

ALEXANDRE SANDRI CAPUCHO

EPIDEMIOLOGIA E RESISTÊNCIA  
DO CAFEEIRO CONILON À FERRUGEM

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

VIÇOSA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2011

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

T

C255e  
2011

Capucho, Alexandre Sandri, 1981-  
Epidemiologia e resistência do cafeeiro conilon à ferrugem /  
Alexandre Sandri Capucho. – Viçosa, MG, 2011.  
xi, 97f.: il. (algumas col.) ; 29cm.

Orientador: Laércio Zambolim.  
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.  
Inclui bibliografia.

1. Café - Doenças e pragas. 2. Hemileia vastatrix. 3. Pragas  
- Controle integrado. 4. Fungicidas. 5. Ferrugem-do-cafeeiro  
- Epidemiologia. 6. Epidemiologia. I. Universidade Federal  
de Viçosa. II. Título.


CDD 22.ed. 633.7394

ALEXANDRE SANDRI CAPUCHO

EPIDEMIOLOGIA E RESISTÊNCIA  
DO CAFEIRO CONILON À FERRUGEM

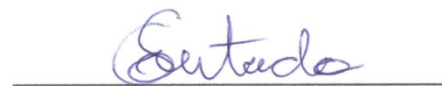
Tese apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa,  
como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação em  
Fitopatologia, para obtenção do título  
de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 21 de outubro de 2011.




---

Pesq. Romário Gava Ferrão  
(Coorientador)



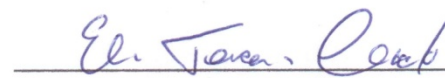
---

Prof. Gleiber Quintão Furtado



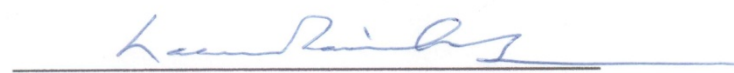
---

Dr. Robson José do Nascimento



---

Pesq. Eveline Teixeira Caixeta



---

Prof. Laércio Zambolim (Orientador)

*... nunca deixe que lhe digam que não vale a pena acreditar no sonho que se tem, ou que seus planos nunca vão dar certo, ou que você nunca vai ser alguém... ...quem acredita sempre alcança!*

Aos meus pais, Osmar e Adelaide

Ao meu irmão, Andrey

Aos meus amigos, familiares e a

todos que acreditaram em mim, dedico.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida e por ter colocado tantas pessoas boas na caminhada de minha vida. Obrigado senhor!

A meu pai Osmar pelos exemplos de onestidade e boa conduta, a minha mãe Adelaide pelos ensinamentos sobre garra e determinação, ensinamentos estes que levarei por toda a minha vida. E ao meu irmão Andrey, pela ajuda nos momentos difíceis. Obrigado! Sem vocês eu não teria chegado a lugar algum.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade em realizar este curso.

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Prof. Laércio Zambolim, pela confiança depositada em mim para a realização deste trabalho.

Ao Incaper e em especial ao Dr. Romário Gava Ferrão que colaborou com essa parceria entre a UFV e o Incaper visando um objetivo comum, ajudar os produtores.

Aos professores da Universidade Federal de Viçosa, pelos valiosos conhecimentos discutidos.

A minha namorada Patrícia que me deu todo o carinho e compreensão principalmente nos momentos mais difíceis, além dos conselhos que contribuíram para o meu desenvolvimento como ser humano.

Aos amigos de curso e do laboratório, pelo convívio agradável. Aos amigos do laboratório Uilton e Deco pela ajuda nos experimentos. Ao Henrique pelas discussões científicas que enriqueceram meu conhecimento. Ao nosso laboratorista, amigo, motorista, conselheiro, chapa, coorientador, colega de farras... etc... Nivaldo Sérgio Milagres que inúmeras vezes foi sempre prestativo, leal e solucionador de problemas, mesmo em períodos de greve dos funcionários. Um grande exemplo para os funcionários públicos desse país.

Ao amigo Inácio Polonini, que nos acolheu tão bem em Jaguaré-ES, sempre sendo prestativo conosco e conciente da importância do conhecimento científico para ajudar a solucionar os problemas do campo. Obrigado Inácio por toda a sua ajuda.

A família Nicoli, pela ajuda na instalação e condução dos experimentos de campo em suas propriedades. Muito obrigado.

A todos os funcionários do viveiro do café, em especial ao Mário e ao Geraldo, pelo apoio na condução dos trabalhos de campo e pelos simples, porém, sábios ensinamentos sobre os reais valores da vida.

A todos os meus companheiros e ex-companheiros de república, pela amizade e pelos momentos de descontração.

A meus Tios, Tias e primos que sempre torceram e se orgulharam das minhas conquistas, mesmo sem saber o significado delas.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito Obrigado!

## **BIOGRAFIA**

ALEXANDRE SANDRI CAPUCHO, filho de Osmar Capucho e Adelaide Sandri Capucho, nasceu em Linhares, Espírito Santo, em 19 de setembro de 1981.

Em fevereiro de 2000 ingressou no curso de Agronomia na Universidade Federal de Viçosa (UFV), graduando-se em 05 de maio de 2006.

No período de 2004 a 2006 foi bolsista de iniciação científica no Departamento de Fitopatologia da UFV, onde desenvolveu atividades de pesquisa em epidemiologia/control e marcadores moleculares no patossistema cafeeiro vs. ferrugem.

Em maio de 2006 iniciou no programa de pós-graduação, em nível de mestrado, em fitopatologia, na UFV, defendendo sua dissertação em fevereiro de 2008.

Em março de 2008 iniciou no programa de pós-graduação, em nível de doutorado, em fitopatologia, na UFV, submetendo-se à defesa de tese em outubro de 2011.

## ÍNDICE

RESUMO .....	viii
ABSTRACT .....	x
INTRODUÇÃO GERAL .....	1
REFERÊNCIAS .....	6
CAPÍTULO 1 - INFLUÊNCIA DE VARIÁVEIS CLIMÁTICAS NA INFECÇÃO E PROGRESSO DA FERRUGEM NO CAFEEIRO CONILON .....	10
1-INTRODUÇÃO .....	11
2-MATERIAL E MÉTODOS .....	13
2.1-Germinação <i>in vitro</i> de uredosporos de <i>H. vastatrix</i> em diferentes temperaturas e períodos de molhamento .....	14
2.2-Infectividade de uredosporos de <i>H. vastatrix</i> em diferentes temperaturas e períodos de molhamento .....	15
2.3-Funções discriminantes para determinar a favorabilidade do clima à <i>H.</i> <i>vastatrix</i> .....	16
2.4-Análises estatísticas .....	17
3-RESULTADOS .....	18
4-DISCUSSÃO .....	20
5-REFERÊNCIAS .....	23
6-TABELAS .....	27
7-FIGURAS .....	31
CAPÍTULO 2 - DEVELOPMENT AND VALIDATION OF A STANDARD AREA DIAGRAM SET TO ESTIMATE SEVERITY OF LEAF RUST IN <i>COFFEA</i> <i>ARABICA</i> AND <i>COFFEA CANEPHORA</i> .....	36
1-INTRODUCTION .....	37
2-MATERIAL AND METHODS .....	38
3-RESULTS .....	40
4-DISCUSSION .....	41
5-REFERENCES .....	43
6-TABLES .....	46
7-FIGURES .....	49
CAPÍTULO 3 - ANÁLISE MULTIVARIADA DOS COMPONENTES DA RESISTÊNCIA DA VARIEDADE CONILON VITÓRIA INCAPER 8142 À TRÊS RAÇAS DE <i>HEMILEIA VASTATRIX</i> .....	54
1-INTRODUÇÃO .....	55
3-MATERIAL E MÉTODOS .....	56
3-RESULTADOS .....	60
4-DISCUSSÃO .....	62
5-REFERÊNCIAS .....	66



6-TABELAS .....	70
7-FIGURAS .....	80
CAPÍTULO 4 - APLICAÇÃO DE TRIAZÓIS E ESTROBILURINAS NO CONTROLE DA FERRUGEM NO CAFEIEIRO CONILON .....	83
1-INTRODUÇÃO .....	84
2-MATERIAL E MÉTODOS .....	85
3-RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	86
4-REFERÊNCIAS .....	91
5-TABELAS .....	93
6-FIGURAS .....	95
CONCLUSÕES GERAIS .....	97

## RESUMO

CAPUCHO, Alexandre Sandri, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, Outubro de 2011. **Epidemiologia e resistência do cafeeiro conilon à ferrugem.** Orientador: Laércio Zambolim. Coorientador: Romário Gava Ferrão.

Nos últimos anos a ferrugem no cafeeiro conilon (*Coffea canephora*), causada por *Hemileia vastatrix*, tem ocorrido no campo sob grandes epidemias. Pouco se conhece sobre esse patossistema e a partir de questionamentos sobre o hospedeiro, o patógeno e o ambiente dessa interação surgiu o interesse em desenvolver este trabalho, que teve como objetivos: 1) determinar que temperatura e períodos de molhamento que favorecem a germinação e a infecção de *H. vastatrix* no cafeeiro conilon e caracterizar, em condições de campo, a influência de variáveis macroclimáticas na epidemia da doença; 2) elaborar e validar uma escala diagramática precisa e acurada para a ferrugem do cafeeiro; 3) caracterizar a resistência horizontal dos genótipos da variedade Conilon Vitória Incaper 8142, agrupando-os em níveis de resistência à três raças de *H. vastatrix*; 4) avaliar a eficiência de fungicidas triazóis aplicados via solo com complementação foliar no controle da ferrugem em cafeeiro conilon e estimar o dano causado pela doença nesse cafeeiro. Experimentos no delineamento inteiramente casualizado foram realizados para determinar a temperatura e períodos de molhamento mais favoráveis à germinação e a infectividade de *H. vastatrix*. As análises de regressão foram realizadas para modelar os dados. Os resultados mostraram que temperaturas entre 21,6 e 23,6°C e molhamento foliar superior a 24 horas é a condição mais favorável à germinação e infecção do conilon por *H. vastatrix*. Esses resultados auxiliaram no desenvolvimento das funções discriminantes do segundo objetivo da tese. Para alcançar este objetivo os dados históricos de clima de três municípios do norte do Espírito Santo e os dados de intensidade da doença foram utilizados para criar as funções discriminantes. Historicamente os meses do ano mais favoráveis à infecção de *H. vastatrix* são de maio a outubro. Nesses períodos as temperaturas médias mensais são amenas (próximo a 22°C) com alta umidade relativa (>80%), associado à baixa precipitação mensal (<50mm), porém com molhamento foliar. Para criar e validar uma escala diagramática para a ferrugem do cafeeiro foi coletada e escaneada folhas doentes de *C. arabica* Catuaí Vermelho IAC144 e *C. canephora* Clone 02. A escala foi validada por dez avaliadores. A severidade das folhas doentes foi estimada, primeiramente sem o uso da escala e, posteriormente, com o uso da escala. Análises de regressão e de correlação

concordante de Lin entre os dados estimados e reais de severidade mostraram que a precisão e a acurácia foram significativamente melhores usando a escala. A análise dos dados também mostrou que a escala apresentou alta reprodutibilidade, podendo ser utilizada por várias pessoas em uma mesma quantificação de um experimento. Para determinar a resistência quantitativa em mudas da variedade Conilon Vitória Incaper 8142, foram utilizadas as raças I, II e XXXIII de *H. vastatrix* em um delineamento inteiramente casualizado. Após as inoculações onze componentes de resistência foram avaliados: períodos de incubação e latente, produção de esporos, área foliar lesionada, produção de esporos por área foliar lesionada, área foliar esporulada, produção de esporos por área foliar esporulada, severidade com o uso da escala proposta, frequência de infecção, número total de pústulas e taxa de expansão das lesões. O uso de análises multivariadas de agrupamento e de discriminantes com os onze componentes de resistência possibilitou determinar quatro níveis de resistência: plantas resistentes, moderadamente resistentes, moderadamente suscetíveis e suscetíveis. O grupo de plantas mais resistentes (resistentes ou moderadamente resistentes) às três raças de *H. vastatrix* foram constituídas pelos clones 3V e 5V da variedade. Para testar a eficiência de triazóis e estrobilurinas via solo com ou sem complementação foliar no controle da ferrugem, foi instalado um experimento no delineamento em blocos casualizados com oito tratamentos. A cada 30 dias foram coletadas folhas das parcelas experimentais para a aferição da incidência e severidade da doença. A produção também foi quantificada nos anos de condução do experimento. Com esses dados foram traçadas as curvas de progresso da doença e calculada a área abaixo da curva de progresso para a incidência da doença. Os dados de intensidade de doença e produção também foram usados para estimar o dano causado pela ferrugem no clone 02 do cafeeiro conilon. O clima durante a condução do experimento apresentou vários meses favoráveis ao desenvolvimento da ferrugem. Ocorreram duas epidemias durante a condução do experimento, uma típica com um pico ocorrido no mês de julho e outra atípica com um pico em janeiro. Os tratamentos com as aplicações via solo foram eficientes no controle da doença, porém, analisando conjuntamente o controle da doença e a produtividade, os melhores tratamentos foram os que utilizaram o cipronazol ou o flutriafol via solo, com ou sem complementação foliar. O dano causado pela ferrugem no clone 02 do cafeeiro conilon pode alcançar 47% se não forem implantadas medidas de controle da doença.

## ABSTRACT

CAPUCHO, Alexandre Sandri, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, October, 2011.

**Epidemiology and resistance of coffee conilon to rust.** Adviser: Laércio Zambolim. Co-adviser: Romário Gava Ferrão.

In recent years the rust in conilon coffee (*Coffea canephora*), caused by *Hemileia vastatrix*, has occurred in large epidemics in the field. Little is known about this pathosystem and from questions about the host, pathogen and environment of this interaction became interested in developing this work, which aimed to: 1) to determine what temperature and wetness periods that favor germination and infection of *H. vastatrix* in conilon coffee and characterize, in field conditions, the influence of variables macroclimatic the epidemic of disease, 2) develop and validate a diagrammatic scale for coffee rust, 3) characterize the horizontal resistance of the variety of genotypes Conilon Incaper Victoria 8142, grouping them into levels of resistance to three races of *H. vastatrix*, 4) evaluate the efficiency of triazole fungicides applied to the soil with supplementation in the control of leaf rust in conilon coffee and estimate the damage caused by disease in this coffee. Experiments in a completely randomized design were performed to determine the temperature and wetness periods favorable for germination and infectivity of *H. vastatrix*. Regression analysis was performed to model the data. The results showed that temperatures between 21.6 and 23.6°C and leaf wetness exceeding 24 hours is the most favorable condition for germination and infection of conilon by *H. vastatrix*. These results helped to develop the discriminant functions of the second objective of the thesis. To achieve this objective, the historical data of climate in three municipalities in the north of Espírito Santo and the disease severity data were used to create the discriminant functions. Historically the months of the year most favorable to the infection of *H. vastatrix* are from May to October. At these times the monthly average temperatures are mild (near 22°C) with high humidity (>80%), associated with low monthly precipitation (<50mm), but with leaf wetness. To create and validate a diagrammatic scale for coffee rust was collected and scanned diseased leaves of *C. arabica* Catuaí IAC144 and *C. canephora* clone 02. The scale was validated by ten raters. The severity of diseased leaves was estimated first without the use of the scale and then using the scale. Regression analysis and Lin's concordance correlation between the data estimated and actual severity

showed that the precision and accuracy were significantly better using the scale. The data analysis also showed that the scale presented high reproducibility and can be used by several people in the same quantification of an experiment. To determine the quantitative resistance in seedlings of the variety Conilon Incaper Victoria 8142, we used the races I, II and XXIII of *H. vastatrix* in a completely randomized design. After inoculations eleven resistance components were evaluated: incubation and latent periods, spore production, leaf area lesioned, number of spores per leaf area lesioned, sporulated leaf area, number of spores per sporulated leaf area, severity scale using the proposed, infection frequency, total number of pustules and expansion rate of the lesions. The use of multivariate analysis discriminant and of cluster with the eleven components of resistance possible to determine four levels of resistance: resistant plants, moderately resistant, moderately susceptible and susceptible. The group of plants more resistant (resistant or moderately resistant) to three races of *H. vastatrix* were established by clones 3V and 5V of the variety. To test the efficiency of triazoles in the soil with or without supplementation leaf in the control of leaf rust, an experiment was conducted in randomized block design with eight treatments. Every 30 days leaves were collected from experimental plots to measure the incidence and severity of disease. The production was also measured in years of conducting the experiment. With these data were plotted curves of disease progress and calculated the area under the disease progress curve for incidence of the disease. The intensity data of disease and production were also used to estimate the damage caused by rust in conilon coffee clone 02. The weather during the experiment had several months to promote the development of rust. Two epidemics occurred during the experiment, with a typical peak occurred in July and another with an atypical peak in January. The treatments with the soil applications were effective in controlling the disease, however, jointly analyzing disease control and productivity, the best treatments were those who used or ciproflutriafol in the soil, with or without supplementation leaf. The damage caused by rust in conilon coffee clone 02 can reach 47% if not implemented measures to control the disease.

## INTRODUÇÃO GERAL

As espécies de café *Coffea arabica* e *C. canephora*, dentre as 103 espécies de *Coffea* relatadas, representam economicamente a maior expressão do café no mercado mundial (Pinto-Maglio, 2006). Historicamente, o Brasil se destaca como o maior produtor, exportador e o segundo maior consumidor de café.

Em 2010, a produção brasileira de café atingiu 48 milhões de sacas beneficiadas, representando cerca de 30% da produção mundial. A estimativa de 2011 foi de 43 milhões de sacas (Conab, 2011). De modo geral o café conilon representa entre 25 e 30% desse total, dependendo da bienalidade da produção do cafeeiro arábica.

O consumo per capita de café no Brasil foi de 4,81kg em 2010, o que equivale a 81 litros por pessoa por ano, valor este 3,5% maior do que o registrado no ano anterior. Caso o país mantiver esse crescimento e os Estados Unidos a estagnação no consumo, em 2012 o Brasil passará a ser o maior consumidor de café, posição tradicionalmente ocupada pelos Estados Unidos desde o século 19 (Abic, 2011).

A maior utilidade do café conilon foi inicialmente atribuída à produção de café solúvel, em virtude dos seus grãos apresentarem um alto teor de sólidos solúveis totais. O café solúvel é um segmento importante para a sustentabilidade econômica desta atividade. As exportações brasileiras de conilon praticamente dobraram entre 2000 e 2005 e, neste último ano, o volume de exportação chegou a 81,85 mil toneladas (Daher & Tristão, 2007).

Além do uso do conilon como café solúvel, a qualidade de sua bebida foi recentemente comprovada (Teixeira *et al.*, 2007). Este autor e seus colaboradores citam o trabalho de Cortez (2004) como o proponente de um padrão de classificação de bebidas do café conilon. Eles também chamam a atenção para as diferenças entre *C. arabica* (café arábica) e *C. canephora* (café conilon) quanto ao tipo de bebida, já que os frutos dessas duas espécies apresentam constituição química e sensorial diferentes e, assim, necessitam de processamento pós-colheita diferenciado. O café conilon também é muito usado nos *blends* com o café arábica, onde no geral a proporção de conilon fica em torno de 40% da mistura.

O Brasil é o segundo maior produtor de *C. canephora* com 11,3 milhões de sacas beneficiadas. Esta espécie é conhecida no Espírito Santo, seu maior produtor, como café conilon, por ser o grupo de *C. canephora* mais plantado no Estado (Fassio & Silva, 2007; Conab, 2011). A alta produção desse Estado, que corresponde a 75,4% da

produção brasileira de conilon (8,5 milhões de sacas), se deve em grande parte ao programa de melhoramento do Incaper (Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural) iniciado em 1985 (Fonseca *et al.*, 2004).

No Espírito Santo, a produção de conilon está centralizada nos municípios do nordeste e noroeste do Estado. Estes municípios respondem por 82% (6,4 milhões de sacas) da produção de conilon do Espírito Santo (Ferrão *et al.*, 2007a).

O Incaper lançou cinco variedades clonais aptas para o Espírito Santo a partir de 1993 e a produtividade aumentou 230% (Ferrão *et al.*, 2007b). As variedades melhoradas ocupam cerca de 40% da área cultivada com o café conilon no Espírito Santo, correspondendo a produção de 4,2 milhões de sacas beneficiadas (Ferrão *et al.*, 2007b).

A produção de café pode ser limitada por vários fatores, dentre eles, as doenças têm ocupado lugar de destaque. Dentre as doenças que infectam esta cultura, não só no Brasil, mas em todo o mundo, a ferrugem, causada pelo fungo *Hemileia vastatrix* Berk. et Br., é a doença mais importante, por provocar a queda das folhas e, conseqüentemente, a seca dos ramos. A seca progressiva dos ramos devido uma grande epidemia da doença reduz a vida útil da lavoura, tornando-a antieconômica (Ventura *et al.*, 2007).

A ferrugem do cafeeiro é bem estudada em *C. arabica* e neste hospedeiro ela é favorecida por umidade elevada, molhamento foliar por pelo menos 24 horas e temperaturas moderadas, próxima a 24 °C (Montoya & Chaves, 1974; Zambolim *et al.*, 1999). Entretanto, em *C. canephora* esta informação é escassa.

A medida mais utilizada de manejo, dentre as disponíveis para o controle da ferrugem, é a aplicação de fungicidas. Os fungicidas protetores, principalmente os cúpricos, e os sistêmicos podem ser utilizados para o controle da doença. A Calda Viçosa, uma mistura de nutrientes que contém oxicloreto de cobre, apresenta efeito fungicida e também é uma medida recomendada para o controle da doença no cafeeiro conilon (Ventura *et al.*, 2007).

