

COMPORTAMENTO DE ISOLADOS DE *Colletotrichum gloeosporioides* INOCULADOS EM MUDAS MICROPROPAGADAS DE CAFÉ

BEHAVIOR OF ISOLATED OF *Colletotrichum gloeosporioides* INOCULATED MICROPROPAGATED IN SEEDLINGS OF COFFEE

Fernanda Gonçalves Martins MAIA¹; Cecília ARMESTO²; Claudio OGOSHI²,
Jucilayne Fernandes VIEIRA²; Jader Braga MAIA³; Mario Sobral de ABREU⁴

1. Professora, Doutora, Universidade Federal de Uberlândia - UFU, Uberlândia, MG, Brasil. feagrosal@yahoo.com.br; 2. Engenheiro (a) Agrônomo (a), bolsista Cnpq, Doutorando (a) em Agronomia (Fitopatologia) Universidade Federal de Lavras- UFLA, Lavras, MG, Brasil; 3. Pós-Doc em agronomia Entomologia – UFLA, Lavras, MG, Brasil; 4. Professor, Doutor, UFLA, Lavras, MG, Brasil.

RESUMO: Muitos são os danos ocasionados por *Colletotrichum gloeosporioides* em plantas de cafeeiro, porém pouco são os conhecimentos sobre o estabelecimento do processo infectivo e sobre a evolução dos sintomas apresentados pelas plantas hospedeiras. Deste modo, o objetivo do estudo foi avaliar o comportamento de isolados de *C. gloeosporioides* obtidos de Cafeeiro em mudas produzidas a partir de sementes de plantas com sintomas de mancha manteigosa e sem sintomas de mancha manteigosa, estimar a agressividade do patógeno através da incidência e severidade da doença, comparando-os com um isolado oriundo de outra espécie vegetal. A partir da estimativa da incidência e severidade, observou-se que mudas oriundas de plantas com sintomas de mancha manteigosa são mais suscetíveis ao ataque de *C. gloeosporioides*. O isolado IS-II mostrou-se totalmente agressivo, apresentando um potencial crescente de doença em relação ao tempo.

PALAVRAS - CHAVE: Cafeeiro. Agressividade. Suscetibilidade.

INTRODUÇÃO

Fungos filamentosos do gênero *Colletotrichum* são conhecidos por serem patógenos agressivos que ocasionam doenças e acarretam perdas em diversas culturas por todo o mundo (HYDE et al., 2009). Este é um importante fitopatógeno principalmente em áreas tropicais e subtropicais, causando enfermidades conhecidas como antracnoses. O gênero *Colletotrichum* encontra-se amplamente distribuído por todas as regiões produtoras cafeeiras pelo mundo, ora ocorre como saprófita, ora causando doenças (PARESQUI et al., 2003).

Atualmente na cultura do café, são conhecidas três espécies de *Colletotrichum*: *C. kahawae* (espécie geograficamente restrita ao continente africano), *C. gloeosporioides* e *C. acutatum*, associados a todos os órgãos do cafeeiro: folhas, frutos, flores e ramos.

Nas lavouras cafeeiras do Brasil predomina a espécie conhecida como *Colletotrichum gloeosporioides*, o qual está associado a um complexo de sintomas: antracnose de folhas e frutos, seca ou morte de ponteiros (*die-back*), queima-castanha (*brown blight*) e a mancha manteigosa a qual é caracterizada pela aparição de manchas verdes de aspecto oleoso por toda a planta (OROZCO et al., 2002).

Embora, *Colletotrichum gloeosporioides* seja isolado de plantas com sintomas característicos, a importância do fungo na cultura do cafeeiro no Brasil ainda é bastante questionável, sobretudo devido à dificuldade na indução dos sintomas em condições controladas (FERREIRA et al., 2009)

Acredita-se que a ocorrência de doenças na cultura do cafeeiro possa ser influenciada por fatores relacionados à virulência do patógeno, assim como da resistência do hospedeiro. No complexo *Colletotrichum* x Cafeeiro, poucos são os estudos no que se refere à sintomatologia e agressividade do patógeno em plantas infectadas.

