

PRIMEIRO RELATO DA OCORRÊNCIA DE *DIDYMELLA* SP., FASE SEXUADA DE *PHOMA TARDA*, EM *COFFEA ARABICA* NO BRASIL

Mirian SALGADO; Cristiano S. LIMA; Anderson R. ALMEIDA; Lucas L. SANTOS; Ludwig H. PFENNING

Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras. CP 3037, 37200-000, Lavras MG, E-mail: mirianufla@gmail.com; ludwig@ufla.br

Resumo

Phoma tarda é o principal agente etiológico da seca de ponteiros e da mancha de Phoma do cafeeiro no Brasil e na África. O patógeno causa danos nas folhas e ramos com posterior seca, comprometendo a frutificação e a futura produção das lavouras. Durante levantamentos da ocorrência de *P. tarda* feitos em plantações de café do sul de Minas Gerais e do sudoeste da Bahia, folhas e ramos com sintomas típicos de mancha de Phoma e seca de ponteiros foram examinados sob microscópio. Junto aos picnídios de *Phoma*, foram observados corpos de frutificação do tipo pseudotécio, contendo ascos e ascósporos típicos do gênero *Didymella* (Ascomycota). Ascósporos de *Didymella* sp. transferidos para meio de cultura extrato de malte 2% produziram culturas típicas de *Phoma tarda*. Este é o primeiro relato da ocorrência no campo de *Didymella* sp., fase teleomórfica de *Phoma tarda*, em cafeeiros no Brasil. O relato da fase sexuada do fungo em lavouras de café constitui-se em informação relevante em relação à variabilidade genética do patógeno e abre novas oportunidades de estudo sobre a biologia do patógeno e a epidemiologia da doença.

Palavras-chave: Cafeeiro, reprodução sexuada, teleomorfo, anamorfo, mancha de Phoma, seca de ponteiros.

FIRST REPORT OF THE OCCURENCE OF *DIDYMELLA* SP., TELEOMORPH OF *PHOMA TARDA*, ON *COFFEA ARABICA* IN BRAZIL

Abstract

Phoma tarda is the main etiological agent of Phoma leaf blight and stem dieback of coffee trees in Brazil and Africa since it causes symptoms in leaves and shoots of coffee trees followed by complete necrosis of the affected plant parts, threatening the coffee production. Surveys of the occurrence of *P. tarda* in the field in the South of Minas Gerais and Southwest of Bahia have been done since 1998. During these surveys affected leaves and shoots presenting pseudothecia, asci and ascospores typical of *Didymella* were observed under stereoscopic and light microscope. Ascospores collected from these perithecia were inoculated in 2% malt extract medium, producing typical *P. tarda* cultures. This study is the first to report the natural occurrence of *Didymella* sp., the sexual stage of *P. tarda*, in coffee plantations in Brazil. This report brings relevant information with regard to genetic variability of the pathogen and opens opportunities for new approaches on the biology of the pathogen and epidemics of the disease.

Key-words: Coffee tree, sexual reproduction, anamorph, Phoma leaf blight, stem dieback.

Introdução

Phoma tarda (R.B. Stewart) H. Verm. (sinônimos *Ascochyta tarda* Stewart 1957; *Ascochyta coffeae* Hennings 1902) é responsável por uma das mais importantes doenças do cafeeiro no Brasil, a mancha de Phoma ou mancha de *Ascochyta*. O patógeno provoca ainda a seca de ponteiros e podridão no colo de mudas em viveiros. O patógeno está distribuído em lavouras cafeeiras do sul de Minas e do sudoeste da Bahia, podendo causar surtos epidêmicos quando as condições de umidade e temperatura são favoráveis (Salgado & Pfenning, 2000; Pfenning et al., 2005). Algumas espécies do gênero *Phoma* da Seção *Phyllostictoides*, na qual está contida também a espécie *P. tarda*, possuem *Didymella* como fase sexuada. Espécies de *Didymella* são consideradas heterotálicas o que significa que o teleomorfo é produzido quando ocorre a combinação de dois *mating types* opostos em condições ambientais favoráveis (Barve et al., 2003; Boerema et al., 2004). Em 1902, no estado de São Paulo, Hennings estudou pela primeira vez o agente etiológico da mancha de Phoma, então chamada de mancha de *Ascochyta*, descrevendo-o como uma nova espécie, *Ascochyta coffeae*. Mais de cinquenta anos depois, Stewart (1957) estudou em cafezais da África a mancha de Phoma e descreveu o fungo *Ascochyta tarda*. Junto ao material foram observadas estruturas reprodutivas da fase sexuada do agente etiológico, então denominado *Mycosphaerella* sp. Entretanto, o autor não fez uma descrição formal do fungo. Atualmente, o nome correto do agente etiológico da mancha de Phoma é *Phoma tarda* (Boerema et al., 2004).