O uso de fungicidas para o controle da ferrugem onera o custo de produção. Além dos custos, a aplicação de fungicidas também pode aumentar a probabilidade de intoxicação de aplicadores, a contaminação do meio ambiente pela deriva e a lixiviação dos excessos de produtos pulverizados no ambiente. Notadamente este último agravante deve ocorrer com maior freqüência no norte do Espírito Santo, pois o café conilon nessa região geralmente é plantado em solos arenosos.

O uso intensivo de fungicidas também pode favorecer o aumento da frequência de isolados de *H. vastatrix* resistentes aos princípios ativos dos produtos, diminuindo a efetividade das aplicações, e, conseqüentemente, a sustentabilidade da atividade. Estas implicações são motivos de grande preocupação e têm levado a procura cada vez mais crescente por práticas e estratégias de manejo que sejam racionais, eficientes e economicamente viáveis.

No Brasil, os danos e perdas causadas pela ferrugem do cafeeiro não foram conclusivamente estimadas, nos cafês conilon e arábica. Acredita-se que as perdas em cafeeiro arábica estejam na ordem de 10-20% do valor da produção (Kushalappa & Eskes, 1989). Os danos em cafeeiro arábica estão estimados na ordem de 35-50% da produção, dependendo das condições ambientais e do manejo adotado na lavoura (Zambolim *et al.*, 1999).

Para que os valores de dano e perda sejam quantificados no cafeeiro conilon, há a necessidade de realizar um estudo epidemiológico da doença nos genótipos que compõe as variedades desse cafeeiro. O estudo epidemiológico de doenças possibilitará não somente quantificar os danos causados por esta doença, como também, por meio do monitoramento de variáveis meteorológicas, identificar períodos favoráveis à doença, compreender o comportamento da doença ao longo do ano, fazer simulações para prever a intensidade da doença, determinar o início da epidemia, a taxa de progresso, a sua intensidade máxima, a duração da epidemia, além de estabelecer o momento mais apropriado para aplicar uma medida de controle da doença (Campbell & Madden, 1990; Bergamin Filho & Amorim, 1996; Jesus Júnior *et al.*, 2004). O progresso de epidemias e a época de seu início têm sido avaliados em diferentes locais e anos para outras doenças causadoras de ferrugens (Godoy *et al.*, 2003; Esker *et al.*, 2007), entretanto, essa informação é pouco conhecida para a ferrugem no cafeeiro conilon.

Para aumentar o conhecimento da interação entre o cafeeiro conilon e a ferrugem, o Incaper acrescentou, a partir de 2006, a avaliação da resistência de plantas à patógenos e pragas, como critério de seleção em seu programa de melhoramento. Um dos objetivos é identificar genótipos de conilon mais resistentes aos isolados de *H. vastatrix* mais frequentes do Espírito Santo.

Mundialmente é conhecido que a resistência do cafeeiro à *H. vastatrix* é governada por nove genes dominantes (denominados de S<sub>H1</sub> a S<sub>H9</sub>), simples ou em associação. Os genes S<sub>H1</sub>, S<sub>H2</sub>, S<sub>H4</sub> e S<sub>H5</sub>, foram caracterizados em *C. arabica* provenientes da Etiópia (Noronha-Wagner & Bettencourt, 1967; Bettencourt &



Noronha-Wagner, 1971). O gene  $S_{H3}$  foi caracterizado em seleções indianas denominadas S.288, S.333 e nas seleções das séries B.A., derivados da espécie *C. liberica* (Bettencourt & Carvalho, 1968; Bettencourt & Noronha-Wagner, 1971; Bettencourt & Rodrigues, 1988). Os genes  $S_{H6}$ ,  $S_{H7}$ ,  $S_{H8}$  e  $S_{H9}$  foram encontrados em *C. canephora* (Bettencourt, 1973; Bettencourt *et al.*, 1980; Bettencourt *et al.*, 1992).

Em *C. canephora*, tanto a resistência vertical quanto a horizontal já foram observadas. Alguns genótipos de conilon podem ser severamente afetados pela ferrugem, outros se comportam como altamente resistentes, e, geralmente, a maior parte dos genótipos estudados apresentam bons níveis de resistência horizontal à *H. vastatrix* (Bettencourt & Rodrigues Jr., 1988).

Nas últimas décadas a procura por um tipo de resistência durável à ferrugem tornou-se prioridade nos programas de melhoramento do cafeeiro (Eskes 2005; Várzea & Marques, 2005). Uma alternativa para se alcançar esse objetivo está no uso da resistência horizontal dos genótipos que, de acordo com Vanderplank (1963), é eficiente contra várias raças do patógeno. Este tipo de resistência, no geral, confere proteção mais durável do que a resistência vertical (Parlevliet & Zadoks, 1977).

Uma segunda estratégia para conferir maior resistência às plantas no campo, denominada de “multilinhas”, também pode ser explorada na cultura do cafeeiro conilon, principalmente em cultivos de variedades clonais. Visto que esta cultura é plantada em linha e cada linha constituída por genótipos de conilon que apresentam algumas características semelhantes, mas que podem diferir quanto à resistência à *H. vastatrix* (Ferrão *et al.*, 2007b). Estes genótipos poderiam evitar ou retardar a suplantação dos genes de resistência da variedade, pois serviriam como barreira física e genética para o patógeno entre as linhas de plantio e, assim, reduziria o aumento da frequência de isolados do patógeno capazes de suplantarem a resistência dessa variedade (McDonald & Linde, 2002).

A resistência genética é um pilar dentre as estratégias para o controle de doenças de plantas. Esta estratégia é altamente desejável do ponto de vista ambiental e econômico, além de custo mais baixo e de mais fácil utilização (Camargo, 2011). Com relação às ferrugens, a resistência do hospedeiro resulta da combinação de diversos componentes de resistência, como a taxa de expansão das lesões, períodos de incubação e latente, quantidade de uredosporos produzidos por lesão, severidade da doença, área foliar lesionada, etc (Parlevliet, 1979; Zambolim *et al.*, 2005). Assim, o uso de componentes de resistência para caracterizar genótipos de cafeeiros conilon com

maiores graus de resistência à ferrugem é uma importante estratégia para o desenvolvimento de variedades com resistência durável à ferrugem (Zambolim *et al.*, 2005; Angelotti *et al.*, 2008).

As variedades de cafeeiros conilon do Brasil, no geral, são constituídas de um conjunto de clones que apresentam várias características comuns, mas que apresentam o nível de resistência à ferrugem pouco conhecida. Assim, há necessidade de se conhecer o nível de resistência destes genótipos que compõem as variedades clonais plantadas no Brasil, para auxiliar os programas de melhoramento desse importante grupo de cafeeiro e o manejo dessa doença em lavouras.

A resistência genética e o uso de multilinhas são pouco explorados no cafeeiro conilon, porém seu uso poderá auxiliar no desenvolvimento e manutenção de variedades com resistência durável à ferrugem e, assim, garantir a sustentabilidade da produção de café conilon no país.

Para aumentar o conhecimento sobre a ferrugem no cafeeiro conilon, este trabalho teve os seguintes objetivos: 1) determinar a faixa de temperatura e períodos de molhamento foliar que favorecem a germinação e a infecção da ferrugem no cafeeiro conilon e caracterizar, em condições de campo, a influência de variáveis macroclimáticas no progresso da doença; 2) elaborar e validar uma escala diagramática precisa e acurada para a ferrugem do cafeeiro; 3) caracterizar a resistência horizontal dos genótipos que compõe a variedade clonal Conilon Vitória Incaper 8142, agrupando-os em níveis de resistência à três raças de *H. vastatrix*; 4) avaliar a eficiência de fungicidas triazóis aplicados via solo com complementação foliar no controle da ferrugem em cafeeiro conilon e estimar o dano causado pela doença nesse cafeeiro.

## REFERÊNCIAS

- Abic, 2011. *Consumo per capita de café no Brasil é recorde*. Associação Brasileira da Indústria de Café: Abic [<http://www.abic.com.br>].
- Angelotti F, Scapin CR, Tessmann DJ, Vida JB, Vieira RA, Souto ERD, 2008. Resistência de genótipos de videira à ferrugem. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* **43**, 1129-34.
- Bergamin Filho A, Amorim L, Eds, 1996. *Doenças de plantas tropicais: Epidemiologia e controle econômico*. São Paulo, Ceres.
- Bettencourt AJ, Lopes J, Palma S, 1992. 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. *Broteria Genética* **XIII (LXXX)**, 185-94.
- Bettencourt AJ, Rodrigues CJ, 1988. *Principles and practice of coffee breeding for resistance to rust and other diseases*. London Elsevier Applied Science Publishers.
- Bettencourt AJ, Noronha-Wagner M, Lopes J, 1980. Factor genético que condiciona a resistência do clone 1343/269 (Híbrido de Timor) à *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. *Broteria Genética* **I (LXXVI)**, 53-8.
- Bettencourt AJ, 1973. Considerações gerais sobre o 'Híbrido de Timor'. Instituto Agrônomo de Campinas, Circular nº **23**.
- Bettencourt AJ, Noronha-Wagner M, 1971. Genetic factors conditioning resistance of *Coffea arabica* L. to *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. *Agronomia Lusitana* **31**, 285-92.
- Bettencourt AJ, Carvalho A, 1968. Melhoramento visando à resistência do cafeeiro à ferrugem. *Bragantia* **27**, 35-68.
- Camargo LEA, 2011. Controle genético. pp.729-760. In: Amorim L, Rezende JAM, Bergamin Filho A, eds. *Manual de fitopatologia - princípios e conceitos*. São Paulo, Ceres. 325-41.
- Campbell CL, Madden LV, 1990. *Introduction to plant disease epidemiology*. New York: Wiley-Interscience.
- Conab, 2011. *Acompanhamento da safra brasileira de café*. Brasília, Brazil: Companhia Nacional de Abastecimento: Conab, Levantamento de maio de 2011.
- Cortez JG, 2004. Padrões de bebida para o café conilon. In: *Anais do Simpósio Estadual de Café*, 2004. Vitória, 6.

- Daher FA, Tristão SG, 2007. Mercado e comercialização do café conilon. In: Ferrão RG, Fonseca AFA, Bragança SM, Ferrão MAG, Muner LH, eds. *Café Conilon*. Vitória-ES: INCAPER, 539-45.
- Esker PD, Del Ponte EM, Martins MC, Kato FV, Siqueri FV, Silva LH, Godoy CV, 2007. Effects of location and year on the temporal disease progress of Asian soybean rust in Brazil. *Phytopathology* **97**, S33.
- Eskes AB, 2005. Phenotypic expression of resistance to coffee leaf rust and its possible relationship with durability. In: Zambolim L, Zambolim EM, Várzea VMP, eds. *Durable resistance to coffee leaf rust*. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. 305-32.
- Fassio LH, Silva AESD, 2007. Importância econômica e social do café conilon. In: Ferrão RG, Fonseca AFA, Bragança SM, Ferrão MAG, Muner LH, eds. *Café Conilon*. Vitória-ES: INCAPER, 35-49.
- Ferrão RG, Fornazier MJ, Ferrão MAG, Prezotti LC, Fonseca AFA, Alixandre FT, 2007a. Estudo setorial: Cafeicultura. PEDEAG - Plano estratégico de desenvolvimento da agricultura capixaba, 45.
- Ferrão RG, Fonseca AFA, Ferrão MAG, Bragança SM, Verdin Filho AC, Volpi PS, 2007b. Cultivares de café conilon. In: Ferrão RG, Fonseca AFA, Bragança SM, Ferrão MAG, Muner LH, eds. *Café Conilon*. Vitória-ES: INCAPER, 203-25.
- Fonseca AFA, Ferrão MAG, Ferrão RG, Verdin Filho AC, Volpi PS, Zucatei F, 2004. 'Conilon Vitória - Incaper 8142': improved *Coffea canephora* var. *kouillou* clone cultivar for the state of Espírito Santo. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* **4**, 503-5.
- Godoy CV, Costamilam LM, Canteri MG, Almeida AL, Piuga FF, 2003. Análise temporal do progresso da ferrugem da soja em Londrina-PR. In: *Anais do Congresso Brasileiro de Fitopatologia*, Uberlândia. S386.
- Jesus Júnior WC, Pozza EA, Vale FXR, Aguilera GM, 2004. Análise temporal de epidemias. In: Vale FXR, Jesus Júnior WC, Zambolim L, eds. *Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas*. Belo Horizonte, Perffil Editora, 126-91.
- Kushalappa AC, Eskes AB, 1989. *Coffee rust: epidemiology, resistance and management*. Boca Roto, CRC Press.
- McDonald BA, Linde C, 2002. Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance. *Annu Rev Phytopathol.* **40**, 349-79.

- Montoya RH, Chaves GM, 1974. Influência da temperatura e da luz na germinação, infectividade e período de geração de *Hemileia vastatrix* Berk. & Br. *Experientiae* **18**, 239-66.
- Noronha-Wagner M, Bettencourt AJ, 1967. Genetic study of resistance of *Coffea* sp. to leaf rust-Identification and behaviour of four factor conditioning disease reaction in *Coffea arabica* to twelve physiologic races of *Hemileia vastatrix*. *Canadian Journal of Botany* **45**, 2021-31.
- Parlevliet JE, 1979. Components of resistance that reduce the rate of epidemic development. *Annual Review of Phytopathology* **17**, 203-22.
- Parlevliet JE, Zadoks JC, 1977. The integrated concept of disease resistance, a new view including horizontal and vertical resistance in plants. *Euphytica* **26**, 5-21.
- Pinto-Maglio CAF, 2006. Cytogenetics of coffee. *Brazilian Journal Plant Physiology* **18**, 37-44.
- Teixeira MM, Cortez JG, Toledo JLB, Daher FA, 2007. Padrão de bebida para o café conilon. In: Ferrão RG, Fonseca AFA, Bragança SM, Ferrão MAG, Muner LH, eds. *Café Conilon*. Vitória-ES: INCAPER, 531-37.
- Vanderplank JE, 1963. *Plant Disease Epidemics and Control*. New York NY. Academic Press.
- Van der Vossen HAM, 2005. State-of-the-art of developing durable resistance to biotrophic pathogens in crop plants, such as coffee leaf rust. In: Zambolim L, Zambolim EM, Várzea VMP, eds. *Durable Resistance to Coffee Leaf Rust*. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa. 1-30.
- Várzea VMP, Marques DV, 2005. Population variability of *Hemileia vastatrix* vs. coffee durable resistance. In: Zambolim L, Zambolim EM, Várzea VMP, eds. *Durable Resistance to Coffee Leaf Rust*. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. 53-74.
- Ventura JA, Costa H, Santana EM, Martins MVV, 2007. Diagnóstico e manejo das doenças do cafeeiro conilon. In: Ferrão RG, Fonseca AFA, Bragança SM, Ferrão MAG, Muner LH, eds. *Café Conilon*. Vitória-ES: INCAPER, 451-97.
- Zambolim L, Vale FXR, Pereira AA, Chaves GM, 1999. Manejo integrado das doenças do cafeeiro. In: Zambolim L, ed. *Produção de café com qualidade*. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa. 134-215.
- Zambolim L, Zambolim EM, Vale FXR, Pereira AA, Sakiyama NS, Caixeta ET, 2005. Physiological races of *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. in Brazil. In: Zambolim L,

Zambolim EM, Várzea VMP, eds. *Durable Resistance to Coffee Leaf Rust*. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. 75-115.

**CAPÍTULO 1 - INFLUÊNCIA DE VARIÁVEIS CLIMÁTICAS NA INFECÇÃO  
E PROGRESSO DA FERRUGEM NO CAFEIEIRO CONILON**

## 1-INTRODUÇÃO

O Brasil é o segundo maior produtor de café conilon (*Coffea canephora*), correspondendo de 24% da produção mundial. O Incaper (Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural), que detém o principal programa de melhoramento para *C. canephora* no Brasil, desenvolveu e lançou variedades clonais aptas para o Estado do Espírito Santo a partir de 1993 e a produtividade aumentou 230% (Ferrão *et al.*, 2007). As variedades do Incaper ocupam cerca de 40% da área cultivada com o café conilon no Espírito Santo, correspondendo a 55% da produção do Brasil (Ferrão *et al.*, 2007).

O programa de melhoramento do Incaper iniciou em 1985, visando sobretudo o aumento da produtividade. Porém, nos últimos anos outras variáveis como a arquitetura da planta, uniformidade de maturação, tolerância a seca, tamanho de grãos, qualidade de bebida e a resistência a doenças e pragas passaram a ser priorizadas. Dentre as doenças que infectam esta cultura, não só no Brasil, mas em todo o mundo, a ferrugem causada por *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. é a mais importante, por provocar a queda das folhas nas plantas infectadas e, como consequência, a seca dos ramos. A seca progressiva dos ramos reduz a vida útil da lavoura, tornando-a antieconômica (Ventura *et al.*, 2007).

A biologia da ferrugem do cafeeiro é bem estudada no cafeeiro arábica (*C. arabica*). Neste hospedeiro ela é favorecida por umidade elevada com molhamento foliar por pelo menos 24 horas e temperaturas moderadas, entre 22 e 24 °C (Zambolim *et al.*, 1999). Pouco se conhece sobre a biologia da ferrugem no cafeeiro conilon, sendo a extrapolação do conhecimento obtido do café arábica para o conilon impossibilitado, pois existe hospedeiro, clima e, possivelmente, patógeno diferentes para as duas situações.

O pouco conhecimento do patossistema *C. canephora* vs. *H. vastatrix* é atribuído, em parte, a resistência vertical e a grande resistência horizontal sabidamente conhecida de *C. canephora*. Porém, com a intensificação dos programas de melhoramento na busca por genótipos com altos potenciais de produtividade, possivelmente, houve a perda de genes de efeitos menores responsáveis pela resistência quantitativa, como já observada para outros patossistemas (Bent & Mackey, 2007). Nesse cafeeiro plantado no Brasil já foi observada grandes epidemias da ferrugem, notadamente no norte do Espírito Santo. Nessa região estão sendo utilizados de duas até



quatro aplicações com fungicidas sistêmicos para conter a doença. Assim, para melhor entender a epidemia da ferrugem no cafeeiro conilon, há necessidade de conhecer melhor a biologia do patógeno e as variáveis ambientais mais importantes para a infecção e progresso da doença no campo.

A germinação dos uredosporos é a fase mais crítica durante o processo de infecção de *H. vastatrix* no cafeeiro, na qual a temperatura e o molhamento foliar são as variáveis climáticas mais importantes para o sucesso da infecção. Para o cafeeiro arábica a maioria dos trabalhos cita temperaturas entre 22 e 24°C como as ideais para ocorrer a máxima porcentagem de germinação dos uredosporos de *H. vastatrix* (Saccas & Charpentier, 1971, Rayner, 1972, Montoya & Chaves, 1974, Akutsu, 1981, Dejong *et al.*, 1987).

Com relação ao período de molhamento foliar que favorece *H. vastatrix*, Montoya & Chaves (1974) e Zambolim *et al.* (1999) mostraram que o fungo necessita de pelo menos 24 períodos de molhamento foliar, no escuro, para que a germinação seja máxima. Em cafeeiro conilon esta informação é escassa, podendo variar entre os genótipos de conilon, as regiões de cultivo, a altitude, a umidade relativa do ar, a precipitação pluviométrica e a temperatura.

Um melhor entendimento do comportamento da doença no cafeeiro conilon também poderia ser realizado ao se analisar os dados históricos de clima, como a temperatura, a umidade relativa, a precipitação, etc. E ao comparar esses dados com os de intensidade da doença poderiam ser criadas funções discriminantes para caracterizar a favorabilidade do clima à infecção do cafeeiro pela ferrugem.

Assim, para se conhecer a epidemia da ferrugem no cafeeiro conilon há necessidade de determinarmos as condições ambientais que favorecem a infecção da planta pelo fungo. O conhecimento dessas condições de forma mais aprofundada e precisa facilitará o uso de dados obtidos em trabalhos epidemiológicos para que os mesmos sejam mais bem compreendidos e trabalhados nesse patossistema. Estas informações também poderão auxiliar futuros trabalhos de previsão da ferrugem no cafeeiro conilon. Além disso, a caracterização da favorabilidade do clima poderá identificar áreas de alto risco à infecção por *H. vastatrix* ao longo dos meses do ano, auxiliando a pesquisa e a extensão.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi determinar as faixas de temperatura e períodos de molhamento foliar ideais para a germinação *in vitro* e a infectividade em discos de folha nesse patossistema. Um segundo objetivo foi caracterizar a epidemia da

ferrugem e criar funções discriminantes, baseado em dados históricos de clima, para determinar a favorabilidade ou desfavorabilidade do clima à infecção do cafeeiro conilon por *H. vastatrix*.

## 2-MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos para determinar os aspectos biológicos do fungo foram conduzidos no Laboratório de Proteção de Plantas do Depto de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Foram utilizados nos ensaios três isolados de *H. vastatrix*.

Os uredosporos de *H. vastatrix* foram coletados em lavouras de cafeeiro conilon a partir de maio de 2009, em três municípios do norte do Espírito Santo, Jaguaré (latitude 18°54,360', longitude 40°04,012' e altitude de 75m), Rio Bananal (latitude 19°14,308', longitude 40°14,323' e altitude de 78m) e São Gabriel da Palha (latitude 19°03,879', longitude 40°32,922' e altitude de 190m). As plantas das lavouras coletadas apresentavam até quatro anos de idade, sob irrigação do tipo gotejamento e eram do clone 02 intercalado com o clone G35. O clone G35 é usado como polinizador. O clone 02 é um material genético de alto potencial produtivo, tolerante a seca, adequada arquitetura de planta, mas que apresenta suscetibilidade à ferrugem.

