus* mostrou fraco poder de inibição a *Colletotrichum gloeosporioides*. No teste de compostos voláteis foram utilizados três combinações de meio, em placas de poliestireno, divididas ao meio, utilizando CMA para cultivo do fungo sapróbio e MEA para cultivo do patógeno. Observou-se redução de 57% no IVC e 42,5% na esporulação do patógeno em comparação com a testemunha. Este trabalho mostrou que o fungo *Phialomyces macrosporus* é promissor no controle de *Colletotrichum gloeosporioides* em café, mas ainda se fazem necessários estudos em campo, para que possa ser utilizado.

Palavras-chave: Controle Biológico. *Colletotrichum gloeosporioides*. *Coffea arabica*. Triagem. *Phialomyces macrosporus*.

ABSTRACT

This present study was aimed to evaluate the effects of saprobe fungi in control of *Colletotrichum gloeosporioides*. Four experiments were carried out. Coffee seedlings were treated with saprobe fungi and seven days after treatment were inoculated with *Colletotrichum gloeosporioides*. Hereafter, in vitro tests were performed to understand the mechanisms involved in the defense. The Fungi *Memnoniella echinata*, *Cloridium virescens var chlamydosporium* and *Phialomyces macrosporus* decreased by 49, 51 and 59%, respectively in area under the disease progress curve, obtained based on disease severity according to Shaner & Finney (1977). The fungus *Phialomyces macrosporus* was tested in vitro in three experiments. With *Phialomyces macrosporus* three tests were performed in vitro. In paired culture with *Colletotrichum gloeosporioides*, the final diameter of the colony of the pathogen was reduced in three culture media, the reduction was 75% in MEA. In the test Cross Malta, *Phialomyces macrosporus* showed weak inhibition power to *Colletotrichum gloeosporioides*. In the test of volatile compounds were used three combinations of medium in polystyrene plates, divided in half, using CMA for cultivation of saprobe and MEA for growing the pathogen, it was reduced by 57% in ISMG and 42.5% in pathogen sporulation compared with the control. This research showed that the fungus *Phialomyces macrosporus* is promising for the control of *Colletotrichum gloeosporioides* in coffee, but further studies are needed in the field, so it can be used.

Keywords: Biological Control. *Colletotrichum gloeosporioides*. *Coffea arábica*. Screening. *Phialomyces macrospores*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1– Teste da Cruz de Malta de *Phialomyces macrosporus* contra *Colletotrichum gloeosporioides*.....58

Figura 2– Teste de compostos voláteis de *Phialomyces macrosporus* sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, cinco dias após a repicagem. A: *Phialomyces macrosporus* e *Colletotrichum gloeosporioides* cultivados em meio MEA. B: *Phialomyces macrosporus* e *Colletotrichum gloeosporioides* cultivados em meio CMA. C: *Phialomyces macrosporus* cultivado em meio CMA e *Colletotrichum gloeosporioides* em meio MEA. D: Testemunha, apenas *Colletotrichum gloeosporioides* cultivado em meio CMA e meio CMA do outro lado da placa. E: Testemunha, apenas *Colletotrichum gloeosporioides* cultivado em meio MEA e meio CMA do outro lado da placa. F: Testemunha, apenas *Colletotrichum gloeosporioides* cultivado em meio MEA e meio MEA do outro lado da placa.....62

Gráfico 1 Índice de Doença (ID) de *Colletotrichum gloeosporioides*, em folhas de cafeeiro tratadas com fungos sapróbios. CER: *Curvularia eragrostidis*; SCI: *Sarcopodium circinatum*; MEC: *Memnoniella echinata*; PCH: *Pithomyces chartarum*; TCU: *Thozetella cubensis*; SNE: *Stachybotrys nephrospora*; CVC: *Chloridium virescens* var. *chlamydosporium*; PMA: *Phialomyces macrosporus*; DOB: *Diatyochaeta obesiopora*; TSU: *Thozetella submersa*; TEST INOC: testemunha inoculada; TEST FERIM: testemunha com ferimentos, não inoculada; TEST: testemunha não inoculada, sem ferimentos. * Percentuais seguidos pela mesma letra pertencem a um mesmo grupo, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. CV= 16,87%.....51

Gráfico 2 Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) de *Colletotrichum gloeosporioides*, em folhas de cafeeiro tratadas com fungos

sapróbios. CER: *Curvularia eragrostidis*; SCI: *Sarcopodium circinatum*; MEC: *Memnoniella echinata*; PCH: *Pithomyces chartarum*; TCU: *Thozetella cubensis*; SNE: *Stachybotrys nephrospora*; CVC: *Chloridium virescens* var. *chlamydosporium*; PMA: *Phialomyces macrosporus*; DOB: *Diatyochaeta obesiopora*; TSU: *Thozetella submersa*; TEST INOC: testemunha inoculada; TEST FERIM: testemunha com ferimentos, não inoculada; TEST: testemunha não inoculada, sem ferimentos. * Percentuais seguidos pela mesma letra pertencem a um mesmo grupo, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. CV= 9,51%.....53

Gráfico 3- Diâmetro final da colônia de *Colletotrichum gloeosporioides* em cultura pareada com *Phialomyces macrosporus*. BDA: cultura pareada de *Colletotrichum gloeosporioides* com *Phialomyces macrosporus* em meio BDA. MEA: cultura pareada de *Colletotrichum gloeosporioides* com *Phialomyces macrosporus* em meio MEA. CMA: cultura pareada de *Colletotrichum gloeosporioides* com *Phialomyces macrosporus* em meio CMA. TEST BDA: crescimento de *Colletotrichum gloeosporioides* em meio BDA. TEST MEA: crescimento de *Colletotrichum gloeosporioides* em meio MEA. TEST CMA: crescimento de *Colletotrichum gloeosporioides* em meio CMA.* Médias seguidas pela mesma letra pertencem a um mesmo grupo, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. CV= 7.39%.....56

Gráfico 4- Esporulação de *Colletotrichum gloeosporioides* sobre influência de voláteis produzidos por *Phialomyces macrosporus*. CMA MEA: cultura de *Colletotrichum gloeosporioides* em meio MEA e de *Phialomyces macrosporus* em meio CMA, em placas divididas ao meio. CMA: cultura de *Colletotrichum gloeosporioides* e de *Phialomyces macrosporus* em meio CMA, em placas divididas ao meio. MEA: cultura de *Colletotrichum gloeosporioides* e de *Phialomyces macrosporus* em meio MEA, em placas

divididas ao meio. Test CMA MEA: cultura de *Colletotrichum gloeosporioides* em meio MEA em um dos lados, e meio CMA no outro lado, em placas divididas ao meio. Test CMA: cultura de *Colletotrichum gloeosporioides* em meio CMA em um dos lados, e meio CMA no outro lado, em placas divididas ao meio. Test MEA: cultura de *Colletotrichum gloeosporioides* em meio MEA em um dos lados, e meio MEA no outro lado, em placas divididas ao meio.* Médias seguidas pela mesma letra pertencem a um mesmo grupo, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. CV= 4,34%.....59

Gráfico 5- Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) de *Colletotrichum gloeosporioides* sobre influência de voláteis produzidos por *Phialomyces macrosporus*. CMA MEA: cultura de *Colletotrichum gloeosporioides* em meio MEA e de *Phialomyces macrosporus* em meio CMA, em placas divididas ao meio. CMA: cultura de *Colletotrichum gloeosporioides* e de *Phialomyces macrosporus* em meio CMA, em placas divididas ao meio. MEA: cultura de *Colletotrichum gloeosporioides* e de *Phialomyces macrosporus* em meio MEA, em placas divididas ao meio. Test CMA MEA: cultura de *Colletotrichum gloeosporioides* em meio MEA em um dos lados, e meio CMA no outro lado, em placas divididas ao meio. Test CMA: cultura de *Colletotrichum gloeosporioides* em meio CMA em um dos lados, e meio CMA no outro lado, em placas divididas ao meio. Test MEA: cultura de *Colletotrichum gloeosporioides* em meio MEA em um dos lados, e meio MEA no outro lado, em placas divididas ao meio.* Médias seguidas pela mesma letra pertencem a um mesmo grupo, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. CV= 16,67%.....61

SUMÁRIO

CAPITULO 1 Introdução geral	14
1 INTRODUÇÃO	15
2 REFERENCIAL TEÓRICO	18
2.1 A cultura do cafeeiro.....	18
2.2 Patógeno.....	18
2.2.1 Agente causal da mancha manteigosa	18
2.2.2 Genêro <i>Colletotrichum</i> em cafeeiro.....	20
2.2.3 Estudos de patogenicidade de <i>Colletotrichum</i> spp. em cafeeiro	21
2.2.4 Mancha manteigosa.....	22
2.3 Controle de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	24
2.3.1 Controle Químico de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> .	24
2.3.2 Controle Biológico	25
2.3.3 Controle Biológico aplicado ao gênero <i>Colletotrichum</i>	26
2.4 Fungos sapróbios.....	27
2.4.1 <i>Chloridium virescens</i> var. <i>virescens</i>	27
2.4.2 <i>Curvularia eragrostidis</i>	28
2.4.3 <i>Dictyochaeta obesispora</i>	28
2.4.4 <i>Memnoniella echinata</i>	28
2.4.5 <i>Phialomyces macrosporus</i>	29
2.4.6 <i>Pithomyces chartarum</i>	29
2.4.7 <i>Sarcopodium circinatum</i>	29
2.4.8 <i>Stachybotrys nephrosfora</i>	30
2.4.9 <i>Thozetella cubensis</i>	30
2.4.10 <i>Thozetella submersa</i>	30
REFERÊNCIAS	31
CAPITULO 2 Seleção de fungos sapróbios no controle de <i>C. gloeosporioides</i> in vivo e in vitro.....	37
RESUMO	38
ABSTRACT	39
1 INTRODUÇÃO	40

2 MATERIAL E MÉTODOS	42
2.1 Ensaio “in vivo”	42
2.1.1 Obtenção do isolado de <i>Colletotrichum</i> spp. e Teste de patogenicidade e ajuste da suspensão de esporos	42
2.1.2 Obtenção dos potenciais agentes biocontroladores	42
2.1.3 Obtenção das mudas de cafeeiro	43
2.1.4 Controle da doença em mudas de cafeeiro	43
2.2 Ensaios in vitro	47
2.2.1 Obtenção do isolado de <i>Colletotrichum</i> spp. e Teste de patogenicidade e ajuste da suspensão de esporos	47
2.2.2 Obtenção do agente biocontrolador	47
2.2.3 Ensaio “in vitro” I Teste de cultura pareada	47
2.2.4 Ensaio “in vitro” II Teste de Cruz de Malta	48
2.2.5 Ensaio “in vitro” III Teste de compostos voláteis	49
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
3.1 Ensaio “in vivo”	51
3.2 Ensaios “in vitro”	55
3.2.1 Ensaio “in vitro” I Teste de cultura pareada	55
3.2.2 Ensaio “in vitro” II Teste de Cruz de Malta	57
3.2.3 Ensaio “in vitro” III Teste de compostos voláteis	58
4 CONCLUSÕES	64
REFERÊNCIAS	65
APÊNDICES	68

CAPITULO 1 Introdução geral

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor e exportador mundial de café, com estimativa de produção entre 34,99 a 37,47 milhões de sacas de café arábica (60Kg) na safra 2012/2013. (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2013). O consumo per capita no país foi de 6,23 kg de café em grão cru ou 4,98 kg de café torrado, quase 83 litros para cada brasileiro por ano, no período compreendido entre Novembro/2011 e Outubro/2012, com aumento de 2,10% em relação ao período anterior. (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE CAFÉ - ABIC, 2012)

A cafeicultura é uma das atividades agrícolas com maior importância no Brasil, devido a geração de empregos em áreas interioranas de Minas Gerais, Espírito Santo, São Paulo, Paraná, Bahia, Rondônia. Minas Gerais é o estado responsável por 67,93% da produção brasileira de café (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2013).

A ocorrência de doenças é um dos principais problemas que dificultam a cultura do cafeeiro, principalmente as causadas por fungos, as quais podem ocorrer desde o viveiro até o campo de produção. Entre essas se destacam a ferrugem alaranjada (*Hemileia vastatrix*); cercosporiose (*Cercospora coffeicola*); mancha de phoma (*Phoma spp.*); antracnoses (*Colletotrichum spp.*), entre outras.

O gênero *Colletotrichum* causa várias doenças em cafeeiro, como antracnose, seca de ponteiros, mumificação de frutos, porém a mais grave é a mancha manteigosa, a qual tem sido atribuída a *C. gloeosporioides* (LINS; ALVES; ABREU, 2007). Apesar de a mancha manteigosa apresentar baixa progressão no tempo e no espaço, é altamente deletéria em cafeeiros infectados (FERREIRA *et al.*, 2005), o que pode ser observado pela mumificação e abscisão de folhas e frutos, murcha e seca descendente de ramos plagiotrópicos, levando a uma diminuição progressiva na produtividade, culminando inclusive, com a morte dos cafeeiros infectados.

Colletotrichum gloeosporioides é um patógeno transmitido pelas sementes de cafeeiro (MUNAUT *et al.*, 1998; FERREIRA *et al.*, 2005; FERREIRA; ABREU; PEREIRA, 2009). A mancha manteigosa vem demonstrando aumento da incidência e agressividade, ocasionando declínio vegetativo e produtivo das plantas afetadas. Em observações de campo, cafeeiros com sintomas da mancha manteigosa têm sua produção afetada chegando a ser nula em algumas plantas (PASIN; ALMEIDA; ABREU, 2009). Sua ocorrência é relatada nos estados de Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Espírito Santo, Rondônia e Amazonas. Foi relatada ocorrência em lavouras das cultivares Catucaí Vermelho e Amarelo, Rubi, Mundo Novo e Catuaí Vermelho no estado de Minas Gerais (PASIN; ABREU; SOUZA, 2011).

Quanto ao controle de doenças de plantas, existe atualmente uma preocupação de encontrar produtos alternativos que possam ser utilizados como defensivos possibilitando menor dano ao ambiente. Diversos produtos biológicos, orgânicos ou naturais, vêm surgindo graças as suas características: baixa ou nenhuma agressividade ao homem e a natureza, eficiência no combate aos insetos e microrganismos nocivos, não favorecendo a ocorrência de formas de resistência de pragas e patógenos, custo reduzido para aquisição e emprego, simplicidade quanto ao manejo, aplicação e alta disponibilidade para aquisição. Algumas dessas alternativas são as utilizações de extratos e óleos essenciais de plantas medicinais, fosfito, e tiosulfato de prata, que têm mostrado resultados promissores no controle de doenças de plantas (SCHWAN-ESTRADA; STANGARLIN; CRUZ, 2003). Assim, também poderiam ser enquadrados nesta categoria, diversos biofertilizantes, caldas e agentes de biocontrole (MEDICE *et al.*, 2007; LUCON *et al.*, 2000).

Considerando que *C. gloeosporioides* é um patógeno com grande poder destrutivo aos cafeeiros, o controle químico é uma das práticas mais utilizadas. Entretanto o uso indiscriminado de defensivos agrícolas pode

acarretar em danos ao ambiente, levando a um desequilíbrio ambiental (SCHWAN-ESTRADA; STANGARLIN; CRUZ, 2003).

O controle biológico surge como uma alternativa viável, já que reúne características favoráveis a sua utilização, como a adaptação ao meio, e principalmente pelo baixo impacto ambiental. (BETTIOL, 1997).