A definição dos gêneros *Mycosphaerella* e *Didymella* nem sempre é clara. Ambos apresentam ascósporos fusiformes com um septo, produzidos em ascos bitunicados, cilíndricos em pseudotécios solitários. No entanto, estes dois gêneros podem ser diferenciados com base em outras características como a posição do septo do ascósporo, tamanho e

anatomia e a presença de pseudoparáfises (Boerema et al., 2004). Corlett (1981) discutiu os problemas de identificação e a separação dos gêneros *Didymella* e *Mycosphaerella*, descrevendo alguns critérios de caracterização para distinguir os dois gêneros, como por exemplo ascos fasciculados em *Mycosphaerella*, em contraste com ascos paralelos em *Didymella*. O anamorfo de *Didymella* é *Ascochyta* e *Phoma*, enquanto que em *Mycosphaerella* corresponde a *Septoria*, *Cercospora* e outros gêneros de hifomicetos pigmentados. Realizou-se o presente estudo com o objetivo de relatar pela primeira vez no Brasil a ocorrência de *Didymella* sp., fase teleomórfica de *P. tarda*, em cafeeiros do sul de Minas Gerais e do sudoeste da Bahia.

Material e Métodos

De 1998 a 2006 foram realizadas coletas sistemáticas de material vegetal apresentando sintomas típicos de seca de ponteiros e de mancha de Phoma provenientes de lavouras de café do sul de Minas Gerais e do sudoeste da Bahia. Todo o material coletado foi examinado em microscópio estereoscópio e os pseudotécios, ascos e ascósporos formados nas lesões foram montados em lâminas de vidro para estudo em microscopia de luz. Pseudotécios foram transferidos para lâmina escavada contendo água destilada e esterilizada e macerados para liberação dos ascósporos. Para obtenção de culturas monoascospóricas, ascósporos individuais foram transferidos para placas de Petri contendo MA 2% e a fase anamórfica observada após duas semanas. Outra metodologia empregada para o isolamento e identificação da fase teleomórfica de *P. tarda*, a qual consistiu em colar na parte interna da tampa da placa de Petri com meio MA 2% parte da lesão foliar com peritécios do fungo, deixando que haja a ejeção de ascósporos do fungo no meio de cultura. Após uma semana avaliou-se as estruturas reprodutivas.

Resultados e Discussão

O material vegetal coletado no sul de Minas Gerais e no sudoeste da Bahia apresentou estruturas típicas de *P. tarda* na área necrosada da folha. Após isolamento do fungo em meio de cultura, estruturas de *P. tarda* foram observadas e, em menor quantidade, pseudotécios. Ascósporos individuais produziram culturas típicas de *P. tarda* em meio MA 2%. O crescimento micelial em MA 2% é inicialmente de coloração cinza na superfície do meio e, após duas semanas, formam-se picnídios e conídios típicos de *Phoma tarda*. Através da caracterização morfológica das estruturas no substrato natural, foram observados pseudotécios subepidermais com 200-280 µm, esparsos, erumpentes, subglobosos, marrom escuros, com abertura ostiolar de 20-22 µm, pseudoparáfises hialinas, septadas; ascos paralelos bitunicados, cilíndricos a globosos 60-70 x 10-15 µm, com oito ascósporos hialinos com um septo mediano, medindo 16-20 x 5-7 µm (Figura 1). O fungo foi identificado como *Didymella* sp., de acordo com a literatura (von Arx & Müller 1975; Müller & von Arx, 1962).

A descrição do suposto teleomorfo de *Ascochyta tarda*, relatado como *Mycosphaerella* sp. por Stewart (1957), é bastante concisa, entretanto permite concluir que as características morfológicas dos ascos e dos ascósporos são próximas ao do material analisado em cafeeiros no Brasil. Além disso, as características morfológicas da fase anamórfica são também muito semelhantes. Desta forma, supõe-se tratar da mesma espécie. Este estudo tem o mérito de demonstrar pela primeira vez no Brasil a conexão entre a fase teleomórfica (*Didymella* sp.) e anamórfica (*Phoma tarda*) do agente etiológico da mancha de Phoma do cafeeiro. Apesar da importância científica e principalmente econômica da mancha de Phoma e da seca de ponteiros para a cultura do café no Brasil, ainda não tinha sido observada a ocorrência da fase teleomórfica no campo. Entretanto, *Didymella* sp. parece ocorrer com frequência. A fase teleomórfica é produzida por meio da reprodução sexuada, que corresponde ao principal mecanismo de geração de variabilidade genética nas populações do patógeno.

Conclusões

O relato da presença da fase sexuada do fungo em lavouras de café constitui-se em informação relevante em relação à variabilidade genética do patógeno e abre novas oportunidades de estudo sobre a biologia do patógeno e a epidemiologia da doença.