Os uredosporos foram coletados do clone 02 com o auxílio de cápsulas de gelatina e mantidos a 4°C e umidade relativa (UR) acima de 50% (Zambolim & Chaves, 1974). Os isolados foram multiplicados para a obtenção de uredosporos monopustulares de *H. vastatrix*. Para isso, foi realizada a inoculação de uredosporos de uma única pústula de ferrugem em mudas do clone 02. Este procedimento foi realizado em compartimentos individualizados para evitar contaminações. A metodologia usada para a obtenção de isolados monopustulares de *H. vastatrix* foi descrita por Capucho *et al.* (2009).

A caracterização biológica das raças do fungo foi realizada por meio da reação de resistência (ausência de uredosporos) ou suscetibilidade (presença de uredosporos) apresentada pelos clones de café diferenciadores de raças do CIFC (Centro de Investigação das Ferrugens do Cafeeiro, Oeiras, Portugal), mantidos na UFV. A caracterização da raça dos isolados foi realizada com a metodologia de disco de folhas. Um experimento no delineamento inteiramente casualizado foi realizado para cada isolado, onde foram usadas três repetições para cada um dos 18 clones de café

diferenciadores, sendo cada repetição constituída por 16 discos de folha (Capucho *et al.*, 2009).

A informação da resistência e da suscetibilidade de cada clone de café diferenciador de raça quando inoculado com cada isolado de *H. vastatrix* foi usada para determinar a raça de cada isolado ao confrontar esses dados com o quadro de raças e diferenciadores de raças do CIFC (Bettencourt, 1981; Várzea *et al.*, 2005).

A partir dos uredosporos caracterizados de cada isolado, o clone 02 foi usado para a multiplicação e obtenção de uredosporos do fungo em grandes quantidades.

Os ensaios de avaliação da temperatura e do período de molhamento ótimos para a ferrugem no cafeeiro conilon foram divididos em duas etapas. A primeira foi realizada *in vitro* para avaliar a taxa de germinação dos uredosporos em placas de Petri contendo agar-água. A segunda etapa consistiu na inoculação de uma suspensão de uredosporos em discos de folhas do clone 02 mantidos no interior de caixas plásticas (gerbox de 11x11x3cm).

A favorabilidade ou desfavorabilidade do clima à ferrugem no cafeeiro conilon por meio de funções discriminantes foi determinada a partir de dados históricos de clima, contendo informações de temperatura, umidade relativa e precipitação. Os dados históricos de clima de Linhares-ES (de 2006 a 2010) e São Mateus-ES (de 1970 a 2010) utilizados nas análises foram obtidos junto ao Inmet (Instituto Nacional de Meteorologia), enquanto os dados da cidade de Marilândia-ES (de 1976 a 2010) foram obtidos na FEM/Incaper (Fazenda Experimental de Marilândia/Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural).

Os dados de doença utilizados foram obtidos de uma área com o clone 02 de *C. canephora* em um ano típico da doença para a região de São Mateus-ES, Brasil.

### **2.1-Germinação *in vitro* de uredosporos de *H. vastatrix* em diferentes temperaturas e períodos de molhamento**

Para a instalação dos ensaios da avaliação da germinação *in vitro* em diferentes temperaturas e períodos de molhamento foram preparadas suspensões com 2mg de uredosporos por mililitro de água destilada, contendo 0,05% de Tween 80, mantidas sob constante agitação. Com o auxílio de uma micropipeta, 200µL dessa suspensão foi depositada em placas de Petri de 9cm de diâmetro contendo agar-água 2%. A suspensão

foi espalhada com o auxílio de uma alça de Drigalsky e as placas foram cobertas com papel alumínio e submetidas aos respectivos tratamentos.

Para a análise da temperatura ótima para a germinação *in vitro* foram usados os seguintes tratamentos: temperatura de 18°C, 21°C, 24°C, 27°C e 30°C. O experimento foi instalado no delineamento inteiramente casualizados, com cinco repetições, sendo o valor de cada repetição obtido da média da avaliação da germinação de quatro campos por placa, constituindo as parcelas do experimento. Os uredosporos germinados (hifa maior que o diâmetro do esporos) foram contados nas placas de Petri, 48h após a aplicação dos tratamentos, com o auxílio de um microscópio Olympus, modelo CX41. Pelo menos 50 uredosporos por campo das placas foram contados, totalizando mais de 200 uredosporos contados por parcela experimental.

Para analisar o período de molhamento ótimo para a germinação *in vitro* foram testados os seguintes tempos: 4, 8, 12, 24, 48 e 72 horas de molhamento no escuro. Os tratamentos foram mantidos a 22°C durante o período de avaliação. O delineamento usado foi o inteiramente casualizado, com quatro repetições, sendo cada repetição obtida da média de quatro campos por placa de Petri, constituindo as parcelas do experimento. As avaliações dos uredosporos germinados foram realizadas da mesma forma que no experimento de determinação de temperatura ótima para a germinação *in vitro* de *H. vastatrix*.

## **2.2-Infectividade de uredosporos de *H. vastatrix* em diferentes temperaturas e períodos de molhamento**

A avaliação da infectividade de *H. vastatrix* em diferentes temperaturas e períodos de molhamento foi realizada em discos de folhas do clone 02 de *C. canephora*. Os discos de folha foram depositadas com a face abaxial para cima sobre uma tela de náilon e uma espuma saturada com água no interior de um gerbox (caixas plásticas de 11x11x3cm). As parcelas experimentais foram constituídas por 16 discos de folhas. A eficiência dessa metodologia para estudos de resistência vertical e horizontal do cafeeiro à *H. vastatrix* foi demonstrada por Eskes (1982), Capucho *et al.* (2009), Brito *et al.* (2010) e Diola *et al.* (2011).

Os uredosporos dos isolados monopustulares foram inoculados na face abaxial dos discos de folha, com o auxílio de um pincel. Após a inoculação, os discos foram atomizados com água destilada até o ponto de máxima retenção de gotas. Os gerbox

contendo os discos de folhas inoculados foram incubados no mesmo momento e nas mesmas faixas de temperatura e períodos de molhamento do experimento de germinação *in vitro* e acondicionados no escuro. Condição esta obtida por meio da cobertura dos gerbox com com papel alumínio.

As avaliações consistiram na determinação da área foliar das lesões nos discos de folha de cada parcela (gerbox). Para isso todos os discos de folhas foram fotodocumentados por meio de uma câmera digital. A área de cada lesão, em cm<sup>2</sup>, foi determinada com o programa *Quant* (Vale *et al.*, 2003). Todos os experimentos foram realizados duas vezes para assegurar a consistência dos dados obtidos.

### **2.3-Funções discriminantes para determinar a favorabilidade do clima à *H. vastatrix***

Para as análises macroclimáticas foram usadas cinco variáveis meteorológicas dos municípios de Linhares, Marilândia e São Mateus, todos do norte do Espírito Santo, Brasil. As variáveis estudadas foram: temperatura média mensal, a temperatura máxima média mensal, a temperatura mínima média mensal, a precipitação acumulada mensal e a umidade relativa média mensal

Para verificar se o clima dos municípios em estudo seriam semelhantes quanto a favorabilidade à ferrugem foram realizadas análises de correlação com cada variável climática entre os três municípios analisados.

A formação dos grupos de favorabilidade que são pré-requisitos para análise discriminante foi definida baseada nos dados de clima e de incidência da doença, onde os meses de maio a setembro formariam o grupo A (grupo de favorabilidade à ferrugem) e os meses de outubro a abril formariam o grupo B (grupo de desfavorabilidade à ferrugem).

A divisão em dois grupos foi, inicialmente, baseada na análise visual dos gráficos históricos de clima dos três locais em estudo e do comportamento da doença ao longo dos meses do ano. Posteriormente, foram realizadas análises estatísticas desses dados, o que provou que o comportamento do clima diferiu entre os dois grupos de meses pelos testes de t para a incidência da doença nesses dois grupos de favorabilidade e para as cinco variáveis climáticas.

As análises de favorabilidade consistiram no uso de ferramentas da estatística multivariada, na qual a análise de discriminantes foi utilizada com o objetivo de determinar funções para caracterizar a favorabilidade do clima à ferrugem. Com essas

funções será possível estimar se o clima em um determinado período foi favorável ou desfavorável à ferrugem baseado em dados históricos com uma probabilidade de acerto associado a esta estimativa.

A validação das funções foi realizada com os dados históricos de clima dos três locais em estudo. Para isso os dados de temperatura máxima, mínima e média mensais, assim como a umidade relativa média mensal e a precipitação acumulada mensalmente foram utilizadas nas funções discriminantes criadas. A resposta das funções foi binária, ou seja, para cada mês e para cada cidade os dados de clima foram usados para determinar se o clima foi favorável ou desfavorável à ferrugem. Com os dados binários de todos os anos e todos os municípios foi realizada uma análise de frequência para comprovar os meses do ano mais favoráveis à ferrugem, historicamente, no norte do Espírito Santo para o conilon.

#### **2.4-Análises estatísticas**

Com os dados de germinação *in vitro* obtidos para os três isolados, tanto para o experimento de determinação da temperatura ótima quanto para o de período de molhamento ótimo, foram realizadas análises de regressão para obter o modelo ajustado. Um teste t a 1% de probabilidade foi realizado para provar a significância dos coeficientes dos modelos ajustados aos dados.

A partir do modelo determinado foram plotados os gráficos para cada experimento (isolado). No caso dos ensaios para determinar a temperatura ótima, também foi calculada a primeira derivada da equação quadrática, obtendo-se os pontos de máximo (temperatura ótima) para cada experimento (isolado).

Nos experimentos de infectividade nas diferentes temperaturas e períodos de molhamento, assim como nos de germinação, também foram realizadas análises de regressão e testes de t para provar a significância dos coeficientes das regressões.

As análises dos dados históricos de clima para determinar a favorabilidade ou desfavorabilidade do clima à infecção pela ferrugem no cafeeiro conilon consistiram de análises de correlação das variáveis climáticas entre os três municípios em estudo e testes t entre os grupos de favorabilidade e desfavorabilidade do clima à infecção pela ferrugem. Estes grupos foram testados quanto à incidência da ferrugem e quanto às cinco variáveis climáticas avaliadas no estudo. Com essas cinco variáveis climáticas também foram realizadas análises de discriminantes para os três municípios em estudo.

Foram utilizados 972 valores mensais de cada variável em estudo, perfazendo um total de 5832 valores em toda a análise multivariada. O que aumenta a confiabilidade das funções geradas.

As análises estatísticas foram realizadas com o programa Minitab 14 e os gráficos com o programa SigmaPlot 10.

### 3-RESULTADOS

Os isolados utilizados nos ensaios foram caracterizados biologicamente como pertencentes às raças I e II de *H. vastatrix* (Tabela 1). O isolado de São Gabriel da Palha foi caracterizado com sendo da raça I e os isolados de Rio Bananal e Jaguaré como sendo da raça II de *H. vastatrix*.

Para a determinação das temperaturas ótimas para a germinação *in vitro* e infectividade em discos de folha funções ajustadas foram obtidas (Figura 1). Os coeficientes de cada parâmetro das funções foram significativamente diferentes de zero pelo teste t a 1% de probabilidade. A temperatura que proporcionou a germinação máxima dos uredosporos foi obtida pelo ponto de máximo das regressões ajustadas. Para isso, a primeira derivada de cada função foi determinada para cada isolado avaliado e para a média dos isolados.

Para o isolado de São Gabriel da Palha (raça I de *H. vastatrix*), a máxima germinação dos uredosporos ocorreu na temperatura de 23,24°C, em Rio Bananal (raça II de *H. vastatrix*) a 23,73°C e em Jaguaré (raça II de *H. vastatrix*) a 23,75°C. O valor do ponto de máximo para a regressão da média dos isolados foi de 23,63°C.

A infectividade (área lesionada em cm<sup>2</sup>) em discos de folha apresentou tendência semelhante às temperaturas ótimas para a germinação *in vitro* dos uredosporos de *H. vastatrix*. Os discos de folha incubados a 30°C não reproduziram a doença para todos os isolados avaliados, sendo a área lesionada nos discos de folha igual a zero (Figura 1). Observando isoladamente, a máxima infectividade para os isolados de São Gabriel da Palha, Rio Bananal e Jaguaré ocorreram nas temperaturas de 22,22°C, 21,05°C e 22,88°C, respectivamente. O valor do ponto de máximo para a regressão da média dos isolados foi de 21,61°C.

Nos experimentos de avaliação dos períodos de molhamento mais favoráveis a germinação dos uredosporos *in vitro* e a infectividade em disco de folhas, observou-se a germinação e infecção em todos os períodos de molhamento testados. O período de

molhamento que se observou a máxima germinação e infectividade dos uredosporos foi 72 horas, período máximo avaliado (Figura 2).

Com relação aos dados históricos de clima foi observado que as precipitações acumuladas mensalmente foram correlacionadas significativamente entre os três municípios avaliados (Tabela 2). Os mesmos resultados foram obtidos para as outras variáveis analisadas, como: umidade relativa média mensal, temperaturas máximas, mínimas e médias mensais (Tabela 2).

A intensidade da doença avaliada no campo pela proporção média de folhas doentes foi acima de 62% durante os meses de maio a setembro, que englobam a estação de inverno no Brasil. Essa proporção média foi bem menor (<14%) durante os meses de outubro a abril (Figura 3).

A partir da observação dos dados de clima e da doença foi possível inferir que a favorabilidade à ferrugem se caracteriza por um clima com pouca chuva (no geral, abaixo de 50mm) e baixas temperaturas médias (no geral, próxima a 22°C), assim como valores altos de umidade relativa (acima de 80%) e baixos de temperaturas máximas e mínimas. Em termos históricos, para as três municípios analisadas, este clima ocorre nos meses de maio a setembro de cada ano (Figura 4). A confirmação desta hipótese foi realizada por meio de um teste t entre os dois grupos de dados, grupo A: favorabilidade à ferrugem (meses de maio a setembro) e grupo B: desfavorabilidade à ferrugem (meses de outubro a abril).

Essa confirmação foi realizada para os dados climáticas das três municípios em estudo. Para a precipitação foi observado que houve diferença significativa entre os dois grupos de meses. Os mesmos resultados foram observados para os dados de temperaturas médias, máximas e mínimas. A umidade relativa não diferiu significativamente para os dados de Linhares, porém, o teste foi significativo, a 5% de probabilidade, para os outros dois municípios em estudo (Tabela 3).

A proporção mensal de folhas com lesões de ferrugem foi correlacionada negativamente com as variáveis climáticas: temperaturas média, máxima, mínima e a precipitação para os três municípios em estudo. A variável “umidade relativa” foi correlacionada positivamente com a incidência da doença para os municípios de São Mateus e Marilândia (Tabela 4).

Com os dados históricos de cinco variáveis climáticas e os dados de intensidade da doença foi criada funções discriminantes para a favorabilidade e a desfavorabilidade do clima à infecção do cafeeiro conilon pela ferrugem (Tabela 5)



As constantes e os coeficientes associados às cinco variáveis climáticas avaliadas, assim como a probabilidade de acerto, baseado na metodologia de Anderson (1958) foram estimados (Tabela 5). A probabilidade de acerto das funções foi de 93%.

Os dados de clima das três municípios e as funções discriminantes foram usados para realizar um teste de frequência, em que se objetivou validar a eficiência das funções ao determinar a favorabilidade do clima à ferrugem. Os resultados mostram que, para os três municípios analisadas, os meses de maio a setembro são realmente os mais favoráveis à infecção do cafeeiro conilon pela ferrugem.

#### 4-DISCUSSÃO

No Brasil, 15 raças fisiológicas de *H. vastatrix* já foram relatadas em *Coffea* spp. (Zambolim *et al.*, 2005; Cabral *et al.*, 2009), com predominância, em ordem decrescente, das raças II (58,2%), I (14,4%), III (8,9%) e XV (3,6%) (Bettencourt e Rodrigues Júnior, 1988). Portanto, as raças I e II de *H. vastatrix* utilizadas neste estudo são as mais frequentes (>72%) do Brasil.

Os resultados obtidos no estudo que avaliou a temperatura ótima para a germinação *in vitro* de uredosporos de *H. vastatrix* no cafeeiro conilon estão em concordância com a temperatura ótima (22 a 24°C) para o cafeeiro arábica (Saccas & Charpentier, 1971, Rayner, 1972, Montoya & Chaves, 1974, Akutsu, 1981, Dejong *et al.*, 1987). Nesses trabalhos com o cafeeiro arábica foi observado uma completa inibição da germinação dos uredosporos de *H. vastatrix* a 32,5°C. Em nossos experimentos com os três isolados utilizados de café conilon foi observada germinação *in vitro* até a temperatura de 30°C (valor máximo avaliado), apesar de ter ocorrido menor taxa de germinação na faixa de temperatura mais elevada. A germinação dos uredosporos nessa temperatura foi 36,2% menor que a germinação máxima observada, em termos médios, para os três isolados.

Portanto, no campo, possivelmente, não ocorrerá epidemias severas da doença caso as temperaturas estejam mais elevadas por um maior período, notadamente o processo de infecção do fungo não ocorrerá ou ocorrerá em baixas proporções, mesmo ocorrendo molhamento foliar.

Ao comparar a germinação ótima *in vitro* com a máxima infecção nas plantas observa-se, em termos médios, uma superestimação da temperatura em dois graus. Esses resultados mostram que a temperatura ótima para a germinação dos uredosporos

*in vitro* é distinta d atemperatura ótima para a infectividade dos discos de folha. Portanto, é sugerida uma faixa de temperatura ótima para as duas variáveis analisadas, sendo a infecção da ferrugem no cafeeiro conilon favorável quando a temperatura estiver entre 21,6 e 23,6°C. No cafeeiro arábica a faixa de temperatura considerada ótima para a infecção está entre 22 e 24°C (Saccas & Charpentier, 1971, Rayner, 1972, Montoya & Chaves, 1974, Akutsu, 1981, Dejong *et al.*, 1987), bem próxima do valor observado neste estudo para o cafeeiro conilon.

Para o molhamento foliar foi observado que quanto maior o molhamento, maior a germinação e a infectividade do cafeeiro conilon por *H. vastatrix*. Porém, como no cafeeiro arábica, é possível que exista um limite a partir do qual o molhamento cause a desfavorabilidade da doença. Portanto, foi definido um período de molhamento onde grande parte dos uredosporos de *H. vastatrix* germine e sejam capazes de causar a doença em altos níveis. Nesta ótica, definimos o período de molhamento, no escuro, de 24 horas como um padrão, pois com esse período de molhamento uma germinação de 76% da máxima já foi observada (Figura 2).

No campo esse fato poderia ocorrer em um dia nublado seguido de uma noite com temperatura amena e presença de orvalho (molhamento foliar). Este fato poderia levar a uma máxima germinação dos uredosporos do fungo e, conseqüentemente, favorecer um surto epidemiológico da ferrugem na lavoura. O período de molhamento de 24h também foi considerado para que as infecções de *H. vastatrix* no campo sejam máximas no cafeeiro arábica (Montoya & Chaves, 1974, Zambolim *et al.*, 1999).

Os dados históricos de clima, de Linhares-ES (5 anos), de Marilândia-ES (35 anos) e de São Mateus-ES (41 anos), utilizados nas análises de favorabilidade do clima para a infecção da ferrugem no cafeeiro conilon representam a região norte do Espírito Santo, responsável por 55% da produção de café conilon do Brasil (Ferrão *et al.*, 2007). Assim, essas análises de clima poderão modelar a doença para uma região expressiva na produção desse importante cafeeiro. O que ajudaria a entender mais profundamente esse patossistema.

Na avaliação dos dados históricos de clima foi observada uma correlação significativa entre as variáveis climáticas analisadas. Assim, espera-se que a doença tenha o mesmo comportamento nesses três municípios que representam a região norte do Espírito Santo. Em virtude dessa correlação significativa entre as variáveis climáticas analisadas, os dados de incidência da ferrugem em São Mateus foram utilizados para caracterizar a epidemia da doença na região norte do Espírito Santo. Esses dados de

incidência da ferrugem foram coletados no ano de 2009, um ano com a epidemia típica da ferrugem na região.

A dinâmica populacional da ferrugem observada no estudo foi similar àquelas relatadas para o café arábica no Brasil (Kushalappa & Eskes, 1989; Chalfoun *et al.*, 2001; Martins *et al.*, 2003; Conceição *et al.*, 2005; Santos *et al.*, 2008), na África do Sul (Coutinho *et al.*, 1995) e em Papua Nova Guiné (Brown *et al.*, 1995). Portanto, em um ano típico da doença, haverá um pico da epidemia da ferrugem nos meses de junho e julho. Não foi encontrado nenhum estudo sobre a dinâmica populacional da ferrugem no cafeeiro conilon.

Já foi provado para o cafeeiros arábica (Ribeiro *et al.*, 1987; Brown *et al.*, 1995; Coutinho *et al.*, 1995; Chalfoun *et al.*, 2001; Martins *et al.*, 2003; Conceição *et al.*, 2005; Santos *et al.*, 2008) e, neste estudo, para o cafeeiro conilon, que temperaturas extremas,  $<10^{\circ}\text{C}$  e  $>35^{\circ}\text{C}$ , limitam o desenvolvimento da ferrugem. Nessas faixas de temperatura extremas há uma redução do enlargamento das lesões, reduzindo o progresso da doença no campo. Este efeito negativo de temperaturas extremas também foi relatado para outras doenças causadoras de ferrugens (Hart *et al.*, 1935; Johnson & Newton, 1937).

Os padrões de chuva também já foram provados ser determinantes para o desenvolvimento de epidemia da ferrugem no cafeeiro arábica. Primeiramente por promover e permitir a dispersão e a germinação dos esporos, e, se em excesso, até lavar os esporos das folhas e reduzir o progresso da doença no campo (Bock, 1962; Kushalappa *et al.*, 1983; Maxemiuc, 1983; Kushalappa & Eskes, 1989).