Desta forma objetivou-se neste trabalho avaliar o comportamento de isolados de *C. gloeosporioides* obtidos de Cafeeiro em mudas produzidas a partir de sementes de plantas com sintomas de mancha manteigosa e sem sintomas de mancha manteigosa, avaliar a agressividade do patógeno através da incidência e severidade da doença, comparando-os com um isolado oriundo de outra espécie vegetal.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Diagnóstico e Controle de Doenças de Plantas do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG.

Obtenção de plantas a partir de cultura de tecido

Frutos de café (*C. arabica*) da cultivar Catucaí Vermelho com e sem sintomas de mancha manteigosa, em estágio verde-cana, foram colhidos, lavados e desinfestados com álcool 70% durante 1 min, hipoclorito de sódio a 2% durante 15 min e lavados três vezes com água destilada autoclavada, em câmara de fluxo laminar. Posteriormente, com o auxílio de pinça, bisturi e lupa, os embriões foram excisados e depositados em tubos de ensaio com 15 mL de meio nutritivo básico Murashige & Skoog (1962), acrescido de 1 g.L⁻¹ de carvão ativado, 300 mg.L⁻¹ de ácido ascórbico e 2,5 mg.L⁻¹ de giberelina com pH ajustado para 5,8 e solidificado com 6 g.L⁻¹ de ágar (RIBEIRO *et al.*, 2003). Estes foram mantidos em câmara de crescimento com temperatura de 27°C e fotoperíodo de 16 horas. A transferência das plântulas para outros tubos com o mesmo meio de cultura, ocorreu a cada dois meses, até que estas plântulas estivessem aptas para a aclimação.

A aclimação foi feita conforme Carvalho *et al.* (1999). Plântulas com aproximadamente 3 cm de comprimento foram retiradas dos tubos de ensaio e transferidas para câmara de crescimento, com aproximadamente 90% de umidade relativa do ar, temperatura média próxima de 25°C, sistema de nebulização automático e iluminação natural.

Utilizou-se vermiculita como substrato, sendo esta adicionada a bandejas de polipropileno. O fornecimento de nutrientes foi realizado semanalmente com a aplicação de 1 mL de solução nutritiva de Hoagland & Arnon (1950) por plântula, iniciando no dia do plantio e estendendo-se até o período de inoculação.

Isolados de *Colletotrichum gloeosporioides*

Folhas e ramos de cafeeiros com sintomas de mancha manteigosa e seca de ponteiros, respectivamente, assim como ramos e folhas de mangueira com sintomas de antracnose foram coletados em área experimental pertencentes à Universidade Federal de Lavras.

Para a obtenção dos isolados, foram feitas secções do tecido infectado, os quais foram superficialmente desinfestados com álcool 50% por 30 segundos e hipoclorito de sódio 1% por um minuto, lavados em água destilada e secos ao ar livre. Em seguida os mesmos foram transferidos para placas de Petri com meio de cultura extrato de malte-ágar. As placas com o material isolado foram incubadas por sete dias a 22°C e fotoperíodo de 12 horas. Decorrido o período, as colônias crescidas foram selecionadas e transferidas para novas placas contendo o mesmo meio de cultura e incubadas

novamente por sete dias nas mesmas condições descritas anteriormente. Após, procedeu-se com a identificação do espécime segundo Sutton (1992), então foram utilizados para obtenção de culturas monospóricas.

Do material coletado foram obtidos três isolados: a) *C. gloeosporioides* obtido de cafeeiro com sintomas de mancha manteigosa (IS-I); b) *C. gloeosporioides* obtido de cafeeiro com sintomas de seca de ponteiro (IS-II); c) *C. gloeosporioides* obtido de mangueira com sintomas de antracnose (IS-III).

Inoculação de *C. gloeosporioides* em mudas de cafeeiro

A inoculação foi feita em folhas completamente expandidas de mudas de café crescidas sob condições controladas, obtidas por cultura de tecidos. Uma suspensão de conídios de cada isolado foi inoculada com uma gota de 10µL (2 x 10⁶ conídios.mL⁻¹) na parte abaxial das folhas. Os tratamentos consistiram na inoculação dos três isolados de *C. gloeosporioides*: IS-I, IS-II e IS-III, utilizando como controle água destilada estéril (TestI).