Referências bibliográficas

- Arx J.A. von & Müller E. 1975. A re-evaluation of the bitunicate ascomycetes with keys to families and genera. *Stud. Mycol.* No. 9., 159 pp.
- Corlett, M. (1981). A taxonomic survey of *Didymella* and *Didymella*-like species. *Canadian Journal of Botany*, 59:2016-2042.
- Barve, M.P.; Arie T.; Salimath, S.S.; Muehlbauer, F.J.; Peevera, T.L. (2003). Cloning and characterization of the mating type (MAT) locus from *Ascochyta rabiei* (teleomorph: *Didymella rabiei*) and a MAT phylogeny of legume-associated *Ascochyta* spp. *Fungal Genetics and Biology*, 39:151-167.

Boerema, G.H.; Gruyter, J.; Noordeloos, M.E.; Hamers, M.E.C. (2004). *Phoma* identification manual. CAB International, Wallingford, 470 pp.

Hennings, P. (1902). Fungi S. Paulensis II a.d. Putterman collecti. *Hedwigia*, 41:295-310.

Müller E. & von Arx J.A. 1962. Die Gattungen der didymosporen Pyrenomyceten. Beitr. Kryptogamenflora der Schweiz. Kommissionsverlag Buchdr. Buehler. Wabern-Bern. 922 pp.

Pfenning, L.H.; Salgado, M.; Almeida, A.R.; Pereira, R.T.G. (2005). Estação perigo. *Cultivar VII*, nº 79:12-16.

Salgado, M.; Pfenning, L.H. (2000). Identificação e caracterização de espécies de *Phoma* no Brasil. Anais. Congresso Paulista de Fitopatologia, Campinas SP.

Stewart, R.B. (1957). Leaf blight and stem dieback of *Coffea* caused by undescribed species of *Ascochyta*. *Mycologia*, 49:430-433.

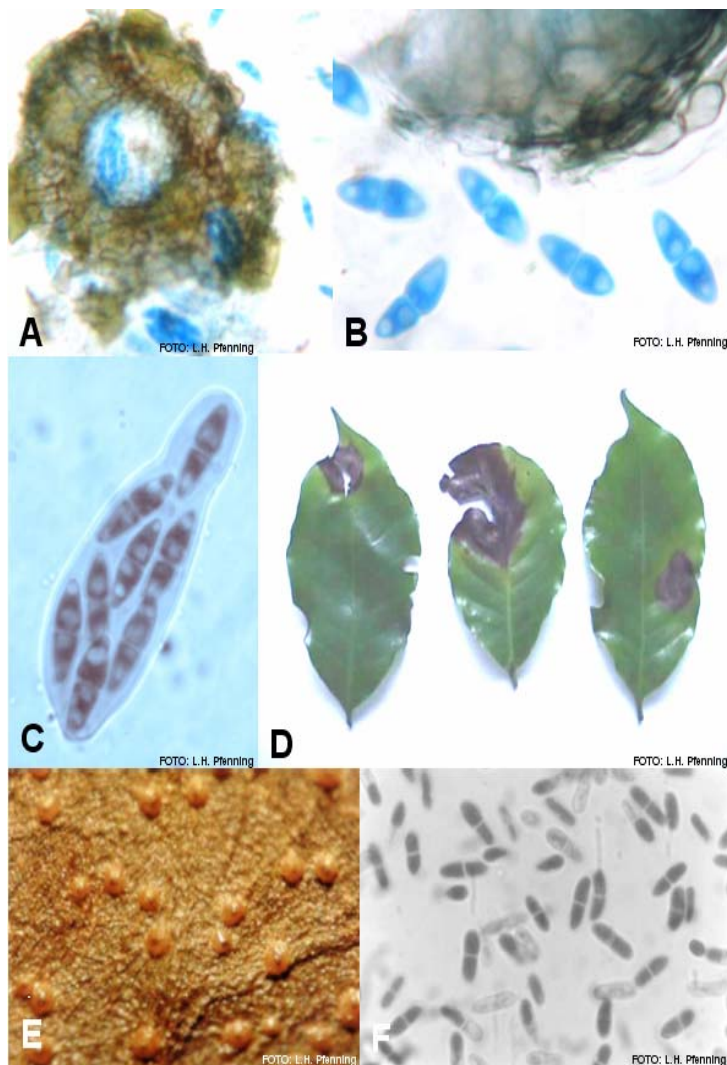


Figura 1 - *Didymella* sp. **A** - ascoma pseudotécio, 200-280 μm , ostiolado, subepidermal, em folhas de café; **B** - ascósporos hialinos (14)16-20 x 5-7 μm , com septo mediano; **C** - asco bitunicado 60-70 x 10-15 μm ; **D** - folhas com sintomas de mancha de *Phoma*. *Phoma tarda* **E** - picnídios em infecção natural; **F** - conídios hialinos com e sem septos 5,0-10(12) x 2,5-3(4) μm .