Neste contexto surge a possibilidade de testar microrganismos que reúnem características desejáveis para que seja usado em biocontrole. Fungos sapróbios da caatinga apresentam características que os tornam promissores no controle biológico, tais como, apresentarem resistência à restrição hídrica, capacidade de retirar nutrientes de tecidos mortos, boa competitividade e alta rusticidade.

O objetivo desse trabalho foi encontrar microrganismos promissores para atuar no controle biológico de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente causador da mancha manteigosa em cafeeiro.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A cultura do cafeeiro

As plantas caracterizam-se como sendo de porte arbustivo, caule lenhoso, lignificado, apresentando ramo vertical (tronco), ortotrópico, e ramos laterais chamados de plagiotrópicos ou produtivos. As espécies mais cultivadas são *Coffea arabica* Linneu e *Coffea canephora* Pierre. (MATIELLO et al., 2002)

A cafeicultura é uma das principais atividades agrícolas da Região Sul do Estado de Minas Gerais, ocupando lugar de destaque em função da geração de empregos e importância social que tem proporcionado à região ao longo dos anos.

2.2 Patógeno

2.2.1 Agente causal da mancha manteigosa

Glomerella cingulata (Stonem) Spauld. & Schrenk é um fungo que pertence ao Filo Ascomycota, Classe Ascomycetes, Subclasse Sordariomycetidae, Família Glomerellaceae. A sua fase anamorfa é *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. (GONZÁLEZ; SUTTON, 2005). Não se conhece a origem do patógeno. Existe a possibilidade de possuir algum hospedeiro nativo e a disseminação tenha ocorrido através da grande movimentação de mudas entre as regiões produtoras.

O gênero *Colletotrichum* compreende várias espécies, incluindo saprófitas e fitopatogênicas, sendo estas responsáveis por muitas doenças economicamente importantes e que ocorrem numa ampla gama de hospedeiros (MENEZES, 2002). O gênero apresenta acérvulos em forma de disco achatado, subepidérmico, com espinhos ou setas, conidióforo simples e alongado, conídios hialinos unicelulares que podem ser ovalados ou

oblongos. Os conídios nos acérvulos estão envolvidos por uma matriz gelatinosa constituída de polissacarídeos e proteínas solúveis em água. Essa matriz provavelmente protege os conídios da dissecação e aumenta a eficiência de germinação e penetração no tecido hospedeiro (MENEZES, 2002).

Segundo Mishra e Siradhana (1979) os conídios não constituem estruturas de sobrevivência porque sua viabilidade diminui rapidamente. Entretanto, o micélio pode permanecer viável por longo período em sementes infectadas, em restos de cultura, ou ainda como infecções latentes. A forma e o tamanho dos conídios de *Colletotrichum* podem variar muito entre as espécies. No *Colletotrichum gloeosporioides* há formação de acérvulos e conídios hialinos, uninucleados, retos com ápices obtusos e bases às vezes truncadas com tamanho variando entre 4,7 - 5,5 x 13,4 – 18,0 µm, em uma massa de coloração róseo salmão (SUTTON, 1992). Esse gênero revela ampla adaptação a diferentes meios de cultivo. Colônias de *C. gloeosporioides* são variáveis, de coloração branco-gelo a cinza escuro e micélios aéreos geralmente uniformes, aveludados ou repletos de conidiomatos (LOPEZ, 2001). A germinação dos conídios ocorre somente na presença de água livre ou em elevada umidade relativa (100%). No processo de infecção, o apressório adere à superfície do hospedeiro por meio de uma mucilagem hemicelulósica, emitindo hifas de penetração e colonização do tecido.

A interação do patógeno com sua planta hospedeira é caracterizada por uma curta fase biotrófica, quando os dois organismos ficam em contato direto na superfície celular, seguido de uma fase necrofítica destrutiva. Sintomas são visíveis neste último estágio, nas partes aéreas de plantas suscetíveis. Dependendo das condições ambientes ou do grau de maturidade do hospedeiro, a penetração não ocorre imediatamente e os apressórios entram num período de quiescência. O conceito morfológico de *Colletotrichum* é difícil de definir e as espécies são delimitadas usando

poucos caracteres, como tamanho e forma dos conídios e tipos de apressórios (CANNON; BRIDGE; MONTE, 2000).

2.2.2 Genêro *Colletotrichum* em cafeeiro

O gênero *Colletotrichum* encontra-se distribuído em todas as regiões produtoras de café do mundo. Os fungos do gênero são economicamente importantes em todo o mundo, causando principalmente o sintoma de necrose nos tecidos das plantas colonizadas. A espécie *Colletotrichum gloeosporioides* é o principal fitopatógeno que predomina nas regiões tropicais e subtropicais (WALLER *et al.*, 1993).

Espécies de *Colletotrichum* estão presentes em todos os estádios dos órgãos do cafeeiro: folhas, frutos, flores e ramos. As lavouras cafeeiras são formadas a partir de mudas, assim se faz necessário que sejam utilizadas sementes de café de alta qualidade fisiológica e sanitária na formação das mudas, já que a forma de transmissibilidade é pela semente.

Na África, *C. kahawae* ocasiona a *Coffee Berry Disease* (CBD), o patógeno encontra-se em bagas verdes em desenvolvimento e é o principal fator limitante à produção. *C. kahawae* é uma espécie patogênica à cultura do cafeeiro, porém não confirmada no Brasil. (WALLER *et al.*, 1993)

Na América, em geral *Colletotrichum* spp. está associado ao café e provoca a antracnose em folhas, frutos, mancha manteigosa e seca de ponteiros (DORIZZOTO; ABREU, 1993; ALVES; CASTRO, 1998; NECHET, 1999). Infecção latente e incidência variável de *Colletotrichum* spp., dependendo do órgão da planta, já foram relatadas em café. Além disso, o fungo ocorre também como endofítico (MIRANDA *et al.*, 2002; PARESQUI, 2003) e é transmitido por semente (MIRANDA *et al.*, 2002).

No Brasil, as lesões mais críticas e prejudiciais para o cafeeiro são aquelas as quais o fungo (*Colletotrichum* spp.) incide sobre as gemas, flores e frutos novos, provocando a morte e queda, bem como, o enegrecimento e morte dos ramos (PARADELA FILHO *et al.*, 2001). Estes autores relataram que espécies de *Colletotrichum* encontram-se presente em praticamente

todas as plantas de café, ocorrendo sob três diferentes formas: patogênica que se desenvolve em condições de alta umidade e temperaturas amenas; pouco agressiva considerada sua forma normal para sobrevivência na planta; e a forma saprofítica, na qual podem ser desenvolvidas estruturas que podem ser importantes fontes de inóculo para disseminação.

A interação entre *Colletotrichum* spp. e plântulas de cafeeiro é muito variável, dependendo sobretudo da suscetibilidade do hospedeiro, da variabilidade genética dos isolados e do período necessário para a expressão dos sintomas após inoculação (FERREIRA *et al.*, 2005).

2.2.3 Estudos de patogenicidade de *Colletotrichum* spp. em cafeeiro

Dorizzoto; Abreu, (1993) e Miranda, (2003) realizaram, com êxito, testes de patogenicidade com isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* em cafeeiro. Esses testes foram feitos em hipocótilos, plântulas e em frutos e revelaram variáveis graus de suscetibilidade em função do genótipo estudado. No Brasil, estudos realizados para caracterizar a patogenicidade de *Colletotrichum* spp. em hipocótilos de cafeeiros, mostraram sintomas característicos da doença em torno de 15 a 30 dias após a inoculação do patógeno (DORIZZOTO, 1993.; NECHET, 1999.; MIRANDA, 2003; DIAS *et al.*, 2005).

A patogenicidade de isolados de *Colletotrichum* spp. em mudas de cafeeiro foi mais agressiva nas cultivares Mundo Novo e Catuaí Vermelho. Em testes de patogenicidade com 10 isolados de *C. gloeosporioides* e 12 cultivares de *Coffea arabica* L., Miranda(2003), confirmou a patogenicidade desses isolados nas cultivares Catucaí Vermelho e Catucaí Amarelo que foram obtidas de sementes de plantas com sintomas foliares da mancha manteigosas, mostrando que existe um fator de suscetibilidade dessas plantas.

Segundo Dorizzoto (1993) a patogenicidade de isolados de *Colletotrichum* spp. em plântulas de café dos genótipos Sarchimor e Catimor. As inoculações foram feitas nos estádios de “palito de fósforo” e

“orelha de onça”, com suspensão de 2×10^6 esporos mL^{-1} e foi analisado o índice da doença. De acordo com resultados, todas as progênies e a linhagem testadas mostraram-se suscetíveis, tanto em plântulas como em frutos verdes. Segundo o autor, aqueles isolados considerados patogênicos foram associados ao agente da mancha manteigosa.

Nguyen et al. (2009) verificaram a capacidade patogênica dos isolados responsáveis pela antracnose do café no Vietnã, observando que esta enfermidade é causada principalmente por *C. gloeosporioides*, entretanto, ressaltam que outras espécies também podem estar envolvidos para agilizar o processo de infecção, especialmente sob deficiência de nutrientes e estresse fisiológico.

Testes de patogenicidade de *Colletotrichum* spp. em frutos de café têm demonstrado que frutos inoculados pelo método de fermento apresentam maior incidência da doença quando comparados a frutos inoculados pelo método sem fermentos (NGUYEN, et al., 2009).

2.2.4 Mancha manteigosa

Wellman (1957) descreveu a mancha manteigosa pela primeira vez, como doença causada por vírus na Costa Rica. Em 1972, foi esclarecido que se tratava de uma doença fúngica que era causada por *Colletotrichum* spp. (VARGAS;GONZALES, 1972).

No Brasil, foi relatada pela primeira vez em 1958, por Bitancourt no Estado de São Paulo, em *Coffea arabica*. Mansk; Matiello(1977) descreveram a doença em *Coffea canephora* no Espírito Santo. Em Minas Gerais foi encontrada no município de Cristais. (DORRIZOTTO; ABREU, 1993).

A mancha manteigosa destaca-se dentro do complexo patossistema *Colletotrichum* x cafeeiro por apresentar-se altamente deletéria, causando a diminuição gradativa na produtividade, devido à morte de hipocótilos, mumificação e abscisão de folhas e frutos, murcha e seca descendente de

ramos plagiotrópicos, culminando com a morte de cafeeiros infectados (FERREIRA *et al.*, 2005).

Os sintomas iniciais da mancha manteigosa ocorrem em folhas novas, com o aparecimento de mancha de cor verde-clara, com aspecto oleoso, menos brilhante que a superfície da folha, medindo de 2 a 10 mm de diâmetro. Em estágios mais avançados, as manchas apresentam coloração verde-pálida a amarela e bordas irregulares. Em último estágio, as manchas coalescem, determinando queda prematura das folhas. (MANSK; MATIELLO, 1977; VARGAS; GONZÁLES, 1972; BITANCOURT, 1958; WELLMAN, 1957). Ataques intensos são observados em folhas e ramos novos em plantas adultas, ocorrendo necrose e seca de ramos na parte apical, podendo levar a morte das plantas de forma descendente (FERREIRA *et al.*, 2009a).

Em estudos histopatológicos, por meio de microscopia eletrônica de varredura em ramos de cafeeiros com sintomas da mancha manteigosa, observou-se, que nos tecidos doentes, houve intensa colonização dos vasos do xilema e floema. Nestas regiões ocorreu um intenso crescimento de hifas, responsáveis pela murcha e morte de ramos (LINS; ALVES; ABREU, 2007; FERREIRA; ABREU; PEREIRA, 2009).

Acredita-se que a transmissão de *C.gloeosporioides* seja via sementes infectadas (CARVALHO *et al.*, 2012; MIRANDA, 2003), pois em lavouras de café aparentemente sadias aparecem plantas isoladas ou pequenas reboleiras de plantas com sintomas foliares da mancha manteigosa. Além disso, abaixo dessas plantas, observa-se a presença de plântulas com sintomas característicos da doença (FERREIRA *et al.*, 2009a). Miranda, (2003) colheu sementes de plantas com sintomas foliares de mancha manteigosa e semeou-as em areia estéril. O autor isolou dessas plântulas o fungo com as mesmas características daquelas observadas em isolados de plantas adultas sintomáticas, sugerindo que a doença é expressa somente em condições especiais de suscetibilidade da planta e ou modificação das condições ambientais.

Carvalho *et al.* (2012) verificaram a influência de *Colletotrichum gloeosporioides* na sanidade, germinação, viabilidade e vigor de sementes de cafeeiro, encontrando resultados que demonstram que o fungo têm influência variável na germinação das sementes e estabelecimento de plântulas, dependendo da suscetibilidade da cultivar utilizada, da presença do pergaminho e do tempo de exposição ao fungo, porém influencia negativamente a viabilidade das sementes.

2.3 Controle de *Colletotrichum gloeosporioides*

2.3.1 Controle Químico de *Colletotrichum gloeosporioides*

Existem vários produtos registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), para controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, em mamão, manga, citros e outras espécies de plantas cultivadas, porém não é encontrado nenhum produto registrado para o uso no cafeeiro contra este patógeno, seja para antracnose ou mancha manteigosa.

Quando se faz a busca na internet, no site do MAPA, por antracnose em cafeeiro, o agente etiológico é *Colletotrichum coffeanum* F. Noack. Para esse agente encontram-se registrados 15 produtos no MAPA, sendo 13 cúpricos, um ditio-carbamato e um formado por mistura dos dois. O principal ingrediente ativo dos produtos cúpricos registrados nesse patossistema é oxiclureto de cobre.

Em trabalho realizado por Ferreira *et al.* (2009b) o tetraconazol foi o fungicida que determinou maior inibição de crescimento micelial, além da menor concentração mínima inibitória. Já o chlorotalonil, em relação à inibição da germinação, foi o fungicida que apresentou melhor desempenho, enquanto que, os fungicidas mancozebe e triadimenol apresentaram baixa eficiência na inibição da germinação de *C. gloeosporioides*.

Em trabalho realizado em campo de produção de café, os fungicidas chlorotalonil e triadimenol, foram os que proporcionaram os melhores resultados de eficiência, porém sem o controle satisfatório da mancha

manteigosa. Quando se compararam produções de plantas doentes com as de plantas saudáveis, verifica-se uma acentuada diferença (cerca de 95%). (FERREIRA *et al.*, 2009a)

Como não existem fungicidas registrados no MAPA para o uso no patossistema *Colletotrichum gloeosporioides* x cafeeiro, outros meios de controle como cultural, físico e biológico surgem como alternativas para a mancha manteigosa.

2.3.2 Controle Biológico

Baker e Cook (1974) definem controle biológico como a redução da densidade de inóculo ou das atividades determinantes da doença provocada por um patógeno ou parasita nos seus estados de atividade ou dormência, por um ou mais organismos, realizado naturalmente ou através da manipulação do ambiente, hospedeiro ou antagonista, ou pela introdução em massa de um ou mais antagonistas.

Devido a pressão da sociedade pela preservação ambiental existe uma busca por produtos que provocam menos impacto a natureza, conseqüentemente menor quantidade de resíduos nos alimentos. Assim o controle biológico passa a ser uma alternativa para atender a exigência do mundo atual.

