

PEDRO NERY DE SOUZA NETO

RESISTÊNCIA DE HÍBRIDOS DE *Coffea canephora* Pierre ex  
Froehner ÀS RAÇAS II e XXXIII DE *Hemileia vastatrix* Berk. et Br.

Dissertação apresentada à Universidade  
Federal de Viçosa, como parte das  
exigências do Programa de Pós-  
Graduação em Fitopatologia, para  
obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2011

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV

T

S729r  
2011

Souza Neto, Pedro Nery de, 1986-  
Resistência de híbridos de *Coffea canephora* Pierre ex  
Froehner às raças II e XXXIII de *Hemileia vastatrix* Berk.  
et Br. / Pedro Nery de Souza Neto. – Viçosa, MG, 2011.  
x, 43f. : il. ; 29cm.

Orientador: Laércio Zambolim.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.  
Referências bibliográficas: f. 37-43.

1. Café - Resistência a *Hemileia vastatrix*.
  2. *Coffea canephora*. 3. Ferrugem do cafeeiro.
- I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22. ed. 633.7394

PEDRO NERY DE SOUZA NETO

RESISTÊNCIA DE HÍBRIDOS DE *Coffea canephora* Pierre ex Froehner ÀS RAÇAS  
II E XXXIII DE *Hemileia vastatrix* Berk. et Br.

Dissertação apresentada à Universidade  
Federal de Viçosa, como parte das  
exigências do Programa de Pós-  
Graduação em Fitopatologia, para  
obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 29 de julho de 2011.



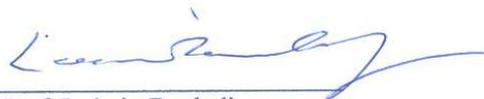
Pesq. Antônio Carlos Baião de Oliveira



Pesq. Eunize Maciel Zambolim



Pesq. Romário Gava Ferrão  
(Co-orientador)



Prof. Laércio Zambolim  
(Orientador)

*“You can't always get what you want.  
But if you try sometimes, you just might find  
You get what you need”*

(Mick Jagger/Keith Richards)

Aos meus pais, Aniz e Ivone

Aos meus irmãos, Josué, Jussara, e Bruno

Aos meus familiares e amigos,

que sempre me deram apoio e incentivo,

**dedico.**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por estar ao meu lado em todos os desafios dessa vida.

Aos meus pais Aniz e Ivone, pelos ensinamentos, incentivo e apoio fundamentais em minha formação.

Aos meus familiares, que estiveram sempre ao meu lado e deram grande contribuição em todas as conquistas.

À Universidade Federal de Viçosa, pelas oportunidades oferecidas e, especialmente, pela realização deste curso.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Prof. Laércio Zambolim, pela orientação, confiança, e pelo apoio fundamental na realização deste trabalho.

Ao INCAPER (Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural) pela parceria na realização deste trabalho.

Ao Dr. Romário Ferrão e funcionários do INCAPER, que estiveram sempre dispostos a nos receber com grande presteza e atenção.

À Dr. Eunize, por viabilizar a infraestrutura e material necessários para realização deste trabalho, e pela ajuda com as correções.

Ao Sr. Gerson, pela boa vontade e pela colaboração prestada.

Ao Laboratório de Biotecnologia do Cafeeiro, pelo fornecimento dos isolados das raças II e XXXIII de *Hemileia vastatrix*.

Ao amigo Sérgio Milagres, que nunca mediu esforços para ajudar os estudantes e amigos de laboratório, mesmo quando foi preciso trabalhar nos finais de semana.

Ao prezado José Cláudio, pela amizade e pela disponibilidade em ajudar em qualquer momento.

Aos professores e funcionários do Departamento de Fitopatologia, por toda colaboração e valiosos ensinamentos.

Ao amigo Alexandre Capucho, por ter uma participação importante no direcionamento de minha carreira para a Fitopatologia e por toda ajuda prestada ao longo do tempo que estive em Viçosa, inclusive na realização deste trabalho.

Aos amigos do Laboratório de Proteção de Plantas do Departamento de Fitopatologia, pela amizade, companheirismo e pela grandiosa colaboração. Em especial Alessandro, Aline Oliveira, Aline Vieira, André (Deco), Daniele, Douglas, Fabrício,

Franklin, Gabriel, Henrique, Hítor, Priscila, Rodrigo, Uiraci e Uilton. Eu não conseguiria sem vocês!

Aos meus tios Ronaldo, Marcos, Cássia e Walmir, que participaram ativamente em minha formação.

A meus primos Ernandes, Leandro e Watson e ao tio Jânio, pela amizade fiel.

À Ediane, por estar ao meu lado, pelo apoio moral e pela ajuda com as avaliações.

Aos meus amigos Danival, Toim e Ueder, pela amizade, cumplicidade, e pelos momentos de descontração.

Aos colegas que estiveram ao meu lado durante este curso, pela amizade e companheirismo nos bons momentos e nos momentos difíceis. Em especial a Cristhian Grabowski, Daniel Debona, Eugênio Chaves, Jonas Rios, Lívio Amaral, Paula Renata, Paulo Macedo, Sílvia Leão, Stefânia Caixeta, Thaís Santiago e Valéria Yukari.

Aos companheiros de república e de alojamento, pela amizade e boa convivência.

Enfim, a todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram na realização deste trabalho e em minha formação.

**Muito Obrigado!**

## **BIOGRAFIA**

PEDRO NERY DE SOUZA NETO, filho de Maria Ivone Alves Pereira de Souza e Aniz Oliveira de Souza, nasceu em Itaipé, Minas Gerais, em 18 de janeiro de 1986.

Em março de 2004, ingressou-se no curso de Agronomia na Universidade Federal de Viçosa, graduando-se em 24 de julho de 2009.

No período de 2006 a 2009 foi bolsista de iniciação científica no Departamento Fitopatologia da UFV, onde desenvolveu atividades de pesquisa sobre manejo integrado de doenças do cafeeiro.

Em 10 de agosto de 2009 iniciou o Mestrado no Programa de Pós-graduação em Fitopatologia, na Universidade Federal de Viçosa, submetendo-se à defesa de dissertação em 29 de julho de 2011.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	vii
ABSTRACT .....	ix
1-INTRODUÇÃO .....	1
2-REVISÃO DE LITERATURA.....	5
2.1-O café conilon .....	5
2.2-A ferrugem do cafeeiro .....	8
2.3-Resistência à ferrugem em <i>Coffea canephora</i> .....	11
3-MATERIAL E MÉTODOS .....	14
3.1-Genótipos estudados .....	14
3.2-Obtenção e preparo do inóculo .....	14
3.3-Técnica de inoculação .....	15
3.4-Avaliação.....	16
3.5-Análise estatística.....	17
4-RESULTADOS .....	19
4.1-Resistência de híbridos de <i>C. canephora</i> a raça II de <i>H. vastatrix</i> .....	19
4.2- Resistência de híbridos de <i>C. canephora</i> à raça XXXIII de <i>H. vastatrix</i> .....	25
4.3-Comportamento diferencial das raças .....	31
5-DISCUSSÃO .....	33
6-CONCLUSÕES .....	36
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37

## RESUMO

SOUZA NETO, Pedro Nery de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2011. **Resistência de híbridos de *Coffea canephora* Pierre ex Froehner às raças II e XXXIII de *Hemileia vastatrix* Berk. et Br.** Orientador: Laércio Zambolim. Co-Orientador: Romário Gava Ferrão.

O café é um dos principais produtos comercializados no mundo e possui, historicamente, uma grande importância para a agricultura brasileira. Em 2011, estima-se no Brasil a produção de 43,54 milhões de sacas beneficiadas de café, sendo o café conilon (*Coffea canephora* Pierre ex Froehner), responsável por aproximadamente 26,1% deste montante. A ferrugem do cafeeiro, causada pelo fungo *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. é considerada a principal doença do café conilon. Os clones 02 e 83 tem se destacado no programa de melhoramento genético de *C. canephora* do Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (Incaper). Esses clones fazem parte da constituição de variedades clonais lançadas pelo citado instituto. Se por um lado, o clone 02, mesmo sendo suscetível a ferrugem, é um dos materiais genéticos mais cultivados no estado do Espírito Santo, o destaque para o clone 83 é a sua resistência a essa doença. Entre os métodos disponíveis para o controle da doença, a resistência genética é economicamente a melhor alternativa. Este trabalho teve por objetivo caracterizar os níveis de resistência dos clones 02, 83 e de 39 híbridos do cruzamento “clone 83 x clone 02” às raças II (v5) e XXXIII (v5,7 ou v5,7,9) de *H. vastatrix*. Estes genótipos estão localizados na Fazenda Experimental Bananal do Norte/Incaper, a qual situa-se no município de Cachoeiro do Itapemirim-ES. Para determinação dos níveis de resistência, foi utilizada a metodologia de inoculação de uredosporos de *H. vastatrix* em discos de folhas. O ensaio foi conduzido seguindo o delineamento inteiramente casualizado contendo 3 repetições de 16 discos cada. O experimento foi realizado em fevereiro e abril de 2011. Os componentes de resistência avaliados para cada genótipo foram: período de incubação (PI), período latente (PL), porcentagem de discos com sintomas (DS), porcentagem de discos com esporulação (DE), porcentagem de área esporulada (AE) e produção de uredosporos por área (UA). Por meio de análise de agrupamentos foi possível classificar os genótipos em quatro níveis de resistência (resistentes, moderadamente resistentes, moderadamente suscetíveis e suscetíveis). Adotou-se como medida de dissimilaridade a distância euclidiana padronizada, e a técnica hierárquica aglomerativa de ligação completa. Quanto à resistência à raça II, dos híbridos oriundos dos clone 83 x clone 02 avaliados,

quatro (11,1%) foram classificados como suscetíveis; quatorze (38,9%) como moderadamente suscetíveis; nove (25%) como moderadamente resistentes e nove (25%) foram resistentes. O clone 83, utilizado como genitor resistente, foi classificado como moderadamente resistente e o clone 02 (genitor suscetível) foi classificado como moderadamente suscetível. Quanto a resistência à raça XXXIII, dos híbridos oriundos dos clone 83 x clone 02 avaliados, três (7,9%) foram classificados como suscetíveis; dezesseis (42,1%) como moderadamente suscetíveis; quatorze (36,8%) como moderadamente resistentes e cinco (13,2%) como resistentes. O clone 83 foi classificado como moderadamente suscetível à raça XXXIII e o clone 02 como moderadamente resistente. Foi observado que os clones 02 e 83 possuem resistência horizontal à ferrugem e que o nível dessa resistência pode variar de acordo com a raça inoculada. O componente de resistência que melhor explicou a variação dos níveis de resistência foi DE. Quatro híbridos expressaram resistência vertical, não apresentando esporulação das raças II e XXXIII. Por terem sido resistentes à raça XXXIII, a qual possui os fatores de virulência v5,7 ou v5,7,9, possivelmente, estes híbridos possuem o fator de resistência  $S_H6$ . Conclui-se que no conjunto de híbridos de *C. canephora* avaliados há genótipos que podem ser aproveitados para programas de melhoramento visando resistência qualitativa e quantitativa a ferrugem.

## ABSTRACT

SOUZA NETO, Pedro Nery de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2011. **Resistance of *Coffea canephora* Pierre ex Froehner hybrids to races II and XXXIII of *Hemileia vastatrix* Berk. et Br.** Adviser: Laércio Zambolim. Co-Adviser: Romário Gava Ferrão.

Coffee is one of the main commodities in the world and has, historically, a great importance for the Brazilian agriculture. It is estimated in 2011 that Brazil will produce 43.54 million bags of beneficiated coffee. *Coffea canephora* Pierre ex Froehner accounts for nearly 26.1% of this amount. Coffee leaf rust caused by the fungus *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. is considered the main disease of robusta coffee. The clones 02 and 83 have been used in the breeding program of *C. canephora* of the Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (Incaper). These clones are part of the constitution of clonal varieties released by the Incaper. The clone 02 is one of the genetic material most commonly cultivated in the Espírito Santo state although it is very susceptible to coffee leaf rust. The clone 83 is resistant to the disease. Among the methods available to control the disease, genetic resistance is the best alternative economically. The aim of this work was to characterize the level of resistance of clones 02, 83 and 39 hybrids from the crossing "clone 83 x clone 02" to races II (v5) and XXXIII (v5, v5 or v7, v7.v9) of *H. vastatrix*. These genotypes are planted at the Fazenda Experimental Bananal do Norte/Incaper, which is located in Cachoeiro do Itapemirim-ES. The resistance to *H. vastatrix* was tested using coffee leaf disks. The test was carried out following a completely randomized design with three replicates of 16 leaf discs each. The experiment was done in February and April 2011. The resistance components evaluated for each genotype were: incubation period (PI), latent period (PL), percentage of disks with symptoms (DS), percentage of disks with sporulation (DE); percentage of sporulated area (AE) and uredospore production per area (UA). Through cluster analysis was possible to classify the genotypes into four levels of resistance (resistant, moderately resistant, moderately susceptible and susceptible). It was adopted as a measure of dissimilarity the standardized Euclidean distance, and the agglomerative technique the complete linkage. Regarding to resistance to race II in the hybrids obtained from crosses between clones 83 and 02, four (11.1%) were classified as susceptible, fourteen (38.9%) as moderately susceptible, and nine (25%) as moderately resistant and nine (25%) were resistant. The clone 83, used as resistant parent, was classified as moderately resistant and clone 02 (susceptible parent)

were classified as moderately susceptible. Regarding the resistance of hybrids to race XXXIII, three (7.9%) were classified as susceptible, sixteen (42.1%) as moderately susceptible, fourteen (36.8%) as moderately resistant and five (13.2%) as resistant. Clone 83 was classified as moderately susceptible to race XXXIII and clone 02 as moderately resistant. It was observed that clones 02 and 83 have horizontal resistance to the disease and the level of its resistance vary according to race inoculated. Part of the hybrids tested also showed variation in resistance level according to the race inoculated. The resistance component that best explained the variation in the levels of resistance was DE. Four hybrids showed vertical resistance to races II and XXXIII. Possibly these hybrids have the resistance factor  $S_H6$ , because they were resistant to race XXXIII, which has the virulence factors v5,7 or v5,7,9. In conclusion it was found hybrids of *C. canephora* that can be used for breeding programs aiming at the qualitative and quantitative resistance to coffee leaf rust.

# 1-INTRODUÇÃO

O café é um dos principais produtos comercializados no mundo e possui, historicamente, uma grande importância para a agricultura nacional. De acordo com Fassio & Silva (2007) o café chegou a ser responsável por 70% do total de nossas exportações no período de 1925 a 1929.

A produção mundial de café em 2009 foi de 139 milhões de sacas, sendo o Brasil responsável por cerca de 30% deste montante (FAO, 2011). A receita gerada com a exportação brasileira de café em 2010 foi de 5,74 bilhões de dólares, correspondendo à, aproximadamente, 7,5% de toda a exportação agrícola (Mapa, 2011a). Em 2011, o Brasil deverá colher 43,54 milhões de sacas beneficiadas de café, sendo o conilon (*Coffea canephora* Pierre ex Froehner), responsável por aproximadamente 26,1% deste montante (Conab, 2011).

Dentre as espécies pertencentes ao gênero *Coffea*, apenas *Coffea arabica* L. e *C. canephora* possuem importância econômica (Zambolim, 2009). A espécie *C. arabica* é mais comercializada devido à qualidade superior de sua bebida, entretanto, vários fatores têm impulsionado a expansão do cultivo de *C. canephora* no Brasil e no mundo, principalmente pelo seu alto potencial produtivo associado ao menor custo de produção. Em 2011 a produção mundial de café conilon deve alcançar 54,9 milhões de sacas, correspondendo a 40% de todo o café produzido (Usda, 2011).