Com os dados históricos de clima dos três locais analisados e o uso de ferramentas de estatística multivariada foram criadas funções discriminantes para determinar a favorabilidade ou a desfavorabilidade do clima para a ferrugem no cafeeiro conilon. Assim, estas funções poderão auxiliar na tomada de decisão sobre utilizar ou não o uso de alguma medida de controle da doença em um determinado dia sabendo que a doença foi ou não favorecida pelo clima com uma probabilidade de acerto associada a esta estimativa, que no caso foi de 93%.

Analisando os coeficientes de ponderação de cada variável das funções discriminantes é possível afirmar que a variável climática que mais influencia na favorabilidade é a temperatura média mensal, seguida pela umidade relativa e as temperaturas máximas e mínimas mensais (Tabela 5).

As análises discriminantes já foram utilizadas para avaliar o efeito da chuva e de temperaturas máximas e mínimas sobre a severidade de manchas foliares causadas por *Exserohilum turcicum* em sorgo (Hennessy *et al.*, 1990). Neste estudo, os autores obtiveram uma classificação correta, para baixa, média ou alta severidade da doença, em 88% dos casos. Para a ferrugem amarela do trigo (*Puccinia striiformis*) as análises discriminantes foram usadas com esses mesmos objetivos e foi obtido probabilidade de classificação correta de 86,4% com dados de temperatura máxima e precipitação (Te Beest *et al.*, 2008).

O uso de análises discriminantes com dados de clima e doença para modelar a ferrugem foi realizada pela primeira vez no patossistema *C. canephora* vs. *H. vastatrix*. Assim, com o auxílio dessas funções será possível identificar e mapear os municípios do norte do Espírito Santo propensas à ocorrência de epidemias de ferrugem. Áreas de alto risco poderão ser identificadas com benefícios para os produtores, assim como, para pesquisadores que poderão usar essas áreas para o *screening* de novas variedades de conilon com resistência à ferrugem.

Portanto, foi provada a importância das variáveis climáticas estudadas no patossistema *C. canephora* vs. *H. vastatrix*, criada e validada funções discriminantes que poderão auxiliar tanto produtores, extensionistas e pesquisadores que trabalham com essa importante cultura.

## 5-REFERÊNCIAS

- Anderson TW, 1958. An introduction to multivariate statistical analysis. New York: John Wiley.
- Akutsu M, 1981. *Relação de funções climáticas e bióticas com a taxa de infecção da ferrugem do cafeeiro (Hemileia vastatrix Berk. et Br.)*. Viçosa, Brasil: Universidade Federal de Viçosa, Master's thesis.
- Bent AF, Mackey D, 2007. Elicitors, Effectors, and R Genes: The new paradigm and a lifetime supply of questions. *Annu. Rev. Phytopathol.* **45**, 399-436.
- Bettencourt AJ, Rodrigues CJ, 1988. *Principles and practice of coffee breeding for resistance to rust and other diseases*. In: Clarke RJ, Macrae R, eds. *Coffee Agronomy*. London: Elsevier, 199-235.
- Bettencourt AJ, 1981. *Melhoramento genético do cafeeiro: transferência de factores de resistência à Hemileia vastatrix Berk. et Br. para as principais cultivares de Coffea*

- arabica* L. Lisboa, Portugal: Centro de Investigação das Ferrugens do Cafeeiro, PhD thesis.
- Bock KR, 1962. Seasonal periodicity of coffee leaf rust and factors affecting the severity of outbreaks in Kenya colony. *Trans. Br. Mycol. Soc.* **45**, 289-300.
- Brito GG, Caixeta ET, Gallina AP, Zambolim EM, Zambolim L, Diola V, Loureiro ME, 2010. Inheritance of coffee leaf rust resistance and identification of AFLP markers linked to the resistance gene. *Euphytica* **173**, 255-64.
- Brown JS, Kenny MK, Whan JH, Merriman PR, 1995. The effect of temperature on the development of epidemics of coffee leaf rust in Papua New Guinea. *Crop Protection* **14**, 671-76.
- Cabral PGC, Maciel-Zambolim E, Zambolim L, Lelis TP, Capucho AS, Caixeta ET, 2009. Identification of a new race of *Hemileia vastatrix* in Brazil. *Australasian Plant Disease Notes* **4**, 129-130.
- Capucho AS, Caixeta ET, Maciel-Zambolim E, Zambolim L, 2009. Herança da resistência do Híbrido de Timor UFV 443-03 à ferrugem-do-cafeeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* **44**, 276-82.
- Chalfoun SM, Carvalho VL, Pereira MC, 2001. Efeito de alterações climáticas sobre o progresso da ferrugem (*Hemileia vastatrix* Berk. & Br.) do cafeeiro (*Coffea arabica* L.) *Ciênc. agrotec.* **25**, 1248-52.
- Conceição CHC, Guerreiro-Filho O, Gonçalves W, 2005. Flutuação populacional do bicho-mineiro em cultivares de café arábica resistentes à ferrugem. *Bragantia* **64**, 625-31.
- Coutinho TA, Rijkenberg FHJ, Van Asch MAJ, 1995. Teliospores of *Hemileia vastatrix*. *Mycol. Res.* **99**, 932-4.
- Dejong EJ, Eskes AB, Hoogstraten IGJ, Zadoks JC, 1987. Temperature requirements for germination, germ tube growth and appressorium formation of urediniospores of *Hemileia vastatrix*. *Netherlands Journal of Plant Pathology* **93**, 61-71.
- Diola V, Brito GG, Caixeta ET, Zambolim EM, Sakiyama NS, Loureiro ME, 2011. High-density genetic mapping for coffee leaf rust resistance. *Tree Genetics & Genomes* on-line [DOI 10.1007/s11295-011-0406-2].
- Eskes AB, 1982. The use of leaf disk inoculations in assessing resistance to coffee leaf rust (*Hemileia vastatrix*). *Netherlands Journal of Plant Pathology* **88**, 127-41.
- Ferrão RG, Fonseca AFA, Bragança SM, Ferrão MAG, Muner LH, eds. 2007. *Café Conilon*. Vitória-ES: INCAPER.

- Hart H, Zaleski K, 1935. The effect of light intensity and temperature on infection of wheat by *Puccinia graminis tritici*. *Phytopathology* **25**, 1041-66.
- Hennessy GG, de Milliano WAJ, McLaren CG, 1990. Influence of primary weather variables on sorghum leaf blight severity in southern Africa. *Phytopathology* **80**, 943-5.
- Inmet, 2010. Instituto Nacional de Meteorologia. Brasília, Brasil: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.
- Incaper, 2011. Estação Meteorológica da Fazenda Experimental de Marilândia. Vitória, Brasil: Instituto Capixaba de Pesquisa Assistência Técnica e Extensão Rural.
- Johnson T, Newton M, 1937. The effect of high temperature on uredial development in cereal rust. *Can. J. Res.* **15**, 425-32.
- Kushalappa AC, Akutsu M, Ludwig A, 1983. Application of survival ratio for monocyclic process of *Hemileia vastatrix* in predicting coffee rust infection rates. *Phytopathology* **73**, 96-103.
- Kushalappa AC, Eskes AB, 1989. *Coffee rust: epidemiology, resistance, and management*. CRC Press, Florida.
- Martins M, Mendes ANG, Alvarenga MIN, 2003. Incidência de pragas e doenças em agroecossistemas de café orgânico de agricultores familiares em Poço Fundo-MG. *Ciênc. agrotec.* **28**, 1306-13.
- Maxemiuc NV, 1983. *Alterações Bioquímicas em Folhas de Coffea arabica Resistentes e Suscetíveis a Infecção por Hemileia vastatrix*. São Paulo, Brasil: Escola Paulista de Medicina, PhD thesis.
- Montoya RH, Chaves GM, 1974. Influência da temperatura e da luz na germinação, infectividade e período de geração de *Hemileia vastatrix* Berk. & Br. *Experientiae* **18**, 239-66.
- Rayner RW, 1972. *Micologia, historia y biologia de la roya del cafeto*. Turrialba, CR: Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas - IICA, Centro Tropical de Enseñanza e Investigación.
- Ribeiro IJA, Monaco LC, Sugimori MH, 1987. Efeito da alta temperatura no desenvolvimento de *Hemileia vastatrix* em cafeeiro suscetível. *Bragantia* **37**, 11-5.
- Saccas AM, Charpentier J, 1971. *La rouille des caféiers due a Hemileia vastatrix Berk. & Br.* Paris, France: Institut Français du Café, du Cacao et autres Plantes Stimulantes: Bulletin no. 10.

- Santos FS, Souza PE, Pozza EA, Miranda JC, Carvalho EA, Fernandes LHM, Pozza AAA, 2008. Adubação orgânica, nutrição e progresso de cercosporiose e ferrugem-do-cafeeiro. *Pesq. agropec. bras.* **43**, 783-91.
- Te Beest DE, Paveley ND, Shaw MW, van den Bosch F, 2008. Disease-weather relationships for powdery mildew and yellow rust on winter wheat. *Phytopathology* **98**, 609-17.
- Várzea VMP, Marques DV, 2005. Population variability of *Hemileia vastatrix* vs. coffee durable resistance. In: Zambolim L, Maciel-Zambolim E, Várzea VMP, eds. *Durable Resistance to Coffee Leaf Rust*. Viçosa, Brazil: Universidade Federal de Viçosa. 53-74.
- Vale FXR, Fernandes EI, Liberato JR, 2003. QUANT: A software plant disease severity assessment. In: Close R, Braithwaite M, Havery I, eds. *Proceedings of the 8th International Congress of Plant Pathology*, New Zealand: 105.
- Ventura JA, Costa H, Santana EM, Martins MVV, 2007. Diagnóstico e manejo das doenças do cafeeiro conilon. In: Ferrão RG, Fonseca AFA, Bragança SM, Ferrão MAG, Muner LH, eds. 2007. *Café Conilon*. Vitória-ES: INCAPER, 451-97.
- Zambolim L, Chaves GM, 1974. 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* **18**, 151-84.
- Zambolim L, Vale FXR, Pereira AA, Chaves GM, 1999. Manejo integrado das doenças do cafeeiro. p.134-215. In: Zambolim L, ed. *Produção de café com qualidade*. Viçosa, Brasil: Universidade Federal de Viçosa.
- Zambolim L, Zambolim EM, Vale FXR, Pereira AA, Sakiyama NS, Caixeta ET, 2005. Physiological races of *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. in Brazil. In: Zambolim L, Zambolim EM, Várzea VMP, eds. *Durable Resistance to Coffee Leaf Rust*. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. 75-115.

## 6-TABELAS

**Tabela 1** Raças fisiológicas de *Hemileia vastatrix* identificadas no estudo com os genes de virulência do patógeno e de resistência dos hospedeiros de *Coffea* diferenciadores de raças.

Raças identificadas**	Genes do patógeno	Genes do hospedeiro																	
		<i>Coffea</i> spp. e seus grupos fisiológicos																	
		Bourbon	832/1	128/2	HW 17/12	H 147/1	1343/269	134/4	87/1	H 152/3	32/1	33/1	110/5	1006/10	H 153/2	635/3	644/18	H 419/20	H 420/10
		E	A	α	O	T	R	I	C	Y	D	G	J	L	Z	W	M	3	1
I	V <sub>2,5</sub>	S*	-	-	-	-	-	-	-	-	S	-	-	-	-	-	-	-	-
II	V <sub>5</sub>	S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Legenda: \* S - Suscetível (presença de uredosporos da ferrugem). Os traços correspondem a reação de resistente (ausência de uredosporos da ferrugem). \*\* Raça I corresponde ao isolado coletado em São Gabriel da Palha-ES e a raça II coletado em Rio Bananal-ES e Jaguaré-ES, Brasil.



**Tabela 2** Correlação dos dados históricos mensais de precipitação, umidade relativa, e temperaturas máxima, mínima e média entre os municípios de Linhares, Marilândia e São Mateus-ES, Brasil.

Município	Linhares		Marilândia		São Mateus	
	r*	P	r	P	r	P
Precipitação						
<b>Linhares</b>	1,000	0,000	0,561	0,000	0,480	0,000
<b>Marilândia</b>	0,561	0,000	1,000	0,000	0,622	0,000
<b>São Mateus</b>	0,480	0,000	0,622	0,000	1,000	0,000
Temperatura máxima						
<b>Linhares</b>	1,000	0,000	0,759	0,000	0,533	0,000
<b>Marilândia</b>	0,759	0,000	1,000	0,000	0,594	0,000
<b>São Mateus</b>	0,533	0,000	0,594	0,000	1,000	0,000
Temperatura mínima						
<b>Linhares</b>	1,000	0,000	0,845	0,000	0,787	0,000
<b>Marilândia</b>	0,845	0,000	1,000	0,000	0,696	0,000
<b>São Mateus</b>	0,787	0,000	0,696	0,000	1,000	0,000
Temperatura média						
<b>Linhares</b>	1,000	0,000	0,905	0,000	0,916	0,000
<b>Marilândia</b>	0,905	0,000	1,000	0,000	0,911	0,000
<b>São Mateus</b>	0,916	0,000	0,911	0,000	1,000	0,000
Umidade relativa						
<b>Linhares</b>	1,000	0,000	0,709	0,000	0,355	0,000
<b>Marilândia</b>	0,709	0,000	1,000	0,000	0,409	0,000
<b>São Mateus</b>	0,355	0,000	0,409	0,000	1,000	0,000

Legenda: \* r: correlação de Pearson, P: *p*-valor.

**Tabela 3** Teste *t* para as médias mensais das variáveis climáticas históricas analisadas entre os meses de maio a setembro (grupo de favorabilidade à ferrugem) e outubro a abril (grupo de desfavorabilidade à ferrugem).

<b>Variável climática</b>	<b>Valor de <i>t</i></b>	<b>Probabilidade</b>
Linhares		
Precipitação acumulada	5,49	0,000
Temperatura média	11,50	0,000
Temperatura máxima	6,90	0,000
Temperatura mínima	9,73	0,000
Umidade relativa	0,15	0,884
Marilândia		
Precipitação acumulada	15,73	0,000
Temperatura média	29,12	0,000
Temperatura máxima	21,59	0,000
Temperatura mínima	24,64	0,000
Umidade relativa	7,14	0,000
São Mateus		
Precipitação acumulada	9,40	0,000
Temperatura média	24,93	0,000
Temperatura máxima	10,91	0,000
Temperatura mínima	17,76	0,000
Umidade relativa	2,01	0,045

**Tabela 4** Correlação entre as variáveis climáticas e a incidência da ferrugem no cafeeiro conilon na região norte do Espírito Santo, Brasil.

<b>Variável climática</b>	<b>Incidência da ferrugem</b>					
	<b>São Mateus</b>		<b>Marilândia</b>		<b>Linhares</b>	
	<b>r</b>	<b>P</b>	<b>r</b>	<b>P</b>	<b>r</b>	<b>P</b>
Temperatura média	-0,670	0,000	-0,751	0,000	-0,727	0,000
Temperatura máxima	-0,351	0,000	-0,635	0,000	-0,789	0,000
Temperatura mínima	-0,517	0,000	-0,720	0,000	-0,689	0,000
Precipitação	-0,368	0,000	-0,536	0,000	-0,420	0,002
Umidade relativa	0,215	0,000	0,617	0,000	0,196	0,168

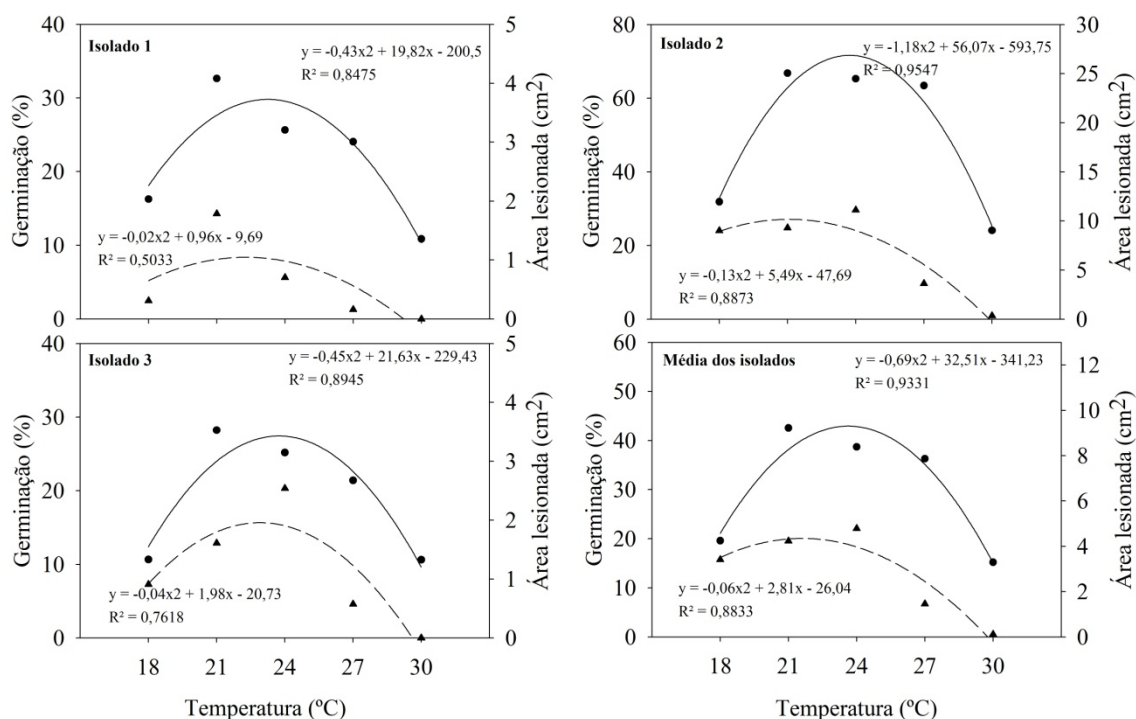
Legenda: \* r: correlação de Pearson, P: *p*-valor.

**Tabela 5** Coeficientes de ponderação obtidos para as funções discriminantes associadas às variáveis climáticas que diferiram a favorabilidade ou a desfavorabilidade do clima para a ferrugem no cafeeiro conilon no norte do Espírito Santo, Brasil.

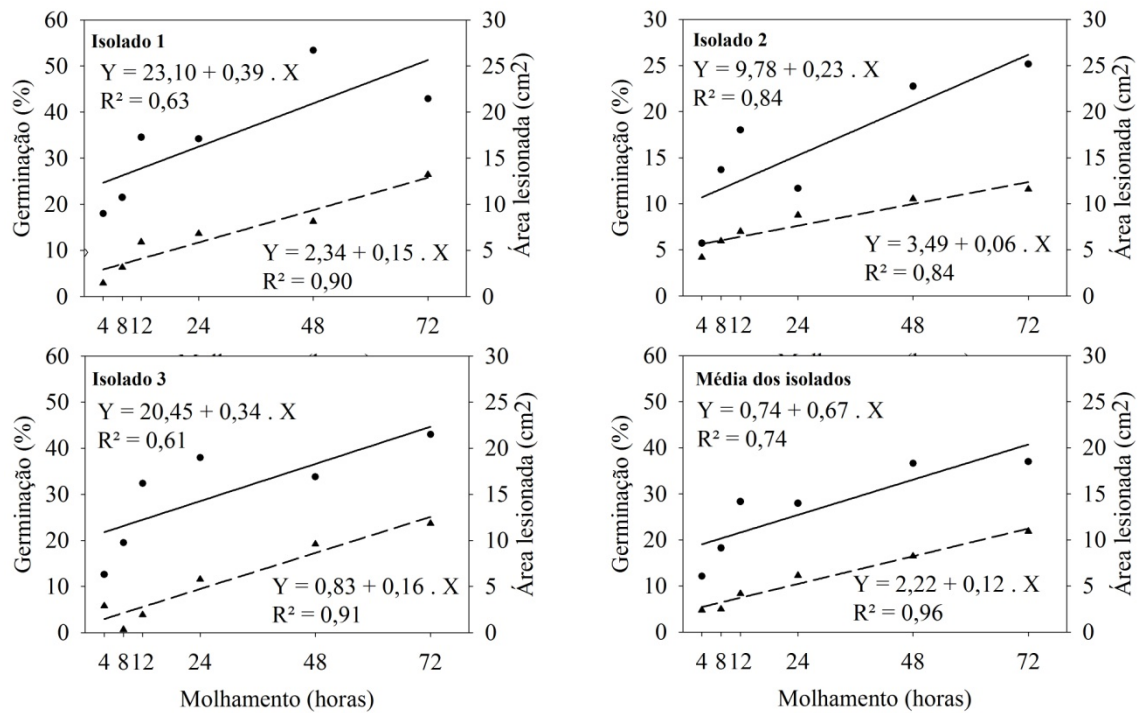
Função ( $\Psi_i$ ) <sup>*</sup>	Coeficiente de ponderação associado à:						Probabilidade de acerto
	Constante	$X_1$ <sup>**</sup>	$X_2$	$X_3$	$X_4$	$X_5$	
$\Psi_1$	-515,62	15,51	6,31	-5,11	-0,04	7,44	0,93
$\Psi_2$	-558,02	17,76	6,25	-5,27	-0,02	7,32	0,93

Legenda: \*  $\Psi_1$  - função discriminante de favorabilidade (dados de Linhares, Marilândia e São Mateus) e  $\Psi_2$  - função discriminante de desfavorabilidade (dados de Linhares, Marilândia e São Mateus). \*\* variáveis climáticas utilizadas,  $X_1$  - temperatura média mensal,  $X_2$  - temperatura máxima média mensal,  $X_3$  - temperatura mínima média mensal,  $X_4$  - precipitação acumulada mensal,  $X_5$  - umidade relativa média mensal.