Germinação e formação de apressórios

Para o ensaio de germinação e formação de apressórios, os locais da inoculação foram marcados com o auxílio de discos autocolantes com orifícios de 1,4 cm de diâmetro, e posteriormente sobre a área inoculada, adicionou-se um disco de papel semipermeável com 1,3 cm de diâmetro umedecido, como intuito de formar uma microcâmara úmida (ABREU, 1978). Porcentagem de germinação conidial e formação de apressórios foram estimadas estabelecendo cinco tempos de coleta: 6, 12, 18, 24 e 48 horas após a inoculação seguindo o método descrito por Abreu (1978). Para este ensaio foram utilizadas cinco folhas por planta, cada uma equivalente a um tempo de coleta, sendo utilizados 3 discos por folha, perfazendo um total de três inoculações por folha. Cada inoculação foi considerada uma repetição.

Após o tempo coleta, as microcâmaras úmidas foram removidas e as folhas secas ao ar. Posteriormente aplicou-se uma camada de esmalte incolor diluído em acetona (1:0,8), cobrindo a área delimitada pelo disco autocolante. As películas de esmalte já secas, foram cuidadosamente retiradas e dispostas sobre lâminas microscópicas, sendo coloridas com azul-algodão em lactofenol. A porcentagem de conídios germinados / não germinados e apressórios foram mensuradas em

quatro campos da lâmina, perfazendo-se 100 conídios em cada lâmina.

Incidência e severidade da doença

A incidência e a severidade da doença foram aferidas em um total de 30 plantas por tratamento,

avaliando-se cinco folhas por planta. O ensaio foi conduzido durante um período de 30 dias, com intervalo de cinco dias entre cada avaliação. A severidade da doença foi calculada conforme a escala proposta por Várzea (1995), com adaptações (Tabela 1).

Tabela 1. Escala de avaliação utilizada em testes de inoculação de *Colletotrichum* spp. em hipocótilos (VÁRZEA, 1995 e modificada por MARTINS, 2008).

Classe	Tipo de reação descrição
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 e/ou lesões obscuras. Com mais de 50% da área do disco lesionada
4	Área total do disco lesionada (100%)

A interpretação dos resultados para avaliação da severidade foi efetuada por meio do Índice de Intensidade de Doença (IID), onde:

$$\text{IID} = \frac{\sum (\text{N}^\circ \text{ de discos em cada classe} \times \text{valor numérico de cada classe}) \times 100}{\text{Número de discos em todas as classes} \times 4}$$

Após as avaliações, como complemento a avaliação, foi calculada a área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPS) e da incidência (AACPI), para cada tratamento, determinada pela equação proposta por (SHANER; FINNEY, 1977).

Análise dos dados

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3x2. Os dados foram inicialmente avaliados pela análise de variância e teste F, utilizando o programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2000) A comparação entre as médias, quando o valor de F foi significativo, foi feita pelo teste de Scott & Knott (1974), a 5% de probabilidade. Os gráficos foram elaborados por meio da versão demonstrativa do aplicativo Sigma Plot 11.0 (Systat Software Inc).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A aderência dos conídios de *Colletotrichum gloeosporioides*, em sua maioria ocorreu nas depressões foliares e na região das células-guarda dos estômatos. Diversos autores relataram que aderência possui certa correlação com a topografia do hospedeiro, sendo fundamental durante o processo de infecção do patógeno (LINS, et al., 2007.; PEREIRA et al., 2009., FERREIRA, et al., 2009).

O início da germinação de *C. gloeosporioides* ocorreu durante o período de 6 e 12 horas após inoculação para os três isolados analisados, em mudas obtidas de plantas com sintomas da mancha manteigosa (MOPCS), assim como em plantas sem sintomas (MOPSS), nos quais conídios já emitiam um ou dois tubos germinativos. A partir de 18 horas após a inoculação pode-se observar a formação de apressórios em mudas obtidas de plantas com sintomas da mancha manteigosa, e 48 horas após inoculação em mudas obtidas de plantas sem sintomas de mancha manteigosa (Figura 1).