O estado do Espírito Santo é o principal produtor de café conilon no Brasil e, em 2011, estima-se que será o responsável por 71,2% de sua produção. Entretanto, estados como Rondônia, Bahia, Minas Gerais, Pará e Mato Grosso têm aumentado a produção desta variedade (Conab, 2011).

Os cafeeiros da espécie *C. canephora* produzem grãos com teores mais elevados de sólidos solúveis e cafeína em relação ao *C. arabica*. O teor de sólidos solúveis varia de 26,1 a 30,6% em conilon e de 23,8 e 27,3% em arábica (Mendonça, 2005). Quanto ao teor de cafeína, que em arábica está em torno de 1,0%, variando de 0,07 a 1,6% em linhagens selvagens (Aguiar *et al.*, 2004; Ky *et al.*, 2001; Silvarolla *et al.*, 2004), em café conilon varia de 2,0 a 3,5% (Aguiar *et al.*, 2005; Ky *et al.*, 2001). Estas características deram ao café conilon um importante destaque na indústria de cafés solúveis, assim como na torrefação e moagem para o uso em *blends* de café arábica.

A expansão dos mercados consumidores asiáticos e europeus, especialmente no que se refere ao café solúvel, tem levado à valorização comercial do café conilon, o que tem contribuído substancialmente para a expansão de seu cultivo (Fazuoli, 2009).

As plantas da espécie *C. canephora* são alógamas e auto-incompatíveis, o que torna as populações descendentes de cruzamentos naturais altamente heterogêneas quanto à época de colheita, uniformidade de maturação dos frutos, arquitetura das plantas, produtividade e resistência às doenças. Esta diversidade de fenótipos dificulta o manejo adequado da lavoura, aumenta os custos de produção e afeta a qualidade e o padrão dos cafés produzidos. Estes foram os principais fatores que levaram a Empresa Capixaba de Pesquisa Agropecuária (Emcapa), atual Incaper (Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural), a iniciar em 1985 suas pesquisas voltadas para o melhoramento genético da espécie, focando-se basicamente no desenvolvimento de variedades clonais melhoradas (Ferrão *et al.*, 2007b).

Em 1993, foram lançadas as primeiras variedades clonais de conilon denominados ‘Emcapa 8111’, ‘Emcapa 8121’ e ‘Emcapa 8131’, com ciclo de maturação precoce, médio e tardio para o estado do Espírito Santo. Constituídas por 9, 14 e 9 clones, respectivamente (Bragança *et al.*, 1993; 2001; Ferrão *et al.*, 2009).

O lançamento dessas variedades atendeu ao objetivo de disponibilizar para o produtor um material genético mais uniforme, que facilitasse os tratos culturais, a obtenção de um produto de melhor qualidade, escalonamento de colheita e melhor utilização de estruturas de secagem, beneficiamento e armazenamento. Para evitar os riscos decorrentes do estreitamento da base genética das lavouras, cada variedade clonal deve ser composta por um número mínimo de oito clones distintos, o que contribui para manter certa variabilidade genética dentro das lavouras (Charrier & Berthaud, 1988; Ferrão *et al.*, 2007b). A partir do lançamento destas variedades melhoradas a produtividade média do estado aumentou em 313%, saindo de 9,2 para 28,8 sacas beneficiadas por hectare (Conab, 2011).

Entretanto, a disseminação da técnica de clonagem a partir da propagação por estaquia permitiu que os próprios produtores e viveiristas passassem a selecionar e propagar os materiais genéticos com características superiores, como maior produtividade, melhor porte, etc. Conseqüentemente, as lavouras passaram a ser formadas com um número cada vez menor de clones. Atualmente, é comum encontrar lavouras formadas por uma combinação de apenas dois clones, especialmente na região norte do estado do Espírito Santo.

Em muitos cultivos tem sido priorizado o plantio do clone 02. A atração do produtor por esse material está relacionada ao excelente porte e arquitetura e alto potencial produtivo desse clone, mesmo se mostrando suscetível à ferrugem. Este clone chega a compor mais de 70% das plantas em algumas lavouras. Esse estreitamento da base genética das lavouras gera problemas de polinização, emissão de várias floradas, prejudicando a qualidade final do produto, e favorece a ocorrência de pragas e doenças (Ferrão *et al.* 2007b).

A ferrugem do cafeeiro, causada pelo fungo *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. é considerada a principal doença dos cafezais. Estima-se que anualmente as perdas mundiais causadas por esta doença em café arábica estão em torno de 1 – 2 bilhões de dólares (Van der Vossen, 2005). Entretanto, ainda não existem dados específicos de perdas para café conilon.

Poucas pesquisas têm sido realizadas focando o patossistema *H. vastatrix* x *C. canephora*. Entretanto, com a expansão dos plantios com variedades clonais descaracterizadas (pela utilização de um número menor de clones) esta doença tem ganhado importância nos últimos anos. Trabalhos de quantificação de danos causados pela ferrugem nas lavouras de conilon no estado do Espírito Santo estão sendo realizados e os resultados estão mostrando a importância dessa doença nos últimos tempos (Capucho, 2011. Informação pessoal).

Ao todo, 45 raças fisiológicas de *H. vastatrix* foram identificadas no mundo (Várzea & Marques, 2005). No Brasil, desde 1971, já foram relatadas 16 destas raças, sendo elas a I, II, III, VII, X, XIII, XV, XVI, XVII, XXI, XXII, XXIII, XXIV, XXV ou XXXI, XXXIII e XXXVII (Cabral *et al.*, 2009; Cardoso & Silva, 1992; Cardoso *et al.*, 1988; Chiacchio, 1973; Fazuoli *et al.*, 2002; Nascimento *et al.*, 2010; Ribeiro *et al.* 1975). A raça II é, notadamente, a de maior prevalência no país (Zambolim, 2005) e, portanto, a mais importante. O gene de virulência v5 é o único presente nesta raça (Várzea & Marques, 2005).

A raça XXXIII (v5,7 ou v5,7,9) (Várzea & Marques, 2005) foi isolada de cultivares de *C. arabica* resistentes à ferrugem contendo genes de resistência originados de *C. canephora* (Nascimento, *et al.*, 2010). Portanto, esta raça pode representar um risco para áreas cultivadas com estes genótipos ou outros materiais que contenham os mesmos genes de resistência.

O controle da ferrugem pode ser realizado pela associação de medidas de natureza química e genética (Ribeiro Filho, 2001). Apesar da eficiência dos fungicidas cúpricos e/ou sistêmicos, o desenvolvimento de cultivares com resistência genética é

economicamente a melhor alternativa para o controle da doença (Bettencourt & Carvalho, 1968; Zambolim *et al.*, 1999; Zambolim, 2009).

Nos programas de melhoramento de *C. canephora* do Incaper o clone 83 tem despertado o interesse dos pesquisadores por apresentar elevada capacidade produtiva, e alta resistência à ferrugem do cafeeiro. Em razão disso esse clone foi selecionado pelo Incaper como uma fonte de resistência.

Cruzamentos entre o clone 83 e o clone 02 foram realizados em agosto de 2003 e 39 plantas obtidas dessa hibridação fazem parte de um ensaio de competição instalado em 2005 na Fazenda Experimental Bananal do Norte/Incaper, localizada em Cachoeiro do Itapemirim-ES.

Desta forma, este trabalho teve por objetivo: quantificar os níveis de resistência às raças II (v5) e XXXIII (v5,7 ou v5,7,9) de *H. vastatrix* nos clones 02 e 83 e em um conjunto de 39 plantas oriundas do cruzamento entre esses dois clones; identificar genótipos que possam ser aproveitados em programas de melhoramento do café conilon visando a resistência à ferrugem do cafeeiro; identificar qual(is) componente(s) de resistência possui maior importância para a caracterização de níveis de resistência à ferrugem em *C. canephora*.

## 2-REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1-O café conilon

Os primeiros cultivos comerciais de café conilon (*Coffea canephora*) datam de 1870, no Congo, a partir de sementes de plantas silvestres da variedade Robusta coletadas às margens do rio Lomani (Ferrão *et al.*, 2007a). Em 1900, a espécie foi introduzida na ilha de Java, onde se realizaram os primeiros estudos visando o estabelecimento das bases biológicas fundamentais para o melhoramento da espécie. Posteriormente, a sua exploração foi expandida para a África, América e outras regiões da Ásia (Charrier & Berthaud, 1988). A resistência à ferrugem do cafeeiro e a adaptação a ambientes mais quentes e úmidos foram as razões principais para a expansão de *C. canephora*.

O café Conilon tem seu nome derivado do rio Kouillou, no Congo, ou do rio Kwilu, no Zaire (Berthaud, 1986). A variedade Kouillou (Conilon, no Brasil) foi observada na sua forma selvagem em 1880 entre o Gabão e a foz do rio Congo, principalmente próximo ao ribeirão Kouillou (Carvalho, 1946). Em 1895, o botânico Louis Pierre foi o primeiro a descrever o material como *Coffea canephora* Pierre. Em 1897, numa revisão do gênero *Coffea*, o alemão Albrecht Froehner fez a descrição completa da espécie, que passou a ser denominada *Coffea canephora* Pierre *ex* Froehner (Ferrão *et al.*, 2007a).

A espécie *C. canephora* é dividida em dois grupos de materiais genéticos distintos, classificados como Congolense e Guineano (Berthaud, 1986). Esta separação foi confirmada com base em marcadores enzimáticos e nas regiões de origem de cada material (Leroy *et al.*, 1993). O grupo Guineano é oriundo do oeste africano (Guiné e Costa do Marfim). As plantas deste grupo são caracterizadas pelo seu hábito de crescimento mais arbustivo, caules ramificados, frutos pequenos, folhas menores e mais alongadas, florescimento precoce, resistência à seca e maior suscetibilidade a doenças. No processo de melhoramento genético da espécie, o grupo Guineano ficou restrito à área de origem, não havendo registro de sua introdução em outros países (Montagnon *et al.*, 1998).

De acordo com características fenológicas, bioquímicas e moleculares, o grupo Congolense, o qual é oriundo da África Central (República Centro-Africana, Congo e Camarões), é dividido em quatro subgrupos denominados SG1, SG2, B e C (Dussert *et al.*, 1999). Um quinto subgrupo, composto por acessos selvagens de Uganda, foi

proposto por Musoli *et al.* (2009). O SG1 é composto pela variedade Kouillou e demais genótipos do Benin ao Gabão que apresentam características adaptativas semelhantes, em parte, às das do grupo Guineano. Nos subgrupos SG2, B e C incluem os materiais do tipo robusta, que caracterizam-se por apresentar hábito de crescimento ereto, com plantas mais altas, caules de maior diâmetro e pouco ramificados, folhas e frutos de maior tamanho, maior vigor, maior tolerância a doenças e menor resistência ao déficit hídrico (Cubry, 2009; Leroy, *et al.*, 1993).

Independentemente do grupo a qual pertence, variedades *C. canephora*, bem como os cafés por elas produzidos, são genericamente denominados de robusta. Entretanto, no Brasil é mais comum serem designadas como “café conilon”, uma vez que a variedade Kouillou é responsável pela maior parte da produção de café oriundo dessa espécie no país (Ferrão *et al.*, 2007a).

O primeiro registro da introdução de *C. canephora* no Brasil foi realizado pelo Governador do estado do Espírito Santo, Jerônimo Monteiro, em relatório referente ao período de 1909 a 1912. Neste documento, o governador cita a aquisição de mudas e sementes da variedade Conilon, as quais haviam sido distribuídas no município de Cachoeiro do Itapemirim (Ferrão *et al.*, 2007a).

Embora sua introdução no Brasil tenha ocorrido no início do século XX, somente a partir de 1960, o café conilon passou a ser cultivado de forma expressiva, inicialmente no estado do Espírito Santo, e posteriormente em Rondônia e Bahia (Matiello & Almeida, 1997).

Os cafeeiros da espécie *C. canephora* produzem grãos com teores mais elevados de sólidos solúveis e cafeína do que *C. arabica*. O teor de sólidos solúveis, em café conilon varia entre 26,1 a 30,6%, enquanto que em arábica variam de 23,8 e 27,3% (Mendonça, 2005). Quanto ao teor de cafeína, que em arábica está em torno de 1,0%, variando de 0,07 a 1,6% em linhagens selvagens (Aguiar *et al.*, 2004; Ky *et al.*, 2001; Silvarolla *et al.*, 2004), em café conilon varia de 2,0 a 3,5% (Aguiar *et al.*, 2005; Ky *et al.*, 2001). Estas características deram ao café conilon um importante destaque na indústria de cafés solúveis, bem como na torrefação e moagem para o uso em *blends* de café arábica.

A produção de café conilon vem aumentando em vários estados brasileiros, como Bahia, Minas Gerais, Pará e Mato Grosso. O mesmo vem ocorrendo em outros países produtores, impulsionados principalmente pelo crescimento dos mercados consumidores europeus e asiáticos, especialmente no que se refere aos cafés solúveis (Conab, 2011; Fazuoli, 2009).

Diferentemente de *C. arabica*, a espécie mais cultivada e comercializada no mundo, que é alotetraplóide ( $2n=4x=44$ ) e autógama, *C. canephora* é diplóide ( $2n=2x=22$ ) e alógama, com auto-incompatibilidade genética do tipo gametofítica. Este mecanismo de auto-incompatibilidade em *C. canephora* é controlado por um único gene S presente no genoma haplóide do gametófito masculino, o qual possui vários alelos. Desta forma, a formação do tubo polínico é interrompida se o mesmo alelo S do gametófito também estiver presente nas células diplóides do estilete da planta receptora. Este mecanismo impede a ocorrência de autofecundação nas plantas de *C. canephora* (Conagin & Mendes, 1961).

Em razão de sua forma natural de reprodução, as populações de café conilon obtidas por cruzamentos (natural ou artificial) são de grande heterogeneidade, com plantas muito distintas quanto à arquitetura da parte aérea, formato e tamanho dos grãos, época e uniformidade de maturação dos frutos, suscetibilidade a pragas e doenças, tolerância à seca, vigor vegetativo, capacidade produtiva (Charrier & Berthaud, 1988; Berthaud, 1986; Carvalho *et al.*, 1991; Ferrão *et al.*, 2007b). Possui também grande variação nas suas características químicas como teores de sólidos solúveis, lipídios, trigonelina, ácidos clorogênicos e cafeína (Aguiar *et al.*, 2005). Estas características dificultam a caracterização das variedades dentro da espécie (Charrier & Berthaud, 1988; Berthaud, 1986).

Contudo, o baixo potencial produtivo, as limitações na qualidade e dificuldades de manejo, gerados pela heterogeneidade fenotípica, levaram o Incaper a iniciar em 1985 o programa de melhoramento de café conilon, com o objetivo de disponibilizar variedades que melhor atendessem às demandas e necessidades dos cafeicultores (Ferrão *et al.*, 2007b). Devido à relativa facilidade em ser propagada assexuadamente (propagação vegetativa) e à grande diversidade de genótipos disponíveis, o desenvolvimento de variedades clonais se tornou uma das maneiras mais práticas de disponibilizar material genético superior e uniforme para constituição das novas lavouras (Ferrão *et al.*, 2007b).

Por se tratar de uma espécie estritamente alógama, qualquer população clonal descendente de uma mesma planta matriz, ou de diferentes matrizes de um mesmo clone, será geneticamente auto-incompatível. Portanto, para haver fecundação e formação de frutos é essencial que se tenha na população, no mínimo, dois materiais genéticos distintos e que sejam compatíveis entre si. Portanto, os programas de melhoramento genético de *C. canephora* adotam metodologias apropriadas visando

selecionar clones compatíveis para a formação das variedades clonais (Ferrão *et al.*, 2007b).

Em 1993, o Incaper lançou, para o estado do Espírito Santo, as primeiras variedades clonais de conilon ‘Emcapa 8111’, ‘Emcapa 8121’ e ‘Emcapa 8131’, com ciclo de maturação precoce, médio e tardio. Constituídas respectivamente por 9, 14 e 9 clones (Bragança *et al.*, 1993; 2001; Ferrão *et al.*, 2009). Cada variedade clonal é composta por, no mínimo, nove clones distintos, o que contribui para manter certa variabilidade genética dentro das lavouras. A partir do lançamento destas variedades melhoradas, a produtividade média do estado aumentou 313% (Conab, 2011).