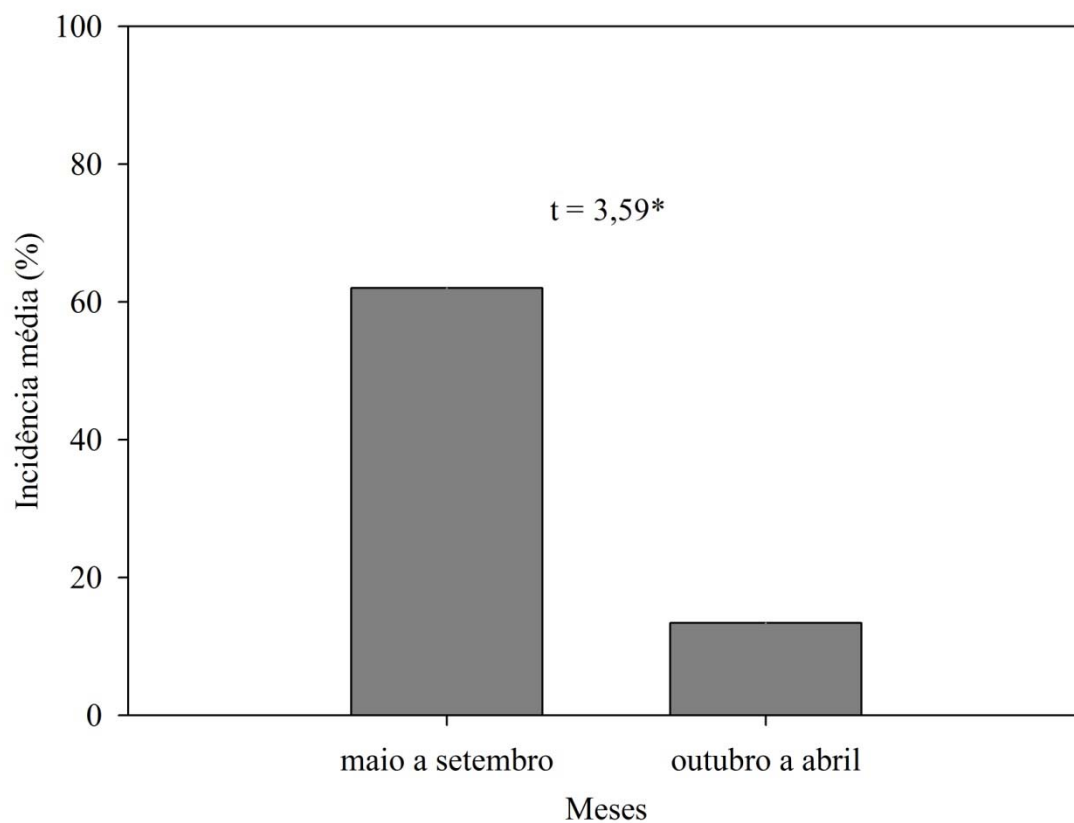
## 7-FIGURAS



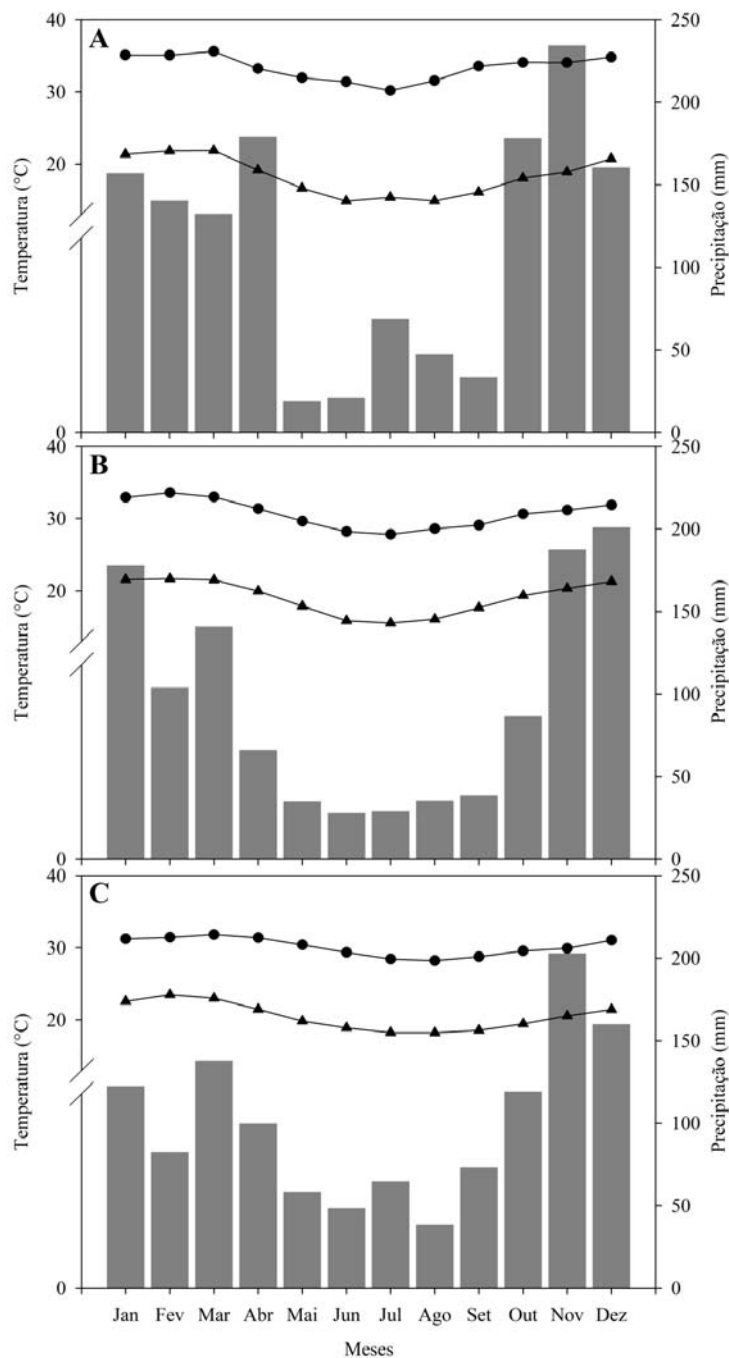
**Figura 1** Germinação e infectividade de *Hemileia vastatrix* em cafeeiro conilon (*Coffea canephora*) sob diferentes temperaturas durante a incubação com 48h de molhamento no escuro. A germinação dos uredosporos *in vitro* está representada pela linha contínua com círculos cheios e a infectividade está representada pela linha pontilhada com triângulos cheios. Isolado 1 = isolado da raça I de *H. vastatrix* coletado em São Gabriel da Palha-ES, isolado 2 = raça II de *H. vastatrix* de Rio Bananal-ES e isolado 3 = raça II de *H. vastatrix* de Jaguaré-ES, Brasil.



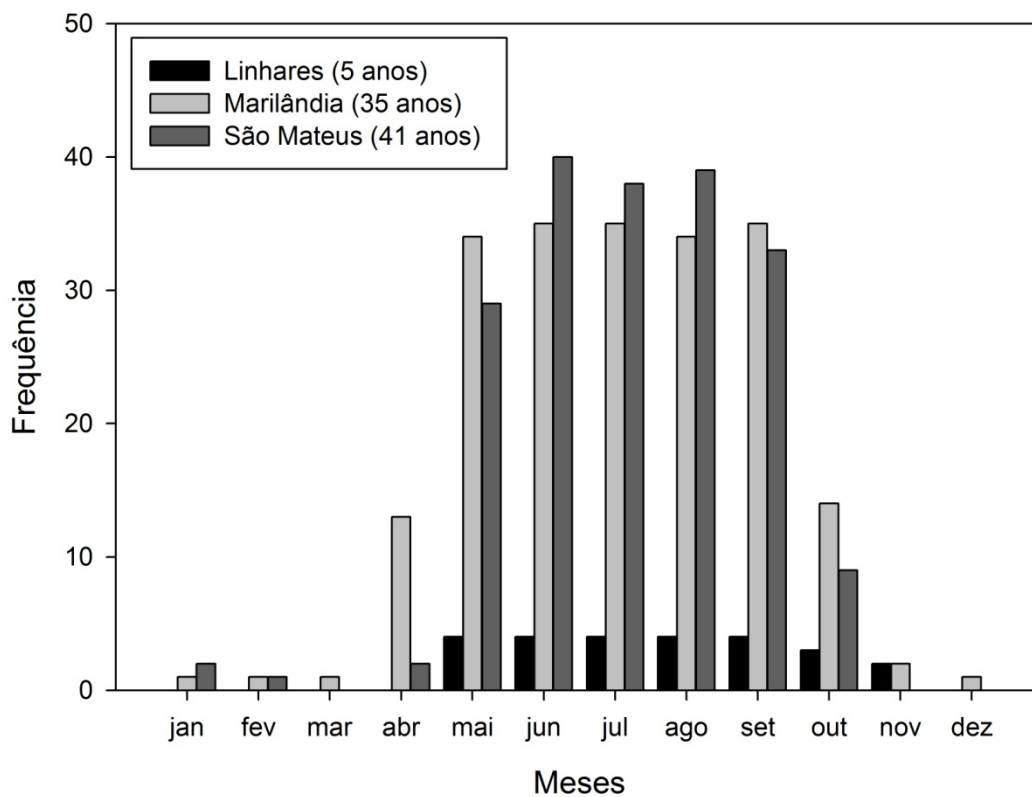
**Figura 2** Germinação e infectividade de *Hemileia vastatrix* em cafeeiro conilon (*Coffea canephora*) sob diferentes períodos de molhamento foliar durante a incubação a 22°C no escuro. A germinação dos uredosporos *in vitro* está representada pela linha contínua com círculos cheios e a infectividade está representada por linha pontilhada com triângulos cheios. Isolado 1 = isolado da raça I de *H. vastatrix* coletado em São Gabriel da Palha-ES, isolado 2 = raça II de *H. vastatrix* de Rio Bananal-ES e isolado 3 = raça II de *H. vastatrix* de Jaguaré-ES, Brasil.



**Figura 3** Proporção média de folhas infectadas pela ferrugem (*Hemileia vastatrix*) em *Coffea canephora* (café conilon) no município de São Mateus-ES, Brasil, em 2009. \* A estatística inserida corresponde ao teste *t* com  $P=0,01$ .



**Figura 4** Média mensal da precipitação (barras verticais), temperaturas máxima (linhas contínuas com círculos) e temperaturas mínima (linhas contínuas com triângulos) nos municípios de Linhares (A), Marilândia (B) e São Mateus (C) da região norte do Espírito Santo, Brasil. Gráficos derivados de dados históricos de 2006 a 2010 para Linhares, 1976 a 2010 para Marilândia e de 1970 a 2010 para São Mateus (Inmet, 2010 e Incaper, 2011).



**Figura 5** Frequência da favorabilidade histórica do clima à infecção do cafeeiro conilon pela ferrugem para os municípios de Linhares, Marilândia e São Mateus. Gráficos derivados de dados históricos de 2006 a 2010 para Linhares, 1976 a 2010 para Marilândia e de 1970 a 2010 para São Mateus-ES, Brasil (Inmet, 2010 e Incaper, 2011).



**CAPÍTULO 2 - DEVELOPMENT AND VALIDATION OF A STANDARD AREA  
DIAGRAM SET TO ESTIMATE SEVERITY OF LEAF RUST IN *COFFEA*  
*ARABICA* AND *COFFEA CANEPHORA***

## 1-INTRODUCTION

Brazil is currently the largest coffee producer in the world, and in 2010 produced 37% of the world coffee (48 million bags of 60 kg). Seventy six percent of this was from *Coffea arabica*, and 24% from *C. canephora* (known as Arabica and Conilon coffees, respectively). Although the country exports 30% of its annual production, the mean yield in Brazil is only 23.2 bags of 60 kg per hectare, about 40% less than the most productive regions of the country (Conab, 2010). Diseases are among the factors that limit yield and coffee leaf rust, caused by the plant pathogenic fungus *Hemileia vastatrix* is the most important disease affecting both *C. arabica* and *C. canephora* (Waller *et al.*, 2007).

Coffee leaf rust symptoms on the abaxial side of the leaf are manifest as pale yellow spots early in symptom development. The spots develop into orange-yellow lesions that often coalesce with other lesions. On the adaxial side of the leaf, yellow chlorotic spots corresponding to the pustules on the abaxial leaf surface are often observed (the pustules produce the urediniospores). Eventually, the spots become necrotic and leaf drop ensues (Zambolim *et al.*, 1999).

Assessments of the severity of coffee rust symptoms should aim to ensure the estimates are both accurate and precise. Estimates of disease severity, most often the percent area infected, are used for many purposes (to evaluate control measures, determine varietal resistance, assess efficiency of fungicides, to develop a crop loss model, etc.), and methods exist to determine the quality of assessments and improve the precision and accuracy of the assessments (Nutter *et al.*, 1993; Vale *et al.*, 2004; Madden *et al.*, 2007; Bock *et al.*, 2010). Standard area diagrams (SAD) are illustrations of infected plants, leaves or plant parts, with different disease severity and are used as a reference to compare the sample to, thereby ensuring a more accurate estimate (Bergamin Filho and Amorim, 1996). SAD reduce the subjectivity of severity estimates and improve the precision and accuracy of an assessment (Martins *et al.*, 2004).

A good SAD should be easy to use, provides reliable results, and be applicable under a wide variety of conditions, and the disease severities illustrated should represent stages of disease development and encompass the range of severity to be encountered (Berger, 1980). Representative symptoms of the disease must be identified, and the maximum and minimum disease severity in the field must be ascertained.

SAD must be validated before they are recommended as an aide to improving the accuracy and precision of disease severity estimation. There is no validated SAD available to aide in assessment of coffee rust symptoms on arabica or conilon coffee.

The objective of the present study was to develop and validate a SAD for the assessment of the severity of arabica and conilon coffee leaf rust, a secondary objective was determine the characteristics of rust lesions on arabica and conilon coffee (to confirm the SAD could be effectively used to assess rust symptoms on both species).

## **2-MATERIAL AND METHODS**

### **Shape and size of the rust lesions on conilon and arabica coffee**

A single set of leaves was used to construct the SAD and to determine the similarities of rust lesions in arabica and conilon coffee. A total of 150 leaves each of arabica and conilon coffee were individually digitalized at a resolution of 300 dpi, with the aid of a scanner.

The ImageTool 3.0 software (UTHSCSA, 2010) was used to classify the lesions based on size and shape, the latter by applying of the *compactness* option. The compactness option provides a measure of the lesion's roundness (shape). Basically, compactness is the ratio of the lesion's diameter to its length, and range between 0 and 1. At 1, the lesion is roughly circular. As the ratio decreases from 1, the lesion becomes less circular. Compactness index is computed as:  $\sqrt{4 \times \text{area} / \text{Pi}} / \text{major axis length}$ .

The same program was used to quantify the size of lesions on leaves in square centimeters. Using size and of the shape (compactness index), *T*-tests ( $P = 0.05$ ) were used to determine the similarity between arabica and conilon coffee rust lesions.

### **Preparation of the Standard area diagram (SAD)**

To prepare the SAD and to assess rater ability of 150 leaves with symptoms of rust were collected from *C. arabica* (cultivar Catuaí Vermelho IAC 144) and *C. canephora* (cultivar Conilon Vitória-Incaper 8142, clone 12V) from commercial plantations in Viçosa, State of Minas Gerais (S 20°44.431' and W 42°50.854') and in Linhares, State of Espírito Santo (S 19°24.984' and W 40°04.650'), Brazil, respectively. The diseased coffee leaves had a range of disease severity and were individually digitalized at a resolution of 300 dpi, with the aid of a scanner. For each leaf, the proportion diseased area was determined using the Quant software (Vale *et al.*, 2003).

The SAD illustrations were chosen from these samples, establishing a set of six disease severity diagrams with different disease severities (2.5, 5, 10, 20, 40 and 80%, Figure 1) to encompass the range of disease severity seen in the field.

### **Validation of the SAD**

There were ten raters involved in the experiment. These raters were divided into two groups of five by cultivar. On each cultivar, two sets of 40 leaf images were prepared as PowerPoint slides, and then projected onto a wall. The average length of a projected leaf was 80 cm, based on the long axis of the leaves. The room was kept dark during the rating. The raters first assessed set of 40 leaves without the SAD, then assessed a second set using the SAD. To assess each leaf, the rater presumably compared to the SAD and then made an estimate of the percent of diseased area was made. The accuracy and precision of each rater was determined by Lin's concordance correlation coefficient ( $\rho_c$ ) and linear regression of the actual severity (independent variable) and the estimated severity (dependent variable), performing the analysis separately on the data obtained without and with the SAD.

The precision also was determined by the correlation coefficient ( $r$ ), coefficient of determination ( $R^2$ ) and by the absolute error (estimated severity minus actual severity). The accuracy of the SAD also was determined by  $T$ -tests of the intercept ( $a$ ) of the linear regression, to determine if it deviated significantly from 0 and if the slope ( $b$ ) was significantly different from 1 (at  $P = 0.05$ ). Intercept values that are significantly different from 0 are indicative of constant bias, and a slope significantly different from 1 is indicative of systematic bias (Nutter Jr. *et al.*, 1993).

The Lins's concordance correlation coefficient ( $\rho_c$ ) is the most appropriate analysis for this type of experiment because it combines the measures of accuracy and precision to assess the relational fit to the line of concordance ( $45^\circ$ ):  $\rho_c = r \cdot C_b$ , where  $C_b$  is a bias correction factor that measures how far the best-fit line deviates from  $45^\circ$  and is thus a measure of bias or accuracy, and  $r$ , the correlation coefficient between actual severity ( $X$ ) and estimated severity ( $Y$ ), which measures in this case, the precision of the best fit line.  $C_b$  the bias correction factor is derived from:  $C_b = [(v+1 / v+u^2) / 2]^{-1}$ , where  $v = \sigma_y / \sigma_x$ , where  $\sigma$  is the standard deviation of  $Y$  and  $X$ , respectively; and  $u = (\mu_y - \mu_x) / (\sigma_y \cdot \sigma_x)^{-1/2}$ , where  $\mu$  is the mean value of  $Y$  and  $X$ , respectively, and  $\sigma$  is defined as above. The component term  $v$  measures the scale difference between actual and estimated values, which essentially is defined by the difference in slope of the two lines.

Equal slopes would give a  $v$  of 1. The term  $u$  is a reflection of a location shift relative to the scale, primarily reflecting height differences in the lines. Equal heights would give a  $u$  of 0. A perfectly accurate measurement system is when points are on the concordance line (i.e.,  $r = 1$ ,  $C_b = 1$  [ $v = 1$ ,  $u = 0$ ], and thus,  $\rho_c = 1$ ) (Nita *et al.*, 2003; Bock *et al.*, 2010).

The reliability of the estimates was determined for a linear regression analysis of the inter-rater estimates for each leaf, and using the coefficient of determination ( $R^2$ ) of each pairs of the rater's estimates to judge reliability (Nutter Jr. & Schultz, 1995). All regression analysis was performed using MINITAB V14.

### 3-RESULTS

Rust lesions in arabica and conilon coffee were similar and tended to be round (Figure 2). Based on the  $T$ -test, no significant difference in the compactness index (Table 1,  $P = 0.05$ ) or size (Table 2,  $P = 0.05$ ) of arabica and conilon coffee rust lesions could be detected. Rust severity on conilon coffee was  $<40\%$ , so, only the five SAD were used when assessing conilon coffee.

Based on the regression analysis and in the plots of estimated and real severity, the assessments made by the majority of the raters were closer to the actual values when the SAD were employed, compared to when the raters assessed the leaves without the aid of SAD (Table 3 and Figure 3). Indeed, the parameters and statistics of the linear regressions showed that both the accuracy and precision improved with use of the SAD for most raters (Table 3). This analysis showed that precision, as measured by  $R^2$ , improved for 80% of raters. Without use of the SAD, the  $R^2$  ranged from 0.47 to 0.92, with a mean of 0.81, but with the SAD, the  $R^2$  ranged from 0.82 to 0.97, with a mean of 0.90 (Table 3). The values of  $a$  and  $b$  of the regression analyses approached 0 and 1 for 60 and 90% of raters, respectively (Table 3). With use of the SAD, a 1% increase in the actual coffee leaf rust severity corresponded to a 1.04% increase in the mean estimated severity, suggesting a slight tendency to overestimate disease (Table 3). A tendency confirmed for the majority of the raters by the positive absolute error detected in most estimates (Figures 4 & 5), and by values of  $u$  discussed below.

For individual raters, generally there was a linear relationship between estimated and actual severity when the SAD were employed. For 90% of the raters (except the rater #8), the Lin's concordance correlation coefficient ( $\rho_c$ ) was higher with the use of

the SAD than without the use of the SAD (Figure 3) and the  $\rho_c$  mean value increased from 0.77 for 0.87 when SAD were used.

Precision of the estimates also was judged based on the coefficient of correlation ( $r$ ). Without use of the SAD, the  $r$  ranged from 0.68 to 0.97, with a means of 0.91, but when the SAD were employed, the  $r$  ranged from 0.90 to 0.98, with a mean of 0.95 (Figure 3). Furthermore, improvements in precision when using the SAD was also gauged by determination the absolute error associated with each rater's estimate (Figures 4 & 5). When the SAD was not used, 60% of the raters (# 2, 3, 5, 6, 9 and 10) had absolute error >24% (Figure 5). But when the SAD were employed, absolute error >15% was rare (in only 1.3% of all estimates), and in 89.8% of the estimates, absolute error was <10% (Figure 5).

Measured bias could be due to slope differences ( $v > 1$ , e.g., rater #8 without SAD in Figure 3), or differences in height ( $u > 0$ , e.g., rater #8 with SAD in Figure 3) between the concordance and best fitting lines.