Levando-se ainda em consideração os custos financeiros envolvidos no uso de fungicidas, assim como as crescentes restrições à presença de resíduos, se faz necessário o estudo de novas alternativas, como o controle biológico, alternativa importante e tecnicamente justificável (FUGA; GONÇALVES; CUNHA, 2011; KUPPER; GIMENES-FERNANDES; GOES, 2003)

A diversidade de microrganismos, bem como suas relações antagônicas são condições importantes para o controle biológico aplicado. Em relação a antagonistas bacterianos, há prevalência dos gêneros *Pseudomonas* (*Pseudomonas putida* e *P. fluorescens*), *Bacillus* e *Streptomyces*, (SILVA *et al.*, 2008). Em especial, o *Bacillus* spp. se destaca

por formar endósporos e apresentar uma multiplicidade de mecanismos antagônicos. Também a produção de antibióticos é característica de algumas leveduras que têm-se mostrado efetivas no controle *in vitro* e *in vivo* (BETTIOL; MORANDI, 2009). O potencial antagônico das leveduras foi verificado pela primeira vez nos anos 1980, apresentando redução do crescimento e esporulação de alguns fitopatógenos (PUNJA; UTKHEDE, 2003).

Existem diversos fungos que apresentam características interessantes para serem agentes de controle biológico, porém não são tão estudados, necessitando assim de maiores esclarecimentos a respeito do seu potencial antagonista. Para que possa ocorrer uma mudança neste cenário, é imprescindível a busca e a utilização de microrganismos que possuem características desejáveis para atuação em diversos patossistemas.

2.3.3 Controle Biológico aplicado ao gênero *Colletotrichum*

Carvalho *et al.* (2005) utilizando filtrados derivados de culturas de rizobactérias, obtiveram bons resultados em testes *in vitro* na inibição de *C. gloeosporioides*, porém em mudas de cafeeiro sua ação antifúngica em relação à mancha manteigosa não foi satisfatória.

De acordo com Fuga; Gonçalves; Cunha, (2011) alguns isolados de *Bacillus spp.*, tiveram efeito inibitório sobre o crescimento de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente da antracnose em frutos de mamão. Já Kupper; Gimenes-Fernandes; Goes, (2003) trabalharam com *C. acutatum*, causador da podridão floral dos citros, conseguiram resultados satisfatórios na inibição *in vitro* e no controle em campo utilizando isolados de *Bacillus spp.*

Kefialew e Ayalew, (2008), realizaram trabalho com *Bacillus* visando controlar *C. gloeosporioides* em frutos de mangueira, conseguiram resultados que demonstraram que o agente de controle biológico consumia os nutrientes presentes na superfície do fruto, o que impedia a germinação do fungo, deixando ele inviável.

No Quênia, Nonoh *et al.*, (2010) isolaram espécies de *Streptomyces spp.*, e em testes *in vitro*, uma das espécies demonstrou ser eficiente na inibição micelial de *Colletotrichum kahawae*, agente causador da Coffee Berry Disease em café. Não são conhecidos microrganismos conhecidos atuantes no controle biológico em *Colletotrichum gloeosporioides*, agente da mancha manteigosa em cafeeiro.

2.4 Fungos sapróbios

Um fungo é classificado como sapróbio quando tem a capacidade de obter alimento, através de matéria orgânica morta, decompondo organismos. Por apresentarem esta característica fungos sapróbios podem ser utilizados no manejo de doenças em plantas.

Os fungos sapróbios podem utilizar vários mecanismos de ação isoladamente ou de forma simultânea, para exercer controle tais como, micoparasitismo, produção de antibióticos ou enzimas, competição por nutrientes ou por espaço, além de induzir defesas da planta hospedeira.

A seguir segue a lista com os fungos sapróbios, utilizados nesse trabalho, que fazem parte do projeto de Bioprospecção de fungos sapróbios no semi-árido nordestino para o controle de doenças infecciosas em plantas: indução de resistência (SISBIOTA), estes fungos estão depositados na Coleção de Microrganismos da Bahia (CMBA), aos cuidados do Professor Luís Fernando Pascholati Gusmão da Universidade Estadual de Feira de Santana.

2.4.1 Chloridium virescens var. virescens

Foi classificado por (Pers. ex Pers.) W. Gams & Hol.-Jech. 1976 . A colônia tem um crescimento lento, apresenta coloração castanho-claro a castanho-escuro. Micélio superficial, hifas hialinas e abundante esporulação na superfície do meio. Possui conídios asseptados e unicelulares,

subgloboso. O fungo que foi utilizado neste trabalho foi isolado no município de Morro do Chapéu, Bahia, Brasil.

2.4.2 *Curvularia eragrostidis*

Foi classificado por (Henn.) J.A. Mey. (1959). A colônia tem um crescimento rápido, coloração de verde-escuro a castanho. Micélio aéreo com aspecto cotonoso, hifas castanho-claras, onde ao longo destas, surge a esporulação castanha-escura. No prazo de 12 dias o fungo cobre totalmente uma placa Petri de 6 cm. de diâmetro. Possui conídios com três septos, células centrais mais escuras, células das extremidades claras, lisos, septo do meio muitas vezes mais grosso e escuro. O fungo que foi utilizado neste trabalho foi isolado da Serra da Jibóia, localizada no município de Santa Terezinha, Bahia, Brasil.

2.4.3 *Dictyochaeta obesispora*

Foi classificado por S. Hughes & W.B. Kendr. Whitton, McKenzie & K.D. Hyde (2000). A colônia tem um crescimento moderado, apresenta uma coloração castanha claro a escuro. Micélio parcialmente aéreo com hifas hialinas que aparecem na superfície do meio em uma mucilagem de cor castanho claro. Possui conídios asseptados e unicelulares com apêndice e sétula, agregados em mucilagem. O fungo que foi utilizado neste trabalho foi isolado na cidade de Senhor do Bonfim, Bahia, Brasil.

2.4.4 *Memnoniella echinata*

Foi classificado por (Rivolta) Galloway 1933. A colônia tem um crescimento moderado, apresenta uma coloração verde escuro a negro. Micélio parcialmente aéreo, com exsudado, podendo apresentar hifas hialinas ao redor da cultura com predominância da esporulação de cor verde escuro a negro. Possui conídios asseptados e unicelulares em cadeias, globosos, ornamentados, não em mucilagem. O fungo que foi utilizado neste trabalho foi isolado na microregião de Seridó, Rio Grande do Norte, Brasil.

2.4.5 *Phialomyces macrosporus*

Foi inicialmente descrito por Misra e Talbot (1964) como um hifomiceto, caracterizado por hifas hialinas e conídios asseptados, geralmente subglobosos a levemente elipsóides, limoniformes, biapiculados, verruculosos, pretos, conídios formados em cadeia e separados por um conectivo. A colônia tem um crescimento moderado, apresenta uma coloração verde oliva a negro. Micélio parcialmente aéreo predominância da esporulação de cor verde oliva a negro. O fungo que foi utilizado neste trabalho foi isolado no município de Buíque, Pernambuco, Brasil.

2.4.6 *Pithomyces chartarum*

Foi classificado por (Berk. & M.A. Curtis) M.B. Ellis (1960). A colônia tem um crescimento moderado, apresenta uma coloração verde oliva a negro. Micélio parcialmente aéreo, com poucas hifas hialinas e predominância da esporulação de cor verde oliva a negro. Possui conídios septados transversal e longitudinalmente, ovais, as células do meio geralmente são mais escuras e divididas por septos longitudinais. O fungo que foi utilizado neste trabalho foi isolado no Parque Nacional de Serra das Confusões, Piauí, Brasil.

2.4.7 *Sarcopodium circinatum*

Foi classificado por Ehrenberg (1818). A colônia tem um crescimento moderado, apresenta uma coloração rosada quando jovem e castanho quando madura. Micélio parte superficial, em parte imerso, presença de estromas e setas. Esporulação surge em uma massa mucilaginosa. Possui conídios asseptados e unicelulares, cilíndricos, hialinos, lisos, gutulados. Agregados em uma massa mucilaginosa. O fungo que foi utilizado neste trabalho foi isolado no município de Buíque, Pernambuco, Brasil.

2.4.8 *Stachybotrys nephrospora*

Foi classificado por Hansf. (1943). A colônia tem um crescimento moderado, no início apresenta cor castanho escuro e com decorrer do tempo o centro fica negro. Micélio aéreo, com exsudado, hifas hialinas e com o passar do tempo surge à esporulação negra. Possui conídios asseptados e unicelulares, ornamentados em forma de rim, agregados em mucilagem. O fungo que foi utilizado neste trabalho foi isolado na região de Dunas de São Francisco, Bahia, Brasil.

2.4.9 *Thozetella cubensis*

Foi classificado por Castañeda & G.R.W. Arnold (1985). A colônia tem um crescimento lento, apresenta uma coloração verde escuro. Micélio parcialmente aéreo com hifas hialinas e a esporulação surge na superfície do meio formando um esporodóquio de cor castanho-claro e massa de conídios hialina, possui conídios asseptados, unicelulares, lisos, hialinos, falcados a lunados, com uma sétula em cada extremidade. O fungo que foi utilizado neste trabalho foi isolado na cidade de Senhor do Bonfim, Bahia, Brasil.

2.4.10 *Thozetella submersa*

Foi classificado por F.R. Barbosa & Gusmão (2011). A colônia tem um crescimento lento, apresenta uma coloração verde escuro e ao centro castanho claro. Micélio parcialmente aéreo, hifas hialinas e a esporulação surge na superfície do meio formando uma massa de conídios castanho claro, possui conídios asseptados, unicelulares, hialinos, lisos, gutulados, lunados, com uma sétula em cada extremidade, presença de células estéreis. O fungo que foi utilizado neste trabalho foi isolado da Serra da Jibóia, localizada no município de Santa Terezinha, Bahia, Brasil.

REFERÊNCIAS

- ABIC-ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE CAFÉ. **Desempenho da Produção e Consumo Interno Período Novembro/2011 a Outubro/2012**. Disponível em: <<http://www.abic.com.br>>. Acesso em: 15 fev. 2013.
- ALVES, E.; CASTRO, H. A. Fungos associados ao café (*Coffea arabica* L.) nas fases de pré e pós-colheita em lavouras da região de Lavras. **Summa phytopathologica**, Botucatu, v. 24, n.1, jan/ mar. 1998.
- BAKER, K. F.; COOK, R. J. **Biological control of plant pathogens**. San Francisco: W. Freeman, 1974. 433 p.
- BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Ed.). **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009, 341 p.
- BETTIOL, W. Biocontrole na fitosfera: problemas e perspectivas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 5, p. 59-97, 1997.
- BITANCOURT, A. A. As manchas da folha do cafeeiro. **O Biológico**, São Paulo, v. 24, n. 10, p. 191-201, out. 1958.
- CANNON, P.F.; BRIDGE, P.D.; MONTE, E. Linking the past, present and future of *Colletotrichum* systematics. In.: *Colletotrichum: Host Specificity, Pathology, and Host- Pathogen Interaction*. **American Phytopathological Society**, St Paul, MN. 2000.
- CARVALHO, G. A. et al. Efeito *in vitro* e *in vivo* de filtrados de rizobactérias sobre *C. gloeosporioides* Penz. do cafeeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, vol.29 Lavras. 2005
- CARVALHO, H. P. et al. Efeito de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz, agente etiológico da mancha manteigosa, na germinação e viabilidade de sementes de cafeeiro. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 34, p. 264 - 271, 2012

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO.
Acompanhamento da safra brasileira de café: primeira estimativa – janeiro/2013. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 15 fev. 2013.

DIAS, M.D. et al. Efeito da temperatura no crescimento micelial, produção e germinação de conídios de *Colletotrichum* spp. isolados de *coffea arabica* **Ciência e Agrotecnologia**, v. 29, , maio/jun., 2005 p. 545-552

DORIZZOTTO, A. **Caracterização morfológica e patogenicidade de *Colletotrichum* spp. associados a cafeeiros (*Coffea arabica* L.) em dois municípios de Minas Gerais.** 1993. 66 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1993

DORIZZOTO, A.; ABREU, M. S. Caracterização cultural e morfológica de *Colletotrichum coffeanum* NOACK e *Colletotrichum gloeosporioides* PENZ. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 26., 1993, Aracajú. **Anais...** Brasília: SBF, 1993. p. 306.

FERREIRA, J. B.; ABREU, M. S.; PEREIRA, I. S. Análise da dinâmica, estrutura de focos e arranjo espacial da mancha manteigosa em campo. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 1, p. 24-30, jan./fev. 2009.

FERREIRA, J. B. et al. Efeito de fungicidas e influência de fatores climáticos sobre a mancha manteigosa no cafeeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, n. 2, p. 417-424, mar./abr. 2009a.

_____. Efeito de fungicidas no controle da seca de ramos do cafeeiro (*C. arabica* L.) com mancha manteigosa (*Colletotrichum* spp.). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30, p. 111-111, ago. 2005.

_____. Sensibilidade de *Colletotrichum gloeosporioides* (mancha manteigosa do cafeeiro) a diferentes concentrações de fungicidas. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, p. 2052-2058, 2009b. Edição especial.

FUGA, C. A. G.; GONÇALVES, D. C.; CUNHA, W. V. Inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* por *Bacillus* spp. “in vitro”. **Perquirere**. Patos de Minas: UNIPAM, vol. 1, n. 8, , 2011

GONZÁLEZ, E.; SUTTON, T. B. Differentiation of Isolates of *Glomerella cingulata* and *Colletotrichum* spp. Associated with Glomerella Leaf Spot and Bitter Rot of Apples using Growth rate, Response to temperature, and Benomyl sensitivity. **Plant Health Progress**, v. 29, p. 433 - 436, 2005.

KEFIALEW, Y; AYALEW, A. Postharvest biological control of anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) on mango (*Mangifera indica*). **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam v. 50, p. 8–11, 2008.

KUPPER, K.C.; GIMENES-FERNANDES, N.; GOES, A. de. Controle biológico de *Colletotrichum acutatum*, agente causal da queda prematura dos frutos cítricos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n.3, p. 251-257, 2003.

LINS, S. R. O.; ALVES, E.; ABREU, M. S. Estudos histopatológicos de *Colletotrichum* spp. em plântulas de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 6, p. 488-495, nov./dez. 2007.

LOPEZ, A. M. Q. Taxonomia, patogênese e controle de espécies do gênero *Colletotrichum* in **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo.v. 9, p. 291- 339, 2001.

LUCON, C. M. M. et al. Efeito de extratos de diferentes plantas no crescimento miceliano de fitopatógenos. **Instituto Biológico**, São Paulo, v. 67, p. 1-145, 2000. Suplemento.

MATIELLO, J. B. et al. **Cultura de café no Brasil: novo manual de recomendações**. Rio de Janeiro: Fundação PROCAFÉ, 2002. 387 p.

MANSK, Z.; MATIELLO, J. B. Ocorrência de mancha manteigosa em café “Conilon” (*Coffea canephora*, Pierre) no Estado do Espírito Santo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 5., 1977, Guarapari, Espírito Santo. **Resumos...** Guarapari: IBC/GERCA, 1977. p. 172-173.

MEDICE, R. et al. Óleos essenciais no controle da ferrugem asiática da soja *Phakopsora pachyrhizi* H. Syd. & P. Syd. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 1, p. 83-90, jan./fev., 2007.