Outras variedades desenvolvidas pelo Incaper foram: (i) ‘Emcapa 8141 - Robustão Capixaba’ – variedade clonal lançada em 1999 com maior tolerância ao déficit hídrico e composta por 10 clones; (ii) ‘Emcaper 8151 - Robusta Tropical’ – variedade de propagação por sementes lançada em 2000; (iii) ‘Vitória - Incaper 8142’ – variedade clonal lançada em 2004, composta por 13 clones (Ferrão *et al.*, 2007b). Constam também no Registro Nacional de Cultivares do MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento) as cultivares ‘Apoatã IAC 2258’, ‘Conilon’, ‘Ipiranga 501’, ‘SV 2010’ e ‘Verdebrás G30/G35’ (Mapa, 2011b).

Uma das preocupações quanto à utilização de variedades clonais é a redução da rusticidade do café conilon, uma de suas características mais importantes. A rusticidade observada em *C. canephora* é condicionada, em grande parte, pela sua variabilidade genética (Carvalho *et al.*, 1991). Por isso, é recomendado que as variedades clonais sejam compostas por, no mínimo, oito clones compatíveis, para garantir a polinização e evitar o estreitamento da base genética, o que, dentre outros fatores, deixaria as lavouras mais vulneráveis ao ataque de pragas e doenças (Ferrão *et al.* 2007b).

No Brasil, várias doenças podem afetar os cafeeiros conilon e comprometer sua produtividade, destacando-se a mancha de olho pardo (*Cercospora coffeicola*), mancha de corynespora (*Corynespora cassiicola*), mancha de ascochyta (*Ascochyta coffeae*), mancha manteigosa (*Colletotrichum gloeosporioides* e *C. acutatum*), queima do fio (*Pelicularia koleroga*) e a ferrugem do cafeeiro (*Hemileia vastatrix*), sendo esta última a de maior importância (Zambolim, 2009).

## **2.2-A ferrugem do cafeeiro**

Desde o plantio até a colheita, a cultura do café conilon está sujeita a infecções por fitopatógenos. Dentre as doenças que infectam a cultura em todo o mundo, a ferrugem, causada por *Hemileia vastatrix* Berk. et Br., é a mais importante. A doença

provoca a queda das folhas das plantas infectadas, levando ao abortamento de flores, má formação dos grãos e à seca dos ramos, causando danos diretos na produção (Ventura *et al.*, 2007; Zambolim, 2009).

Admite-se que, em 1861, exploradores britânicos tenham sido os primeiros a observar a ferrugem do cafeeiro próximo ao lago Vitória, no leste africano, embora o primeiro relato oficial do patógeno seja de 1869 no Ceilão, atual Sri-Lanka (Rodrigues Jr., 1990). Entre 1850 e 1870, o cultivo de café arábica no Ceilão se desenvolvia vigorosamente, entretanto, pouco mais de uma década após a primeira constatação da ferrugem em seu território, a atividade foi dizimada pela doença, se tornando um evento histórico para a fitopatologia (Rodrigues Jr., 1990). Este acontecimento foi responsável pela mudança de hábito dos ingleses, que passaram a adotar como tradição o “chá da tarde” em lugar do café que era importado do Ceilão (Schieber & Zentmeyer, 1984).

O fungo *H. vastatrix* é um parasita obrigatório capaz de infectar espécies do gênero *Coffea*. O patógeno pode produzir três tipos de esporos, uredosporos, teliosporos e basidiosporos, mas somente uredosporos dicarióticos são responsáveis pela doença (Coutinho *et al.*, 1995). Os uredosporos apresentam como características marcantes a coloração amarelo-alaranjada e o formato reniformes, onde a parte côncava possui superfície lisa e a parte convexa equinulada (Rodrigues Jr., 1990).

A penetração do fungo ocorre pelos estômatos da superfície abaxial das folhas do cafeeiro na presença de água e temperatura entre 18 e 24°C. A germinação dos uredosporos normalmente leva de 6 a 8 horas, podendo ser emitidos de um a três tubos germinativos. Na extremidade do tubo germinativo ocorre a formação de um apressório sobre um estômato, dando origem, em seguida, à hifa (*peg*) de penetração, a qual, após atravessar o ostíolo do estômato, diferencia-se em vesícula sub-estomática (Guzzo, 2004). O desenvolvimento subsequente da hifa de infecção na câmara sub-estomática leva à colonização das células subsidiárias e do mesófilo foliar do cafeeiro, com a formação do micélio intercelular e, em seguida, dos haustórios, dentro das células do hospedeiro (Rodrigues Jr., 1990; Zambolim *et al.*, 2002). Em cafeeiros susceptíveis, a colonização do mesófilo acaba dando origem aos soros uredospóricos (pústulas), que esporulam na forma de buquê através dos estômatos (Rijo & Rodrigues Jr., 1978; Silva *et al.*, 2006).

Os sintomas da doença surgem na forma de manchas de coloração amarelo-pálida na superfície abaxial das folhas. À medida que a lesão aumenta de tamanho surge uma massa pulverulenta de uredosporos (urediniósporos) de coloração alaranjada constituindo assim uma pústula. As lesões normalmente apresentam aspecto

arredondado podendo ser limitadas pelas nervuras principais e secundárias, embora comumente possa ocorrer a coalescência de pústulas adjacentes, formando lesões maiores de formato irregular. Na face adaxial das folhas observam-se manchas cloróticas amareladas, correspondendo aos limites das pústulas na face inferior. Nos estádios mais avançados da lesão ocorre a necrose do tecido lesionado e a queda da folha infectada (Costa *et al.*, 2007; Zambolim *et al.*, 1999).

O controle químico constitui a principal forma de controle da ferrugem e pode ser realizado de forma preventiva, com fungicidas de contato, sendo os cúpricos os mais efetivos, ou pelo emprego de fungicidas sistêmicos via foliar e/ou solo, formulados em associação com inseticidas sistêmicos ou separadamente. O controle pode também ser realizado por pulverizações com Calda Viçosa, uma mistura de nutrientes com efeito fungicida (Zambolim, 2009).

Apesar da eficiência dos fungicidas no controle do patógeno, o uso de cultivares resistentes constitui a medida mais importante de controle da doença, por ser efetiva e econômica, além de preservar o ambiente (Bettencourt & Carvalho, 1968; Zambolim *et al.*, 1999; Zambolim, 2009). Porém o contínuo surgimento de raças fisiológicas tem suplantado a resistência de algumas cultivares antes consideradas resistentes, e a durabilidade da resistência das cultivares atuais é difícil de ser prevista.

Alguns anos após a introdução e o cultivo em larga escala, na Índia, uma cultivar resistente de *C. arabica*, do grupo “Catimor” (‘Caturra’ x “Híbrido de Timor CIFC 832/1”), começou a mostrar suscetibilidade à ferrugem. Estudos posteriores revelaram tratar-se de novas raças com capacidade para infectar toda a população de “Catimor” existente no CIFC - Centro de Investigação das Ferrugens do Cafeeiro (Várzea *et al.*, 2002). A erosão dos genes de resistência do Híbrido do Timor (HT) pelo cruzamento com a variedade comercial nas sucessivas fases do melhoramento, certamente, contribuiu para que a resistência dessas linhagens pudesse ser suplantada pelas novas raças, uma vez que, linhagens puras do HT cultivadas naquele país há mais de 40 anos permaneceram imunes (Rodrigues Jr. *et al.*, 2004). Investigadores do Instituto Agrônomo do Paraná (Iapar) também observaram que após alguns anos de ensaios em campo, algumas de suas cultivares de café arábica, inicialmente resistentes à ferrugem, tiveram a resistência suplantada pela população local do patógeno (Sera *et al.*, 2010).

A obtenção de cultivares de cafeeiros com resistência durável à ferrugem tem sido dificultada pela grande variabilidade genética das populações de *H. vastatrix*, característica muito comum à maioria dos patógenos biotróficos, especialmente os causadores de ferrugens (Várzea & Marques, 2005). Os primeiros estudos sobre a

especialização fisiológica deste fungo foram realizados por Mayne (1932, 1935, 1936, 1939, 1942), na Índia, quando foram identificadas quatro raças fisiológicas do patógeno. Posteriormente, após a criação do CIFC, em Oeiras-Portugal, foram identificadas, em 1955, 32 raças fisiológicas de *H. vastatrix*, de amostras coletadas de vários países (Várzea *et al.*, 2001; Várzea *et al.*, 2002). Devido à alta variabilidade de *H. vastatrix* esse número passou para 45 raças (Várzea & Marques, 2005).

Em 1971, isolados coletados nas diferentes regiões cafeeicultoras do Brasil foram enviados ao CIFC, permitindo diferenciar, a princípio, apenas a raça II. A predominância da raça II foi atribuída à homogeneidade genética apresentada pelas cultivares nacionais de café arábica, derivadas de genótipos suscetíveis a esta raça (Zambolim, 2005). Entretanto, em 1975, foram identificadas as raças I, II, III e XV (Ribeiro *et al.*, 1975). Desde 1971, 16 raças fisiológicas de *H. vastatrix* foram identificadas no Brasil como I, II, III, VII, X, XIII, XV, XVI, XVII, XXI, XXII, XXIII, XXIV, XXV ou XXXI, XXXIII e XXXVII (Cabral *et al.*, 2009; Cardoso & Silva, 1992; Cardoso *et al.*, 1988; Chiacchio, 1973; Fazuoli *et al.*, 2002; Nascimento *et al.*, 2010; Ribeiro *et al.*, 1975).

A caracterização de raças fisiológicas de *H. vastatrix* baseia-se na leitura das expressões fenotípicas de cada isolado em uma série de clones de cafeeiros diferenciadores (Várzea *et al.*, 2002). A formação de novas raças de *H. vastatrix* parece estar relacionada com a pressão de seleção exercida pelos genes de resistência do hospedeiro, especialmente nos casos onde são cultivadas em larga escala variedades com um número reduzido desses genes (Rodrigues Jr. *et al.*, 2004; Sera *et al.*, 2010; Várzea *et al.*, 2001; Várzea *et al.*, 2002). A ocorrência de mutações tem sido indicada como a principal causa de variabilidade genética em *H. vastatrix*, uma vez que a fase sexuada, assim como hospedeiros alternativos, ainda são desconhecidos (Eskes, 1983b; Gonçalves *et al.*, 2002; Várzea *et al.*, 2001). Entretanto, fenômenos de heterocariose também podem estar relacionados com o surgimento de raças do patógeno, à semelhança do que tem sido inferido para outras ferrugens, como *Puccinia Graminis* var. *tritici* (Eskes, 1983b; Várzea *et al.*, 2002).

### **2.3-Resistência à ferrugem em *Coffea canephora***

A resistência de cafeeiros à *H. vastatrix* é governada por, no mínimo, nove genes de efeito maior ( $S_{H1}$  a  $S_{H9}$ ), de forma simples ou associados. Os genes  $S_{H1}$ ,  $S_{H2}$ ,  $S_{H4}$  e  $S_{H5}$  que conferem resistência a algumas raças foram caracterizados em *C. arabica* proveniente da Etiópia. O gene  $S_{H3}$  é supostamente derivado de *C. liberica* (Noronha-

Wagner & Bettencourt, 1965; Bettencourt & Rodrigues Jr., 1988), enquanto que os genes S<sub>H6</sub>, S<sub>H7</sub>, S<sub>H8</sub> e S<sub>H9</sub> provavelmente derivam de *C. canephora*, que foram caracterizados no Híbrido de Timor, que é um híbrido originado de um cruzamento natural entre *C. arabica* e *C. canephora* (Bettencourt & Noronha-Wagner, 1971; Bettencourt & Rodrigues Jr., 1988; Bettencourt *et al.*, 1992).

Em *C. canephora*, tanto a resistência vertical quanto a horizontal podem ser observadas, dependendo da raça e do genótipo do hospedeiro. Alguns genótipos de conilon podem ser severamente afetados pela ferrugem, embora a maior parte dos genótipos estudados apresente níveis intermediários de resistência à *H. vastatrix* (Eskes, 1983a; 1983b).

A estratégia mais importante para o controle da doença é a resistência genética (Bettencourt & Carvalho, 1968; Zambolim *et al.*, 1999; Zambolim, 2009). Entretanto o surgimento e alternância de raças é um grande desafio para os programas de melhoramento (Várzea *et al.*, 2002).

A procura pela resistência durável tornou-se prioridade nos programas de melhoramento genético (Eskes 2005; Várzea & Marques, 2005). Uma alternativa pode ser a pesquisa voltada à resistência horizontal que, de acordo com Vanderplank (1963), é eficiente contra todas as raças do patógeno. Este tipo de resistência confere proteção mais durável que a resistência vertical (Parlevliet & Zadoks, 1977). A resistência horizontal confere à planta a capacidade de reduzir a penetração, o estabelecimento ou a colonização do patógeno nos tecidos da folha, atuando em um ou mais estádios do ciclo da doença (Hooker, 1967). Entretanto, esse tipo de resistência tem como desvantagem a natureza genética complexa, que a torna difícil de ser usada nos programas de melhoramento (Várzea & Marques, 2005).

A resistência horizontal observada em alguns genótipos de conilon pode ser de caráter mono- ou oligogênico. O mesmo foi observado em linhagens de Icatu (Eskes, 1983a; Eskes & Costa, 1983). A ocorrência de diferentes níveis de resistência nestes casos poderia ser gerada por vários fatores, como interação entre alelos, *background* genético, ambiente e idade da folha. Estudos de herança em *C. canephora* mostraram que a ocorrência de resistência horizontal também pode ser gerada por genes de efeito maior, quando estes se encontram em condição heterozigótica (Eskes, 1983a).

A resistência horizontal, quando governada por um ou poucos genes não é uma forma segura para alcançar a resistência duradoura. Diante disto, é importante a realização de estudos sólidos quanto à herdabilidade dessa característica nos programas

de melhoramento para evitar a utilização da resistência horizontal mono- ou oligogênica na obtenção de cultivares resistentes (Eskes, 1983a).

A ação combinada de diversos genes de efeito maior em um único genótipo também é citada como uma possível forma de se alcançar a resistência durável à ferrugem do cafeeiro (Eskes, 1983b). Contudo, para que se possa desenvolver cultivares de cafeeiro com resistência durável à ferrugem, é essencial conhecer a herança desse caráter nos genótipos resistentes para que se possam adotar as técnicas de melhoramento mais apropriadas para cada caso.

Uma vez que as doenças constituem um dos fatores limitantes da produtividade das culturas, a resistência a patógenos deve ser uma das prioridades dos programas de melhoramento vegetal. Diante disso, é essencial conhecer os níveis de resistência dos genótipos dos bancos de germoplasma para possibilitar a seleção de fontes de resistência adequadas para o desenvolvimento de cultivares com resistência duradoura aos patógenos.

## **3-MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.1-Genótipos estudados**

Um conjunto de 39 híbridos de *C. canephora* obtidos do cruzamento “clone 83 x clone 02” do programa de melhoramento genético do café conilon do Incaper foi estudado quanto ao nível de resistência às raças II (v5) e XXXIII (v5,7 ou v5,7,9) de *H. vastatrix*. O clone 02 é amplamente cultivado, especialmente na região norte do Espírito Santo, e apresenta alta suscetibilidade ao patógeno, enquanto o clone 83, cultivado em menor escala, apresenta resistência à doença.