In general, the values of  $u$  and  $v$ , which form the correction factor  $C_b$ , approached 0 and 1 for 60 and 70% of raters, respectively. These data confirming that both constant ( $u$ ) and systematic ( $v$ ) bias were reduced when the SAD were used (Figure 3).

The inter-rater reliability was high based on coefficient of determination ( $R^2$ ) between pairs of raters (Table 4). Without use of the SADs, 65% of the pairwise comparisons had an  $R^2 < 0.89$  (Table 4), but employing the SADs, 10% of pairwise comparisons had an  $R^2 < 0.89$ . Furthermore, in 90% of the comparisons, use of the SADs resulted in an  $R^2 > 90\%$ , indicating that the SADs provided reliable results.

#### **4-DISCUSSION**

The size and shape of rust lesions on leaves of *C.arabica* and *C. canephora* were not significantly different and thus the same SAD set can be used to aid the determination of rust severity on leaves of both species. The results showed that arabica and conilon lesions tended to be circular and similar in both compactness and size.

The maximum rust severity observed on the leaves was higher in arabica coffee, which is known to be more susceptible than conilon coffee (Zambolim, 2009), and therefore the full set of illustrations was needed for arabica while the 80% illustration was not needed for conilon. Field observations showed that severity >40% caused the

leaves to drop from conilon coffee, which may also explain why final severity was lower.

Raters tended to overestimate the severity of rust on coffee leaves. This tendency has been observed in most studies involving SAD validation (Sherwood *et al.*, 1983; Newton & Hackett, 1994; Parker *et al.*, 1995; Diaz *et al.*, 2001; Leite *et al.*, 2002). Rarely has disease severity been underestimated (Michereff *et al.*, 1998; Michereff *et al.*, 2000; Gomes *et al.*, 2004).

In the estimates of coffee leaf rust severity, absolute error using the SAD was reduced, and computer-based training in assessment of disease severity might further reduce this error (Nutter Jr. & Schultz, 1995; Nutter Jr. & Worawitlikit, 1989; Nutter *et al.*, 1998). In present study, the absolute error did not increase with increasing severity of disease, although such an increase has been observed in other studies (Bock *et al.*, 2008). The use of a SAD can also improve the speed of assessment as well as standardize the results (Stonehouse, 1994).

Both systematic bias and constant bias (both components of accuracy) were reduced when using the SAD, as measured both by linear regression and the analysis of Lin's concordance correlation. The disadvantage of using regression analysis in some situations to quantify accuracy was previously discussed (Lin, 1989; Madden *et al.*, 2007).

The precision, based on the coefficient of correlation, coefficient of determination and absolute error also improved for most raters. Similar improvements in precision associated with the use of a SAD have been observed in other studies (Nutter Jr. *et al.*, 1993; Gomes *et al.*, 2004).

Reliability of estimates among raters was also improved when the SAD was employed, a significant increase in inter-raters reliability was observed, as has been seen in other studies (Leite and Amorin, 2002; Belasque *et al.*, 2005). Because coffee is produced perennially, experiments on coffee plants are often conducted on a large scale and over long periods and assessed by more than one rater, thus, inter-rater reliability is particularly important to ensure comparable severity estimates.

In general, this SAD for the assessment of coffee leaf rust severity improves the accuracy, precision and the inter-rater reliability of rater estimates. Moreover, these SAD can be used to determine the severity of coffee leaf rust in arabica and conilon coffee. We conclude that the SAD are a useful tool for improving the quality of assessment of coffee rust severity for epidemiological research, comparative studies on

disease control methods, pathotype characterization and other studies where quality assessment of rust severity is required.

## 5-REFERENCES

- Belasque J, Bassanezi RB, Spósito MB, Ribeiro LM, Jesus Júnior WC, Amorim L, 2005. Escalas diagramáticas para a avaliação da severidade do cancro cítrico. *Fitopatologia Brasileira* **30**, 387-93.
- Bergamim Filho A, Amorim L, Eds, 1996. *Doenças de plantas tropicais: Epidemiologia e controle econômico*. São Paulo, Ceres.
- Berger RD, 1980. Measuring Disease Intensity. In: Teng PS, Krupa SV, eds. *Crop loss assessment wich constrain production and crop improvement in agriculture and forestry*. St. Paul, University of Minnesota, 28-31.
- Bock CH, Poole G, Parker PE, Gottwald TR, 2010. Plant disease severity estimated visually, by digital photography and image analysis, and by hyperspectral imaging. *Critical Reviews in Plant Sciences* **29**, 59-107.
- Conab, 2010. *Acompanhamento da safra brasileira de café*. Brasília, Brazil: Companhia Nacional de Abastecimento: Conab, Levantamento de janeiro de 2010.
- Diaz CG, Bassanezi RB, Filho AB, 2001. Desenvolvimento e validação de uma escala diagramática para *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* em feijoeiro. *Summa Phytopatologica* **27**, 35-9.
- Gomes AMA, Michereff SJ, Mariano RLR, 2004. Elaboração e validação de escala diagramática para cercosporiose da alface. *Summa Phytopathologica* **30**, 38-42.
- Leite RMVBC, Amorim L, 2002. Elaboração e validação de escala diagramática para Mancha de Alternária em girassol. *Summa Phytopathologica* **28**, 14-9.
- Lin LI, 1989. A concordance correlation coefficient to evaluate reproducibility. *Biometrics* **45**, 255-68.
- Madden LV, Hughes G, van den Bosch F, 2007. *The Study of Plant Disease Epidemics*. APS Press, St. Paul, MN.
- Martins MC, Guerzoni RA, Câmara, GMS, Mattiazzi P, Lourenço SA, Amorim L, 2004. Escala diagramática para a quantificação do complexo de doenças foliares de final de ciclo em soja. *Fitopatologia Brasileira* **29**, 179-84.
- Michereff SJ, Maffia LA, Noronha MA, 2000. Escala diagramática para avaliação da severidade da queima das folhas do inhame. *Fitopatologia Brasileira* **25**, 612-9.



- Michereff SJ, Pedrosa RA, Noronha MA, Martins RB, Silva FV, 1998. Escala diagramática e tamanho de amostras para avaliação da severidade da mancha parda da mandioca (*Cercosporidium henningsii*). *Agrotrópica* **10**, 143-8.
- Newton AC, Hackett CA, 1994. Subjective components of mildew assessment on spring barley. *European Journal of Plant Pathology* **100**, 395-412.
- Nita M, Ellis MA, Madden LV, 2003. Reliability and accuracy of visual estimation of Phomopsis leaf blight of strawberry. *Phytopathology* **93**, 995-1005.
- Nutter FW, Litwiller D, 1998. A computer program to generate standard area diagrams to aid raters in assessing disease severity. *Phytopathology* **88**, 47-8.
- Nutter FW, Schultz PM, 1995. Improving the accuracy and precision of disease assessments: selection of methods and use of computer-aided training programs. *Canadian Journal of Plant Pathology* **17**, 174-84.
- Nutter FW, Worawitlikit O, 1989. Disease.Pro: a computer program for evaluating and improving a person ability to assess disease proportion. *Phytopathology* **79**, 111-35.
- Nutter FW, Gleason ML, Jenco JH, Christinas NC, 1993. Assessing the accuracy, intra-rater repeatability, and inter-rater reliability of disease assessment systems. *Phytopathology* **83**, 806-12.
- Parker SR, Shaw MW, Royle DJ, 1995. The reliability of visual estimates of disease severity on cereal leaves. *Plant Pathology* **43**, 856-65.
- Sherwood RT, Berg CC, Hoover MR, Zeiders KE, 1983. Illusions in visual assessment of *Stagonospora* leaf spot of orchardgrass. *Phytopathology* **73**, 173-7.
- Stonehouse J, 1994. Assessment of Andean bean diseases using visual keys. *Plant Pathology* **43**, 519-27.
- Uthsca - ImageTool, version 3.0. Available in: [<http://ddsdx.uthsca.edu/dig/itdesc.html>]. Accessed on april 15, 2010.
- Vale FXR, Fernandes Filho EI, Liberato JR. QUANT: A software plant disease severity assessment. In: Close R, Braithwaite M, Havery I, eds. *Proceedings of the 8th International Congress of Plant Pathology*, 2003. New Zealand, 8, 105.
- Vale FXR, Jesus Junior WC, Zambolim L, 2004. *Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas*. Belo Horizonte, MG, Brasil: Perffil Editora.
- Waller JM, Bigger M, Hillocks RJ, 2007. *Coffee pests, diseases and their management*. Oxfordshire: CAB International.

Zambolim L, Vale FXR, Pereira AA, Chaves GM, 1999. Manejo integrado das doenças do cafeeiro. In: Zambolim L, ed. *Produção de café com qualidade*. Viçosa, MG, Brasil: Universidade Federal de Viçosa.

Zambolim L, ed, 2009. *Tecnologias para a produção do café conilon*. Viçosa, MG, Brasil: Universidade Federal de Viçosa.

## 6-TABLES

**Table 1** *T*-test of the compactness index for symptoms of the coffee leaf rust on arabica (*Coffea arabica*) and conilon (*C. canephora*) coffee. The compactness index (measures the lesions shape) was determined with ImageTool software.

Effect	d.f.	<i>T</i>	<i>P</i> -value
Treatment	1	-1.620	0.107 <sup>a</sup>
Residuals	298		
Total	299		

### Footnotes

d.f.: degrees of freedom; <sup>a</sup> The null hypothesis (similar lesion characteristics) was accepted, according to an *T*-test ( $P = 0.05$ ). The coefficient of variance = 3.93%.

**Table 2** *T*-test of the size lesions of the coffee leaf rust on arabica (*Coffea arabica*) and conilon (*C. canephora*) coffee. The size was determined with ImageTool software.

Effect	d.f.	<i>T</i>	<i>P</i> -value
Treatment	1	0.360	0.72 <sup>a</sup>
Residuals	298		
Total	299		

### Footnotes

d.f.: degrees of freedom; <sup>a</sup> The null hypothesis (similar lesion characteristics) was accepted, according to an *T*-test ( $P = 0.05$ ). The coefficient of variance = 20.17%.

**Table 3** The parameters and statistics of the linear regression analysis between estimated severity and actual severity of coffee rust (*Hemileia vastatrix*) on leaves of coffee (*Coffea* spp.) by 10 raters with and without the use of a standard area diagram (SAD) set. The assessments were made by inexperienced raters. Raters 1 to 5 assessed disease on arabica coffee leaves, and raters 6-10 assessed disease on conilon coffee leaves.

Raters	No SAD			SAD used		
	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>R</i> <sup>2</sup>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>R</i> <sup>2</sup>
<i>Coffea arabica</i>						
1	5.328 *	0.952	88.4	6.164 *	0.998	95.9
2	5.292 *	0.959	85.0	4.881 *	1.029	95.1
3	13.025 *	0.637 *	46.5	4.108 *	0.854 *	90.7
4	2.907	0.995	89.5	4.239 *	1.003	96.7
5	3.729 *	1.114 *	91.9	1.881	0.962	89.4
<i>Coffea canephora</i>						
6	2.148	1.515 *	87.7	2.751 *	1.085	84.6
7	3.201 *	1.277 *	90.3	3.935 *	1.084	92.0
8	5.344 *	1.011	70.4	4.146 *	1.074	90.1
9	6.621 *	1.927 *	81.3	3.162 *	1.174	81.6
10	6.106 *	1.545 *	83.3	4.420 *	1.136	85.0
Mean	5.370 *	1.193 *	81.4	3.969 *	1.040	90.1

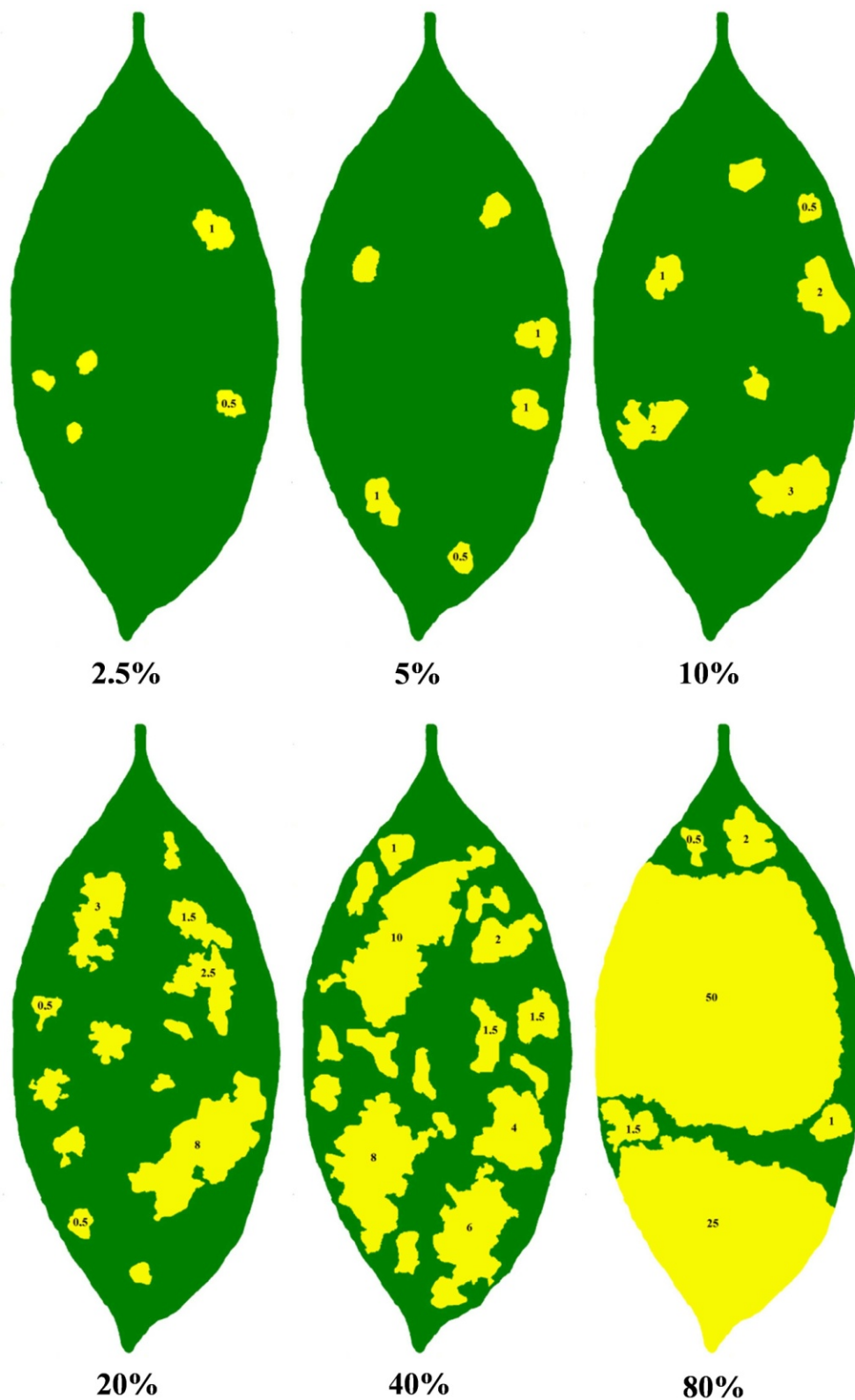
**Footnotes**

\* A *T*-test was used to determine whether the intercept (*a*) or the slope (*b*) was different from 0 and 1, respectively, at *P* = 0.05.

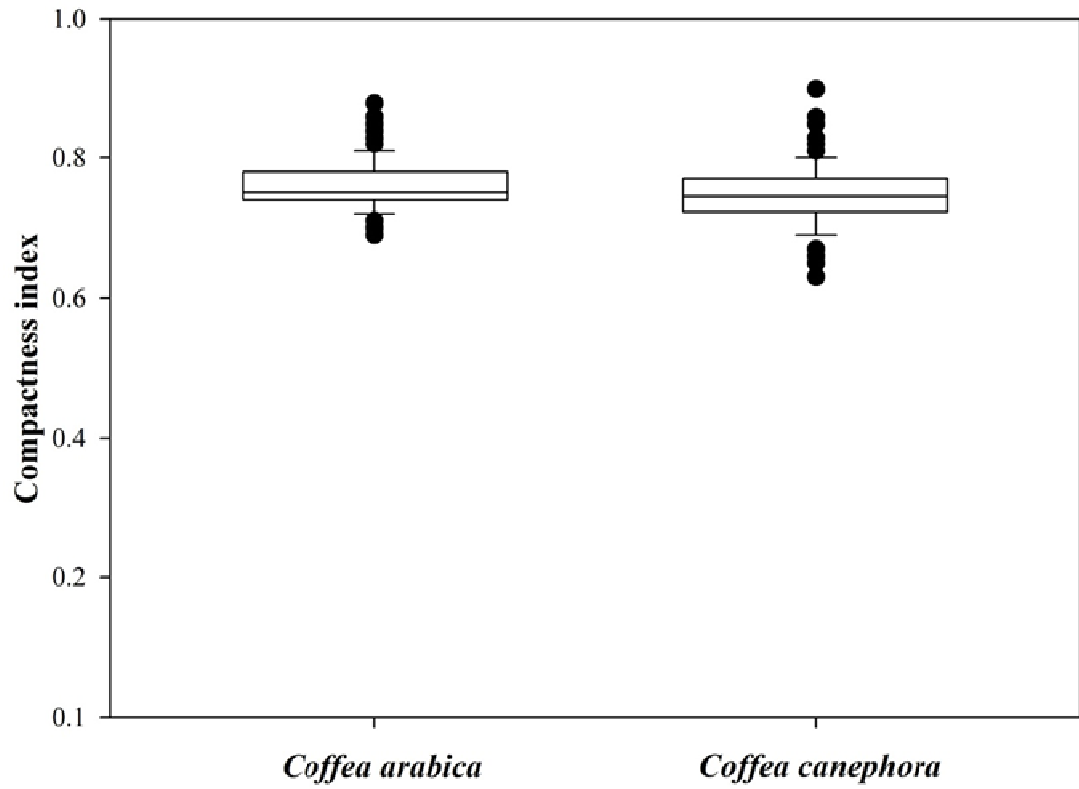
**Table 4** The inter-raters reliability of coffee rust severity estimates based on the coefficient of determination ( $R^2$ ) of the linear regression analysis of all pairwise comparisons of 10 raters assessing severity of coffee rust (*Hemileia vastatrix*) on leaves of coffee (*Coffea* spp.) with and without the use of a standard area diagram (SAD) set.

$R^2$ value	Frequency (%)	
	No SAD	SAD used
0.70 - 0.79	20.00	00.00
0.80 - 0.89	45.00	10.00
0.90 - 1.00	35.00	90.00

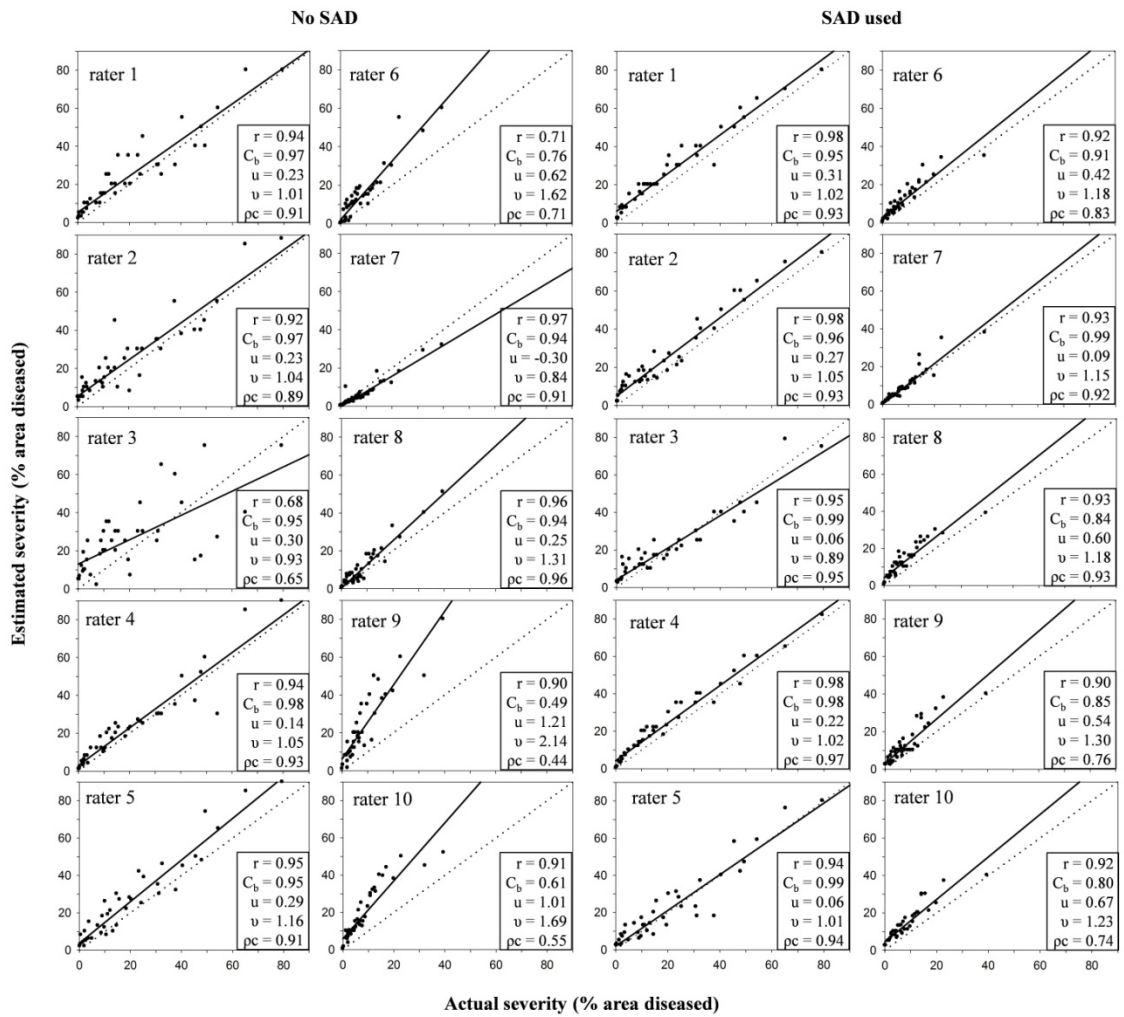
**7-FIGURES**



**Figure 1** The standard area diagrams coffee rust (*Hemileia vastatrix*) severity on coffee (*Coffea* spp.). The data are expressed as the percent (%) of the foliar area displaying symptoms of the disease.