MENEZES, M. Aspectos biológicos e taxonômicos de espécies do gênero *Colletotrichum*. **Fitopatologia brasileira**, v. 27 (suplemento): S23, 2002.

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, 2003.

MIRANDA, E. F. O. et al. Transmissão de *Colletotrichum* spp. por sementes de café arábica (*Coffea arabica*). In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PATOLOGIA DE SEMENTES, 7., 2002, Sete Lagoas. **Anais...** Sete Lagoas: EMBRAPA, 2002. p. 93.

MISHRA, A.; SIRADHANA, B.S. Studies on the survival of sorghum anthracnose (*Colletotrichum graminicola*) pathogen. **Phillippine Agriculture** v. 62, p. 149-152. 1979.

MISRA P. C; TALBOT P.H.B. *Phialomyces*, a new genus of the Hyphomycetes. **Can J Bot** 42:1287-1290. 1964

MUNAUT, F. et al. Genetic relationships among isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* from *Stylosanthes* spp. in Africa and Australia using RAPD and ribosomal DNA markers. **Plant Pathology**, v.47, n.5, p.641-648. 1998.

NECHET, K. L. **Caracterização biológica e isoenzimática de isolados de *Colletotrichum* sp. em cafeeiro (*Coffea arabica* L.)**. 1999. 73 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia). – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

NGUYEN, T. H. P. et al. Variation among *Colletotrichum gloeosporioides* isolates from infected coffee berries at different locations in Vietnam. **Plant Pathology**, Oxford, v. 58, n. 5, p. 898-909, Oct. 2009.

NONOH, J.O. et al. Isolation and characterization of *Streptomyces* species with antifungal activity from selected national parks in Kenya. **African Journal of Microbiology Research** Vol. 4(9), pp. 856-864, Nairobi, Kenya. 2010

PARADELA FILHO, O. et al. **O complexo *Colletotrichum* do cafeeiro**. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, 2001. 11 p. (Boletim Técnico IAC, 191).

PARESQUI, L. **Patogenicidade de *Colletotrichum gloeosporioides* PENZ ao cafeeiro (*Coffea arabica* L.)**. 2003. 44 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2003.

PASIN, L.A.A.P.; ALMEIDA, J.R.; ABREU, M.S. Fungos associados a grãos de cinco cultivares de café (*Coffea arabica* L.). **Acta Botanica Brasilica**, v.23, n.4, p.1129-1132, 2009.

PASIN, L. A. A. P.; ABREU, M. S.; SOUZA, I. P. Influence of the fungi population on the physicochemical and chemical composition of coffee (*Coffea arabica* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 31, n. 3, p. 681-687, 2011.

PUNJA, Z. K.; UTKHEDE, R. S. Using fungi and yeasts to manage vegetable crop diseases. **Trends in Biotechnology**, v. 21, n. 9, p. 400-407, 2003.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. S. Uso de plantas medicinais no controle de doenças de plantas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 6, p. 554-556, ago. 2003.

SILVA, J. R. C. et al. Bacterias endofíticas no controle e inibicao in vitro de *Pseudomonas syringae* pv. tomato, agente da pinta bacteriana do tomateiro. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 4, p. 1062-1072, jul./ago. 2008.

SUTTON, B.C. The gennus *Glomerella* and its anamorph. In: *Colletotrichum: Biology, pathology and control*. England, **CAB international Wallingford**, p. 1-26, 1992.

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

WALLER, J. M. et al. Characterization of the coffee berry disease pathogen, *Colletotrichum kahawae* sp. nov. **Mycological Research**, Cambridge, v. 97, n. 8, p. 989-994, 1993.

WELLMAN, F. L. Blister spot of arabica coffee from virus in Costa Rica. **Turrialba**, San José, v. 7, n. 4, p. 116-115, oct./dic. 1957.

CAPITULO 2 Seleção de fungos sapróbios no controle de *C. gloesporioides* in vivo e in vitro

RESUMO

A mancha manteigosa vem, cada vez mais, preocupando os produtores e se torna necessário conhecer as medidas alternativas de controle para essa doença, já que não existem produtos químicos registrados para seu controle. Uma opção é a utilização de microrganismos para controle. Para verificar o controle de *Colletotrichum gloeosporioides* por fungos sapróbios, mudas de cafeeiro foram tratadas com fungos sapróbios e sete dias após o tratamento foram inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides*. Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Diagnose e Enfermidades Fúngicas em Plantas e na casa de vegetação do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras. O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados. Os fungos, *Memnoniella echinata*, *Chloridium virescens* var *chlamydosporium* e *Phialomyces macrosporus* proporcionaram, respectivamente, a área abaixo da curva de progresso da doença de 52, 49 e 42%. Com *Phialomyces macrosporus* foram realizados três testes in vitro. Em cultura pareada com *Colletotrichum gloeosporioides*, foi observada a redução do diâmetro final da colônia do patógeno em três meios. Em MEA, a redução foi de 75%. No teste de Cruz de Malta, *Phialomyces macrosporus* mostrou fraco poder de inibição a *Colletotrichum gloeosporioides*. No teste de compostos voláteis foram utilizados três combinações de meio, em placas de poliestireno, divididas ao meio, utilizando CMA para cultivo do fungo sapróbio e MEA para cultivo do patógeno. Houve redução de 57% no IVC e 42,5% na esporulação do patógeno em comparação com a testemunha. *Phialomyces macrosporus* mostrou efetivo controle em *Colletotrichum gloeosporioides*, tanto in vivo, quanto in vitro.

Palavras-chave: Mancha manteigosa. Severidade. Controle. *Coffea arabica*.

ABSTRACT

The blister spot comes increasingly worrying producers and becomes necessary to know the alternative measures to control this disease, since there are no chemicals registered for their control. An alternative is the use of microorganisms for control. To verify control *Colletotrichum gloeosporioides* by saprobe fungi, coffee seedlings were treated with saprobe fungi and seven days after treatment were inoculated with *Colletotrichum gloeosporioides*. The experiments were carried out in the Laboratory Diagnosis and Fungal Diseases in Plants and in the greenhouse of the Department of Plant Pathology, Federal University of Lavras. The experimental design was randomized blocks. Fungi *Memmoniella echinata*, *Chloridium virescens var chlamydosporium* and *Phialomyces macrosporus* presented 52, 49 e 42%, respectively, in area under disease progress curve. With *Phialomyces macrosporus* three tests were performed in vitro. In paired culture with *Colletotrichum gloeosporioides*, the final diameter of the colony of the pathogen was reduced in three culture media, the reduction was 75% in MEA. In the qualitative test Cross malta, *Phialomyces macrosporus* showed weak inhibition power to *Colletotrichum gloeosporioides*. In the test of volatile compounds were used three combinations of medium in polystyrene plates, divided in half, using CMA for cultivation of saprobe and MEA for growing the pathogen, it was reduced by 57% in ISMG and 42.5% in pathogen sporulation compared with the control. *Phialomyces macrosporus* showed effective control *Colletotrichum gloeosporioides*, both in vivo and in vitro.

Keywords: Blister spot. Severity. Control. *Coffea arábica*.

1 INTRODUÇÃO

A preocupação dos produtores de café, em relação à mancha manteigosa tem aumentado nos últimos anos pelo modo que a doença se apresenta nos campo, causando declínio vegetativo e diminuição da produção em plantas afetadas. Pasin, Almeida e Abreu (2009) relataram que em cafeeiros com sintomas da mancha manteigosa a produção é afetada podendo ser nula em algumas plantas.

A busca por métodos de controle deve ser constante em qualquer patossistema, mas em se tratando de mancha manteigosa, é uma necessidade, visto que não existem produtos registrados para seu controle. Além de não existirem produtos químicos registrados a sociedade de forma geral pressiona a cadeia produtiva de alimentos para que se produzam alimentos com a menor porcentagem possível de resíduos de defensivos agrícolas, tendendo ao uso de outros métodos, deixando o controle químico como último recurso, porém a falta de métodos alternativos ao controle químico, acaba fazendo com que ele seja o mais praticado em muitas situações que poderiam ser utilizados outros métodos de controle de doenças, como controle físico, cultural, genético e biológico.

O controle biológico é uma opção que em determinadas situações pode ser utilizado com alta eficácia. As dificuldades de seu uso estão em encontrar e viabilizar agentes para doença existente, pois para cada doença as condições necessárias para que ocorra são distintas. Assim se faz necessário estudar o maior número de possíveis agentes de biocontrole para cada doença de planta.

Fungos sapróbios do semiárido nordestino reúnem características interessantes, como resistência ao déficit hídrico, capacidade de retirar nutrientes de matéria orgânica morta, possibilidade de mais de um mecanismo de ação, possibilidade de produção de molécula a partir desses fungos, essas características credenciam estes fungos como reais candidatos de agentes de controle biológico, merecendo serem testados em relação ao

controle de doenças. Em razão disso o objetivo deste trabalho foi encontrar micro-organismos, que controlem a mancha manteigosa in vivo e identificar mecanismos de ação através de testes in vitro.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Ensaio “in vivo”

2.1.1 Obtenção do isolado de *Colletotrichum* spp. e Teste de patogenicidade e ajuste da suspensão de esporos

Foram coletados folhas e ramos de cafeeiro com sintomas de mancha manteigosa. As amostras foram acondicionadas em sacos de papel e levadas ao Laboratório de Diagnóstico de Doenças em Plantas, do Departamento de Fitopatologia da UFLA. Foram feitas seções dos tecidos infectados e sadios, as quais foram desinfestadas superficialmente com álcool 70% (1 minuto) e hipoclorito de sódio 1% (1 minuto) e lavadas em água destilada por duas vezes; em seguida, transferidas para placa de Petri contendo meio de cultura MEA (extrato de malte-ágar) 2%, e incubadas por sete dias em câmara de crescimento à temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas. Após a constatação de crescimento fúngico foram retirados fragmentos de meio contendo micélio e levados ao microscópio de luz para a identificação do patógeno (SUTTON, 1992). Foi realizado o teste de patogenicidade do isolado e a seguir a obtenção de culturas monospóricas.

2.1.2 Obtenção dos potenciais agentes biocontroladores

Fungos foram isolados de serrapileira no semiárido nordestino, por grupo de pesquisadores do Professor Luís Fernando Pascholati Gusmão da Universidade Estadual de Feira de Santana. Esse grupo isolou e classificou fungos sapróbios da caatinga (GUSMÃO et al., 2008; CRUZ; GUSMÃO, 2009; ALMEIDA; IZABEL; GUSMÃO, 2011). Por suas características acredita-se que possam ser utilizados como potenciais agentes de biocontrole. Os fungos foram crescidos em meio MEA e CMA. Neste trabalho foram utilizados os fungos *Phialomyces macrosporus*, *Dictyochaeta heteroderea*, *Chloridium virescens* var. *virescens*, *Chloridium virescens* var. *chlamydosporium*, *Thozetella submersa*, *Stachybotrys chartarum*, *Sarcopodium circinatum*, *Stachybotrys nephrospora*, *Thozetella cubensis*,

Lappodochium lageniforme, *Memnoniella levispora*, *Diatyochaeta obesiopora*, *Curvularia eragrostidis*, *Pithomyces chartarum*, *Pseudobotrytis terrestris*, *Memnoniella echinata*, *Curvularia inaequalis*, *Gomytrichum clamydosporium*.

2.1.3 Obtenção das mudas de cafeeiro

As mudas da cultivar Catuaí Vermelho foram adquiridas em viveiro localizado em Nepomuceno-MG e foram cultivadas de acordo com o padrão adotado pelos viveiros. Elas foram aclimatadas em casa de vegetação por 30 dias antes dos experimentos.

2.1.4 Controle da doença em mudas de cafeeiro

Para verificar o controle de *Colletotrichum gloeosporioides* por fungos sapróbios, foram aplicados com fungos sapróbios em mudas de cafeeiro e sete dias após foram inoculadas com *Colletotrichum gloeosporioides*.

As mudas de café foram inoculadas com *C. gloeosporioides* quando apresentaram quatro pares de folhas verdadeiras completamente expandidas, em torno de oito meses após a semeadura. Um dia antes da inoculação as mudas foram submetidas a condições de câmara úmida, feita com o auxílio de lona e mantidas em câmara de crescimento à temperatura de 22°C. A pulverização com os fungos sapróbios foi realizada sete dias antes da inoculação de *C. gloeosporioides*.

Os fungos sapróbios foram repicados, a partir de cultura monospórica, em placas de Petri contendo meio MEA e CMA, onde cresceram por 15 dias até a sua aplicação nas plantas. Esses fungos foram aplicados por aspersão, na concentração de $1,0 \times 10^6$ esporos/mL, por meio de um pulverizador de 20 ml. Os fungos foram borrifados até o escorrimento da folha.

O fungo fitopatogênico *Colletotrichum gloeosporioides* foi repicado de cultura monospórica em placas de Petri contendo meio MEA, onde cresceu por sete dias até a sua aplicação nas plantas. A inoculação em mudas de cafeeiro na concentração de $2,0 \times 10^6$ esporos/mL, cuja quantificação foi realizada em câmara de Neubauer. A suspensão de conídios do isolado foi inoculada por aspersão de 100 μ L, com pulverizador manual de 20 ml, na face abaxial das folhas, em locais marcados com o auxílio de discos autocolantes com orifícios de 1,4 cm de diâmetro. Foram inoculadas as quatro folhas verdadeiras, completamente expandidas. Para isso foram feitos ferimentos nos locais da inoculação com o auxílio de um conjunto de agulhas entomológicas para permitir a penetração e colonização do fungo. Posteriormente sobre a área inoculada, colocou-se um disco de papel semipermeável com 1,3 cm de diâmetro, previamente umedecido, formando assim a microcâmara úmida (ABREU, 1988). A qual foi retirada 48 horas após a inoculação. No controle de *C. gloeosporioides* utilizou-se 10 culturas de sapróbios (Tabela 1). Como controle foram utilizadas testemunha sem inoculação e sem ferimentos; testemunha com inoculação e com ferimentos; e testemunha sem inoculação e com ferimentos.

Tabela 1 Tratamentos pulverizados em mudas de cafeeiro sete dias antes da inoculação de *Colletotrichum gloeosporioides*

Tratamentos	Fungo Sapróbio
1	<i>Phialomyces macrosporus</i>
2	<i>Chloridium virescens</i> var. <i>chlamydosporium</i>
3	<i>Thozetella submersa</i>
4	<i>Sarcopodium circinatum</i>
5	<i>Stachybotrys nephrospora</i>
6	<i>Thozetella cubensis</i>
7	<i>Diatyochaeta obesiopora</i>
8	<i>Curvularia eragrostidis</i>
9	<i>Pithomyces chartarum</i>
10	<i>Memmoniella echinata</i>
Testemunha com ferimentos e sem inoculação	-----
Testemunha Inoculada e com ferimentos	-----
Testemunha sem inoculação e sem ferimentos	-----

A eficácia dos sapróbios foi avaliada através da quantificação da severidade da doença foram realizadas aos 5, 10, 15 e 20 dias após a inoculação. Para avaliação da severidade foi utilizada uma escala de notas de Várzea (1995) adaptada por Martins (2008) como descrito na tabela 2.

Tabela 2. Critérios de avaliação do espectro de reação a *Colletorichum* sp. apresentado por plantas de café.