Na interação *Colletotrichum* x Cafeeiro, poucos são os trabalhos que evidenciam os processos de pré-penetração e penetração. Pereira et al. (2009) e Ferreira, et al.(2009) verificaram a formação de apressórios 12 horas após inoculação, enquanto Lins et al. (2007) observou o fato somente a partir de 24 horas para *C. gloeosporioides* e 12 para *C. acutatum*. Segundo Chen et al.(2003) apenas 6 horas após a inoculação de *C. gloeosporioides* e *C. kahawae* sobre folhas e frutos verdes de café foi o necessário para a formação de apressórios, onde o máximo de formação ocorreu 18 horas após inoculação.

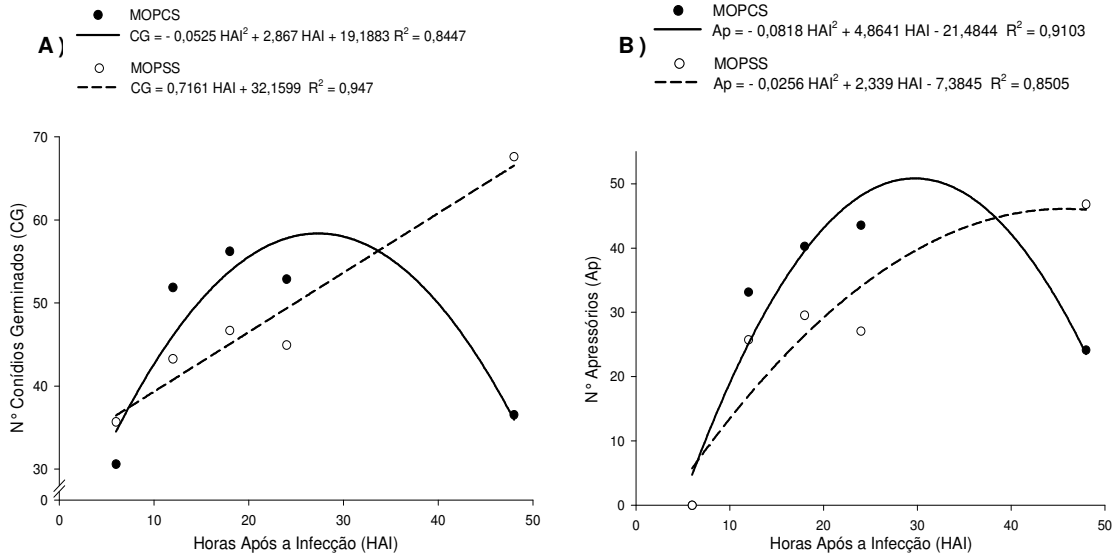


Figura 1. Comportamento de *C. gloeosporioides* em função do tempo de inoculação em mudas obtidas de sementes de plantas com sintomas da mancha manteigosa (MOPCS) e mudas obtidas de sementes de plantas sem sintomas da mancha manteigosa (MOPSS). A) Média de germinação de conídios dos diferentes isolados de *C.gloeosporioides*. B) Média da produção de apressórios de diferentes isolados de *C.gloeosporioides*.

Os três isolados estudados, de acordo com a análise de variância, apresentaram diferenças significativas, onde os isolados IS-II e IS-III apresentaram índices superiores em ao isolado IS-I em relação ao potencial germinativo dos conídios e para produção de apressórios (Tabela 2).

A interação isolado x planta demonstrou que o isolado obtido de mancha manteigosa (IS-I) apresentou maior porcentagem de germinação e produção de apressórios em mudas obtidas de

plantas com sintomas. Já o isolado retirado de sintoma de seca de ponteiros apresentou dados inversos, apresentando maiores porcentagens de germinação e produção de apressórios em mudas obtidas de plantas sem sintomas. Para o isolado oriundo de sintomas de antracnose em mangueiras (IS-III) não foi verificado diferença significativa entre os dois tipos de mudas utilizados. Estes resultados sugerem a possível especialização do fitopatógeno em relação ao genótipo da planta.

Tabela 2. Número de germinação de conídios e formação de apressórios de *C. gloeosporioides* (IS-I isolado de mancha manteigosa; IS-II isolado de seca de ponteiro; IS-III isolado de antracnose em manga) em mudas obtidas de plantas com sintomas de mancha manteigosa (MOPCS), e sem sintomas de mancha manteigosa (MOPSS).