Em agosto de 2003 foi realizado, de forma controlada, o cruzamento entre os progenitores clone 83 x clone 02 na Fazenda Experimental de Marilândia/Incaper. Em junho de 2004 foram colhidas sementes, que foram utilizadas para a produção de mudas. Dos 200 genótipos obtidos, oriundos desse cruzamento, 39 foram implantados em ensaio de competição em campo em novembro de 2005, instalado na Fazenda Experimental Bananal do Norte/Incaper localizada no município de Cachoeiro de Itapemirim no estado do Espírito Santo. Os 39 híbridos receberam as denominações FEBN-01 a FEBN-06, FEBN-08 a FEBN-10, FEBN-21 a FEBN-30, FEBN-41 a FEBN-50 e FEBN-61 a FEBN-70. O mesmo ensaio também foi utilizado para avaliar desempenho em campo de descendentes de outros cruzamentos, bem como os respectivos clones utilizados como genitores.

O presente trabalho contemplou a avaliação da resistência à ferrugem apenas nos híbridos oriundos do cruzamento entre “clone 83 x clone 02”, assim como de seus genitores.

### **3.2-Obtenção e preparo do inóculo**

Para realização deste trabalho foram utilizados isolados da raça II (v5) e XXXIII (v5,7 ou v5,7,9) de *H. vastatrix*. A raça II foi a primeira a ser identificada no Brasil, e desde então tem sido a mais prevalente em todas as regiões cafeeiras do país. O isolado utilizado foi caracterizado biologicamente por Cardoso *et al.*, (1988) e desde então está sendo mantido pelo Laboratório de Biotecnologia do Cafeeiro (Biocafé) na Universidade Federal de Viçosa em nitrogênio líquido. O isolado da raça XXXIII, também mantido pelo Biocafé foi identificado em genótipos de cafeeiro com resistência ao patógeno (Nascimento *et al.*, 2010).

Os isolados das raças II e XXXIII foram multiplicados isoladamente em mudas de cafeeiro 'Catuaí Vermelho IAC 44', pela inoculação dos uredosporos na face abaxial das folhas. Após a inoculação, as plantas foram levadas para uma câmara de nevoeiro (22°C e umidade relativa ~ 90%), onde permaneceram por 48 horas na ausência de luz. Após esse período, foram transferidas para uma câmara mantida a 22°C e fotoperíodo de 12 horas, onde permaneceram até a esporulação.

Após a multiplicação, os uredosporos foram coletados pela raspagem com cápsulas de gelatina e armazenados em um recipiente de vidro dentro de um dessecador com 50% de umidade relativa à 5°C (Zambolim & Chaves, 1974).

### **3.3-Técnica de inoculação**

A avaliação da resistência genética dos híbridos e dos genitores (clones 83 e 02) às raças II (v5) e XXXIII (v5,7 ou v5,7,9) de *H. vastatrix* foi realizada no Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa seguindo a metodologia de disco de folhas (Eskes, 1982) modificada por Capucho et al. (2009). As raças II e XXXIII foram inoculadas, separadamente, em discos de folhas de cada híbrido avaliado, e também nos dois genitores (clone 83 e clone 02).

Para a instalação dos experimentos coletaram-se cerca de 20 folhas, completamente expandidas, de cada híbrido de *Coffea canephora*. As folhas coletadas apresentavam aspecto ligeiramente brilhante na superfície adaxial, situadas no segundo ou terceiro par dos ramos de cada planta, em dois períodos, sendo uma coleta em fevereiro (Experimento 1) e outra em abril de 2011 (Experimento 2). As folhas foram coletadas durante o período da manhã e acondicionadas em sacos de papel devidamente identificados. Em seguida, foram armazenadas em caixa de isopor, com papel toalha umedecido, para evitar a exposição das amostras ao calor e danos mecânicos, durante o transporte, até o Laboratório de Proteção de Plantas no Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa. Imediatamente após a chegada ao laboratório, foi realizada a instalação dos ensaios, onde as amostras coletadas de cada planta foram utilizadas para preparar discos de 2 cm de diâmetro que foram inoculados com uredosporos das raças II e XXXIII de *H. vastatrix*.

Os experimentos foram instalados num delineamento inteiramente casualizado, com 3 repetições, onde cada unidade experimental foi constituída por um gerbox contendo 16 discos de folhas. Dentro de cada gerbox colocou-se uma espuma saturada com água destilada para evitar o ressecamento dos discos. Uma tela de nylon foi utilizada sobre a espuma para evitar que os discos mantivessem contato direto com a

água. Os discos foram depositados sobre a tela, com a face abaxial voltada para cima (Figura 1), a qual foi inoculada com um miligrama de uredosporos de *H. vastatrix*, com o auxílio de um pincel. A porcentagem de germinação dos uredosporos utilizados foi determinada em meio ágar-água, conforme a metodologia descrita por Zambolim & Chaves (1974), onde variou de 35 a 50%. Em seguida, realizou-se a atomização de água destilada sobre os discos, deixando a superfície inoculada levemente umedecida. Os gerboxes contendo os discos inoculados foram mantidos na ausência de luz durante 48 horas a  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ . Posteriormente, foram transferidos para câmara de incubação, onde permanecerão até o término das avaliações sob condições controladas de temperatura e luminosidade ( $22\pm 2^{\circ}\text{C}$  e fotoperíodo 12 horas). Durante as primeiras horas na câmara de incubação, os gerboxes tiveram suas tampas removidas para possibilitar a evaporação da umidade presente sobre os discos. Também foi realizada a limpeza dos discos com algodão, visando à remoção dos uredosporos remanescentes da inoculação, os quais poderiam interferir nas avaliações e possibilitar o crescimento de hiperparasitas. Para evitar o ressecamento dos discos, o nível de água no interior dos gerboxes foi verificado duas vezes por semana.



**Figura 1.** Disposição dos discos foliares dentro de cada gerbox.

### **3.4-Avaliação**

A partir do décimo dia após a inoculação, foram efetuadas observações diárias para verificar o surgimento dos primeiros sintomas e sinais da doença até aos 37 dias após a inoculação (DAI).

Foram avaliados os componentes de resistência:

- 1 – Período de Incubação (PI)** = período (dias) entre a inoculação até a observação de 50% da incidência final de discos com sintomas;
- 2 – Período Latente (PL)** = período (dias) entre a inoculação até a observação de 50% da incidência final de discos com lesões esporulantes;
- 3 – Porcentagem de Discos com Sintomas (DS)** = porcentagem final de discos com sintomas visíveis da doença;
- 4 – Porcentagem de Discos com Esporulação (DE)** = porcentagem final de discos contendo lesões com esporulação;
- 5 – Porcentagem de Área Esporulada (AE)** = porcentagem final da área foliar com lesões esporulantes;
- 6 – Produção de Uredosporos por Área (UA)** = quantidade final de uredosporos produzidos por área inoculada (uredosporos/cm<sup>2</sup>).

Aos 37 DAI os discos de cada gerbox foram fotografados com câmera digital para estimar a área esporulada com a ajuda do software QUANT (Vale *et al.*, 2003).

Para estimar a quantidade de uredosporos produzidos, os discos de folhas esporulados de cada gerbox foram lavados com auxílio de um pincel de pelo de camelo número 2, com um volume conhecido de água destilada. A suspensão recolhida teve sua concentração de uredosporos estimada com o auxílio de um hemacitômetro em microscópio óptico. Conhecidos o volume de água utilizado para recolher os uredosporos e a concentração da suspensão obtida, estimou-se a quantidade de uredosporos produzida em cada disco de folha e em cada gerbox (16 discos de folha).

### **3.5-Análise estatística**

Para avaliar a resistência às raças II (v5) e XXXIII (v5,7 ou v5,7,9) de *H. vastatrix* optou-se por analisar apenas os genótipos que em cada experimento tivessem um mínimo de 40 discos (no total das 3 repetições) e nenhuma repetição com número inferior a 12 discos ao final das avaliações.

O intervalo de tempo em dias, decorridos da inoculação até a última avaliação do experimento (37 dias após a inoculação) foi o critério adotado, para definição do período latente quando não houvesse esporulação do patógeno nos discos.

Efetuuou-se a análise de correlação de Pearson entre os seis componentes de resistência estudados período de incubação (PI), período latente (PL), porcentagem de

discos com sintomas (DS), porcentagem de discos com esporulação (DE), porcentagem de área esporulada (AE) e produção de uredosporos por área (UA). Esta análise foi realizada com as médias das variáveis obtidas dos genótipos inoculados com as raças II e XXXIII de *H. vastatrix*. Os coeficientes obtidos foram testados pelo teste *t* a 1 e 5% de probabilidade.

Para realizar a análise simultânea de todos os componentes de resistência avaliados e classificar os genótipos quanto ao nível de resistência às raças, foi feita a análise de agrupamento, a partir das médias dos resultados obtidos em cada tratamento. A medida de dissimilaridade adotada foi a distância euclidiana padronizada. Foram utilizadas várias técnicas hierárquicas aglomerativas (ligação completa, ligação simples, ligação média, centróide e Ward) com o objetivo de selecionar aquela que melhor se adequou aos resultados obtidos no experimento. Posteriormente, foi realizada uma análise discriminante para verificar a qualidade dos agrupamentos obtidos (Hair *et al.*, 2009; Mingoti, 2005).

Realizou-se a análise de Componentes Principais (CPs) objetivando a obtenção de um CP que explicasse a maior parte da variabilidade contida nos componentes de resistência avaliados. Dessa forma, para cada uma das raças, separadamente, um CP pode ser utilizado para obter um *ranking* dos genótipos de acordo com seus níveis de resistência. A análise dos CPs foi realizada por meio da matriz de correlação dos dados, obtendo-se a estimativa dos autovalores e autovetores dos CPs. Em seguida, foram estimados os escores de cada genótipo, por meio dos autovetores de cada componente de resistência avaliado, para os CPs com autovalores maiores ou iguais à média. Logo após realizou-se a análise de correlação entre os CPs e os componentes de resistência avaliados (Hair *et al.*, 2009; Mingoti, 2005).

Todas as análises foram realizadas no software MINITAB versão 14.

## 4-RESULTADOS

As estimativas das correlações entre os componentes de resistência estão apresentados na Tabela 1. Todos os componentes de resistência avaliados apresentaram correlação significativa entre si pelo teste *t* ( $P < 0,01$ ). A maior correlação (0,91) ocorreu entre a porcentagem de área esporulada (AE) e o número de uredosporos produzidos por área (UA). As menores correlações ocorreram entre porcentagem de discos com sintomas (DS) e as variáveis AE e UA, com valores de 0,55 e 0,51, respectivamente ( $P < 0,01$ ).

A análise de correlação entre os componentes de resistência avaliados foi realizada com as médias dos componentes de resistência (Tabelas 2 e 6) obtidas nas plantas  $F_1$  e nos genitores (clones 83 e 02) inoculados com as raças II (v5) e XXXIII (v5,7 ou v5,7,9) de *H. vastatrix*, respectivamente.

**Tabela 1.** Estimativa dos coeficientes de correlação entre os componentes de resistência.

Componentes de resistência <sup>1</sup>	PI	PL	DS	DE	AE	UA
PI	-					
PL	0,80*	-				
DS	-0,78*	-0,77*	-			
DE	-0,80*	-0,88*	0,75*	-		
AE	-0,64*	-0,65*	0,55*	0,79*	-	
UA	-0,64*	-0,64*	0,51*	0,77*	0,91*	-

\*Significativo pelo teste *t* ( $P < 0,01$ ).

<sup>1</sup>PI = período (dias) entre a inoculação até a observação de 50% da incidência final de discos com sintomas; PL = período (dias) entre a inoculação até a observação de 50% da incidência final de discos com lesões esporulantes; DS = porcentagem final de discos com sintomas visíveis da doença; DE = porcentagem final de discos contendo lesões com esporulação; AE = porcentagem final da área foliar com lesões esporulantes; UA = quantidade final de uredosporos produzidos por área inoculada (uredosporos/cm<sup>2</sup>).

### 4.1-Resistência de híbridos de *C. canephora* a raça II de *H. vastatrix*

Na Tabela 2 estão representados os valores médios das variáveis estudadas para cada genótipo inoculado com a raça II (v5), as quais foram utilizadas nas análises de agrupamento e componentes principais. As plantas FEBN-03, FEBN-04 e FEBN-23 foram descartadas das análises, devido à perda excessiva de discos durante o ensaio.

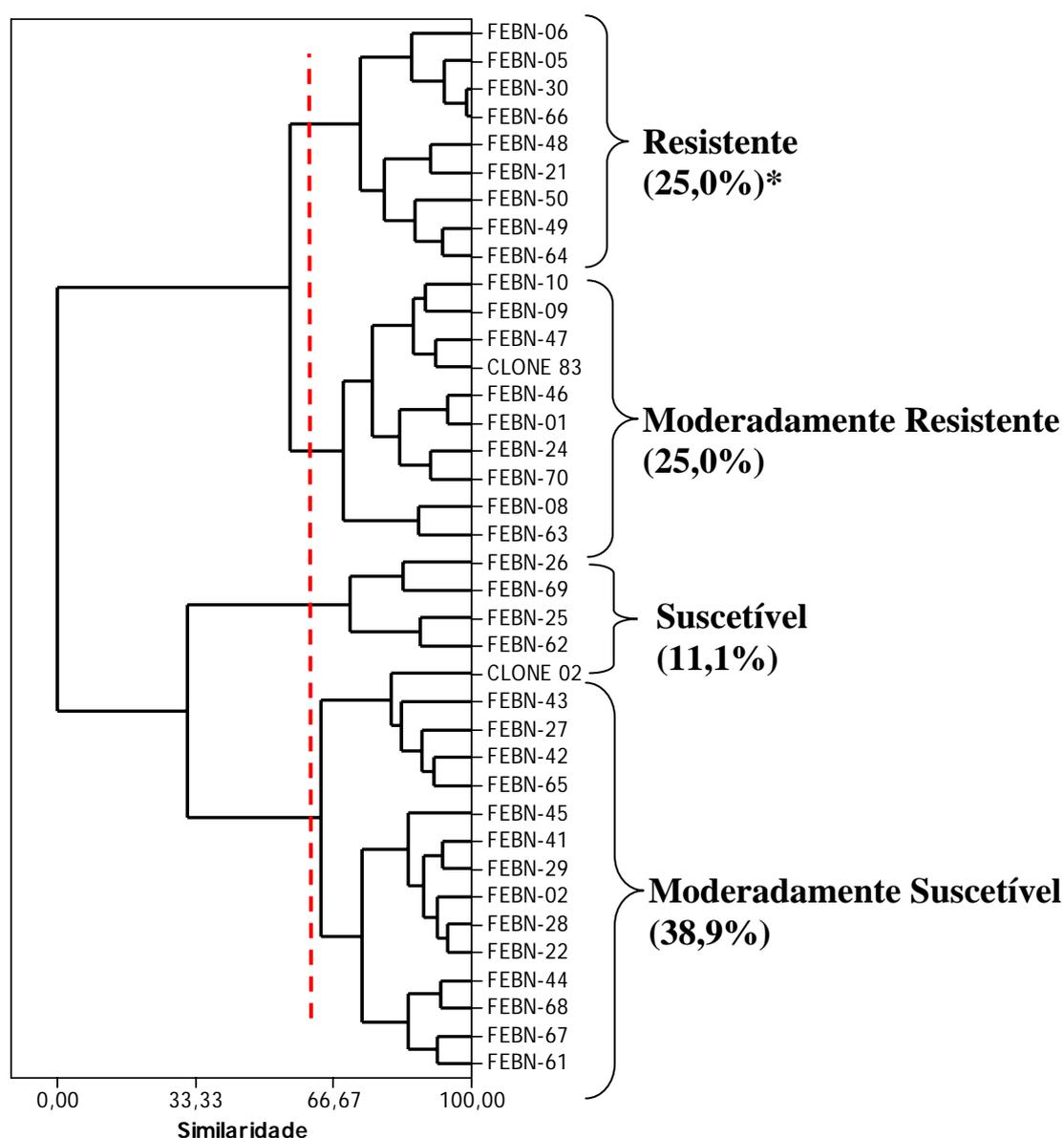
**Tabela 2.** Médias dos componentes de resistência avaliados nos híbridos e nos genitores (clones 83 e 02) inoculados com a raça II.