Nota (grau de Severidade / Sintomas sintomas)	
0	Ausência de reação visível
1	Pequenas e poucas (1 a 2) lesões cloróticas ou acastanhadas
2	Mais de 2 lesões acastanhadas ou lesões coalescentes. O diâmetro da lesão excede 0,5 mm
3	Extensas lesões acastanhadas com numerosos pontos pretos ou lesões escuras. Mais de 50% de áreas lesionadas
4	Área totalmente necrosada

A partir desses dados foi determinado o índice da doença (ID), conforme a fórmula proposta por McKinney (1923):

$ID = \sum (F \times V) / (N \times X) \times 100$, em que:

F: número de plantas com determinado grau de sintomas;

V: grau de sintomas;

N: número total de plantas inoculadas;

X: grau máximo de sintomas.

A área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) foi obtida com base nos índices de severidade de acordo com Shaner & Finney (1977), calculados pela fórmula:

$AACPD = \sum [(X_i + X_{i+1})/2](t_{i+1} - t_i)$, em que:

X: intensidade da doença;

t: o tempo;

n: o número de avaliações no tempo;

O delineamento experimental utilizado foi em blocos casualizados, em esquema fatorial 2 (mudas) x 10 (número de tratamentos). A parcela experimental foi composta por duas mudas. Os dados obtidos para

severidade (índice de doença) foram submetidos ao teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o software estatístico Sisvar (FERREIRA, 2000).

2.2 Ensaio in vitro

Para o fungo com melhores resultados no controle “in vivo”, foram realizados testes in vitro, com o objetivo de entender os mecanismos de ação utilizados por esse fungo no controle biológico de *Colletotrichum gloeosporioides*. Foram realizados os testes de cultura pareada, Cruz de Malta e compostos voláteis. O fungo sapróbio utilizado nestes experimentos foi *Phialomyces macrosporus*.

2.2.1 Obtenção do isolado de *Colletotrichum* spp. e Teste de patogenicidade e ajuste da suspensão de esporos

Foi realizada de acordo com metodologia seguida no item 2.1.1.

2.2.2 Obtenção do agente biocontrolador

Foi realizada de acordo com metodologia seguida no item 2.1.2.

2.2.3 Ensaio “in vitro” I Teste de cultura pareada

O teste de cultura pareada dos fungos sapróbios e *Colletotrichum gloeosporioides* foi realizado de acordo com metodologia adaptada de Dennis e Webster (1971), foram utilizadas placas de poliestireno de 90 mm. Em cada placa foram vertidos 20 mL de três diferentes meios, MEA, CMA e BDA. *Phialomyces macrosporus* foi repicado em placas contendo BDA, CMA ou MEA e incubadas por 7 dias a 25°C e fotoperíodo de 12/12 horas. Ao 7º dia, discos do patógeno foram repicados a 7 cm dos sapróbios. Quando a testemunha ocupou toda a placa foi avaliado o tamanho do diâmetro final da colônia do patógeno. O delineamento experimental foi

inteiramente casualizado com 5 repetições, sendo uma placa considerada como unidade experimental.

2.2.4 Ensaio “in vitro” II Teste de Cruz de Malta

Para observação de possível antagonismo entre sapróbio e patógeno foi realizado o teste de Cruz de Malta. Neste ensaio, foram utilizadas placas de poliestireno de 90 mm, contendo 20 mL de meio de cultivo, sendo que, os meios testados foram cenoura, milho e ágar (CMA) e extrato de malte 2% (MEA). Foram depositados quatro discos de micélio de 5 mm em quatro pontos equidistantes, na extremidade da placa. No centro foi depositado um disco de micélio de mesmo diâmetro do fitopatógeno. Como tratamento controle foram utilizadas placas apenas com o patógeno, cujos discos foram dispostos também no centro da placa. (Comunicação pessoal, Prof. Luís Fernando Pascholati Gusmão).

As placas foram mantidas em câmaras tipo B.O.D. em fotoperíodo de 12h e a temperatura de 25° C por sete dias. O delineamento experimental utilizado foi de blocos ao acaso, com quatro repetições.

Após o período de incubação, foi avaliado o comportamento de cada interação entre sapróbio e patógeno, nos dois meios de cultivo, de forma a verificar possível efeito de antibiose.

A escala utilizada compreende notas variando de “+++”, considerado alto grau de antagonismo à “0”, considerado ausência de antagonismo.(Tabela 3)

Tabela 3. Critérios de avaliação do teste de Cruz de Malta.

Nota (grau de sintomas)	Escala de Classificação
Controle	Apenas crescimento do patógeno
0	Sem expressão de antagonismo
+	Baixo grau de antagonismo
++	Médio grau de antagonismo
+++	Elevado grau de antagonismo

2.2.5 Ensaio “in vitro” III Teste de compostos voláteis

Neste ensaio foram utilizadas placas de poliestireno de 90 mm, divididas ao meio. Em um dos lados da placa, foi vertido 10 mL de MEA ou CMA e do outro lado, foram colocados 10 mL de meio de MEA, o qual favorece o crescimento micelial e a esporulação do *Colletotrichum gloeosporioides*. A transferência dos discos de micélio do fungo sapróbio e do fitopatógeno foi realizada no mesmo dia. O tratamento controle consistiu em placas contendo apenas o fitopatógeno em meio MEA ou CMA. As placas foram imediatamente vedadas com filme plástico e mantidas a 26 °C sob fotoperíodo de 12h.

O ensaio foi montado em delineamento blocos ao acaso com quatro repetições por tratamento, sendo cada repetição constituída por uma placa, sendo dois meios de cultivo utilizados neste ensaio. Foi avaliado o crescimento micelial e a esporulação do patógeno. A última avaliação foi realizada cinco dias após a instalação do experimento, quando as colônias de *C. gloeosporioides* do tratamento controle atingiram os bordos, sendo que, o diâmetro da colônia é calculado utilizando-se de duas medições diametralmente opostas da colônia.

Com as medições diárias foi calculado o Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM), por meio da fórmula de Maguire (1962):

$$IVCM = [\Sigma (D - D_a)] / N$$

em que:

D: diâmetro médio atual

Da: diâmetro médio do dia anterior

N: número de dias após a inoculação

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), com cinco repetições e a parcela experimental foi constituída de uma placa. Os dados obtidos foram submetidos ao teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Ensaio “in vivo”

Considerando o Índice de Doenças (ID) todos os tratamentos foram superiores à testemunha inoculada, diferindo estatisticamente desta. A testemunha absoluta e a testemunha com ferimentos, sem inoculação do *Colletotrichum gloeosporioides* e sem aplicação de fungos sapróbios não apresentaram quaisquer sintomas da doença. Os tratamentos com *Phialomyces macrosporus*, *Cloridium virescens* var. *chlamydosporium* e *Memnoniella echinata* demonstraram menores porcentagens, sendo superiores aos demais tratamentos e iguais entre si, sendo seguidos pelos tratamentos com *Curvularia eragrostidis*, *Sarcopodium circinatum*, *Pithomyces chartarum* e *Diatyochaeta obesiopora*, estes sendo seguidos pelos tratamentos com os fungos *Thozetella cubensis*, *Stachybotrys nephrospora* e *Thozetella submersa*, que diferiram estatisticamente apenas a Testemunha inoculada (Gráfico1)

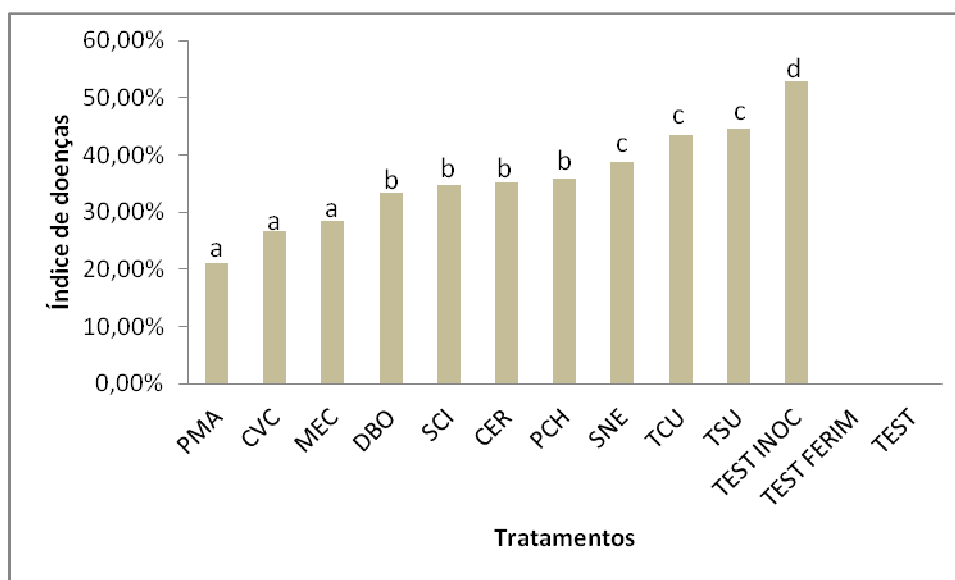


Gráfico 1 Índice de Doença (ID) de *Colletotrichum gloeosporioides*, em folhas de café tratadas com fungos sapróbios. CER: *Curvularia*

eragrostidis; SCI: *Sarcopodium circinatum*; MEC: *Memnoniella echinata*; PCH: *Pithomyces chartarum*; TCU: *Thozetella cubensis*; SNE: *Stachybotrys nephrospora*; CVC: *Chloridium virescens* var. *chlamydosporium*; PMA: *Phialomyces macrosporus*; DOB: *Diatyochaeta obesiopora*; TSU: *Thozetella submersa*; TEST INOC: testemunha inoculada; TEST FERIM: testemunha com ferimentos, não inoculada; TEST: testemunha não inoculada, sem ferimentos. * Percentuais seguidos pela mesma letra pertencem a um mesmo grupo, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. CV= 16,87%.

Pela análise da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), a testemunha absoluta e a testemunha com ferimentos, sem inoculação do *Colletotrichum gloeosporioides* e sem aplicação de fungos sapróbios não apresentaram quaisquer sintomas da doença. *Phialomyces macrosporus* foi o melhor tratamento, apresentando a menor área abaixo da curva de progresso de doença (AACPD), diferindo estatisticamente da testemunha inoculada e dos demais tratamentos, apresentando 42% na AACPD em relação a testemunha. Os fungos *Chloridium virescens* var. *chlamydosporium* e *Memnoniella echinata* apresentaram AACPD maior em relação ao tratamento com *Phialomyces macrosporus*, com 49 e 52%, respectivamente, porém foram superiores aos demais tratamentos e a testemunha inoculada, seguidos pelos tratamentos com *Curvularia eragrostidis*, *Sarcopodium circinatum*, *Pithomyces chartarum* e *Diatyochaeta obesiopora*, que apresentaram redução intermediária a AACPD. Os tratamentos com *Thozetella cubensis* e *Stachybotrys nephrospora* apresentaram baixa redução a AACPD, porém diferindo estatisticamente da testemunha inoculada. O tratamento com *Thozetella submersa* não diferiu estatisticamente da testemunha inoculada (Gráfico 2).

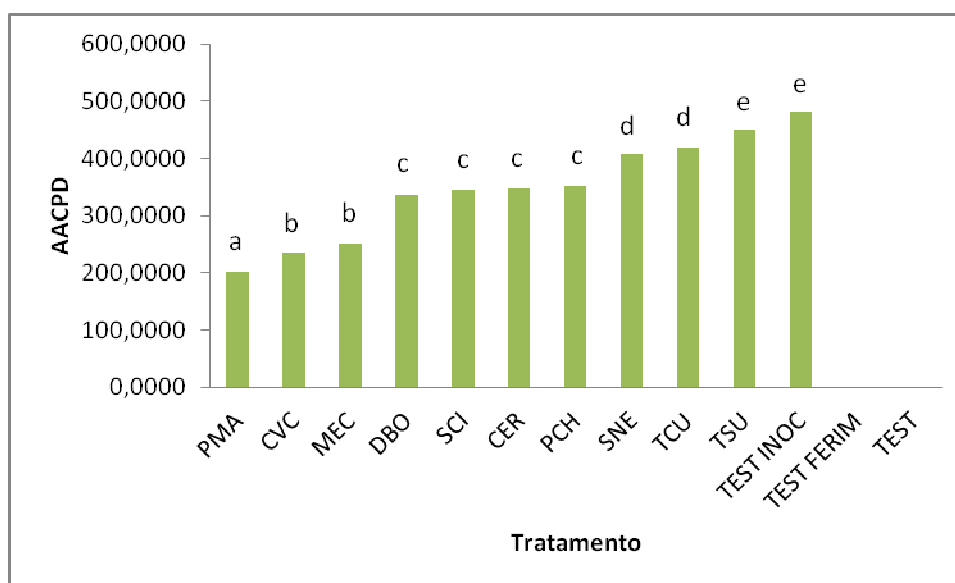


Gráfico 2 Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença (AACPD) de *Colletotrichum gloeosporioides*, em folhas de café tratadas com fungos sapróbios. CER: *Curvularia eragrostidis*; SCI: *Sarcopodium circinatum*; MEC: *Memmoniella echinata*; PCH: *Pithomyces chartarum*; TCU: *Thozetella cubensis*; SNE: *Stachybotrys nephrospora*; CVC: *Cloridium virescens* var. *chlamydosporium*; PMA: *Phialomyces macrosporus*; DOB: *Diatyochaeta obesiopora*; TSU: *Thozetella submersa*; TEST INOC: testemunha inoculada; TEST FERIM: testemunha com ferimentos, não inoculada; TEST: testemunha não inoculada, sem ferimentos. * Percentuais seguidos pela mesma letra pertencem a um mesmo grupo, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. CV= 9,51%.

Ao iniciar um experimento em busca de um agente de controle biológico ou indutor de resistência, a realização do *screening* é o passo mais crítico, pois em algum momento pode-se descartar microrganismos que poderiam ser utilizados como biocontroladores, porém em determinada situação falharam. Há diversos relatos na literatura quanto a vários gêneros apresentados como microrganismos antagonistas, como *Trichoderma*, *Gliocladium*, *Bacillus* e *Streptomyces* (ŽIVKOVIĆ et al. 2010). Todavia,

não foram encontradas referências aos fungos utilizados neste trabalho, sendo assim não existem estudos relacionados a estes microrganismos na literatura.

O fungo *Phialomyces macrosporus* foi o tratamento que apresentou maior redução na severidade da doença, tanto no Índice de doenças, quanto na AACPD. Este fungo apresentou AACPD de 42% e ID de 21%, interferindo assim na evolução da severidade da doença e ainda foi o que apresentou menor severidade na última avaliação feita 20 dias após a inoculação do *Colletotrichum gloeosporioides*.

Os fungos *Chloridium virescens* var. *chlamydosporium* e *Memnoniella echinata* foram juntamente com o *Phialomyces macrosporus* os tratamentos que apresentaram maior redução na severidade final da doença, em relação ao Índice de doenças, porém na AACPD eles apresentaram-se abaixo do *Phialomyces macrosporus*, e superiores aos demais fungos e à testemunha inoculada. *Chloridium virescens* var. *chlamydosporium* apresentou AACPD de 49% e ID de 26,5%. Já *Memnoniella echinata* apresentou AACPD de 52% e ID de 28%.