Planta	Isolado		
	IS-I	IS-II	IS-III
Conídios Germinados			
MOPSS	33,16 Bb	56,96 Aa	52,76 Aa
MOPCS	52,08 Aa	32,48 Bb	52,28 Aa
Conídios Não Germinados			
MOPSS	50,84 Aa	39,04 Ab	43,24 Aa
MOPCS	32,32 Bb	63,12 Aa	43,72 Ba
Apressórios			
MOPSS	15,36 Bb	33,24 Aa	28,88 Aa
MOPCS	29,68 Aa	20,32 Bb	34,64 Aa

*Médias seguidas por mesma letra maiúscula (Comparação entre Isolados) na linha para cada estrutura não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Scott-Knott (1974). Médias seguidas por mesma letra minúscula (Comparação entre Plantas) na coluna para cada estrutura não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Scott-Knott (1974).

As mudas de café da cultivar Catucaí Vermelho originárias de sementes obtidas de plantas

com sintomas da mancha manteigosa (MOPCS) e plantas sem sintomas (MOPSS), provenientes de

cultura de tecido, mostraram-se suscetível ao isolado IS-I e IS-II, e resistentes ao IS-III.

O isolado IS-III não apresentou sintomas da doença tanto em mudas obtidas de plantas com sintomas da mancha manteigosa quanto em plantas sem sintomas, sendo verificados sintomas apenas em plantas inoculadas com o isolado IS-I e IS-II. No presente trabalho evidenciou-se que quando utilizando-se uma espécie não isolado de plantas de café, neste caso oriundo de plantas de mangueiras, apesar de conseguir se estabelecer na planta, este ainda não é capaz de causar danos nesta.

Rampazo et al. (2007) também evidenciaram a especialização patogênica de isolados de *C. gloeosporioides*, observando que a susceptibilidade de cultivares de cafeeiro mostrou-se seletiva aos isolados de *Colletotrichum spp.*, uma vez que os isolados de outras plantas cultivadas não foram capazes de induzir lesões.

Os primeiros sintomas de necrose nas folhas das mudas obtidas por cultura de tecidos foi observado a partir do sétimo dia após inoculação para os isolados IS-I e IS-II. Com 12 dias foi possível visualizar formação de halos cloróticos ao redor das lesões. Com o decorrer do tempo as lesões foram aumentando atingindo 30% da área inoculada sobre os discos. Aos 22 dias pôde-se observar um número maior de lesões sobre as folhas onde o índice de doença já ultrapassava os 80%, em mudas inoculadas com os isolado IS-II. Ao final das avaliações (30 dias após a inoculação) as mudas inoculadas com o IS-II apresentavam folhas se totalmente necrosadas em fase de senescência total, podendo ser observado sobre a haste a esporulação do isolado. Estas informações sugerem que isolados de *C. gloeosporioides* obtidos de cafeeiros, tem a capacidade de colonizar a planta forma invasiva, apresentando níveis diferentes de agressividade (Figura 2).



Figura 2. Sintomas de necrose ocasionado *C.gloeosporioides* em mudas de obtidas a partir de sementes de plantas com sintomas de mancha manteigosa. (A, B) 7 dias após a inoculação; (C,D) 12 dias após a inoculação; (E,F) 17 dias após a inoculação; (G,H) 22 dias após a inoculação (I,J,L) 30 dias após a inoculação. Foto: Martins, F. G. (2008).

A análise da área abaixo da curva de progresso da incidência e severidade da doença indicou diferenças quanto ao comportamento dos isolados IS-I e IS-II tanto em plantas com sintomas de mancha manteigosa, quanto em sem sintomas, no qual o isolado IS-I não apresentou evolução dos sintomas no decorrer das avaliações, ficando restrito

a lesões de menor porte, não avançando para outras partes da planta (Figura 3). O isolado IS-II mostrou-se totalmente agressivo a cultivar, apresentando um potencial crescente de doença em relação ao tempo nos dois tipos de material planta, progredindo por toda a planta, culminando na morte da muda.