Genótipo	Componentes de Resistência <sup>1</sup>					
	PI	PL	DS	DE	AE	UA
CLONE 02	20,7	24,7	100,0	97,6	3,7	1701
CLONE 83	24,3	29,3	55,9	13,8	0,4	68
FEBN-01	26,7	32,0	79,5	36,4	0,3	113
FEBN-02	23,0	29,7	93,8	66,3	2,8	888
FEBN-05	25,0	36,0	62,1	2,2	0,0	4
FEBN-06	26,3	33,7	42,1	8,3	0,3	76
FEBN-08	20,7	34,0	93,3	6,7	0,1	36
FEBN-09	25,0	32,7	56,3	39,6	0,3	147
FEBN-10	25,7	29,7	60,4	35,4	1,6	306
FEBN-21	31,0	37,0	49,1	0,0	0,0	0
FEBN-22	22,7	28,7	100,0	50,7	2,3	623
FEBN-24	25,7	31,0	89,5	10,0	0,2	30
FEBN-25	18,3	27,0	100,0	91,1	10,0	1457
FEBN-26	17,0	25,0	100,0	95,8	7,2	3173
FEBN-27	20,0	27,0	93,8	79,2	4,8	1229
FEBN-28	22,0	29,3	97,9	62,5	1,7	532
FEBN-29	22,0	29,3	83,3	62,5	1,8	491
FEBN-30	24,7	37,0	52,1	0,0	0,0	0
FEBN-41	23,3	28,3	88,9	57,4	2,3	399
FEBN-42	21,3	26,7	95,8	79,2	2,7	667
FEBN-43	17,0	26,7	95,6	88,9	3,3	1005
FEBN-44	21,0	24,7	100,0	47,9	0,8	345
FEBN-45	24,0	31,0	83,1	49,2	3,7	764
FEBN-46	26,3	33,3	77,3	25,6	0,3	52
FEBN-47	25,7	31,7	58,3	12,5	0,2	168
FEBN-48	28,0	37,0	50,0	0,0	0,0	0
FEBN-49	28,3	33,7	62,2	27,9	0,5	86
FEBN-50	30,3	31,0	49,3	21,4	0,2	64
FEBN-61	23,3	27,7	100,0	49,3	1,3	126
FEBN-62	18,3	25,7	100,0	97,9	10,8	2246
FEBN-63	23,7	33,0	93,8	24,7	1,1	99
FEBN-64	28,0	33,0	64,0	10,0	0,1	27
FEBN-65	21,0	27,3	97,9	62,5	4,3	811
FEBN-66	24,7	37,0	54,4	0,0	0,0	0
FEBN-67	22,0	29,3	97,9	37,5	0,6	85
FEBN-68	21,0	26,0	89,6	51,0	0,5	343
FEBN-69	17,0	22,3	100,0	100,0	10,9	3220
FEBN-70	24,0	28,7	89,6	22,9	0,3	60

<sup>1</sup>PI = período (dias) entre a inoculação até a observação de 50% da incidência final de discos com sintomas; PL = período (dias) entre a inoculação até a observação de 50% da incidência final de discos com lesões esporulantes; DS = porcentagem final de discos com sintomas visíveis da doença; DE = porcentagem final de discos contendo lesões com esporulação; AE = porcentagem final da área foliar com lesões esporulantes; UA = quantidade final de uredosporos produzidos por área inoculada (uredosporos/cm<sup>2</sup>).

O agrupamento dos genótipos avaliados em quatro níveis de resistência, baseados na matriz de distâncias euclidianas padronizadas, foi realizado pela técnica hierárquica aglomerativa da ligação completa, por ter sido a que melhor se adequou aos dados obtidos, com 97,4% de acerto.

Quanto à resistência dos híbridos "clone 83 x clone 02" à raça II, quatro (11,1%) foram classificados como suscetíveis; quatorze (38,9%) como moderadamente suscetíveis; nove (25%) como moderadamente resistentes e nove (25%) foram resistentes (Figura 2). O clone 83, utilizado como genitor resistente, foi classificado como moderadamente resistente e o clone 02, genitor suscetível, foi classificado como moderadamente suscetível (Figura 2).



**Figura 2.** Agrupamento dos híbridos e dos genitores (clones 83 e 02) em níveis de resistência à raça II de *H. vastatrix*. \*Porcentagem de híbridos agrupados em cada nível de resistência.

Na análise de componentes principais utilizou-se apenas o CP<sub>1</sub>, uma vez que este foi o único CP com autovalor (4,74) acima da média de todos os autovalores (1,00), sendo capaz de explicar 79,0% da variabilidade presente nos componentes de resistência avaliados.

Os valores dos autovetores do CP<sub>1</sub> para as seis variáveis estudadas foram muito próximos (em módulo) entre si, variando de 0,376 a 0,437, indicando que estes componentes de resistência foram explicados de forma semelhante pelo CP<sub>1</sub>. Este resultado é confirmado pela alta correlação entre estas variáveis e o CP<sub>1</sub> (Tabela 3). A variável DE (porcentagem de discos com esporulação) foi o componente de resistência que obteve maior correlação absoluta (0,95) com os escores do CP<sub>1</sub> (P<0,01).

**Tabela 3.** Autovetores do CP<sub>1</sub> para os componentes de resistência e a correlação entre estas variáveis e o CP<sub>1</sub> para os genótipos inoculados com a raça II.

<b>Componentes de resistência<sup>1</sup></b>	<b>Autovetores CP<sub>1</sub></b>	<b>Correlação CP<sub>1</sub><sup>*</sup></b>
<b>PI</b>	0,415	0,90
<b>PL</b>	0,410	0,89
<b>DS</b>	-0,376	-0,82
<b>DE</b>	-0,437	-0,95
<b>AE</b>	-0,403	-0,88
<b>UA</b>	-0,407	-0,89
<b>Autovalor</b>	<b>4,74</b>	-
<b>Explicação (%)</b>	<b>79,0</b>	-

\* Significativo pelo teste *t* (P<0,01).

<sup>1</sup>**PI** = período (dias) entre a inoculação até a observação de 50% da incidência final de discos com sintomas; **PL** = período (dias) entre a inoculação até a observação de 50% da incidência final de discos com lesões esporulantes; **DS** = porcentagem final de discos com sintomas visíveis da doença; **DE** = porcentagem final de discos contendo lesões com esporulação; **AE** = porcentagem final da área foliar com lesões esporulantes; **UA** = quantidade final de uredosporos produzidos por área inoculada (uredosporos/cm<sup>2</sup>).

Os autovetores do CP<sub>1</sub> para as variáveis período de incubação (PI) e período latente (PL) foram positivos (Tabela 3). Portanto, quanto maiores os valores de PI e PL para os genótipos avaliados, maiores foram os escores do CP<sub>1</sub> e maior a resistência à raça II. Os componentes de resistência porcentagem de discos sintomas (DS), porcentagem de discos com esporulação (DE), porcentagem de área esporulada (AE) e produção de uredosporos por área (UA) tiveram os autovetores do CP<sub>1</sub> negativos, ou seja, quanto maiores os valores dessas variáveis para os genótipos, menores os valores dos escores do CP<sub>1</sub> e menor a resistência à raça II. Resumidamente, maiores escores do CP<sub>1</sub> indicam maior nível de resistência, enquanto valores menores indicam maior nível de suscetibilidade.

Baseando-se nos escores do CP<sub>1</sub> foi possível a elaboração de um *ranking* de híbridos e dos genitores conforme os níveis de resistência à raça II de *H. vastatrix* (Tabela 5). Observa-se que este resultado está de acordo com o obtido pela análise de agrupamento.

Os valores de média e desvio padrão dos componentes de resistência e escores do CP<sub>1</sub>, dos genótipos classificados dentro de cada nível de resistência à raça II, estão representados na Tabela 4. Foram observados aumento nos valores de PI, PL e nos escores do CP<sub>1</sub> e diminuição nos valores de DS, DE, AE e EAT na medida em que se elevou o nível de resistência à raça II.

**Tabela 4.** Média e desvio padrão dos escores do CP<sub>1</sub> e dos componentes de resistência avaliados para os genótipos agrupados em cada nível de resistência à raça II.

Nível de Resistência <sup>1</sup>	Escore do CP <sub>1</sub>	Componentes de Resistência <sup>2</sup>						
		PI	PL	DS	DE	AE	UA	
<b>S</b>	Média	<b>-4,3</b>	<b>17,7</b>	<b>25,0</b>	<b>100,0</b>	<b>96,2</b>	<b>9,7</b>	<b>2523,8</b>
	$\sigma$	0,7	0,8	2,0	0,0	3,8	1,7	840,8
<b>MS</b>	Média	<b>-1,1</b>	<b>21,6</b>	<b>27,8</b>	<b>94,5</b>	<b>62,8</b>	<b>2,4</b>	<b>667,3</b>
	$\sigma$	0,8	1,7	1,8	5,8	16,9	1,3	426,1
<b>MR</b>	Média	<b>1,1</b>	<b>24,8</b>	<b>31,5</b>	<b>75,4</b>	<b>22,8</b>	<b>0,5</b>	<b>108,0</b>
	$\sigma$	0,4	1,7	1,8	16,1	11,8	0,5	83,5
<b>R</b>	Média	<b>2,5</b>	<b>27,4</b>	<b>35,0</b>	<b>53,9</b>	<b>7,8</b>	<b>0,1</b>	<b>28,4</b>
	$\sigma$	0,4	2,4	2,2	7,4	10,4	0,2	36,4

<sup>1</sup>**S** = suscetível; **MS** = moderadamente suscetível; **MR** = moderadamente resistente; **R** = resistente.

<sup>2</sup>**PI** = período (dias) entre a inoculação até a observação de 50% da incidência final de discos com sintomas; **PL** = período (dias) entre a inoculação até a observação de 50% da incidência final de discos com lesões esporulantes; **DS** = porcentagem final de discos com sintomas visíveis da doença; **DE** = porcentagem final de discos contendo lesões com esporulação; **AE** = porcentagem final da área foliar com lesões esporulantes; **UA** = quantidade final de uredosporos produzidos por área inoculada (uredosporos/cm<sup>2</sup>).

**Tabela 5.** Classificação dos híbridos e dos genitores (clones 83 e 02) dentro dos níveis de resistência à raça II, previamente determinados pela análise de agrupamento, de acordo com os escores do CP<sub>1</sub>.

<b>Genótipo</b>	<b>Escore do CP<sub>1</sub></b>	<b>Nível de Resistência</b>
FEBN-69	-5,23	<b>SUSCETÍVEL</b>
FEBN-26	-4,37	
FEBN-62	-4,19	
FEBN-25	-3,47	
<b>CLONE 02</b>	<b>-2,79</b>	<b>MODERADAMENTE SUSCETÍVEL</b>
FEBN-43	-2,41	
FEBN-27	-2,17	
FEBN-65	-1,60	
FEBN-42	-1,53	
FEBN-44	-1,02	
FEBN-02	-0,92	
FEBN-28	-0,78	
FEBN-22	-0,77	
FEBN-68	-0,68	
FEBN-41	-0,51	
FEBN-29	-0,50	
FEBN-61	-0,41	
FEBN-45	-0,29	
FEBN-67	-0,08	
FEBN-70	0,51	<b>MODERADAMENTE RESISTENTE</b>
FEBN-63	0,69	
FEBN-08	0,86	
FEBN-10	0,90	
FEBN-24	1,15	
FEBN-01	1,16	
<b>CLONE 83</b>	<b>1,35</b>	
FEBN-09	1,41	<b>RESISTENTE</b>
FEBN-46	1,47	
FEBN-47	1,72	
FEBN-49	1,96	
FEBN-64	2,14	
FEBN-05	2,27	
FEBN-50	2,30	
FEBN-06	2,40	
FEBN-66	2,52	
FEBN-30	2,56	
FEBN-48	2,99	
FEBN-21	3,36	

#### 4.2-Resistência de híbridos de *C. canephora* à raça XXXIII de *H. vastatrix*

Os valores médios dos componentes de resistência avaliados em cada genótipo utilizados nas análises de agrupamento e componentes principais estão representados na Tabela 6. A planta FEBN-06 foi descartada das análises devido à perda excessiva de discos durante o ensaio.

**Tabela 6.** Médias dos componentes de resistência avaliados nos híbridos e nos genitores (clones 83 e 02) inoculados com a raça XXXIII.

Genótipo	Componentes de Resistência <sup>1</sup>					
	PI	PL	DS	DE	AE	UA
CLONE 02	24	28,3	77,7	51,3	2,8	623
CLONE 83	19,3	25,7	95,8	61,9	6,0	1870
FEBN-01	25,7	31,0	89,6	37,5	0,2	97
FEBN-02	20,3	27,3	100,0	76,8	6,4	2253
FEBN-03	21,0	27,0	100,0	90,2	6,4	3394
FEBN-04	20,7	26,0	100,0	54,2	5,2	1506
FEBN-05	25,7	32,3	77,8	34,3	0,3	61
FEBN-08	22,3	32,7	95,8	14,6	0,1	50
FEBN-09	19,7	26,0	91,7	72,9	6,0	2606
FEBN-10	21,7	27,7	93,8	75,0	3,7	1183
FEBN-21	28,0	37,0	63,5	0,0	0,0	0
FEBN-22	20,7	27,7	100,0	56,3	3,9	904
FEBN-23	21,0	28,7	100,0	70,8	2,7	1032
FEBN-24	20,7	26,3	100,0	65,2	3,8	460
FEBN-25	21,7	27,7	100,0	83,3	5,0	1485
FEBN-26	19,0	27,3	100,0	76,7	5,0	1112
FEBN-27	24,0	27,7	92,4	59,7	2,5	816
FEBN-28	25,7	32,0	85,6	12,6	0,1	38
FEBN-29	23,3	27,7	95,8	61,1	3,8	926
FEBN-30	27,7	37,0	54,2	0,0	0,0	0
FEBN-41	23,3	32,3	60,0	30,1	0,6	122
FEBN-42	22,7	28,7	88,9	69,0	3,7	1012
FEBN-43	17,0	24,7	100,0	100,0	14,1	5815
FEBN-44	24,7	28,0	78,5	41,5	0,3	129
FEBN-45	24,7	30,0	89,1	41,5	0,8	351
FEBN-46	30,0	34,7	77,9	19,0	0,3	255
FEBN-47	23,0	32,0	85,4	20,8	0,3	78
FEBN-48	33,0	37,0	47,9	0,0	0,0	0
FEBN-49	23,0	29,7	70,8	31,3	0,4	82
FEBN-50	30,0	33,7	46,3	16,8	0,1	86
FEBN-61	19,7	26,3	97,2	77,8	3,8	363
FEBN-62	21,7	26,7	100,0	88,6	18,2	3673
FEBN-63	22,7	29,7	93,9	40,5	3,1	279
FEBN-64	25,3	32,0	89,6	12,5	0,1	12
FEBN-65	23,0	27,7	100,0	54,2	4,3	798
FEBN-66	27,3	37,0	64,7	0,0	0,0	0