Diatyochaeta obesiopora, *Sarcopodium circinatum*, *Curvularia eragrostidis* e *Pithomyces chartarum* apresentaram-se como redutores intermediários tanto na AACPD, quanto no ID, assim interferiram na severidade da doença, mas não tanto quanto os tratamentos com *Phialomyces macrosporus*, *Chloridium virescens* var. *chlamydosporium* e *Memnoniella echinata*. *Diatyochaeta obesiopora* apresentou AACPD de 70% e ID de 33,3%, *Sarcopodium circinatum* apresentou AACPD de 71,5% e ID de 35%, *Pithomyces chartarum* apresentou AACPD de 73 % e ID de 36 % e *Curvularia eragrostidis* apresentou AACPD de 72% e ID de 35%.

Stachybotrys nephrospora, *Thozetella cubensis* e *Thozetella submersa* foram os tratamentos que menos reduziram a AACPD e o ID. Em relação ao ID de doenças os três fungos foram superiores à testemunha inoculada e iguais entre si, porém em relação a AACPD o fungo *Thozetella submersa* não diferiu da testemunha, enquanto os outros dois foram

superiores a ele e à testemunha inoculada. Isso demonstra que este fungo interferiu na severidade final da doença, porém não foi capaz de interferir na evolução da doença. *Stachybotrys nephrospora* apresentou AACPD de 85 % e ID de 39 %, *Thozetella cubensis* apresentou AACPD de 87 % e ID de 43,5 % e *Thozetella submersa* apresentou AACPD de 93,5 % e ID de 44,5 %.

3.2 Ensaio “in vitro”

3.2.1 Ensaio “in vitro” I Teste de cultura pareada

Os tratamentos em que *Phialomyces macrosporus* e *Colletotrichum gloeosporioides* foram cultivados em CMA e MEA, foram considerados os melhores tratamentos, diferindo estatisticamente dos demais. Houve redução de 75% no diâmetro final da colônia do fitopatógeno em MEA e de 70 % em CMA. O tratamento com meio BDA foi inferior ao CMA e MEA, porém foi superior às testemunhas, apresentando redução de 66% no diâmetro final da colônia do fitopatógeno em relação a testemunha. *Phialomyces macrosporus* demonstrou grande velocidade de crescimento micelial, tomando toda a placa e inibindo completamente o crescimento de *Colletotrichum gloeosporioides*, após quatro dias da repicagem.

Atividades de biocontrole foram constatadas em ensaios *in vitro* envolvendo *Trichoderma viridae* e *Beauveria bassiana* contra *Colletotrichum gloeosporioides* (GHOSH; CHAKRABORTY, 2012). Porém *Phialomyces macrosporus* nunca foi testado antes contra *Colletotrichum gloeosporioides*.

Nos primeiros dias houve crescimento de *Colletotrichum gloeosporioides* e de *Phialomyces macrosporus*, indicando competição por espaço e nutrientes. Porém após três dias, *Phialomyces macrosporus* conseguiu tomar a placa toda, além disso foi capaz de crescer e esporular em cima do micélio de *Colletotrichum gloeosporioides*, consumindo o patógeno, indicando que houve micoparasitismo.

Quatro dias após a repicagem, em todos os meios testados houve redução do diâmetro final da colônia de *Colletotrichum gloeosporioides*,

sendo que todos os tratamentos diferiram estatisticamente das testemunhas, demonstrando assim o poder de competição de *Phialomyces macrosporus*.(Gráfico 3)

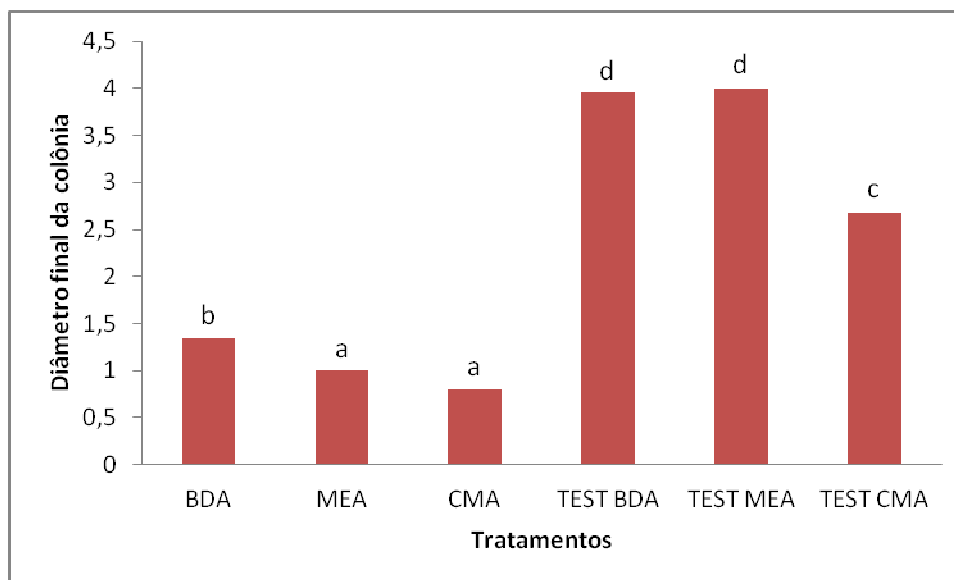


Gráfico 3- Diâmetro final da colônia de *Colletotrichum gloeosporioides* em cultura pareada com *Phialomyces macrosporus*. BDA: cultura pareada de *Colletotrichum gloeosporioides* com *Phialomyces macrosporus* em meio BDA. MEA: cultura pareada de *Colletotrichum gloeosporioides* com *Phialomyces macrosporus* em meio MEA. CMA: cultura pareada de *Colletotrichum gloeosporioides* com *Phialomyces macrosporus* em meio CMA. TEST BDA: crescimento de *Colletotrichum gloeosporioides* em meio BDA. TEST MEA: crescimento de *Colletotrichum gloeosporioides* em meio MEA. TEST CMA: crescimento de *Colletotrichum gloeosporioides* em meio CMA.* Médias seguidas pela mesma letra pertencem a um mesmo grupo, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. CV= 7.39%.

Rocha (1997), utilizando espécies de *Trichoderma* para controle biológico de *C. gloeosporioides*, em maracujazeiro, observou a ocorrência de sobreposição das colônias e redução da esporulação de *C. gloeosporioides* por diferentes isolados de *Trichoderma*. Moretto; Gimenes-Fernandes;

Santos, (2001), estudando in vitro isolados de *Trichoderma* spp. contra *C. acutatum*, agente causal da queda prematura dos frutos cítricos, verificaram que isolados de *Trichoderma* inibiram o crescimento micelial de *C. acutatum* quando pareados em meio de cultura.

De acordo com Rocha; Oliveira; Menezes (1998) o antagonista pode apresentar maior esporulação sobre o patógeno, devido a um estímulo do próprio hospedeiro, sendo uma característica vantajosa para o antagonista na disputa da colonização da área, podendo assim vencer o patógeno na competição, por espaço ou por nutrientes. A atenuação do crescimento micelial e redução da esporulação do patógeno podem ser devidas ao micoparasitismo direto pelos antagonistas ou produção de antibióticos que podem interferir no desenvolvimento do fitopatógeno (BELL; WELLS; MARKHAM, 1982).

Kefialew e Ayalew (2008) utilizando *Bacillus* para controlar *Colletotrichum gloeosporioides* em frutos de manga, encontraram resultados que demonstraram que o agente biocontrolador consumia os nutrientes que estavam presentes na superfície do fruto, sem danificá-lo, impedindo a germinação do patógeno, tornando-o inviável, incapaz de causar a antracnose. É importante entender os mecanismos que o fungo biocontrolador utiliza, para poder utilizá-lo em outras situações e outras doenças e culturas, para poder viabilizar a produção de um produto à base deste biocontrolador.

3.2.2 Ensaio “in vitro” II Teste de Cruz de Malta

Houve inibição fraca do crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* por *Phialomyces macrosporus*. O halo de inibição formado foi pequeno. Por se tratar de um fungo com crescimento acelerado, *Phialomyces macrosporus* demonstrou poder em ocupar a placa com maior rapidez que *Colletotrichum gloeosporioides*.(Figura 1)

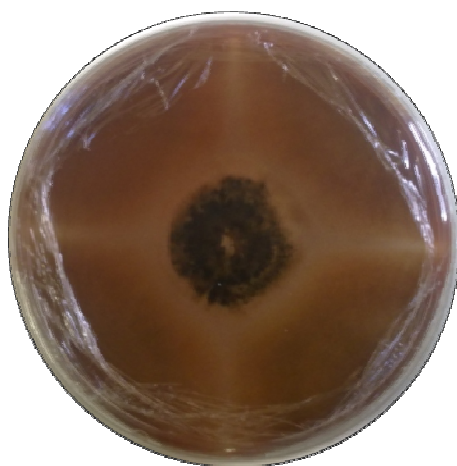


Figura 1– Teste da Cruz de Malta de *Phialomyces macrosporus* contra *Colletotrichum gloeosporioides*.

Acredita-se que o baixo halo de inibição deva-se a velocidade de crescimento dos fungos envolvidos, assim poderia ser maior a inibição caso o *Phialomyces macrosporus* fosse colocado algum tempo após o *Colletotrichum gloeosporioides* para crescimento na placa e não simultaneamente, como foi feito.

3.2.3 Ensaio “in vitro” III Teste de compostos voláteis

Em meio CMA houve menor produção de esporos, porém em comparação com a testemunha, contendo somente esse meio, sem *Phialomyces macrosporus* houve redução de apenas 15%, indicando que o meio não favorece a esporulação de *Colletotrichum gloeosporioides*. Quando *Phialomyces macrosporus* foi cultivado em MEA, houve inibição da esporulação em relação à testemunha, causando redução de 32,5%, porém a inibição foi maior quando o biocontrolador foi cultivado em CMA e o patógeno em MEA, onde houve redução de 58% na esporulação do

patógeno. Essa variação de resposta dependente do meio utilizado indica que a produção de voláteis é influenciada pelo meio em que o agente produtor é cultivado.(Gráfico 4)

Houve diferença de resultados, para diferentes meios, indicando que a produção de compostos voláteis por *Phialomyces macrosporus* é influenciada pelo meio em que o fungo se desenvolve.

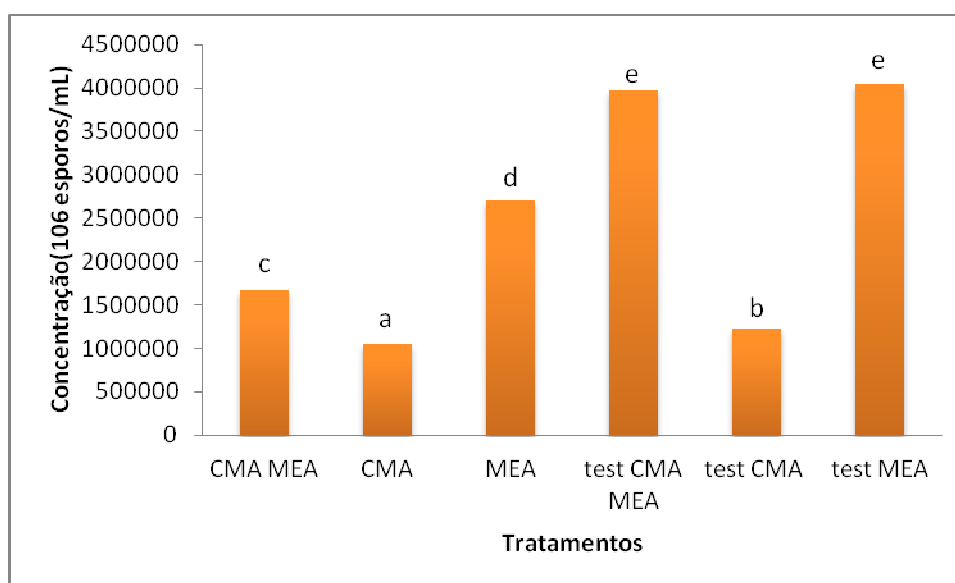


Gráfico 4- Esporulação de *Colletotrichum gloeosporioides* sobre influência de voláteis produzidos por *Phialomyces macrosporus*. CMA MEA: cultura de *Colletotrichum gloeosporioides* em meio MEA e de *Phialomyces macrosporus* em meio CMA, em placas divididas ao meio. CMA: cultura de *Colletotrichum gloeosporioides* e de *Phialomyces macrosporus* em meio CMA, em placas divididas ao meio. MEA: cultura de *Colletotrichum gloeosporioides* e de *Phialomyces macrosporus* em meio MEA, em placas divididas ao meio. Test CMA MEA: cultura de *Colletotrichum gloeosporioides* em meio MEA em um dos lados, e meio CMA no outro lado, em placas divididas ao meio. Test CMA: cultura de *Colletotrichum gloeosporioides* em meio CMA em um dos lados, e meio CMA no outro lado, em placas divididas ao meio. Test MEA: cultura de *Colletotrichum gloeosporioides* em meio MEA em um dos lados, e meio MEA no outro

lado, em placas divididas ao meio.* Médias seguidas pela mesma letra pertencem a um mesmo grupo, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. CV= 4,34%.

Isto indica que os voláteis produzidos por *Phialomyces macrosporus* podem reduzir a taxa de esporulação de *Colletotrichum gloeosporioides*, atuando no processo de reprodução e, conseqüentemente, dificultando a dispersão do fungo. Além de reduzir a esporulação do patógeno, os voláteis produzidos diminuíram o crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*.(Figura 2)

Os três tratamentos utilizados diminuíram o índice de velocidade de crescimento micelial, o tratamento em que *Phialomyces macrosporus* foi cultivado em CMA e *Colletotrichum gloeosporioides* em MEA, foi o melhor tratamento, reduzindo o IVCm em 42,5 %, sendo superior e diferindo estatisticamente dos demais tratamentos. Já os tratamentos em que *Phialomyces macrosporus* e *Colletotrichum gloeosporioides* foram cultivados em CMA e *Phialomyces macrosporus* e *Colletotrichum gloeosporioides* foram cultivados em MEA, foram iguais entre si e superiores estatisticamente as testemunhas, reduzindo o IVCm em 13 e 35,5 %, respectivamente, em relação às testemunhas.(Gráfico 5)

O crescimento micelial foi influenciado pelo meio em que os fungos foram cultivados. No meio contendo CMA, *Colletotrichum gloeosporioides* teve crescimento menor que em meio contendo MEA, indicando que a produção de compostos voláteis ocorre em presença de determinados meios de cultura. Nesse caso o meio CMA proporcionou maior produção de voláteis de *Phialomyces macrosporus*, acarretando em redução maior no crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* mesmo quando o patógeno foi cultivado em MEA, que é o meio que mais favorece seu crescimento e esporulação. Fialho (2008) verificou que o cultivo de *Saccharomyces cerevisiae* em diferentes meios de cultivo gerou diferenças na inibição do crescimento micelial de *Guignardia citricarpa*. Houve maior inibição, de acordo com o autor, com cultivo da levedura em meio BDA.