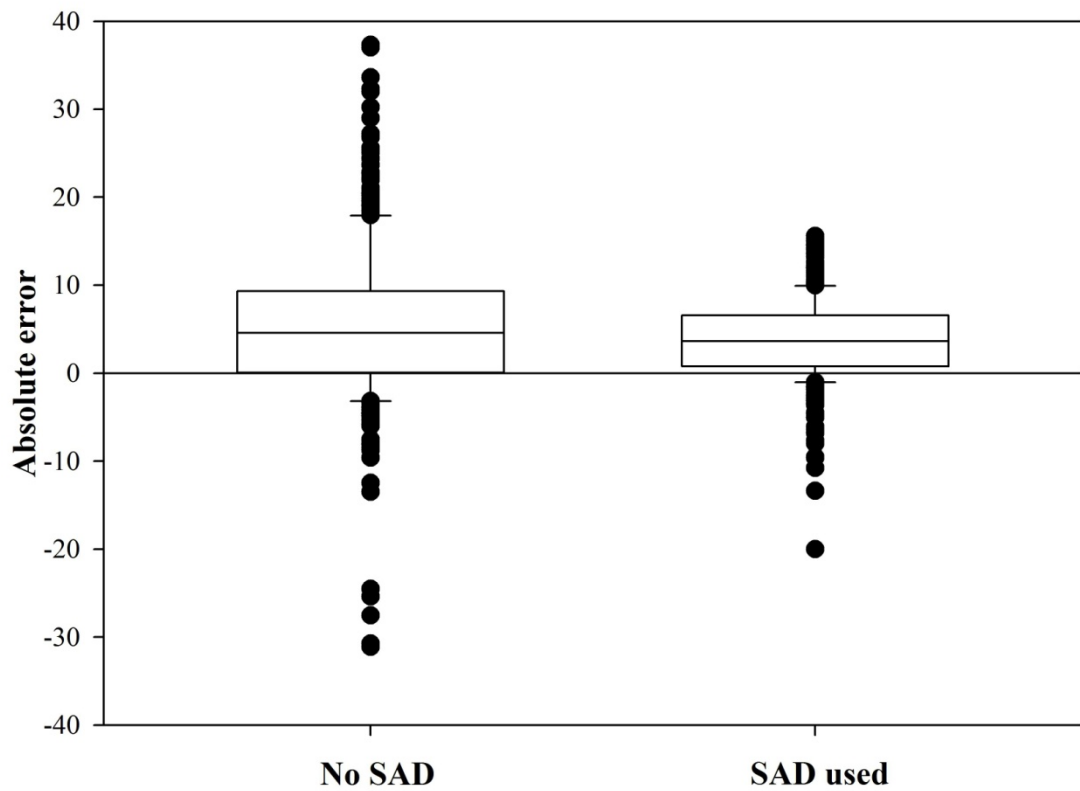


**Figure 2** A box plot of the compactness index of lesions in arabica (*Coffea arabica*) and conilon (*C. canephora*) coffee. The compactness index is a measure of the shape of the lesion and was obtained with ImageTool software. The whiskers mean are the standard deviations.

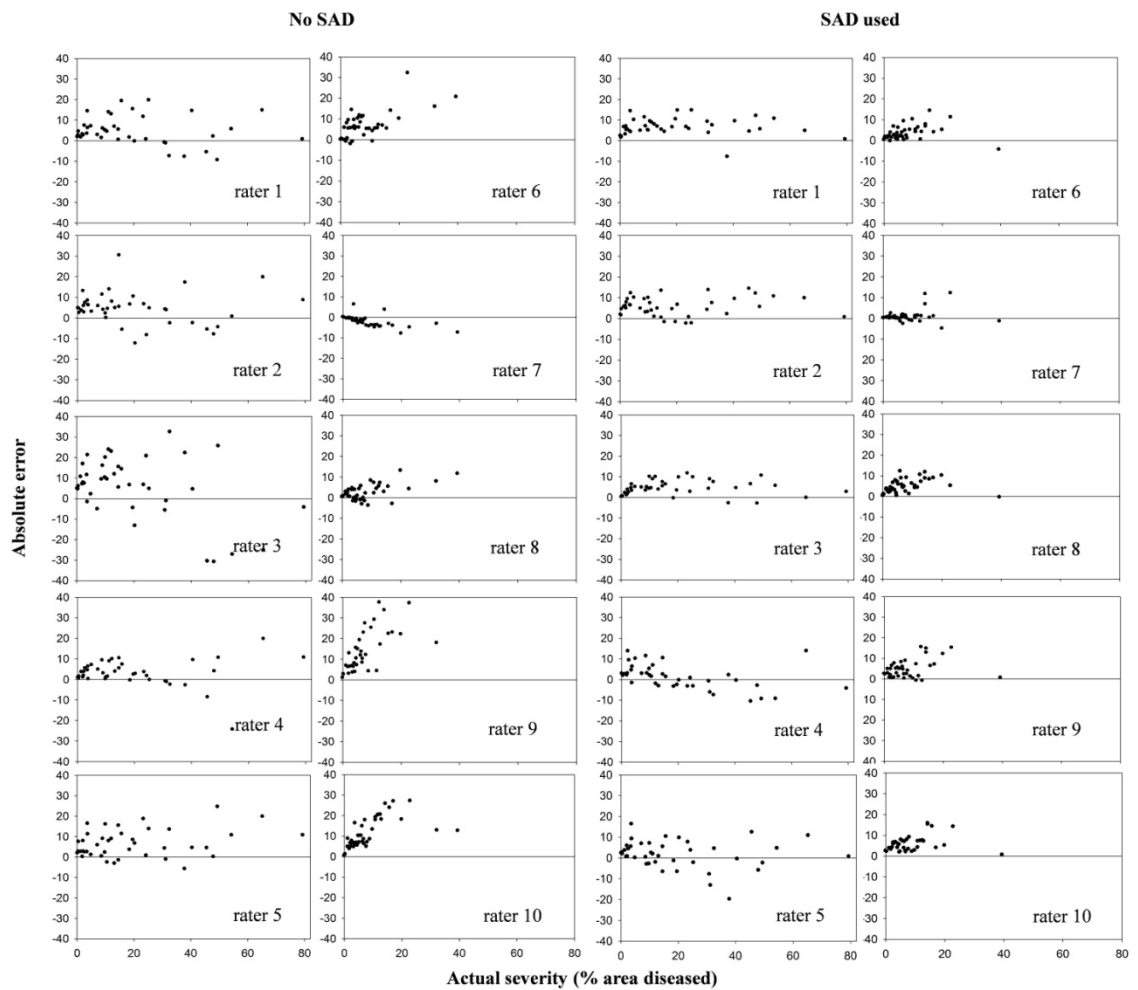


**Figure 3** Estimated severity versus actual severity of coffee rust (*Hemileia vastatrix*) on leaves of coffee (*Coffea* spp.) for the 10 raters with and without the use of a standard area diagram (SAD) set. Raters 1 to 5 assessed disease on arabica coffee leaves, and raters 6-10 assessed disease on conilon coffee leaves. The dotted line is the concordance line, representing perfect agreement between actual and estimated severity (slope of 1, intercept of 0). Accuracy is determined with Lin's concordance correlation coefficient ( $\rho_c$ ), calculated as the product of the correlation coefficient ( $r$ ) and the bias correction factor ( $C_b$ ).  $C_b$  is a function of location shift ( $u$ ) and scale shift ( $v$ ), indicating changes in line height and slope, respectively. Regression parameters and statistics are shown in Table 3.





**Figure 4** A box plot of the absolute error (actual severity minus estimated severity) of assessments of coffee rust (*Hemileia vastatrix*) by all 10 raters with and without the use of a standard area diagram (SAD) set. Low absolute error values indicate that the estimated severity was similar to the actual severity. The whiskers mean are the standard deviations.



**Figure 5** Absolute error (estimated severity minus actual severity) of estimates of severity of coffee rust (*Hemileia vastatrix*) on leaves of coffee (*Coffea* spp.) for each of 10 raters, with and without use of a standard area diagram (SAD) set. Raters 1 to 5 assessed disease on arabica coffee leaves, and raters 6-10 assessed disease on conilon coffee leaves. Low absolute error values indicate that the estimated severity was similar to the actual severity.

**CAPÍTULO 3 - ANÁLISE MULTIVARIADA DOS COMPONENTES DA  
RESISTÊNCIA DA VARIEDADE CONILON VITÓRIA INCAPER 8142 À TRÊS  
RAÇAS DE *HEMILEIA VASTATRIX***

## 1-INTRODUÇÃO

As duas espécies de café exploradas comercialmente no Brasil são *Coffea arabica* (café arábica) e *C. canephora* (café conilon), representando, respectivamente, 70 e 30% da produção nacional (Ferrão *et al.*, 2007). Historicamente, o Brasil ocupa a posição de maior produtor e exportador de café no mercado internacional.

A produção de café pode ser influenciada por diversos fatores, bióticos e abióticos. Dentre os bióticos as doenças têm ocupado papel de destaque. A ferrugem do cafeeiro, causada pelo fungo *Hemileia vastatrix*, é a principal doença da cultura. Os principais danos causados pela ferrugem é função da queda precoce das folhas que, em consequência, reduz a produção de grãos no ano seguinte (Zambolim *et al.*, 1999; Zambolim, 2009).

A principal medida de controle da ferrugem é o uso de produtos químico preventivamente com fungicidas protetores, 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 (Zambolim *et al.*, 1999).

Apesar da eficiência dos fungicidas no controle da doença, o uso de variedades resistentes é a estratégia mais importante para o controle da ferrugem, por ser altamente desejável do ponto de vista ambiental e econômico, além de ser de mais fácil utilização (Waller *et al.*, 2007; Camargo, 2011).

A obtenção de variedades 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). Neste patossistema já foram relatadas 45 raças de *H. vastatrix*. No Brasil, um total de 15 raças já foram relatadas, sendo a raça II é a mais amplamente distribuída no país (Cabral *et al.*, 2009).

Em vários patossistemas, e em especial neste, a resistência quantitativa tem grande chance de ser durável, pois resulta da combinação de diversos componentes de resistência como os períodos de incubação e latente mais longos, uma menor produção de uredosporos por lesão, uma baixa severidade da doença, entre outros (Parlevliet, 1979). Assim, a caracterização de genótipos com maiores graus de resistência à ferrugem é importante para os programas de melhoramento genético que visam o

desenvolvimento de variedades com maior resistência à ferrugem (Angelotti *et al.*, 2008).

Para avaliar esses diversos componentes de resistência em genótipos de café há necessidade do uso de técnicas de estatística multivariada, pois com a análise individual de cada variável resposta é muito difícil determinar os níveis de resistência dos genótipos.

As variedades de cafeeiros conilon, no geral, são constituídas de um conjunto de clones que apresentam várias características comuns, mas que podem diferir no nível de resistência à ferrugem (Ferrão *et al.*, 2007). Assim, há necessidade de se conhecer o nível de resistência destes genótipos que compõem as variedades clonais plantadas no Brasil para auxiliar os programas de melhoramento, além de extensionistas e produtores desse importante grupo de cafeeiro.

Portanto, o objetivo deste capítulo foi estudar a resistência quantitativa de 13 genótipos de conilon que compõem a variedade clonal Conilon Vitória Incaper 8142 à três raças de *H. vastatrix*.

### **3-MATERIAL E MÉTODOS**

A obtenção dos isolados monopustulares e a determinação da raça biológica dos isolados foram realizados como no Capítulo 1.

Os experimentos foram conduzidos no viveiro do café, pertencente ao Depto de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa. Para os ensaios foram utilizados os 13 genótipos de *C. canephora* que compõem a variedade clonal Conilon Vitória Incaper 8142 e a variedade de *C. arabica* Catuaí Vermelho IAC 44 usada como controle positivo.

Um dos isolados de *H. vastatrix* utilizados nos ensaios foi obtido do clone 02 de *C. canephora*, no município de São Gabriel da Palha-ES (latitude 19°03,879', longitude 40°32,922' e altitude de 190m). Um segundo isolado foi obtido do clone 8V de *C. canephora* no município de Marilândia-ES (latitude 19°24,211', longitude 40°32,303' e altitude de 215m), clone este pertencente à variedade Conilon Vitória Incaper 8142. Um terceiro isolado utilizado foi obtido de *C. arabica*. Este isolado de café arábica foi caracterizado no CIFC (Centro de Investigação das Ferrugens do Cafeeiro, Oeiras, Portugal) como pertencente à raça XXXIII de *H. vastatrix* (Nascimento *et al.*, 2010), uma raça que apresenta genes de virulência complexos.

A metodologia usada para a obtenção de isolados monopustulares de *H. vastatrix* foi descrita por Capucho *et al.* (2009).

Os isolados foram multiplicados para a obtenção de isolados monopustulares de *H. vastatrix*. Para isso, foi realizada a transferência de uma única pústula de ferrugem para mudas do clone 02 de *C. canephora*. Este genótipo também foi utilizado para a multiplicação dos isolados em grandes quantidades. Para o isolado da raça XXXIII, coletado em *C. arabica*, a multiplicação dos uredosporos foi realizada na variedade de *C. arabica* Catuaí Vermelho IAC 44. Todos estes procedimentos foram realizados em compartimentos individualizados para evitar contaminações.. No patossistema *C. canephora* vs. *H. vastatrix*, este será o primeiro trabalho de resistência em que o inóculo utilizado nos ensaios foi derivado de lesões monopustulares de *H. vastatrix*. Este cuidado garante a homogeneidade genética do patógeno usado e assegura que as diferenças observadas nos componentes de resistência avaliados sejam exclusivamente derivadas das diferenças entre os genótipos de café.

A caracterização biológica das raças de *H. vastatrix* usadas no estudo foi determinada de acordo com a reação de resistência (ausência de uredosporos do patógeno) ou suscetibilidade (presença de uredosporos do patógeno) apresentada pelos clones diferenciadores de raças do CIFC, mantidos no laboratório BioCafé da Universidade Federal de Viçosa. Para esse fim, utilizou-se a metodologia de disco de folhas, com três repetições cada, sendo cada repetição constituída por 16 discos de folha (Capucho *et al.*, 2009). A eficiência dessa metodologia foi demonstrada por Eskes (1982), Capucho *et al.* (2009), Brito *et al.* (2010) e Diola *et al.* (2011) em estudos de resistência vertical e horizontal.

Um experimento no delineamento inteiramente casualizado foi utilizado para cada isolado do fungo em estudo. Os experimentos foram repetidos uma vez para cada isolado. Os tratamentos do experimento foram compostos por uma muda de cada genótipo da variedade clonal Conilon Vitória Incaper 8142 e uma muda da variedade de *C. arabica* Catuaí Vermelho IAC 44. Um total de três repetições (mudas) foi usado nos ensaios, sendo as unidades experimentais constituídas por duas folhas de cada genótipo.

Antes da inoculação, a viabilidade dos uredosporos de *H. vastatrix* foi aferida pelo teste de germinação em meio agar-água 2% (Zambolim & Chaves, 1974). Para garantir uma boa infectividade somente uredosporos com viabilidade superior a 30% foram considerados adequados para os testes (Capucho *et al.*, 2009).

As folhas dos genótipos foram inoculadas na face abaxial com uma quantidade conhecida de uredosporos do patógeno, com o auxílio de uma espécie de cachimbo em miniatura confeccionado a partir de uma haste de chumbo. Com esse instrumento foram depositados em cada folha  $7,5 \times 10^4$  uredosporos do fungo. Os uredosporos foram espalhados nas folhas com um pincel. Após a inoculação, as mudas foram atomizadas com água destilada e mantidas na ausência de luz durante 48 horas a 21-23°C. Em seguida, foram transferidas para uma bancada sob sombrite com 70% de sombreamento, onde a temperatura variou entre 18 e 31°C. As folhas inoculadas foram limpas com o auxílio de algodão, cinco dias após a inoculação, para evitar contaminações das futuras pústulas de *H. vastatrix* com hiperparasitas dos uredosporos, como o *Lecanicillium lecanii*, os quais poderiam influenciar nas avaliações (Capucho *et al.*, 2009).

Ao longo dos experimentos os onze componentes de resistência a seguir foram avaliados:

1) Período de Incubação (PI) - Definido como o intervalo, em dias, entre a inoculação e o aparecimento dos sintomas. Em dias alternados, foram avaliadas todas as folhas dos genótipos até que 50% das folhas de cada genótipo apresentassem sintomas (Griffiths & Jones, 1987; Bettencourt & Rodrigues, 1988);

2) Período Latente (PL) - É o intervalo, em dias, entre a inoculação e o aparecimento dos uredosporos de *H. vastatrix* nas lesões. Após o período de incubação, a cada dois dias foram avaliadas todas as folhas dos genótipos até que 50% das folhas de cada genótipo apresentassem lesões com urédias esporuladas (Griffiths & Jones, 1987; Bettencourt & Rodrigues, 1988);

3) Produção de Esporos (PE) - No final do experimento todas as folhas com lesões esporuladas foram raspadas com o auxílio de uma cápsula de gelatina para a coleta dos uredosporos, sendo os mesmos imersos em um volume conhecido de água destilada contendo 0,05% de Tween 80, seguido de agitação até a completa homogeneização da suspensão. O número total de uredosporos produzidos por cada planta (duas folhas) foi determinado com um hemacitômetro. Duas contagens foram realizadas, sendo a PE originada da média das contagens;

4) Área Foliar Lesionada (AFL) - A AFL foi calculada, no final do experimento, fotodocumentando todas as folhas lesionadas com uma câmera digital (Olympus FE-340). A AFL de cada parcela foi determinada com o programa *Quant* (Vale *et al.*, 2003) pelo método de função discriminante. O resultado foi expresso em  $\text{cm}^2$  de área foliar lesionada;

5) Produção de Esporos por Área Foliar Lesionada (PEAFL) - No final do experimento também foi calculado o número médio de uredosporos produzidos por unidade de área foliar lesionada (uredosporos/cm<sup>2</sup> de lesão);

6) Área Foliar Esporulada (AFE) - A AFE foi calculada no final do experimento a semelhança da AFL, porém foram considerados somente as áreas nas folhas cobertas por uredosporos da ferrugem. O resultado foi expresso em cm<sup>2</sup> de área foliar esporulada;

7) Produção de Esporos por Área Foliar Esporulada (PEAFE) - No final do experimento foi calculado o número médio de uredosporos produzidos por unidade de área foliar esporulada (uredosporos/cm<sup>2</sup> de lesão esporulada);

8) Severidade (SEV) - a severidade de cada parcela experimental foi avaliada com o auxílio da escala diagramática desenvolvida no Capítulo 2 desta tese (Capucho *et al.*, 2011);

9) Frequência de Infecção (FI) - Obtido pela divisão do número total de pústulas pela área foliar lesionada;

10) Número Total de Pústulas (NTP) - Este componente de resistência foi obtido com o auxílio do programa de tratamento de imagens ImageTool pelo uso do comando *find objects*, onde foi possível identificar o número de pústulas da imagem obtida por uma câmera digital, no final do experimento, de cada parcela do experimento;

11) Taxa de Expansão das Lesões (TEL) - É a medida da taxa de crescimento da lesão ao longo do tempo (Berger *et al.*, 1997). Para a determinação dessa variável, a AFL foi determinada em intervalos de cinco dias após o período de incubação por meio de uma câmera digital Olympus FE-340.

A agressividade das raças utilizadas nos experimentos também foi determinada. Para isso, os valores médios de cada componente de resistência avaliado nos 13 genótipos de conilon foram utilizados. O teste de agrupamento de médias univariadas Scott-Knott com uma probabilidade de 5% foi usado para diferir a agressividade das raças em cada componente de resistência. Para estas análises foi utilizado o programa SAEG 9.1 (Ribeiro Júnior, 2001).

A resistência das plantas de conilon da variedade Vitória Incaper 8142 foi avaliada a partir dos dados de média de cada um dos onze componentes de resistência analisados em cada raça de *H. vastatrix* inoculada. Estes dados foram utilizados para realizar uma análise de correlação de Pearson entre as onze variáveis para cada raça. Os



coeficientes obtidos foram testados pelo teste de *t* a 1% e 5% de probabilidade. Estas análises foram realizadas com o programa Minitab 14.

A média dos onze componentes de resistência dos experimentos (PI, PL, PE, AFL, PEAF, AFE, PEAFE, SEV, FI, NTP e TEL) para cada raça de *H. vastatrix* também foram utilizadas para realizar análises estatísticas multivariadas no programa Minitab 14. O objetivo foi determinar a resistência das plantas avaliando, simultaneamente, os onze componentes de resistência. Estas análises multivariadas aumentam a consistência das conclusões sobre a resistência dos clones de café conilon às raças de *H. vastatrix* inoculadas.

Dentro das ferramentas multivariadas foram utilizadas as análises de agrupamento e de discriminantes. Na análise de agrupamento foi utilizado como medidas de dissimilaridade a distância de Pearson. As seguintes técnicas hierárquicas aglomerativas foram testadas: ligação simples, ligação completa, ligação média, centróide e ward. A escolha da melhor técnica hierárquica aglomerativa se baseou na análise visual dos padrões de agrupamento. Para a formação do dendrograma, foi definida a utilização de quatro grupos: Resistente (R), Moderadamente Resistente (MR), Moderadamente Suscetível (MS) e Suscetível (S) à *H. vastatrix*.