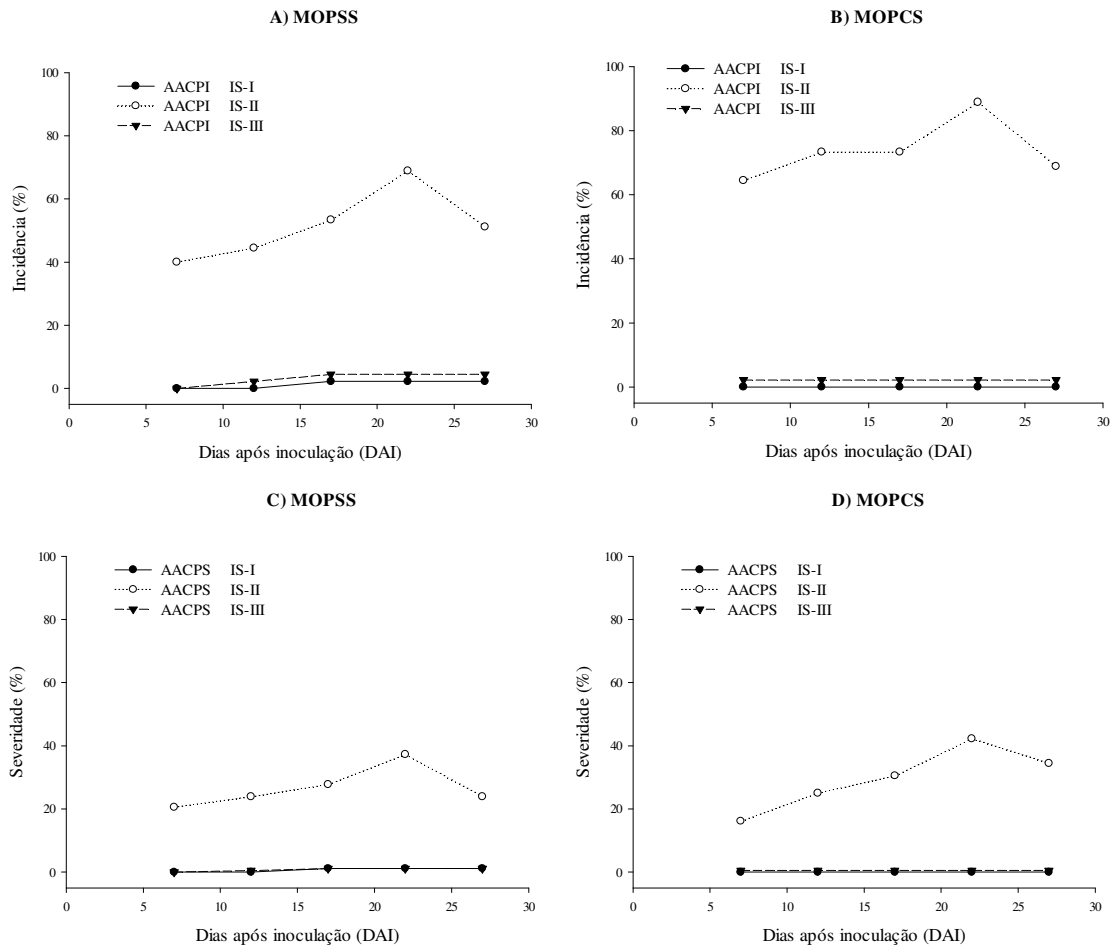


Figura 3. Incidência e severidade de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* em mudas de café obtidas por cultura de tecidos e inoculadas artificialmente. (A e B) Área abaixo da curva da incidência (AACPI) para mudas obtidas de plantas sem sintomas de mancha manteigosa e com sintomas de mancha manteigosa. (B e C) Área abaixo da curva da severidade (AACPS) para mudas obtidas de plantas sem sintomas de mancha manteigosa e com sintomas de mancha manteigosa.

Quando se comparado o comportamento do isolado IS-II em relação aos dois tipos de materiais plantas utilizados, verificou-se que apesar do mesmo ter se mostrado agressivo aos dois materiais, em mudas obtidas de plantas com sintomas de mancha manteigosa, apresentou-se muito mais virulento, onde foi verificada uma maior intensidade de sintomas com lesões mais pronunciadas levando a morte de algumas mudas aos 22 dias após inoculação, o que não foi verificado em plantas

sadias, mostrando a alta relação entre a incidência e a severidade (Tabela 3).