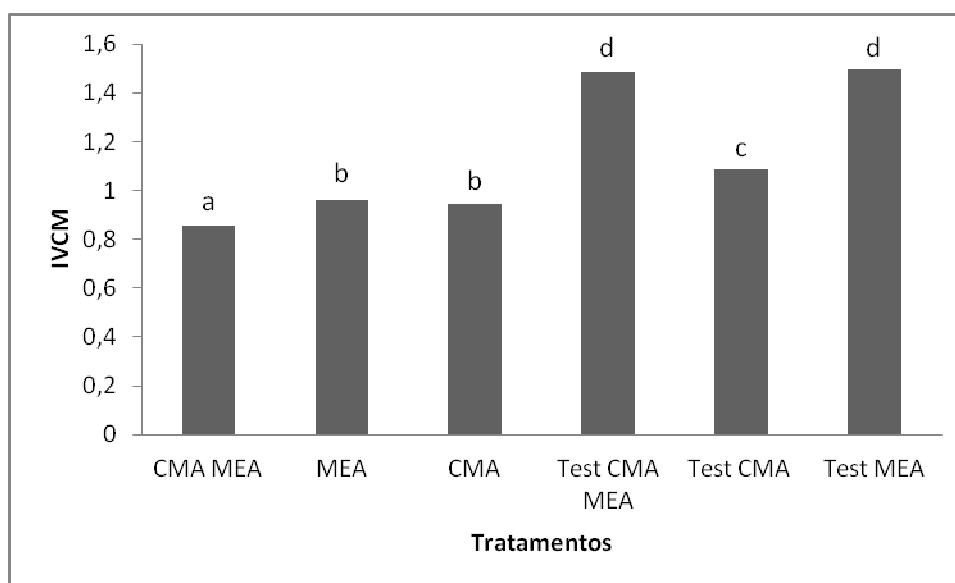


Gráfico 5- Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM) de *Colletotrichum gloeosporioides* sobre influência de voláteis produzidos por *Phialomyces macrosporus*. CMA MEA: cultura de *Colletotrichum gloeosporioides* em meio MEA e de *Phialomyces macrosporus* em meio CMA, em placas divididas ao meio. CMA: cultura de *Colletotrichum gloeosporioides* e de *Phialomyces macrosporus* em meio CMA, em placas divididas ao meio. MEA: cultura de *Colletotrichum gloeosporioides* e de *Phialomyces macrosporus* em meio MEA, em placas divididas ao meio. Test CMA MEA: cultura de *Colletotrichum gloeosporioides* em meio MEA em um dos lados, e meio CMA no outro lado, em placas divididas ao meio. Test CMA: cultura de *Colletotrichum gloeosporioides* em meio CMA em um dos lados, e meio CMA no outro lado, em placas divididas ao meio. Test MEA: cultura de *Colletotrichum gloeosporioides* em meio MEA em um dos lados, e meio MEA no outro lado, em placas divididas ao meio.* Médias seguidas pela mesma letra pertencem a um mesmo grupo, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade. CV= 16,67%.

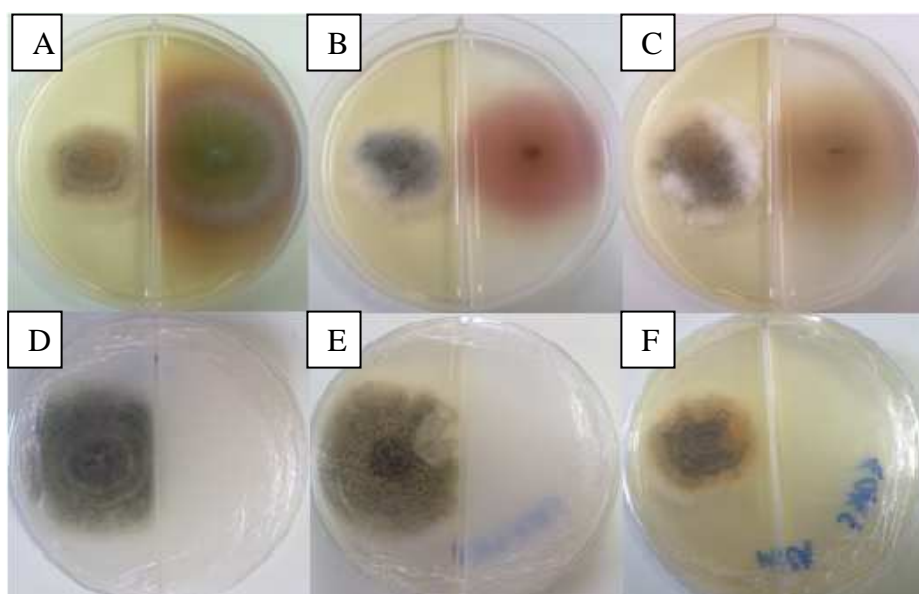


Figura 2– Teste de compostos voláteis de *Phialomyces macrosporus* sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, cinco dias após a repicagem. A: *Phialomyces macrosporus* e *Colletotrichum gloeosporioides* cultivados em meio MEA. B: *Phialomyces macrosporus* e *Colletotrichum gloeosporioides* cultivados em meio CMA. C: *Phialomyces macrosporus* cultivado em meio CMA e *Colletotrichum gloeosporioides* em meio MEA. D: Testemunha, apenas *Colletotrichum gloeosporioides* cultivado em meio CMA e meio CMA do outro lado da placa. E: Testemunha, apenas *Colletotrichum gloeosporioides* cultivado em meio MEA e meio CMA do outro lado da placa. F: Testemunha, apenas *Colletotrichum gloeosporioides* cultivado em meio MEA e meio MEA do outro lado da placa.

A utilização de fungos biocontroladores no manejo de doenças de plantas vem crescendo nos últimos anos. Pois apresentam vários mecanismos de ação, atuam diretamente contra o patógeno, por competição por espaço, nutrientes, ou através de micoparasitismo, além disso são capazes de ativar respostas induzidas em plantas. Outra contribuição importante é que com a sua utilização há produção de alimentos mais saudáveis, menos tóxicos ao homem e menos agressivo ao meio ambiente.

No presente trabalho, o fungo sapróbio *Phialomyces macrosporus* mostrou-se promissor no controle de *Colletotrichum gloeosporioides* em mudas de cafeeiro e em atividades in vitro. Entretanto, se faz necessário a continuação de estudos no controle desse patossistema, com outros fungos sapróbios, para encontrar mais organismos promissores para utilizar no controle, além de aprofundar os estudos com os fungos sapróbios já testados e assim compreender totalmente sua forma de atuação na defesa do cafeeiro a *Colletotrichum gloeosporioides*, agente causal da mancha manteigosa.

4 CONCLUSÕES

Os fungos *Phialomyces macrosporus*, *Cloridium virescens* var. *chlamydosporium*, *Memnoniella echinata* se mostraram eficientes no controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente causal da mancha manteigosa em mudas de cafeeiro.

A severidade da mancha manteigosa foi menor na presença de *Phialomyces macrosporus*.

Phialomyces macrosporus apresentou mais de um mecanismo de inibição de *Colletotrichum gloeosporioides*.

O meio de cultura onde é cultivado *Phialomyces macrosporus* têm influência sobre inibição de *Colletotrichum gloeosporioides*.

REFERÊNCIAS

- ABREU, M. S. **Resistência horizontal a *Hemileia vastatrix* Berk & Br. em cafeeiros descendentes do Híbrido de Timor**. 1988. 68 p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1988.
- ALMEIDA, D. A. C.; IZABEL, T. S. S.; GUSMÃO, L. F. P. Fungos conidiais do bioma Caatinga I: novos registros para o continente americano, Neotrópico, América do Sul e Brasil. **Rodriguésia**, Feira de Santana, v. 62, n. 1, p. 43-53, 2011.
- BELL, D. K.; WELLS, H. D.; MARKHAM, C. R. “In vitro” antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 72, p. 379-382, 1982.
- CRUZ, A. C. R.; GUSMÃO, L. F. P. Fungos conidiais na Caatinga: espécies lignícolas. **Acta botânica bras.** Feira de Santana, v. 23(4): 1133-1144. 2009
- DENNIS, C.; WEBSTER, J. Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*, I production of non-volatile antibiotics. **Transactions/British Mycological Society**, Cambridge, v. 57, p. 25-39, 1971.
- FERREIRA, D. F. **Sistema de análises de variância para dados balanceados**. Versão 4.1. Lavras: UFLA, 2000. Pacote computacional.
- FIALHO, M. B. **Mecanismos de ação de compostos orgânicos voláteis antimicrobianos produzidos por *Saccharomyces cerevisiae* sobre o desenvolvimento de *Guignardia citricarpa*, agente causal da pinta preta dos citros**. 2008. 120 p. Tese (Doutorado em Microbiologia Agrícola) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, 2008.
- GHOSH, S. K.; CHAKRABORTY, N. In vitro biological control of *Colletotrichum gloeosporioides*, causal organism of anthracnose of sarpagandha (*Roulvolfia serpentina*). **Agriculture and Biology Journal of North America**, Milford, v. 3, n. 6, p. 306-310, June 2012.
- GUSMÃO, L.F.P. et al. New species and records of *Paliphora* from the Brazilian semi-arid region. **Mycologia** 100:306-309, 2008.
- KEFIALEW, Y.; AYALEW, A. Postharvest biological control of anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) on mango (*Mangifera indica*). **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v. 50, n. 2, p. 8-11, Nov. 2008.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v. 2, n. 1, p. 176-177, 1962.

MARTINS, F. G. **Aspectos epidemiológicos e fisiológicos da interação *Colletotrichum gloeosporioides* PENZ x mudas micropropagadas de cafeeiro (*Coffea arabica*)**. 2008. 56 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

MCKINNEY, H. H. Influence of soil, temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. **Journal of Agricultural Research**, Washington, v. 26, p. 195-217, Nov. 1923.

MORETTO, K. C. K.; GIMENES-FERNANDES, N.; SANTOS, J. M. Influence of *Trichoderma* spp. on *Colletotrichum acutatum* mycelial growth and morphology and on infection of Tahiti lime detached flowers. **Summa Phytopathologica**, Jaboticabal, v. 27, p. 357-364, 2001.

PASIN, L. A. A. P.; ALMEIDA, J. R.; ABREU, M. S. Fungos associados a grãos de cinco cultivares de café (*Coffea arabica* L.). **Acta Botanica Brasílica**, Porto Alegre, v. 23, n. 4, p. 1129-1132, 2009.

ROCHA, J. R. S. **Controle biológico de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente da antracnose do maracujazeiro (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*), com espécies de *Trichoderma***. 1997. 147 p. Dissertação (Mestrado em Genética) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 1997.

ROCHA, J. R. S.; OLIVEIRA, N. T.; MENEZES, M. Comparação da eficiência de métodos de inoculação na avaliação da patogenicidade de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* em frutos de maracujá (*Passiflora edulis*). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 41, p. 145-153, 1998.

SHANER, G.; FINNEY, R. E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow mildewing resistance in Knox wheat. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 67, n. 8, p. 1051-1056, Aug. 1977.

SUTTON, B.C. The Genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*. In: Bailey, J. A, Jeger, M. J. (Eds). ***Colletotrichum: biology, pathology and control***. Wallingford, U.K.: CAB International, p.1-26. 1992.

VARZEA, V. M. P. **Variabilidade em *Colletotrichum* spp. de cafeeiro: pesquisa de fontes de resistência ao *C. kahawae***. 1995. 128 f. Dissertação (Mestrado em Investigador Auxiliar) - Instituto de Investigação Científica Tropical, Lisboa, 1995.

ŽIVKOVIĆ, S. et al. Screening of antagonistic activity of microorganisms against *Colletotrichum acutatum* and *Colletotrichum gloeosporioides*. **Archives of Biological Science**, Belgrade, v. 62, n. 3, p. 611-623, Mar. 2010.

APÊNDICES

Tabela 4 Resumo da análise de variância para os resultados do índice de doença, para os tratamentos com fungos sapróbios, em cafeeiro. UFLA, Lavras, MG,2013.

FV	GL	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	10	480.078423	13.097	0.0000
BLOCOS	5	118.829323	3.242	0.0130
erro	50	36.655147		
CV (%) =	16,87			

Tabela 5 Resumo da análise de variância para os resultados da área abaixo da curva de progresso da doença, para os tratamentos com fungos sapróbios, em cafeeiro. UFLA, Lavras, MG,2013.

FV	GL	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	10	48635.834434	50.753	0.0000
BLOCOS	5	20992.684846	21.907	0.0000
erro	50	958.278595		
CV (%) =	8,90			

Tabela 6 Resumo da análise de variância para os resultados da índice de velocidade de crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*, para os tratamentos com fungos sapróbios, em cafeeiro. UFLA, Lavras, MG,2013.

FV	GL	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	5	0.319878	889.235	0.0000
erro	18	0.000360		
CV (%) =	1,67			

Tabela 7 Resumo da análise de variância para os resultados da esporulação de *Colletotrichum gloeosporioides* no teste de compostos voláteis de *Phialomyces macrosporus*. UFLA, Lavras, MG,2013.

FV	GL	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	5	7.2074166	640.659	0.0000
erro	18	1.12500000		
CV (%) =	4,34			

Tabela 8 Resumo da análise de variância para os resultados do diâmetro final de *Colletotrichum gloeosporioides* no teste de compostos voláteis de *Phialomyces macrosporus*. UFLA, Lavras, MG,2013.

FV	GL	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	5	10.651533	369.417	0.0000
erro	24	0.028833		
CV (%) =	7,39			

Tabela 9 Dados do Índice de Doença para mudas com diferentes sapróbios, cinco dias após a inoculação de *Colletotrichum gloeosporioides*.UFLA, Lavras, MG,2013.

Tratamentos	Bloco	Repetição	Índice de doenças
<i>Curvularia eragrostidis</i>	1	1	21,875
	1	2	18,75
	2	1	7,8125
	2	2	7,8125
	3	1	10,9375
	3	2	12,5
<i>Sarcopodium circinatum</i>	1	1	9,375
	1	2	6,25
	2	1	23,4375
	2	2	7,8125
	3	1	12,5
	3	2	7,8125
<i>Memnoniella echinata</i>	1	1	10,9375
	1	2	6,25
	2	1	7,8125

	2	2	3,125
	3	1	6,25
	3	2	10,9375
<i>Pithomyces chartarum</i>	1	1	12,5
	1	2	18,75
	2	1	9,375
	2	2	6,25
	3	1	17,1875
	3	2	10,9375
<i>Thozetella cubensis</i>	1	1	23,4375
	1	2	10,9375
	2	1	21,875
	2	2	9,375
	3	1	18,75
	3	2	23,4375
<i>Stachybotrys nephrospora</i>	1	1	20,3125
	1	2	23,4375
	2	1	23,4375
	2	2	15,625
	3	1	9,375
	3	2	9,375
<i>Chloridium virescens var. chlamydosporium</i>	1	1	10,9375
	1	2	4,6875
	2	1	7,8125
	2	2	4,6875
	3	1	9,375
	3	2	4,6875
<i>Phialomyces macrosporus</i>	1	1	6,25
	1	2	4,6875
	2	1	6,25
	2	2	6,25
	3	1	4,6875
	3	2	4,6875
<i>Diatyochaeta obesiopora</i>	1	1	10,9375
	1	2	12,5
	2	1	9,375
	2	2	6,25
	3	1	9,375

	3	2	9,375
<i>Thozetella submersa</i>	1	1	23,4375
	1	2	9,375
	2	1	21,875
	2	2	23,4375
	3	1	10,9375
	3	2	21,875
Testemunha Inoculada	1	1	21,875
	1	2	20,3125
	2	1	35,9375
	2	2	23,4375
	3	1	15,625
	3	2	21,875
Testemunha com ferimentos, não inoculada	1	1	0
	1	2	0
	2	1	0
	2	2	0
	3	1	0
	3	2	0
Testemunha sem ferimentos, não inoculada	1	1	0
	1	2	0
	2	1	0
	2	2	0
	3	1	0
	3	2	0

Tabela 10 Dados do Índice de doença para mudas com diferentes sapróbios, 10 dias após a inoculação de *Colletotrichum gloeosporioides*.UFLA, Lavras, MG,2013.