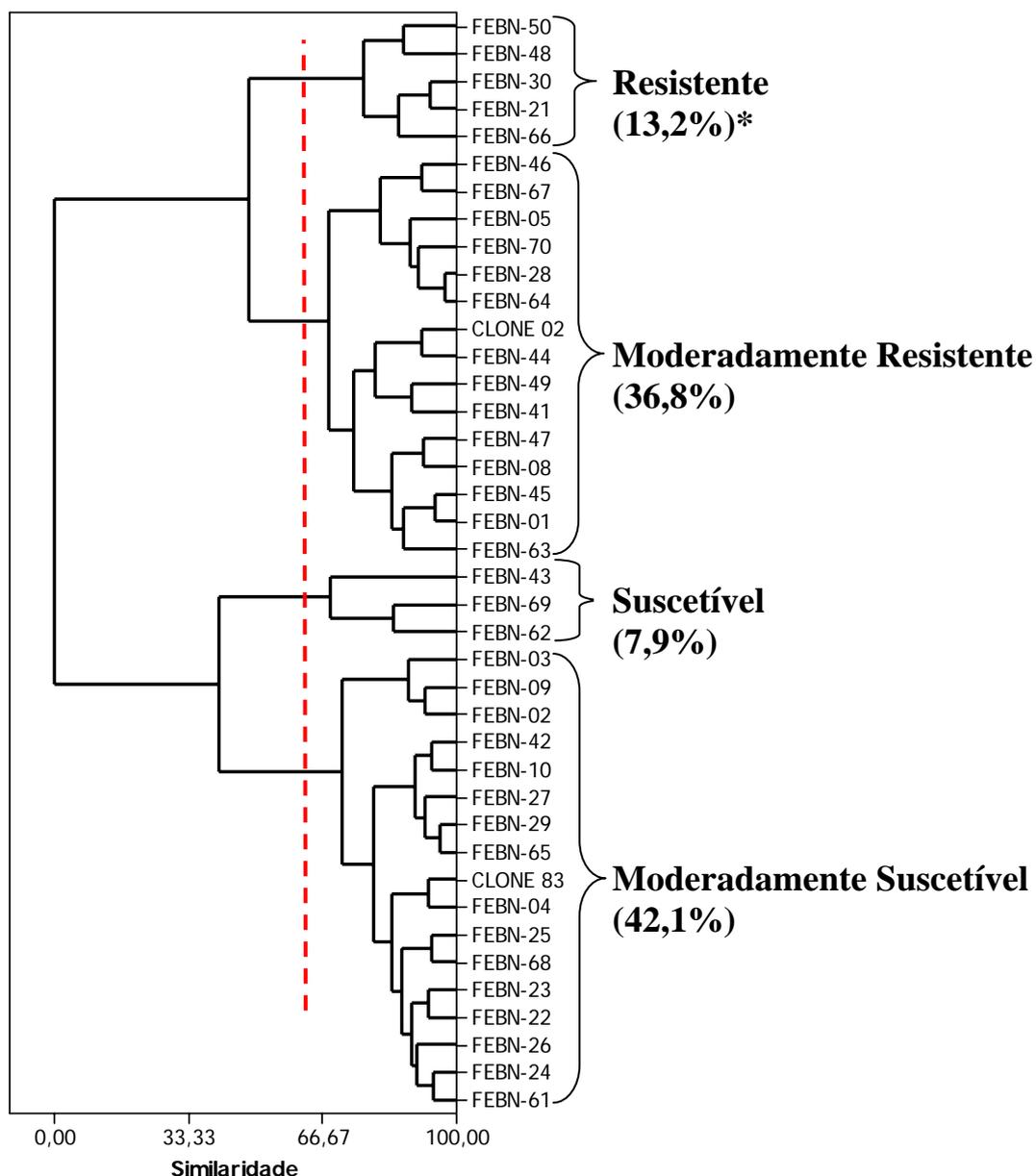
**Tabela 6.** continuação

FEBN-67	27,7	33,7	72,9	21,4	0,7	138
FEBN-68	22,7	26,7	97,6	71,8	4,8	1422
FEBN-69	22,0	28,0	95,7	87,1	13	2889
FEBN-70	25,7	34,7	84,4	15,1	0,1	69

<sup>1</sup>**PI** = período (dias) entre a inoculação até a observação de 50% da incidência final de discos com sintomas; **PL** = período (dias) entre a inoculação até a observação de 50% da incidência final de discos com lesões esporulantes; **DS** = porcentagem final de discos com sintomas visíveis da doença; **DE** = porcentagem final de discos contendo lesões com esporulação; **AE** = porcentagem final da área foliar com lesões esporulantes; **UA** = quantidade final de uredosporos produzidos por área inoculada (uredosporos/cm<sup>2</sup>).

O agrupamento dos genótipos avaliados em quatro níveis de resistência à raça XXXIII (v5,7 ou v5,7,9), baseados nas medidas de distância euclidiana padronizada, foi realizado adotando-se a técnica hierárquica aglomerativa da ligação completa, por ter sido a que melhor se adequou aos dados obtidos, com 97,5% de acerto (Figura 3).

Quanto à resistência dos híbridos "clone 83 x clone 02" à raça XXXIII, três (7,9%) foram classificados como suscetíveis; dezesseis (42,1%) como moderadamente suscetíveis; quatorze (36,8%) como moderadamente resistentes e cinco (13,2%) como resistentes. O clone 83, utilizado como genitor resistente à ferrugem, foi classificado como moderadamente suscetível à raça XXXIII. O clone 02, utilizado como genitor suscetível, foi classificado como moderadamente resistente, sendo mais resistente que o clone 83 em relação a esta raça (Figura 3).



**Figura 3.** Agrupamento dos híbridos e dos genitores (clones 83 e 02) conforme o nível de resistência à raça XXXIII de *H. vastatrix*. \*Porcentagem de híbridos agrupados em cada nível de resistência.

Na análise de componentes principais utilizou-se apenas o CP<sub>1</sub>, uma vez que este foi o único com autovalor (4,69) acima da média de todos os autovalores (1,00), sendo capaz de explicar 78,0% da variabilidade presente nos componentes de resistência avaliados nos genótipos inoculados com a raça XXXIII.

Da mesma maneira que o observado para a raça II, os valores dos autovetores do CP<sub>1</sub> para as seis variáveis estudadas foram muito próximos (em módulo) entre si, indicando que estes componentes de resistência foram explicados de forma semelhante pelo CP<sub>1</sub>. Este resultado é confirmado pela alta correlação entre estas variáveis e o CP<sub>1</sub>.

(Tabela 7). A variável DE (porcentagem de discos com esporulação) foi novamente o componente de resistência que obteve maior correlação absoluta (0,95) com os escores do CP<sub>1</sub> (P<0,01).

**Tabela 7.** Autovetores do CP<sub>1</sub> para os componentes de resistência e a correlação entre estas variáveis e o CP<sub>1</sub> para os genótipos inoculados com a raça XXXIII.

<b>Componentes de resistência<sup>1</sup></b>	<b>Autovetores CP<sub>1</sub></b>	<b>Correlação CP<sub>1</sub><sup>*</sup></b>
<b>PI</b>	0,413	0,89
<b>PL</b>	0,426	0,92
<b>DS</b>	-0,386	-0,84
<b>DE</b>	-0,440	-0,95
<b>AE</b>	-0,398	-0,85
<b>UA</b>	-0,388	-0,84
<b>Autovalor</b>	<b>4,69</b>	-
<b>Explicação (%)</b>	<b>78,0</b>	-

\* Significativo pelo teste *t* (P<0,01).

<sup>1</sup>PI = período (dias) entre a inoculação até a observação de 50% da incidência final de discos com sintomas; PL = período (dias) entre a inoculação até a observação de 50% da incidência final de discos com lesões esporulantes; DS = porcentagem final de discos com sintomas visíveis da doença; DE = porcentagem final de discos contendo lesões com esporulação; AE = porcentagem final da área foliar com lesões esporulantes; UA = quantidade final de uredosporos produzidos por área inoculada (uredosporos/cm<sup>2</sup>).

Os autovetores do CP<sub>1</sub> para as variáveis PI e PL foram positivos. Portanto, quanto maiores os valores de PI e PL para os genótipos avaliados, maiores foram os escores do CP<sub>1</sub> e maior a resistência à raça XXXIII. Os componentes de resistência DS, DE AE e UA tiveram os autovetores do CP<sub>1</sub> negativos, ou seja, quanto maiores os valores dessas variáveis para os genótipos, menores os valores dos escores do CP<sub>1</sub> e menor a resistência à raça XXXIII. Dessa maneira, maiores escores do CP<sub>1</sub> indicam maior nível de resistência, enquanto valores menores indicam maior nível de suscetibilidade à raça XXXIII.

Baseando-se nos escores do CP<sub>1</sub>, foi possível a elaboração de um *ranking* dos híbridos e dos genitores conforme os níveis de resistência à raça XXXIII de *H. vastatrix* (Tabela 8). Este resultado está de acordo com o obtido pela análise agrupamentos.

**Tabela 8.** Classificação dos híbridos e dos genitores (clones 83 e 02) dentro dos níveis de resistência à raça XXXIII, previamente determinados pela análise de agrupamento, de acordo com os escores do CP<sub>1</sub>.

<b>Genótipo</b>	<b>Escore do CP<sub>1</sub></b>	<b>Nível de Resistência</b>
FEBN-43	-5,12	<b>SUSCETÍVEL</b>
FEBN-62	-3,85	
FEBN-69	-2,78	
FEBN-03	-2,70	<b>MODERADAMENTE SUSCETÍVEL</b>
FEBN-09	-2,24	
FEBN-02	-2,19	
<b>CLONE 83</b>	<b>-2,03</b>	
FEBN-26	-1,86	
FEBN-25	-1,70	
FEBN-04	-1,62	
FEBN-61	-1,51	
FEBN-68	-1,43	
FEBN-24	-1,29	
FEBN-10	-1,20	
FEBN-22	-1,13	
FEBN-23	-1,11	
FEBN-65	-0,82	
FEBN-29	-0,77	
FEBN-42	-0,68	
FEBN-27	-0,42	
FEBN-63	0,03	<b>MODERADAMENTE RESISTENTE</b>
<b>CLONE 02</b>	<b>0,18</b>	
FEBN-45	0,62	
FEBN-44	0,74	
FEBN-01	1,05	
FEBN-08	1,06	
FEBN-49	1,10	
FEBN-47	1,20	
FEBN-64	1,54	
FEBN-05	1,56	
FEBN-28	1,68	
FEBN-41	1,72	
FEBN-70	2,00	
FEBN-67	2,24	
FEBN-46	2,56	
FEBN-66	2,73	<b>RESISTENTE</b>
FEBN-50	3,32	
FEBN-21	3,36	
FEBN-30	3,55	
FEBN-48	4,20	

Os valores de média e desvio padrão dos componentes de resistência avaliados e dos escores do CP<sub>1</sub>, dos genótipos classificados dentro de cada nível de resistência pela análise de agrupamento, estão representados na Tabela 9. Foi observado um crescimento nos valores de período de incubação, período latente e nos escores do CP<sub>1</sub> à medida que se elevou o nível de resistência à raça XXXIII. Os valores de porcentagem de discos com sintomas, porcentagem de discos com esporulação, porcentagem de área esporulada e produção de uredosporos por área, diminuiram à medida que se elevou o nível de resistência à raça XXXIII.

**Tabela 9.** Média e desvio padrão dos escores do CP<sub>1</sub> e dos componentes de resistência avaliados para os genótipos agrupados em cada nível de resistência à raça XXXIII.

Nível de Resistência <sup>1</sup>	Escore do CP <sub>1</sub>	Componentes de Resistência <sup>2</sup>						
		PI	PL	DS	DE	AE	UA	
<b>S</b>	Média	<b>-3,9</b>	<b>20,2</b>	<b>26,5</b>	<b>98,6</b>	<b>91,9</b>	<b>15,1</b>	<b>4126</b>
	$\sigma$	1,2	2,8	1,7	2,5	7,1	2,7	1515
<b>MS</b>	Média	<b>-1,5</b>	<b>21,2</b>	<b>27,2</b>	<b>97,2</b>	<b>69,2</b>	<b>4,5</b>	<b>1361</b>
	$\sigma$	0,6	1,5	0,9	3,6	10,4	1,2	787
<b>MR</b>	Média	<b>1,3</b>	<b>24,9</b>	<b>31,5</b>	<b>81,9</b>	<b>28,3</b>	<b>0,7</b>	<b>159</b>
	$\sigma$	0,7	2,1	2,1	9,6	12,6	0,9	160
<b>R</b>	Média	<b>3,4</b>	<b>29,2</b>	<b>35,3</b>	<b>55,3</b>	<b>3,8</b>	<b>0,0</b>	<b>17</b>
	$\sigma$	0,5	2,4	1,9	8,6	7,3	0,0	39

<sup>1</sup>**S** = suscetível; **MS** = moderadamente suscetível; **MR** = moderadamente resistente; **R** = resistente.

<sup>2</sup>**PI** = período (dias) entre a inoculação até a observação de 50% da incidência final de discos com sintomas; **PL** = período (dias) entre a inoculação até a observação de 50% da incidência final de discos com lesões esporulantes; **DS** = porcentagem final de discos com sintomas visíveis da doença; **DE** = porcentagem final de discos contendo lesões com esporulação; **AE** = porcentagem final da área foliar com lesões esporulantes; **UA** = quantidade final de uredosporos produzidos por área inoculada (uredosporos/cm<sup>2</sup>).

### 4.3-Comportamento diferencial das raças

Conforme observado na Tabela 10, os isolados das raças II e XXXIII apresentaram valores semelhantes para as médias gerais dos componentes de resistência avaliados sobre o conjunto dos híbridos de *C. canephora*.

Na Tabela 11 estão relacionados os genótipos avaliados neste estudo e os respectivos níveis de resistência às raças II e XXXIII de *H. vastatrix* com base nos resultados das análises de agrupamento. É possível notar que os genitores e alguns híbridos apresentaram um comportamento diferencial em relação aos níveis de resistência às raças II e XXXIII.

**Tabela 10.** Média geral para as raças II e XXXIII dos componentes de resistência avaliados no conjunto de híbridos e genitores (clones 83 e 02).

Isolado de <i>H.vastatrix</i>	Componentes de Resistência <sup>1</sup>					
	PI	PL	DS	DE	AE	UA
<b>Raça II</b>	23,4	30,2	80,4	42,7	2,1	564
<b>Raça XXXIII</b>	23,5	29,8	86,4	47,4	3,3	950

<sup>1</sup>PI = período (dias) entre a inoculação até a observação de 50% da incidência final de discos com sintomas; PL = período (dias) entre a inoculação até a observação de 50% da incidência final de discos com lesões esporulantes; DS = porcentagem final de discos com sintomas visíveis da doença; DE = porcentagem final de discos contendo lesões com esporulação; AE = porcentagem final da área foliar com lesões esporulantes; UA = quantidade final de uredosporos produzidos por área inoculada (uredosporos/cm<sup>2</sup>).

Durante a realização das coletas em campo foi possível observar que alguns dos híbridos (FEBN-21, FEBN-24, FEBN-49 e FEBN-50) apresentavam alta severidade de mancha do olho pardo (*Cercospora coffeicola*), uma importante doença do cafeeiro. O mesmo foi observado em mudas clonais destes genótipos. Outros híbridos estudados (FEBN-26, FEBN-28, FEBN-30, FEBN-41, FEBN-45, FEBN-46 e FEBN-47) também foram severamente atacados por esta doença em condições de viveiro apresentando desfolha intensa e até a morte de algumas plantas, o que justifica a importância desse registro.

**Tabela 11.** Níveis de resistência dos híbridos e dos genitores (clones 83 e 02) às raças II e XXXIII de *H. vastatrix*.

GENÓTIPO	Nível de Resistência <sup>1</sup>	
	Raça II	Raça XXXIII
<b>CLONE 02</b>	<b>MS</b>	<b>MR</b>
<b>CLONE 83</b>	<b>MR</b>	<b>MS</b>
FEBN-01	MR	MR
FEBN-02	MS	MS
FEBN-03	-	MS
FEBN-04	-	MS
FEBN-05	R	MR
FEBN-06	R	-
FEBN-08	MR	MR
FEBN-09	MR	MS
FEBN-10	MR	MS
FEBN-21*	R	R
FEBN-22	MS	MS
FEBN-23	-	MS
FEBN-24*	MR	MS
FEBN-25	S	MS
FEBN-26**	S	MS
FEBN-27	MS	MS
FEBN-28**	MS	MR
FEBN-29	MS	MS
FEBN-30**	R	R
FEBN-41**	MS	MR
FEBN-42	MS	MS
FEBN-43	MS	S
FEBN-44	MS	MR
FEBN-45**	MS	MR
FEBN-46**	MR	MR
FEBN-47**	MR	MR
FEBN-48	R	R
FEBN-49*	R	MR
FEBN-50*	R	R
FEBN-61	MS	MS
FEBN-62	S	S
FEBN-63	MR	MR
FEBN-64	R	MR
FEBN-65	MS	MS
FEBN-66	R	R
FEBN-67	MS	MR
FEBN-68	MS	MS
FEBN-69	S	S
FEBN-70	MR	MR

\* Genótipos em que se observou alta incidência de mancha de olho pardo (*Cercospora coffeicola*) no campo e em mudas.