Abreu et al. (2008) cita que a interação entre *Colletotrichum spp.* em cafeeiros é muito variável, dependendo da suscetibilidade do material genético utilizado, da variabilidade genética dos isolados. Segundo Orozco et al. (2002), o patossistema em questão possivelmente é composto raças de *Colletotrichum*, as quais estão relacionados aos diversos sintomas observados nos cafeeiros.

Tabela 3. Médias das áreas abaixo da curva de progresso da incidência e severidade da doença em plantas de café inoculadas com isolados de *Colletotrichum gloeosporioides*.

Isolado	MOPSS		MOPCS	
	AACPI	AACPS	AACPI	AACPS
IS-I	44 b	11 b	67 b	17 b
IS-II	1511 a	615 a	1061 a	556 a
IS-III	0 b	0 b	28 b	14 b

* Médias com a mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Scott Knott a 0,05%.

A variabilidade de isolados de *C. gloeosporioides* foi observada por outros autores anteriormente, evidenciando a existência de grande diversidade na indução ou incidência de sintomas de com relação aos isolados testados (NECHET; ABREU, 2002; JULIATI et al., 2006). Esta variabilidade sugere que, tanto os aspectos genéticos dos isolados de *Colletotrichum*, assim como, os genótipos de *C. arabica* utilizados nos testes de reprodução dos sintomas, podem ser responsáveis pela resposta obtida.

CONCLUSÕES

Foi possível observar diferenças entre o comportamento dos distintos isolados de *C. gloeosporioides*, no qual os três isolados avaliados

conseguiram se estabelecer nas plantas; porém, somente os isolados obtidos de cafeeiros foram capazes de desenvolver sintomas de necrose (Típico do patógeno em estudo). *C. gloeosporioides* isolado de sintomas de antracnose em mangueira quando inoculados em folhas de cafeeiro, produzem quadro assintomático.

Por meio da incidência e da severidade, verificou-se que o isolado IS-II demonstrou ser mais agressivo que o isolados IS-III, após inoculação em plantas que são suas hospedeiras, como no presente trabalho representada pelo cafeeiro. Mudanças obtidas a partir de sementes de plantas com e sem sintoma de mancha manteigosa proporcionaram respostas diferentes em relação à evolução dos sintomas, no qual as mudas originárias de plantas com sintomas apresentaram-se mais suscetíveis ao patógeno.

ABSTRACT: Many are the damages caused by *Colletotrichum gloeosporioides* in coffee plants, but little is knowledge about the establishment of the infective process and the evolution of the symptoms presented by host plants. This study evaluated the behavior of isolates of *C. gloeosporioides* obtained from Coffee on seedlings grown from seeds with butternut spot symptoms and without symptoms of blister spot, estimate the aggressiveness of the pathogen through the incidence and severity of disease, comparing them with one isolate from other plant species. The estimation of the incidence and severity was observed that seedlings from plants with symptoms of blister spot are more susceptible to attack by *C. gloeosporioides*. The isolated IS-II shown to be fully aggressive, presenting a high potential for disease.

KEYWORDS: Coffee. Agressivity. Susceptibility.

REFERÊNCIAS

ABREU, M. S. **Identificação de parâmetros para avaliação da resistência horizontal de *Coffea* sp. à *Hemileia vastatrix* Berk & Br.** 1978. 64 p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

CARVALHO, G. R.; PASQUAL, M.; RESENDE, E.; SCARANTE, M. J.; CARVALHO G. R. Aclimatização de plântulas de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) propagadas *in vitro*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 23, n. 3, p. 483-490, jul./set., 1999.

CHEN, Z. J.; RIBEIRO, A.; SILVA, M. C. SANTOS, P.; GUERRA-GUIMARÃES, L.; GOUVEIA, M. FERNANDEZ, D. RODRIGUES JR., C. J. Heat shock-induced susceptibility of green coffee leaves and berries to *Colletotrichum gloeosporioides* and its association to PR and *hsp70* gene expression. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 63, p. 181-190, October, 2003.

FERREIRA, D. F. **Manual do sistema SISVAR para análises estatísticas.** Lavras: UFLA, 2000. 66 p.