Tratamento	Bloco	Repetição	Índice de doenças
<i>Curvularia eragrostidis</i>	1	1	25
	1	2	21,875
	2	1	29,6875
	2	2	15,625
	3	1	12,5
	3	2	14,0625
<i>Sarcopodium circinatum</i>	1	1	25
	1	2	17,1875

	2	1	25
	2	2	14,0625
	3	1	14,0625
	3	2	15,625
<i>Memnoniella echinata</i>	1	1	12,5
	1	2	14,0625
	2	1	14,0625
	2	2	9,375
	3	1	12,5
	3	2	12,5
<i>Pithomyces chartarum</i>	1	1	14,0625
	1	2	21,875
	2	1	25
	2	2	17,1875
	3	1	17,1875
	3	2	23,4375
<i>Thozetella cubensis</i>	1	1	25
	1	2	23,4375
	2	1	35,9375
	2	2	25
	3	1	21,875
	3	2	26,5625
<i>Stachybotrys nephrospora</i>	1	1	20,3125
	1	2	26,5625
	2	1	25
	2	2	15,625
	3	1	25
	3	2	25
<i>Chloridium virescens var. chlamydosporium</i>	1	1	12,5
	1	2	14,0625
	2	1	14,0625
	2	2	7,8125
	3	1	9,375
	3	2	14,0625
<i>Phialomyces macrosporus</i>	1	1	14,0625
	1	2	7,8125
	2	1	14,0625
	2	2	9,375

	3	1	10,9375
	3	2	7,8125
<i>Diatyochaeta obesiopora</i>	1	1	23,4375
	1	2	14,0625
	2	1	25
	2	2	15,625
	3	1	14,0625
	3	2	14,0625
<i>Thozetella submersa</i>	1	1	29,6875
	1	2	25
	2	1	35,9375
	2	2	25
	3	1	23,4375
	3	2	25
Testemunha Inoculada	1	1	25
	1	2	20,3125
	2	1	39,0625
	2	2	26,5625
	3	1	15,625
	3	2	28,125
Testemunha com ferimentos, não inoculada	1	1	0
	1	2	0
	2	1	0
	2	2	0
	3	1	0
	3	2	0
Testemunha sem ferimentos, não inoculada	1	1	0
	1	2	0
	2	1	0
	2	2	0
	3	1	0
	3	2	0

Tabela 11 Dados do Índice de doença para mudas com diferentes sapróbios, 15 dias após a inoculação de *Colletotrichum gloeosporioides*.UFLA, Lavras, MG,2013.

Tratamento	Bloco	Repetição	Índice de doenças
<i>Curvularia eragrostidis</i>	1	1	25
	1	2	23,4375
	2	1	37,5
	2	2	25
	3	1	18,75
	3	2	29,6875
<i>Sarcopodium circinatum</i>	1	1	32,8125
	1	2	23,4375
	2	1	25
	2	2	25
	3	1	29,6875
	3	2	25
<i>Memmoniella echinata</i>	1	1	18,75
	1	2	18,75
	2	1	25
	2	2	21,875
	3	1	14,0625
	3	2	18,75
<i>Pithomyces chartarum</i>	1	1	29,6875
	1	2	23,4375
	2	1	32,8125
	2	2	23,4375
	3	1	26,5625
	3	2	25
<i>Thozetella cubensis</i>	1	1	25
	1	2	25
	2	1	37,5
	2	2	32,8125
	3	1	23,4375
	3	2	31,25
<i>Stachybotrys nephrospora</i>	1	1	28,125
	1	2	31,25
	2	1	25

	2	2	26,5625
	3	1	32,8125
	3	2	25
<i>Chloridium virescens var. chlamydosporium</i>	1	1	18,75
	1	2	15,625
	2	1	25
	2	2	18,75
	3	1	15,625
	3	2	15,625
<i>Phialomyces macrosporus</i>	1	1	18,75
	1	2	18,75
	2	1	18,75
	2	2	12,5
	3	1	12,5
	3	2	17,1875
<i>Diatyochaeta obesiopora</i>	1	1	25
	1	2	29,6875
	2	1	32,8125
	2	2	26,5625
	3	1	25
	3	2	25
<i>Thozetella submersa</i>	1	1	34,375
	1	2	32,8125
	2	1	37,5
	2	2	25
	3	1	25
	3	2	35,9375
Testemunha Inoculada	1	1	35,9375
	1	2	28,125
	2	1	39,0625
	2	2	31,25
	3	1	26,5625
	3	2	34,375
Testemunha com fermentos, não inoculada	1	1	0
	1	2	0
	2	1	0
	2	2	0

	3	1	0
	3	2	0
Testemunha sem ferimentos, não inoculada	1	1	0
	1	2	0
	2	1	0
	2	2	0
	3	1	0
	3	2	0

Tabela 12 Dados do Índice de doença para mudas com diferentes sapróbios, 20 dias após a inoculação de *Colletotrichum gloeosporioides*.UFLA, Lavras, MG,2013.

Tratamento	Bloco	Repetição	Índice de doenças
<i>Curvularia eragrostidis</i>	1	1	31,25
	1	2	31,25
	2	1	43,75
	2	2	29,6875
	3	1	31,25
	3	2	32,8125
<i>Sarcopodium circinatum</i>	1	1	35,9375
	1	2	39,0625
	2	1	46,875
	2	2	31,25
	3	1	32,8125
	3	2	29,6875
<i>Memnoniella echinata</i>	1	1	31,25
	1	2	28,125
	2	1	31,25
	2	2	28,125
	3	1	20,3125
	3	2	31,25
<i>Pithomyces chartarum</i>	1	1	32,8125
	1	2	31,25
	2	1	35,9375
	2	2	39,0625
	3	1	32,8125
	3	2	35,9375

<i>Thozetella cubensis</i>	1	1	46,875
	1	2	35,9375
	2	1	46,875
	2	2	35,9375
	3	1	31,25
	3	2	35,9375
<i>Stachybotrys nephrospora</i>	1	1	54,6875
	1	2	35,9375
	2	1	46,875
	2	2	57,8125
	3	1	35,9375
	3	2	35,9375
<i>Chloridium virescens var. chlamydosporium</i>	1	1	31,25
	1	2	26,5625
	2	1	31,25
	2	2	25
	3	1	18,75
	3	2	26,5625
<i>Phialomyces macrosporus</i>	1	1	26,5625
	1	2	25
	2	1	28,125
	2	2	14,0625
	3	1	12,5
	3	2	20,3125
<i>Diatyochaeta obesiopora</i>	1	1	35,9375
	1	2	32,8125
	2	1	35,9375
	2	2	34,375
	3	1	35,9375
	3	2	35,9375
<i>Thozetella submersa</i>	1	1	34,375
	1	2	35,9375
	2	1	46,875
	2	2	46,875
	3	1	35,9375
	3	2	60,9375
Testemunha Inoculada	1	1	60,9375
	1	2	54,6875

	2	1	53,125
	2	2	35,9375
	3	1	57,8125
	3	2	54,6875
Testemunha com ferimentos, não inoculada	1	1	0
	1	2	0
	2	1	0
	2	2	0
	3	1	0
	3	2	0
Testemunha sem ferimentos, não inoculada	1	1	0
	1	2	0
	2	1	0
	2	2	0
	3	1	0
	3	2	0

Tabela 13 Dados da área abaixo da curva de progresso da doença para mudas com diferentes sapróbios. UFLA, Lavras, MG, 2013.

Tratamento	Bloco	Repetição	AACPD
<i>Curvularia eragrostidis</i>	1	1	382,8125
	1	2	351,5625
	2	1	464,84375
	2	2	296,875
	3	1	261,71875
	3	2	332,03125
<i>Sarcopodium circinatum</i>	1	1	402,34375
	1	2	316,40625
	2	1	425,78125
	2	2	292,96875
	3	1	332,03125
	3	2	296,875
<i>Memnoniella echinata</i>	1	1	261,71875
	1	2	250
	2	1	292,96875
	2	2	234,375

	3	1	199,21875
	3	2	261,71875
<i>Pithomyces chartarum</i>	1	1	332,03125
	1	2	351,5625
	2	1	402,34375
	2	2	316,40625
	3	1	343,75
	3	2	359,375
<i>Thozetella cubensis</i>	1	1	425,78125
	1	2	359,375
	2	1	539,0625
	2	2	402,34375
	3	1	351,5625
	3	2	437,5
<i>Stachybotrys nephrospora</i>	1	1	429,6875
	1	2	437,5
	2	1	425,78125
	2	2	394,53125
	3	1	402,34375
	3	2	363,28125
<i>Chloridium virescens var. chlamydosporium</i>	1	1	261,71875
	1	2	226,5625
	2	1	292,96875
	2	2	207,03125
	3	1	195,3125
	3	2	226,5625
<i>Phialomyces macrosporus</i>	1	1	246,09375
	1	2	207,03125
	2	1	250
	2	2	160,15625
	3	1	160,15625
	3	2	187,5
<i>Diatyochaeta obesiopora</i>	1	1	359,375
	1	2	332,03125
	2	1	402,34375
	2	2	312,5
	3	1	308,59375
	3	2	308,59375

<i>Thozetella submersa</i>	1	1	464,84375
	1	2	402,34375
	2	1	539,0625
	2	2	425,78125
	3	1	359,375
	3	2	511,71875
Testemunha Inoculada	1	1	511,71875
	1	2	429,6875
	2	1	613,28125
	2	2	437,5
	3	1	394,53125
	3	2	503,90625
Testemunha com ferimentos, não inoculada	1	1	0
	1	2	0
	2	1	0
	2	2	0
	3	1	0
	3	2	0
Testemunha sem ferimentos, não inoculada	1	1	0
	1	2	0
	2	1	0
	2	2	0
	3	1	0
	3	2	0

Tabela 14 Avaliação da Severidade em mudas de cafeeiro com diferentes sapróbios, cinco dias após inoculação de *Colletotrichum gloeosporioides*. UFLA, Lavras, MG, 2013.

		Bloco 1															
<i>Curvularia</i>	R1	1	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>eragrostidis</i>	R2	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Sarcopodium</i>	R1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0
<i>circinatum</i>	R2	1	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Testemunha	R1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2
Inoculada	R2	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	0	0	0	0	0	0
<i>Memnoniella</i>	R1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0

<i>echinata</i>	R2	1	1	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pithomyces</i>	R1	1	1	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>chartarum</i>	R2	1	1	1	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Thozetella</i>	R1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	0	0	0	0	0	0
<i>cubensis</i>	R2	1	1	1	2	2	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Stachybotrys</i>	R1	1	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>nephrospora</i>	R2	1	1	1	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Chloridium</i>	R1	1	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>virescens</i>	R2	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Phialomyces</i>	R1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>macrosporus</i>	R2	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Diatyochaeta</i>	R1	1	1	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>obesiopora</i>	R2	1	1	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Thozetella</i>	R1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0
<i>submersa</i>	R2	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0
Testemunha	R1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ferimentos	R2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Testemunha	R1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
absoluta	R2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Bloco 2

<i>Diatyochaeta</i>	R1	1	1	1	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>obesiopora</i>	R2	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Sarcopodium</i>	R1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>circinatum</i>	R2	1	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Stachybotrys</i>	R1	1	1	1	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>nephrospora</i>	R2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Phialomyces</i>	R1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>macrosporus</i>	R2	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Thozetella</i>	R1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>submersa</i>	R2	1	1	1	2	2	2	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Memnoniella</i>	R1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0
<i>echinata</i>	R2	1	1	1	1	1	1	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Curvularia</i>	R1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0

<i>cubensis</i>	R2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	0	0	0	0	0
<i>Phialomyces</i>	R1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>macrosporus</i>	R2	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Testemunha	R1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
absoluta	R2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Testemunha	R1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ferimentos	R2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabela 15 Avaliação da Severidade em mudas de cafeeiro com diferentes sapróbios, 10 dias após inoculação de *Colletotrichum gloeosporioides*. UFLA, Lavras, MG, 2013.

		Bloco 1															
<i>Curvularia</i>	R1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	0
<i>eragrostidis</i>	R2	1	1	1	1	1	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Sarcopodium</i>	R1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	0	0	0	0	0	0
<i>circinatum</i>	R2	1	1	1	1	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Testemunha	R1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0
Inoculada	R2	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	0	0	0	0
<i>Memnoniella</i>	R1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	0	0	0	0	0	0
<i>echinata</i>	R2	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	0	0	0	0	0	0
<i>Pithomyces</i>	R1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	0	0	0	0	0	0
<i>chartarum</i>	R2	1	1	1	2	2	2	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0
<i>Thozetella</i>	R1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	0	0
<i>cubensis</i>	R2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2
<i>Stachybotrys</i>	R1	1	1	1	1	1	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>nephrospora</i>	R2	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Chloridium</i>	R1	1	1	1	1	1	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>virescens</i>	R2	1	1	1	1	1	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Phialomyces</i>	R1	1	1	1	1	1	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>macrosporus</i>	R2	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Diatyochaeta</i>	R1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	0	0	0	0	0	0
<i>obesiopora</i>	R2	1	1	1	1	1	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Thozetella</i>	R1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	0	0
<i>submersa</i>	R2	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	0	0	0	0	0	0

Inoculada	R2	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	0
<i>Memnoniella</i>	R1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	0	0	0	0
<i>echinata</i>	R2	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	0	0	0	0
<i>Pithomyces</i>	R1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2
<i>chartarum</i>	R2	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	0	0	0	0
<i>Thozetella</i>	R1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2
<i>cubensis</i>	R2	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	0	0
<i>Stachybotrys</i>	R1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>nephrospora</i>	R2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
<i>Chloridium</i>	R1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	0	0	0	0
<i>virescens</i>	R2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
<i>Phialomyces</i>	R1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
<i>macrosporus</i>	R2	1	1	1	2	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Diatyochaeta</i>	R1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2
<i>obesiopora</i>	R2	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	0	0	0	0
<i>Thozetella</i>	R1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2
<i>submersa</i>	R2	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2
Testemunha	R1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ferimentos	R2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Testemunha	R1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
absoluta	R2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Bloco 2

<i>Diatyochaeta</i>	R1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	0
<i>obesiopora</i>	R2	1	1	1	1	1	2	2	2	3	3	0	0	0	0	0	0
<i>Sarcopodium</i>	R1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2
<i>circinatum</i>	R2	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	0	0	0	0
<i>Stachybotrys</i>	R1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
<i>nephrospora</i>	R2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	0	0	0
<i>Phialomyces</i>	R1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
<i>macrosporus</i>	R2	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Thozetella</i>	R1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	0
<i>submersa</i>	R2	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	0	0	0	0
<i>Memnoniella</i>	R1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	0	0	0	0
<i>echinata</i>	R2	1	1	1	1	1	2	2	2	3	3	0	0	0	0	0	0
<i>Curvularia</i>	R1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	0	0	0	0
<i>eragrostidis</i>	R2	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	0	0	0	0
<i>Thozetella</i>	R1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	2	0	0	0	0