\*\* Genótipos em que se observou alta incidência de mancha de olho pardo em mudas.

<sup>1</sup>S = suscetível; MS = moderadamente suscetível; MR = moderadamente resistente; R = resistente.

## 5-DISCUSSÃO

Nesse estudo foram avaliados os níveis de resistência dos clones 83 e 02 e de 39 de seus híbridos às raças, II (v5) e XXXIII (v5,7 ou v5,7,9) de *H. vastatrix*.

Os componentes de resistência período de incubação, período latente, porcentagem de discos com lesão e porcentagem de discos com esporulação foram anteriormente utilizados na avaliação de resistência de *C. canephora* à ferrugem (Eskes, 1982; 1983a; 1983b; Eskes *et al.* 1983). Neste trabalho foram ainda feitas a estimativa da porcentagem de área lesionada pelo processamento de imagens fotográficas de cada repetição, utilizando o software QUANT (Vale *et al.*, 2003), e a contagem da produção de esporos por área inoculada. Todas as variáveis foram avaliadas conjuntamente por meio de análises multivariadas, permitindo a obtenção de uma interpretação unificada para todos os componentes de resistência estudados.

A Densidade de Esporulação (DE = porcentagem de discos com lesões esporulantes) foi o componente de resistência que teve maior correlação absoluta (0,95) com o CP<sub>1</sub> obtido pela análise de componentes principais. Eskes (1982) também obteve maiores correlações com os dados obtidos a partir de plantas no campo utilizando DE como parâmetro. Portanto, a porcentagem de discos com lesões esporulantes poderá ser usada como referência em trabalhos futuros de *screening* de genótipos com resistência horizontal à ferrugem.

Para avaliação da resistência de café conilon à ferrugem foram utilizadas as raças II e XXXIII de *H. vastatrix*, pelo fato de a primeira ser a de maior prevalência no Brasil (Cabral, *et al.*, 2009; Cardoso, 1988; Zambolim, 2005), e a segunda, devido à sua complexidade representar um risco para o desenvolvimento de cultivares com resistência durável (Nascimento, *et al.*, 2010).

Neste trabalho foi observado que a maior parte dos híbridos apresentou níveis intermediários de resistência para a raça II. O mesmo resultado foi observado para a raça XXXIII. Nos clones 02, 83 e em alguns de seus híbridos o nível de resistência variou conforme a raça inoculada. Esse comportamento também foi observado por outros pesquisadores, em plantas obtidas de cruzamentos de materiais de *C. canephora* resistentes com suscetíveis (Eskes, 1983a; Eskes, 2005; Eskes *et al.* 1983).

Os resultados indicam que a resistência do clone 83 à ferrugem é do tipo horizontal, uma vez que as raças inoculadas foram capazes de infectar e se multiplicar neste genótipo. Os descendentes do clone 83 apresentaram um amplo espectro de níveis

de resistência, desde resistência absoluta até suscetibilidade (Parlevliet & Zadoks, 1977). A resistência horizontal é comumente observada em *C. canephora*, embora também ocorra em alguns genótipos de *C. arabica* e descendentes do Híbrido de Timor (Eskes, 1983a; Eskes, 2005; Herrera *et al.*, 2009; Romero *et al.*, 2010). Trabalhos direcionados para este tipo de resistência têm sido realizados em café, uma vez que algumas cultivares resistentes contendo genes de efeito maior vem tendo a resistência suplantada pelo surgimento de novas raças (Herrera *et al.*, 2009; Rodrigues Jr. *et al.*, 2004; Romero *et al.*, 2010; Sera *et al.*, 2010).

Em condições de campo, em plantios de conilon no norte do Estado do Espírito Santo, raramente se observa a presença de pústulas de ferrugem em plantas do clone 83. Entretanto, neste estudo, utilizando discos foliares, o clone 83 comportou como moderadamente resistente à raça II de *H. vastatrix*. Essa diferença de comportamento do clone 83 em relação à raça II pode ser explicada pelas condições climáticas desfavoráveis ao processo de infecção do fungo quando comparadas as condições em câmara de inoculação (temperatura em torno de 22°C e molhamento foliar contínuo por 48 h). Além disso, Eskes (1982) verificou que a inoculação em discos de folha de café conilon tende a produzir reação de maior suscetibilidade ao patógeno do que mudas ou plantas no campo.

Ao contrário, o clone 02 foi muito mais suscetível à raça II que o clone 83 nas inoculações em câmara de incubação. Esse resultado concorda com as observações da severidade da ferrugem no clone 02, nas condições de campo, no norte do Estado do Espírito Santo. Sendo o clone 02 mais cultivado nessa região que o clone 83 é provável que a raça II multiplica-se nesse clone, aumentando desse modo o potencial de inóculo e conseqüentemente a pressão de seleção da doença.

Em relação à raça XXXIII o clone 02 se mostrou mais resistente que o clone 83, indicando uma provável interação da raça com o genótipo de conilon. Eskes (1983a), utilizando quatro isolados distintos de *H. vastatrix* observou que a resistência incompleta (horizontal) observada em alguns genótipos de conilon pode ser de caráter mono- ou oligogênico. O mesmo foi observado em linhagens de Icatu (Eskes *et al.*, 1983). A ocorrência de diferentes níveis de resistência nestes casos pode ser gerada por vários fatores, como: interação entre alelos, *background* genético, ambiente e idade da folha (Eskes, 1983a).

Este trabalho permitiu a identificação de genótipos promissores para o melhoramento visando à obtenção de resistência à *H. vastatrix*, baseado nos seus níveis de resistência apresentados às duas importantes raças do patógeno. Contudo, a seleção

para a resistência horizontal em *C. canephora* requer estudos mais sólidos para confirmar a natureza poligênica desta resistência e aumentar as chances de se obter uma resistência duradoura (Eskes, 1983a; Parlevliet, 1979).

Nove híbridos de *C. canephora*, correspondendo a 25 % foram resistentes a raça II e cinco, correspondendo a 13,2%, a raça XXXIII. Sendo que os híbridos FEBN-21, FEBN-30, FEBN-48 e FEBN-66 não apresentaram esporulação para nenhuma das raças. De acordo com Varzea & Marques (2005) a raça XXXIII possui os fatores de virulência v5,7 ou v5,7,9 e a raça II o v5. Portanto, é de se esperar que a raça XXXIII apresente potencial de infectar genótipos com os fatores de resistência S<sub>H</sub>5,7,9. Ao contrário, aqueles híbridos que não foram suscetíveis a raça XXXIII devem possuir fatores diferentes. Infere-se que, se os quatro híbridos de *C. canephora* tiverem o fator S<sub>H</sub>6, muito provavelmente será resistente a raça XXXIII. É provável por tanto, que tais híbridos, tenham esse fator oriundo do *C. canephora* e sirvam de fonte de resistência à *H. vastatrix* no programa de melhoramento nessa espécie.

Seis híbridos foram moderadamente resistentes a raça II e a raça XXXIII. Nove híbridos foram moderadamente resistentes a raça II e, quatorze híbridos foram moderadamente resistentes a raça XXXIII. Esses resultados mostram que tais híbridos apresentam resistência quantitativa às raças II e XXXIII à *H. vastatrix*

Os resultados advindos desse trabalho poderão ser utilizados em programas de melhoramento genético do café conilon visando a resistência qualitativa ou quantitativa à ferrugem, além de viabilizar estudos genéticos e moleculares da herança da resistência a ferrugem.

## 6-CONCLUSÕES

- O clone 83 é mais resistente que o clone 02 à raça II de *H. vastatrix*;
- O clone 83 é mais suscetível à raça XXXIII do que o clone 02;
- A resistência do clone 83 à raça II de *H. vastatrix* é do tipo horizontal;
- A resistência do clone 02 à raça XXXIII de *H. vastatrix* é do tipo horizontal;
- O conjunto de híbridos “clone 83 x clone 02” apresenta níveis variados de resistência às raças II e XXXIII de *H. vastatrix*;
- As porcentagens de plantas resistentes, moderadamente resistentes, moderadamente suscetíveis e suscetíveis à raça II são de 25,0%, 25,0%, 38,9% e 11,1%, respectivamente;
- As porcentagens de plantas resistentes, moderadamente resistentes, moderadamente suscetíveis e suscetíveis à raça XXXIII são de 13,2%, 36,8%; 42,1% e 7,9%, respectivamente;
- Os níveis de resistência horizontal nos genótipos avaliados podem variar conforme a raça do patógeno;
- No conjunto de híbridos de *C. canephora* avaliada há genótipos que podem ser aproveitados em programas de melhoramento visando resistência qualitativa e quantitativa a ferrugem;
- A porcentagem de discos com lesões esporulantes é o componente de resistência com maior valor de correlação absoluta com os níveis de resistência determinados pela análise de componentes principais e poderá ser usada como referência em trabalhos futuros de *screening* de genótipos com resistência horizontal à ferrugem.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, A.T.E., FAZUOLI, L.C., SALVA, T.J.G. & FAVARIN, J.L. Diversidade química de cafeeiros na espécie *Coffea canephora*. **Bragantia**, Campinas, v.64, n.4, 2005.

AGUIAR, A.T.E., GERREIRO-FILHO, O., MALUF, M.P., GALLO, P.B. & FAZUOLI, L.C. Caracterização de cultivares de *Coffea arabica* mediante utilização de descritores mínimos. **Bragantia**, Campinas, v.63, n.2. 2004.

BERTHAUD, J. **Les ressources génétiques pour l'amélioration des caféiers africains diploïdes. Evaluation de la recherche génétique des populations sylvestres et ses mécanismes organisateurs. Consequences pour l'application**, Montpellier, France: ORSTOM, 179p. 1986.

BETTENCOURT, A.J. & CARVALHO, A. Melhoramento visando à resistência do cafeeiro à ferrugem. **Bragantia**, v.27, pp.35-68. 1968.

BETTENCOURT, A. J., LOPES, J. & PALMA, S. Factores genéticos que condicionam a resistência às raças de *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. dos clones-tipo dos grupos 1, 2 e 3 de derivados de Híbrido de Timor. **Brotéria Genética**, v.13, n.80, pp.185-194. 1992.

BETTENCOURT, A. J. & NORONHA-WAGNER, M. Genetic factors conditioning resistance of *Coffea arabica* L. to *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. **Agronomia Lusitana**, v.31, n.4, pp.285-292. 1971.

BETTENCOURT, A.J. & RODRIGUES JUNIOR, C.J. Principles and practices of coffee breeding for resistance to rust and other diseases. pp.199-234 In: CLARKE, R.J. & MACRAE, R. (Eds.) **Coffee Agronomy**. London. Elsevier. 1988.

BRAGANÇA, S.M., CARVALHO. C.H.S., FONSECA, A.F.A., FERRÃO. R.G. & SILVEIRA. J.S.M. 'Emcapa 8111'. 'Emcapa 8121'. 'Emcapa 8131': Primeiras variedades clonais de café conilon lançadas para o Espírito Santo. **Comunicado Técnico – Emcapa**, n.68, pp.112. 1993.

BRAGANÇA, S.M., CARVALHO. C.H.S., FONSECA, A.F.A. & FERRÃO. R.G. Variedades clonais de café conilon para o estado do Espírito Santo. **Pesq. Agrop. Bras.**, Brasília, v.36, n.5, pp.775-770. 2001.

CABRAL, P.G.C., ZAMBOLIM, E.M., ZAMBOLIM, L., LELIS, T.P., CAPUCHO, A.S., & CAIXETA, E.T. Identification of a new race of *Hemileia vastatrix* in Brazil. **Australasian Plant Disease Notes**, v.4, n.1, pp.129-130. 2009.

CAPUCHO, A.S., CAIXETA, E.T., ZAMBOLIM, E.M. & ZAMBOLIM, L. Herança da resistência do Híbrido de Timor UFV 443-03 à ferrugem do cafeeiro. **Pesq. Agrop. Bras.**, Brasília, v.44, n.3, pp.276-282. 2009.

CARDOSO, R.M.L., ZAMBOLIM, L. & CHAVES, G.M. Ocorrência no Brasil da raça XVI de *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. coletada do germoplasma de *Coffea arabica* L. no Estado de Minas Gerais. **Fitopatologia Brasileira**, v.13, n.4, pp.343-346. 1988.

CARDOSO, R.M.L. & SILVA, E. Raças de *Hemileia vastatrix* identificadas em cafeeiros de genótipos simples e complexos no Estado do Paraná. In: **Simpósio Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras**, Araxá-MG (Resumos). 1992.

CARVALHO, A. Distribuição geográfica e classificação botânica do gênero *Coffea* com referência especial à espécie arábica. **Separata dos boletins da superintendência de serviço do café**. IAC, Campinas-SP. dez. 1945 a abr. 1946.

CARVALHO, A., MEDINA-FILHO, H.P., FAZUOLI, L.C., GUERREIRO-FILHO, O. & LIMA, M.M.A. Aspectos genéticos do cafeeiro. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v.14, n.1, pp.135-183. 1991.

CHARRIER, A. & BERTHAUD, J. Principles and methods in *Coffea* plant breeding: *Coffea canephora*. pp.167-195 In: CLARKE, R.J. & MACRAE, R. (Eds.). **Coffee agronomy**. Londres. Elsevier, v.6, chapter 5. 1988.

CHIACCHIO, F.P.B. **Identificação de raças fisiológicas de *Hemileia vastatrix* Berk. & Br., em material proveniente dos Estados da Bahia e Espírito Santo**. *Magister Scientiae*. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG. 1973.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Segunda Estimativa Café Safra 2011**. Disponível em: <www.conab.gov.br>. Acesso em: 08 jul. 2011.

CONAGIN, C.H.T.M. & MENDES, A.J.T. Pesquisas citológicas e genéticas em três espécies de *Coffea*: auto-incompatibilidade em *Coffea canephora*. **Bragantia**, Campinas-SP. v.20, n.34, pp.787-804. 1961.

COSTA, M.J.N., ZAMBOLIM, L., CAIXETA, E.T. & PEREIRA, A.A. Resistência de progênies de café Catimor à ferrugem. **Fitopatologia Brasileira**, v.32, pp.121-130. 2007.

COUTINHO, T., RIJKENBERG, F & VAN ASCH, M. Teliospores of *Hemileia vastatrix*. **Mycological Research**. v.99, n.8, pp.932-934. 1995.

CUBRY, P. **Structuration de la diversité génétique et analyse des patrons de déséquilibre de liaison de l'espèce *Coffea canephora***. Ph.D. thesis, Université Montpellier II, France. 2009.

DUSSERT, S., LASHERMES, P., ANTHONY, F., MONTAGNON, C., TROUSLOT, P., COMBES, M.C., BERTHAUD, J., NOIROT, M., HAMON, S. Le caféier, *Coffea canephora*. pp.175-794. In: HAMON P., SEGUIN M., PERRIER X., GLASZMANN J.-C. (eds.) **Diversité génétique des plantes tropicales cultivées**. CIRAD, Montpellier, France. 1999.

ESKES, A.B. Characterization of incomplete resistance to *Hemileia vastatrix* in *Coffea canephora* cv. Kouillou. **Euphytica**, v.32, pp.639-648. 1983a.