FERREIRA, J. B.; PEREIRA, I. S. FERNANDES, K. D.; ABREU, M. S. Prejuízos ocasionados pela mancha manteigosa em cafeeiros (*Coffea arabica* L.). In: SIMPÓSIO DE PESQUISA CAFEEIRA DO SUL DE MINAS. Lavras. **Anais...** Lavras: Necaf, 2004, p. 18.

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**, v. 33, p. 24 – 30, 2009.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. **The water culture method for growing plants without soil**. California Agricultural Experiment Station. Circular. , Berkeley. p. 1-32, 1950.

HYDE, K.D.; CAI, L.; CANNON,P.F.; CROUCH,J.A.; CROUS, P.W.; DAMM, U.; GOODWIN, P.H.; CHEN, H.; JOHNSTON, O.R.; JONES, E.B.G.; LIU, Z.Y.; MCKENZIE, E.H.C.; MORIWAKI, J.; NOIREUNG, P.; PENNYCOOK, S.R.; PFENNING,L.H.; PRIHASTUTI,H. SATO, T.; SHIVAS, R.G.; TAN, Y.P.; TAYLOR,P.W.J.; WEIR,B.S.; YANG, Y.L.; ZHANG,J.Z. *Colletotrichum* Names incurrent use. **Fungal Diversity**, v. 39, p. 147-182, 2009.

JULIATTI, F. C.; SILVA, C. C. N.; GIOVANINI, M. P.; GOULART, L. R.; JULIATTI, F. C.; POLIZEL, A. C. Agressividade e divergência genética por rapd de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* coletados em lavouras cafeeiras de Minas Gerais. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 22, n. 2, p. 159-169, May/Aug. 2006.

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

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 Agronomia/Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, n.6, p.473-479, Jun. 1962.

NECHET, K. L.; ABREU, M.; Caracterização morfológica e testes de patogenicidade de isolados de *Colletotrichum* sp. obtidos de cafeeiro. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 26, p. 1135-1142, 2002.

OROZCO, E. F. M. PIGOZZO, P.; PEREIRA I. S.; ABREU, M. S. Estudo das relações compatíveis e incompatíveis de *Colletotrichum* spp. x cafeeiro. In: CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO, 11., 2002, Lavras, MG. **Anais...** Lavras: Associação da Pós Graduação, APG-UFLA, 2002.

PARESQUI, L.; ZAMBOLIM, L.; COSTA, H.; VALE, F. X. R. Patogenicidade de *Colletotrichum gloeosporioides* em *Coffea arábica* L. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL, 3., 2003, Porto Seguro. **Anais ...** Porto Seguro-BA, 2003. p. 208.

PEREIRA, I. S.; ABREU, M. S.; FERREIRA, J. B. Estudos histopatológicos da interação *Colletotrichum gloeosporioides* – Cafeeiros. **Bragantia**, Campinas, v. 68, p. 53-61, 2009.

RAMPAZO, LUÍS G. L.; MARÇAL, VIVIANI V. MARQUES; LEITE JÚNIOR, RUI P. Caracterização patogênica de isolados de *Colletotrichum* spp. obtidos de cafeeiro e outras culturas no estado do Paraná. In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL. Brasília. **Anais...** Brasília, D.F.: Embrapa - Café, 2007, p. 5.

RIBEIRO, L. S.; PASQUAL, M.; MACIEL, A. L. R.; CHAGAS, E. A.; DUTRA, L. F. Desenvolvimento in vitro de embriões zigóticos de *Coffea arabica*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras. Edição Especial, p. 1479-1483, dez., 2003.

SHANER, G.; FINNEY, R. E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox wheat. **Phytopathology**, St. Paul, v. 70, n. 8, p. 1183-1186, Aug. 1977.

SUTTON, B. C. The genus *Glomerella* and its anamorph. In: BAILEY, J. A.; JEGUER, M. J. (Ed). ***Colletotrichum: biology, pathology and control***. England: CBA, p. 1-26, 1992.

VARZEA, V. M. P. **Variabilidade em *Colletotrichum* spp. de cafeeiro. Pesquisa de fontes de resistência ao *C. kahawae***. 1995. 128 p. Dissertação (Investigador auxiliar) – Instituto de Investigação Científica Tropical, Lisboa, Portugal.