ESKES, A.B. & COSTA, W.M. Characterization of incomplete resistance to *Hemileia vastatrix* in the Icatu coffee population. **Euphytica**, v.32, pp.649-657. 1983.

ESKES, A.B. Phenotypic expression of resistance to coffee leaf rust and its possible relationship with durability. pp. 305-332 In: ZAMBOLIM, L., ZAMBOLIM, E.M. & VARZEA, V.M.P. (Eds.) **Durable resistance to coffee leaf rust**. Viçosa-MG: Universidade Federal de Viçosa. 2005.

ESKES, A.B. Qualitative and quantitative variation in pathogenicity of races of coffee leaf rust (*Hemileia vastatrix*) detected in the State of São Paulo, Brazil. **European Journal of Plant Pathology**, v.89, n.1, pp.31-45. 1983b.

ESKES, A.B. The use of leaf disk inoculations in assessing resistance to coffee leaf rust (*Hemileia vastatrix*). **European Journal of Plant Pathology**, v.88, n.4, pp.127-141. 1982.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Statistics, FAOSTAT-Agriculture**. Disponível em: <www.fao.org>. Acesso em: 08 jul. 2011.

FASSIO, L.H. & SILVA, A.E.S., Importância econômica e social do café conilon. pp.37-49 In: FERRÃO, R.G., FONSECA, A.F.A., BRAGANÇA, S.M., FERRÃO, M.A.G. & DE MUNER, L.H. (Eds.) **Café conilon**. Vitória-ES: Incaper. 2007.

FAZUOLI, L.C., BRAGHINI, M.T. & CONCEIÇÃO, A.S. Levantamentos de raças de *Hemileia vastatrix*. pp.439-440 In: **Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras**, Caxambu (Resumos). 2002.

FAZUOLI, L.C., MISTRO, J.C. & BRAGHINI, M.T., Melhoramento de café robusta no Instituto Agrônomo de Campinas. pp.201-247 In: ZAMBOLIM, L. (Ed.) **Tecnologia para produção do café conilon**. Viçosa-MG: Universidade Federal de Viçosa. 2009.

FERRÃO, M.A.G., FERRÃO, R.G., FONSECA, A.F.A., VERDIN FILHO, A.C. & VOLPI, P.S. Origem, dispersão, taxonomia e diversidade genética de *Coffea canephora*. pp.64-91 In: FERRÃO, R.G., FONSECA, A.F.A., BRAGANÇA, S.M., FERRÃO, M.A.G. & DE MUNER, L.H. (Eds.) **Café conilon**. Vitória-ES: Incaper. 2007a.

FERRÃO, M.A.G., FERRÃO, R.G., FONSECA, A.F.A., VERDIN FILHO, A.C., VOLPI, P.S. & SOUZA, E.M.R. Melhoramento do café conilon no Espírito Santo. pp.153-173 In: ZAMBOLIM, L. (Ed.) **Tecnologia para produção do café conilon**. Viçosa-MG: Universidade Federal de Viçosa. 2009.

FERRÃO, R.G., FONSECA, A.F.A., FERRÃO, M.A.G., BRAGANÇA, S.M., VERDIN FILHO, A.C. & VOLPI, P.S. Cultivares de café conilon. pp.204-225 In: FERRÃO, R.G., FONSECA, A.F.A., BRAGANÇA, S.M., FERRÃO, M.A.G. & DE MUNER, L.H. (Eds.) **Café conilon**. Vitória-ES: Incaper. 2007b.

FONSECA, A.F.A., FERRÃO, M.A.G., FERRÃO, R.G., VERDIN FILHO, A.C., VOLPI, P.S. & ZUCATELI, F. *Conilon Vitória - 'Incaper 8142'*: variedade clonal de café conilon. **Incaper**. Documento 127, Vitória-ES, 24p. 2004.

GONÇALVES, S.M., ZAMBOLIM, L., VALE, F.X.R., PEREIRA, A.A. & SAKIYAMA, N.S. Monitoramento de raças fisiológicas de *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. em cafeeiros (*Coffea arabica*) que receberam aplicação de fungicidas sistêmicos. pp. 267-268 In: **Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras**, Caxambu (Resumos). 2002.

GUZZO, S.D. **Apectos Bioquímicos e Moleculares da resistência adquirida em cafeeiro contra *Hemileia vastatrix***. *Doctor Scientiae*, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba-SP. 2004.

HAIR, J.F., ANDERSON, R.E., TATHAM, R.L. & BLACK, W.C. **Análise multivariada de dados**, 6<sup>a</sup> ed. Bookman Editora, Porto Alegre. 688p. 2009.

HERRERA, G.G., ALVARADO, A.A., CORTINA, H.A.G., COMBES, M.C., ROMERO, G.G. & LASHERMES, P. Genetic analysis of partial resistance to coffee leaf rust (*Hemileia vastatrix* Berk & Br.) introgressed into the cultivated *Coffea arabica* L. from the diploid *C. canephora* species. **Euphytica**, v.167, pp.57–6. 2009.

HOOKE, A.L. The genetics and expression of resistance in plants to rusts of the genus *Puccinia*. **Annual Review of Phytopathology**, 59:163-182. 1967.

KRUG, C.A. & CARVALHO, A. Melhoramento do cafeeiro: V - Melhoramento por hibridação. **Bragantia**, Campinas-SP. v.12, n.4-6, pp.141-152. 1952.

KY, C.-L., LOUARN, J., DUSSERT, S., GUYOT, B., HAMON, S. & NOIROT, M. Caffeine, trigonelline, chlorogenic acids and sucrose diversity in wild *Coffea arabica* L. and *C. canephora* P. accessions. **Food Chemistry**, v.75, n.2, pp.223-230, 2001.

LEROY, T., MONTAGNON, C., CARRIER, A. & ESKES, A.B. Reciprocal recurrent selection applied to *Coffea canephora* Pierre. I. Characterization and evaluation of breeding populations and value of intergroup hybrids. **Euphytica**, v.67, pp.113-125. 1993.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Informe Estatístico do Café 2009-2010**. Disponível em: <[www.agricultura.gov.br](http://www.agricultura.gov.br)> acesso em: 08 jul. 2011a.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Registro Nacional de Cultivares**. Disponível em: <[www.agricultura.gov.br](http://www.agricultura.gov.br)> acesso em: 10 jul. 2011b.

MATIELLO, J.B. & ALMEIDA, S.R. **Variedades de café: como escolher, como plantar**. Rio de Janeiro: MMA, SDR, PROCAFÉ & PNFC. 64p. 1997.

MAYNE, W.W. Physiologic specialization of *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. **Nature** v.129, n.3257, pp.510. 1932.

MAYNE, W.W. **Annual Report of the Coffee Scientific Officer**. The Mysore Coffee Experiment Station. Bulletin n.13. 1935.

MAYNE, W.W. **Annual Report of the Coffee Scientific Officer**. The Mysore Coffee Experiment Station. Bulletin n.14. 1936.

MAYNE, W.W. **Annual Report of the Coffee Scientific Officer**. The Mysore Coffee Experiment Station. Bulletin n.18. 1939.

MAYNE, W.W. **Annual Report of the Coffee Scientific Officer**. The Mysore Coffee Experiment Station. Bulletin n.24. 1942.

MENDONÇA, L.M.V.L., PEREIRA, R.G.F.A. & MENDES, A.N.G., Parâmetros bromatológicos de grãos crus e torrados de cultivares de café (*Coffea arabica* L.). **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas-SP, v.25, n.2, pp.239-243, 2005.

- MINGOTI, S.A. **Análise de dados através de métodos de estatística multivariada – uma abordagem aplicada**. Editora UFMG, Belo Horizonte. 295p. 2005.
- MONTAGNON, C., GUYOT, B., CILAS, C. & LEROY, T. Genetic parameters of several biochemical compounds from green coffee, *Coffea canephora*. **Plant Breeding**, v.117, n.6, pp.576-578. 1998.
- MUSOLI, C.P., CUBRY, P., ALUKA, P., BILLOT, C., DUFOUR, M., DE BELLIS, F., POT, D., BIEYSSE, D., CHARRIER, A., LEROY, T. Genetic differentiation of wild and cultivated populations: Diversity of *Coffea canephora* Pierre in Uganda. **Genome**, v.52, pp.634-646. 2009.
- NASCIMENTO, N.P., ZAMBOLIM, E.M., HADDAD, F., ZAMBOLIM, L. & CAIXETA, E.T. Identificação de clones de cafeeiro para a caracterização de raças fisiológicas de *Hemileia vastatrix*. **Simpósio de Integração Acadêmica-2010**, Universidade federal de Viçosa, Viçosa-MG (Resumos). 2010.
- NORONHA-WAGNER, M. & BETTENCOURT, A.J. Inheritance of reaction to *Hemileia vastatrix* Berk. & Br. in *Coffea arabica* L. **Progress Report: 1960-1965, Centro de Investigação das Ferrugens do Cafeeiro**, Oeiras, Portugal. pp.121-123. 1965.
- PARLEVLIET, J.E. Components of resistance that reduce the rate of epidemic development. A. Rev. **Phytopath.**, v.17, pp.203-222. 1979.
- PARLEVLIET, J.E. & ZADOKS, J.C. The integrated concept of disease resistance, a new view including horizontal and vertical resistance in plants. **Euphytica**, v.26, pp.5-21. 1977.
- RIBEIRO FILHO, G.C. Influência de alguns sistemas de proteção fitossanitária no custo de produção de café no sul de Minas. pp. 69-71 In: **Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras**, Uberaba (Resumos). 2001.
- RIBEIRO, I.J.A., SUGIMORI, M.H., MORAES, S.A. & MONACO, L.C. Raças fisiológicas de *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. no estado de São Paulo. **Summa Phytopathologica**, v.1, pp.19-22. 1975.
- RIJO, L. & RODRIGUES JUNIOR, C.J. Processo de infecção da *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. em cultivares susceptíveis e resistentes de *Coffea arabica* L. **Garcia de Orta**, v.5, pp.23-24. 1978.
- RODRIGUES JR., C.J., GONÇALVES, M.M. & VÁRZEA, V.M.P. Importância do Híbrido de Timor para o território e para o melhoramento da cafeicultura mundial. **Revista de Ciências Agrárias**, v.27, pp.203-213. 2004.
- RODRIGUES JR., C.J. Coffee rust: history, taxonomy, morphology, distribution and host resistance. **Fitopatologia Brasileira**, v.15, n.1, pp.5-9. 1990.
- ROMERO, G.G., ALVARADO, A.A., CORTINA H.G., LIGARRETO G.M., GALEANO, N.F., HERRERA J.C.P. Partial resistance to leaf rust (*Hemileia vastatrix*) in coffee (*Coffea arabica* L.): genetic analysis and molecular characterization of putative candidate genes. **Mol. Breeding**, v.25, pp.685-697. 2010.

- SCHIEBER, E., & ZENTMEYER, G.A. Coffee rust in the western hemisphere. **Plant Disease**, v.68, n.2, pp.89-93. 1984.
- SERA, G.H., SERA, T., FONSECA, I.C.B. & ITO, D.S. Resistance to leaf rust in coffee cultivars. **Coffee Science**, v.5, n.1, pp.59-66. 2010.
- SILVA, M.D.C., VÁRZEA, V., GUIMARÃES, L.G., AZINHEIRA, H.G., FERNANDEZ, D., PETITOT, A.S., BERTRAND, B., LASHERMES, P. & NICOLE, M. Coffee resistance to the main diseases: leaf rust and coffee berry disease. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v.18, pp.119-147. 2006.
- SILVAROLLA, M.B., MAZZAFERA, P., FAZUOLI, L.C. A naturally decaffeinated arabica coffee. **Nature**, London, v.429, pp.826, 2004.
- USDA. United States Department of Agriculture. **Coffee: World Markets and Trade. Circular Series June 2011**. Disponível em: <<http://usda.mannlib.cornell.edu>>. Acesso em: 09 jul. 2011.
- VALE, F.X.R., FERNANDES FILHO, E.I., LIBERATO, J.R. QUANT - A software for plant disease severity assessment. pp.105. In: **8th International Congress of Plant Pathology**, Christchurch New Zealand. 2003.
- VAN DER VOSSSEN, H.A.M., State-of-the-art of developing durable resistance to biotrophic pathogens in crop plants, such as coffee leaf rust. pp.1-29 In: ZAMBOLIM, L., ZAMBOLIM, E.M. & VARZEA, V.M.P. (Eds.) **Durable resistance to coffee leaf rust**. Viçosa-MG: Universidade Federal de Viçosa. 2005.
- VANDERPLANK, J.E. **Plant Disease Epidemics and Control**. New York NY. Academic Press. 1963.
- VÁRZEA, V.M.P. & MARQUES, D.V. Population variability of *Hemileia vastatrix* vs. coffee durable resistance. pp.53-74 In: ZAMBOLIM, L., ZAMBOLIM, E.M. & VÁRZEA, V.M.P. (Eds.) **Durable Resistance to Coffee Leaf Rust**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. 2005.
- VÁRZEA, V.M.P., RODRIGUES, C.J., SILVA, M.C.M.L., GOUVEIA, M., MARQUES, D.V., GUERRA-GUIMARÃES, L. & RIBEIRO, A. Resistência do cafeeiro a *Hemileia vastatrix*. pp.297-320 In: ZAMBOLIM, L. (Ed.) **O estado da arte de tecnologias na produção de café**. Viçosa-MG: Universidade Federal de Viçosa. 2002.
- VÁRZEA, V.M.P., RODRIGUES JR., C.J., SILVA, M.C., MARQUES, D.V., MORENO, G., CASTILLO, J., ALVARADO, G., RAMACHAN-DRAN, M., MAIDU, R. & BHAT, S.S. Pathotypes of *Hemileia vastatrix* with ability to break the resistance of improved commercial coffee varieties. pp. A127 In: **International Conference on Coffee Science**, Trieste (Resumos). 2001.
- VENTURA, J.A., COSTA, H., SANTANA, E.N. & MARTINS, M.V.V. Diagnóstico e manejo das doenças do cafeeiro conilon. pp.451-497 In: FERRÃO, R.G., FONSECA, A.F.A., BRAGANÇA, S.M., FERRÃO, M.A.G. & MUNER, L.H. (Eds.) **Café Conilon**. Vitória-ES: INCAPER. 2007.

ZAMBOLIM, L. & CHAVES, G.M. Efeito de baixas temperaturas e do binômio temperatura-umidade relativa sobre a viabilidade dos uredosporos de *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. e *Uromyces phaseolityca* Arth. **Experientiae**, v.17, pp.151-184. 1974.

ZAMBOLIM, L. (Ed.) **Tecnologia para produção do café conilon**. Viçosa-MG: Universidade Federal de Viçosa. 360p. 2009.

ZAMBOLIM, L., VALE, F.X.R.D., COSTA, H., PEREIRA, A.A. & CHAVES, G.M. Epidemiologia e controle integrado da ferrugem do cafeeiro. pp.369-450 In: ZAMBOLIM, L. (Ed.) **O estado da arte de tecnologias na produção de café**. Viçosa-MG: Universidade Federal de Viçosa. 2002.

ZAMBOLIM, L., VALE, F.X.R.D., PEREIRA, A.A. & CHAVES, G.M. Manejo integrado das doenças do cafeeiro. pp.134-215 In: ZAMBOLIM, L. (Ed.) **Produção de café com qualidade**. Viçosa-MG: Universidade Federal de Viçosa. 1999.

ZAMBOLIM, L., ZAMBOLIM, E.M., VALE, F.X.R., PEREIRA, A.A., SAKIYAMA, N.S., CAIXETA, E.T. Physiological races of *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. in Brazil. pp.75-115 In: ZAMBOLIM, L., ZAMBOLIM, E.M. & VARZEA, V.M.P. (Eds.) **Durable Resistance to Coffee Leaf Rust**. Viçosa-MG: Universidade Federal de Viçosa. 2005