A análise discriminante foi utilizada para confirmar a qualidade do agrupamento formado pela técnica hierárquica aglomerativa escolhida e, com isso, aumentar a confiabilidade do agrupamento formado, já que uma probabilidade de acerto é associada à divisão dos grupos formados a priori pela análise de agrupamento.

### **3-RESULTADOS**

Os isolados utilizados no estudo foram caracterizados biologicamente como pertencentes às raças I e II de *H. vastatrix*. A raça I apresenta os genes de virulência v2 e v5, pois infecta plantas diferenciadores de raças dos grupos fisiológicos de *Coffea* E e D e não infecta os clones diferenciadores dos grupos fisiológicos A,  $\alpha$ , O, T, R, I, C, Y, G, J, L, Z, W, M, 3 e 1. A raça II apresenta o gene de virulência v5, infectando somente diferenciadores do grupo E (Tabela 1). A raça XXXIII também utilizada neste trabalho, porém coletada de *C. arabica*, apresenta os genes de virulência v5, v7 ou v5, v7 e v9, sendo considerada uma raça com genes de virulência complexos (Varzea *et al.*, 2005).

Nas análises de correlação e multivariada foram utilizados os valores médios dos onze componentes de resistência coletados nos 13 genótipos do Conilon Vitória Incaper

8142 e no Catuaí Vermelho IAC 44 quando inoculados com as raças I, II e XXXIII de *H. vastatrix* (Tabelas 2, 3 e 4).

As estimativas das correlações entre os onze componentes de resistência avaliados para as raças I, II e XXXIII de *H. vastatrix* estão apresentadas nas Tabelas 5, 6 e 7, respectivamente. De um total de 55 combinações possíveis de correlações entre os onze componentes de resistência, 63,64%, 70,91% e 23,64% apresentaram correlações significativas para as raças I, II e XXXIII de *H. vastatrix*, respectivamente (Tabelas 5, 6 e 7). Dentre essas correlações que foram significativas uma frequência de 71,43% para a raça I, 66,67% para a raça II e 76,93% para a raça XXXIII de *H. vastatrix* apresentaram valores de correlação entre os componentes de resistência abaixo de 0,80 (Tabela 8). Este fato impossibilitou realizar outras análises multivariadas como a análise de componentes principais.

As raças utilizadas nos experimentos apresentaram diferenças na agressividade. Dos onze componentes de resistência analisados, a raça I apresentou sete componentes com diferença estatística das demais raças. Esse valor foi de cinco para a raça II e de dois componentes de resistência para a raça XXXIII de *H. vastatrix*. Assim, a raça I foi considerada a mais agressiva nos clones de conilon, seguida pela raça II com semelhante agressividade. A raça XXXIII de *H. vastatrix* foi considerada a menos agressiva ao analisarmos os resultados dos testes Scott-Knott (Tabela 9).

Os resultados das análises de agrupamento e de discriminantes para cada raça de *H. vastatrix* inoculada nos genótipos de cafeeiros conilon serão mostrados a seguir.

O agrupamento dos genótipos nos quatro níveis de resistência (R, MR, MS e S) às três raças de *H. vastatrix* (raças I, II, XXXIII) foi baseado na distância de Pearson e no método da ligação de Ward por ser o que melhor se adequou aos dados dos experimentos. A análise discriminante confirmou a adequação do agrupamento com uma probabilidade de acerto de 100% para os experimentos das três raças de *H. vastatrix*.

A partir dos quatro níveis de resistência das análises de agrupamento contra as três raças de *H. vastatrix* analisadas foram obtidos os valores médios de cada nível de resistência para cada raça inoculada (Tabela 9). Os valores dos componentes de resistência tenderam a diminuir quanto maior o nível de resistência dos genótipos à ferrugem, com exceção dos componentes de resistência PI (período de incubação) e PL (período latente), os quais valores altos indicam maior resistência das plantas (Tabela 9).

Ao analisarmos o dendrograma obtido pela análise de agrupamento para a raça I de *H. vastatrix* (Figura 1), verifica-se que as porcentagens de cultivares resistentes, moderadamente resistentes, moderadamente suscetíveis e suscetíveis foram de 14,29%, 35,71%, 35,71% e 14,29%, respectivamente. Os clones de conilon 3V e 5V foram classificados como Resistentes. Os clones 1V, 8V, 9V, 13V e o Catuaí Vermelho IAC 44 como Moderadamente Resistente. Os clones 2V, 4V, 6V, 7V e 10V como Moderadamente Suscetível e os clones 11V e 12V como Suscetíveis.

No dendrograma obtido pela análise de agrupamento para a raça II de *H. vastatrix* (Figura 2), verifica-se que as porcentagens de cultivares resistentes, moderadamente resistentes, moderadamente suscetíveis e suscetíveis à raça II de *H. vastatrix* foram de 21,43%, 21,43%, 21,43% e 35,71%, respectivamente. Os clones de conilon 1V, 3V e 4V foram classificados como Resistentes. Os clones 2V, 5V e 10V como Moderadamente Resistente. Os clones 11V, 12V e o Catuaí Vermelho IAC 44 como Moderadamente Suscetível e os clones 6V, 7V, 8V, 9V e 13V como Suscetíveis.

A avaliação do dendrograma obtido pela análise de agrupamento para a raça XXXIII de *H. vastatrix* (Figura 3), nos permite verificar que as porcentagens de cultivares resistentes, moderadamente resistentes, moderadamente suscetíveis e suscetíveis à raça XXXIII de *H. vastatrix* foram de 42,86%, 28,57%, 21,43% e 7,14%, respectivamente. Os clones de conilon 2V, 3V, 5V, 10V, 12V e 13V foram classificados como Resistentes. Os clones 4V, 8V, 9V e 11V como Moderadamente Resistente. Os clones 1V, 7V e o Catuaí Vermelho IAC 44 como Moderadamente Suscetível e o clone 6V como Suscetível.

#### **4-DISCUSSÃO**

No Brasil, 15 raças fisiológicas de *H. vastatrix* já foram relatadas em *Coffea* spp. (Cabral *et al.*, 2009), com predominância das raças II, I, III e XV (Bettencourt e Rodrigues Junior, 1988). No último levantamento das raças de *H. vastatrix* presentes no Espírito Santo, Silva *et al.* (2000) identificaram apenas a raça II do fungo em amostras coletadas de 17 municípios do Estado.

A raça XXXIII de *H. vastatrix* também usada nos experimentos foi caracterizada no Brasil como raça II, porém em estudo adicional, onde foram utilizados diferenciadores de raças adicionais, este mesmo isolado foi caracterizado no CIFC como

pertencente a uma raça mais complexa, a raça XXXIII, que apresenta de dois a três genes de virulência, o v5 e v7 ou o v5, v7 e v9 (Nascimento *et al.*, 2010).

Portanto, as raças I e II de *H. vastatrix* utilizadas nos experimentos estão entre as mais frequentes do Espírito Santo e do país e, associado ao uso da raça XXXIII, nos forneceram uma boa ideia do comportamento dos clones de conilon a essas importantes raças de *H. vastatrix*.

A maioria dos componentes de resistência avaliados neste estudo foi utilizado em outros trabalhos de avaliação de resistência de plantas à patógenos causadores de ferrugens, como o período de incubação (Eskes, 1982; 1983; Eskes & Costa, 1983, Leguizamón-Caycedo *et al.*, 1998), período latente (Eskes, 1982; 1983; Eskes & Costa, 1983; Bettencourt & Rodrigues, 1988; Leguizamón-Caycedo *et al.*, 1998; Angelotti *et al.*, 2008), severidade com o uso de escalas diagramáticas (Santos *et al.*, 2007; Koga *et al.*, 2008; Angelotti *et al.*, 2008; Assmann *et al.*, 2010), produção de esporos (Pedrosa *et al.*, 2004; Angelotti *et al.*, 2008), área foliar lesionada (Pedrosa *et al.*, 2004), frequência de infecção (Faleiro *et al.*, 2001; Pedrosa *et al.*, 2004), número total de pústulas (Santos *et al.*, 2007; Angelotti *et al.*, 2008; Assmann *et al.*, 2010), taxa de expansão das lesões (Pedrosa *et al.*, 2004, Salustiano *et al.*, 2007). Nestes trabalhos, as variáveis avaliadas, muitas vezes, foram utilizadas separadamente. Já no presente trabalho, todas elas foram analisadas simultaneamente, para obter uma interpretação mais globalizada dos dados.

Na análise de agrupamento existe uma grande quantidade de técnicas hierárquicas aglomerativas, cujas diferenças ocorrem devido à forma de definir a proximidade entre os indivíduos dentro do grupo contendo vários indivíduos ou entre grupos de indivíduos (Liberato *et al.*, 1995). Apesar dessa grande quantidade de técnicas não existe uma melhor do que outra. O pesquisador é quem define qual é a mais adequada ao seu trabalho, uma vez que diferentes técnicas hierárquicas aglomerativas podem levar a diferentes padrões de agrupamento (Manly, 1986; Cruz, 1990). Portanto, neste trabalho a técnica hierárquica aglomerativa da ligação de Ward foi a que melhor se adequou aos dados obtidos nos experimentos.

Um problema comum na análise de agrupamento, relativo às diferentes técnicas hierárquicas aglomerativas, é a dificuldade de decidir quanto ao número de grupos formados. Não há critério definitivo para se determinar o melhor número de grupos (Liberato *et al.*, 1995). Portanto, foram definidos quatro grupos de acordo com as diferenças visuais quanto à resistência dos cafeeiros à ferrugem, assim como na observação dos dendrogramas.

Após definir o número de grupos de resistência (R, MR, MS e S) e os tratamentos (genótipos de café) que os compõem, a análise discriminante permitiu verificar a adequação da divisão dos grupos com uma probabilidade de acerto associada a essa estimativa (Hansen & Hamm, 1983).

A proporção de plantas da variedade Conilon Vitória Incaper 8142 nos grupos R e MR para as raças I, II e XXXIII de *H. vastatrix* foram de 50%, 42,86% e 71,43%, respectivamente. Portanto, no geral >50% das plantas da variedade apresentam resistência horizontal às raças de ferrugem avaliadas. Como o plantio dessa variedade de conilon é realizado em linha é proposto que os genótipos dessa variedade sejam plantados de forma alternada entre as plantas dos grupos R, MR, MS e S, evitando o plantio no campo de plantas de um mesmo grupo, notadamente as do grupo S em linhas adjacentes.

Esta estratégia de manejo denominada de “multilinhas” pode evitar ou retardar a suplantação dos genes de resistência das variedades pelo patógeno, pois interrompe a seleção direcional do patógeno e, assim, reduz o aumento da frequência de isolados com alelos mutantes capazes de suplantar a resistência das variedades (McDonald & Linde, 2002).

Esta estratégia foi utilizada com grande sucesso na China com o patossistema arroz vs. brusone (*Magnaporthe grisea*) em um experimento com uma área expressiva de 3342 ha (Zhu *et al.*, 2000). Neste trabalho foi utilizado como tratamentos: 1) variedades suscetíveis com resistentes em mistura (linhas de cada variedade) e 2) variedades suscetíveis em monocultura. Os valores de severidade da doença foram de 20% para os tratamentos com plantas suscetíveis em monocultura contra 1,2% de severidade para os tratamentos de misturas de variedades. Neste caso não necessitando de pulverizações das plantas com fungicidas. Para se equipararem foi preciso a produção de 1,18ha da variedade suscetível em monocultura para produzir a mesma quantidade que as variedades plantadas em mistura. Outro fato que reforça a ideologia do trabalho foi a produção das plantas suscetíveis, que dentro da mistura com plantas resistentes apresentou uma produção 89% maior quando comparada com a produção da mesma variedade suscetível plantada em monocultivo (Zhu *et al.*, 2000).

Outros trabalhos já provaram a eficiência do uso da estratégia de multilinhas para o manejo de doenças de plantas (Chin & Wolfe, 1984; Wolfe, 1985; Smithson & Lenne, 1996; Finckh *et al.*, 2000; Nugugi *et al.*, 2001; Wilson *et al.*, 2001; Mundt, 2002; Leung *et al.* 2003).

Portanto, ao analisarmos os genótipos de conilon utilizados neste trabalho, podemos observar que os genótipos 6V e 7V foram classificados como MS ou S às três raças de *H. vastatrix*. Então no campo seria recomendado que estas plantas ficassem fisicamente mais distantes umas das outras, intercalando-as, por exemplo, com os genótipos 3V e 5V que foram agrupadas como R ou MR para as três raças de *H. vastatrix* avaliadas.

## 5-REFERÊNCIAS

- Angelotti F, Scapin CR, Tessmann DJ, Vida JB, Vieira RA, Souto ERD, 2008. Resistência de genótipos de videira à ferrugem. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* **43**, 1129-34.
- Assmann AP, Citadin I, Santos I, Wagner Júnior A, 2010. Reação de genótipos de pessegueiro à ferrugem-da-folha. *Pesq. agropec. bras.* **45**, 32-40.
- Berger RD, Bergamim Filho A, Amorim L, 1997. Lesion expansion as an epidemic component. *Phytopathology* **87**, 1005-13.
- Bettencourt AJ, Rodrigues CJ, 1988. Principles and practice of coffee breeding for resistance to rust and other diseases. In: Clarke RJ, Macrae R, eds. *Coffee Agronomy*. London: Elsevier. 199-235
- Brito GG, Caixeta ET, Gallina AP, Zambolim EM, Zambolim L, Diola V, Loureiro ME, 2010. Inheritance of coffee leaf rust resistance and identification of AFLP markers linked to the resistance gene. *Euphytica* **173**, 255-64.
- Cabral PGC, Maciel-Zambolim E, Zambolim L, Lelis TP, Capucho AS, Caixeta ET, 2009. Identification of a new race of *Hemileia vastatrix* in Brazil. *Australasian Plant Disease Notes* **4**, 129-30.
- Camargo LEA, 2011. Controle genético. pp.729-760. In: Amorim L, Rezende JAM, Bergamin Filho A, eds. *Manual de fitopatologia - princípios e conceitos*. São Paulo, Ceres. 325-41.
- Capucho AS, Caixeta ET, Maciel-Zambolim E, Zambolim L, 2009. Herança da resistência do Híbrido de Timor UFV 443-03 à ferrugem-do-cafeeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* **44**, 276-82.
- Capucho AS, Zambolim L, Duarte HSS, Vaz GRO, 2011. Development and validation of a standard area diagram set to estimate severity of leaf rust in *Coffea arabica* and *C. canephora*. *Plant Pathology Online* [<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3059.2011.02472.x>].
- Chin KM, Wolfe MS, 1984. The spread of *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* in mixtures of barley varieties. *Plant Pathol.* **33**, 89-100.

- Cruz CD, 1990. *Aplicação de algumas técnicas multivariadas no melhoramento de plantas*. Piracicaba, Brasil: Universidade de São Paulo - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, PhD thesis.
- Diola V, Brito GG, Caixeta ET, Zamboli EM, Sakiyama NS, Loureiro ME, 2011. High-density genetic mapping for coffee leaf rust resistance. *Tree Genetics & Genomes* on-line [DOI 10.1007/s11295-011-0406-2].
- Eskes AB, 1982. The use of leaf disk inoculations in assessing resistance to coffee leaf rust (*Hemileia vastatrix*). *Netherlands Journal of Plant Pathology* **88**, 127-41.
- Eskes AB, Costa WM, 1983. Characterization of incomplete resistance to *Hemileia vastatrix* in the Icatu coffee population. *Euphytica* **32**, 649-57.
- Eskes AB, 1983. Characterization of incomplete resistance to *Hemileia vastatrix* in *Coffea canephora* cv. Kouillou. *Euphytica* **32**, 639-48.
- Faleiro FG, Vinhadelli WS, Ragagnin VA, Stavely JR, Moreira MA, Barros EG, 2001. Resistência de linhagens de feijoeiro a quatro raças de *Uromyces appendiculatus* isoladas em Minas Gerais, Brasil. *Fitopatologia brasileira* **26**, 77-80.
- Ferrão RG, Fonseca AFA, Bragança SM, Ferrão MAG, Muner LH, eds, 2007. *Café Conilon*. Vitória, Brasil: Incaper.
- Finckh MR, Gacek ES, Goyeau H, Lannou C, Merz U, Mundt CC, Munk L, Nadziak J, Newton AC, Vallavieille-Pope C, Wolfe MS, 2000. Cereal variety and species mixtures in practice. *Agronomie* **20**, 813-37.
- Griffiths HM, Jones DG, 1987. Components of partial resistance as criteria for identifying resistance. *Annals of Applied Biology* **110**, 603-10.
- Hansen EM, Hamm PB, 1983. Morphological differentiation of host-specialized groups of *Phytophthora megasperma*. *Phytopathology* **73**, 129-34.
- Koga LJ, Canteri MG, Calvo ÉS, Unfried JR, Garcia A, Harada A, Kiihl RAS, 2008. Análise multivariada dos componentes da resistência à ferrugem-asiática em genótipos de soja. *Pesq. agropec. bras.* **43**, 1277-86.
- Leguizamón-Caycedo J, Orozco-Gallego L, Gómez-Gómez L, 1998. Períodos de incubación (PI) y de latência (PL) de La roya Del cafeto em La zona cafetera central de Colombia. *Cenicafé* **49**, 325-39.
- Leung H, Zhu Y, Revilla-Molina I, Fan JX, Chen H, Pangga I, Cruz CV, Mew TW, 2003. Using genetic diversity to achieve sustainable rice disease management. *Plant Disease* **87**, 1156-69.



- Liberato JR, Cruz CD, Vale FXR, Zambolim L, 1995. Técnicas estatísticas de análise multivariada aplicada a fitopatologia - I. Análise de componentes principais, análise canônica e "cluster análise". In: Luz WC, ed. *Revisão Anual de Patologia de Plantas*. 227-81.
- Manly BFJ, 1986. *Multivariate statistical methods: A primer*. London: Chapman and Hall.
- McDonald BA, Linde C, 2002. Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance. *Annu Rev Phytopathol.* **40**, 349-79.
- Mundt CC, 2002. Use of multiline cultivars and cultivar mixtures for diseasemanagement. *Annual Review of Phytopathology* **40**, 381-410.
- Nascimento NP, Maciel-Zambolim E, Haddad F, Zambolim L, Caixeta ET, 2010. Identificação de clones de cafeeiro para a caracterização de raças fisiológicas de *Hemileia vastatrix*. *Proceedings of the Simpósio de Integração Acadêmica*, 2010. Viçosa, Brazil: Universidade Federal de Viçosa. 1548.
- Nugugi HK, King SB, Holt J, Julian AM, 2001. Simultaneous temporal progress of sorghum anthracnose and leaf blight in crop mixtures with disparate patterns. *Phytopathology* **91**, 720-9.
- Parlevliet JE, 1979. Components of resistance that reduce the rate of epidemic development. *Annual Review of Phytopathology* **17**, 203-22.
- Pedrosa RA, Maffia LA, Mizubuti ESG, Bromonschenkel SH, 2004. Componentes de resistência em cebola a *Colletotrichum gloeosporioides*. *Fitopatologia Brasileira* **29**, 606-13.
- Ribeiro Júnior JI, 2001. *Análises estatísticas no SAEG*. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa.
- Salustiano ME, Pozza EA, Ferraz Filho AC, Souza PE, 2007. Expansão da pústula da ferrugem em três cultivares de cafeeiro. *Fitopatologia brasileira* **32**, 146-49.
- Santos JA, Juliatti FC, Santos VA, Polizel AC, Juliatti FC, Hamawaki OT, 2007. Caracteres epidemiológicos e uso da análise de agrupamento para resistência parcial à ferrugem da soja. *Pesq. agropec. bras.* **42**, 443-7.
- Silva DG, Zambolim L, Sakiyama NS, Pereira AA, Fonseca AFA, Vale FXR, 2000. Identificação de raças de *Hemileia vastatrix* no estado do Espírito Santo. *Proceedings of the Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil*, 187-91.
- Smithson JB, Lenne JM, 1996. Varietal mixtures: A viable strategy for sustainable productivity in subsistence agriculture. *Ann. Appl. Biol.* **128**, 127-58.

- Vale FXR, Fernandes Filho EI, Liberato JR, 2003. QUANT: A software plant disease severity assessment. *Proceedings of the 8th International Congress of Plant Pathology*, New Zealand, 105.
- Várzea VMP, Marques DV, 2005. Population variability of *Hemileia vastatrix* vs. coffee durable resistance. In: Zambolim L, Maciel-Zambolim E, Várzea VMP, eds. *Durable Resistance to Coffee Leaf Rust*. Viçosa, Brazil: Universidade Federal de Viçosa. 53-74.
- Waller JM, Bigger M, Hillocks RJ, 2007. *Coffee pests, diseases and their management*. Oxfordshire: CAB International.
- Wilson JP, Gates RN, Panwar MS, 2001. Dynamic Multiline Population Approach to Resistance Gene Management. *Phytopathology* **91**, 255-60.
- Wolfe MS, 1985. The Current Status and Prospects of Multiline Cultivars and Variety Mixtures for Disease Resistance. *Annual Review of Phytopathology* **23**, 251-73.
- Zambolim L, Chaves GM, 1974. Efeito de baixas temperaturas e do binômio temperatura-umidade relativa sobre a viabilidade dos uredosporos de *Hemileia vastatrix* e *Uromyces phaseolityca*. *Experientiae* **17**, 151-84.
- Zambolim L, Vale FXR, Pereira AA, Chaves GM, 1999. Manejo integrado das doenças do cafeeiro. In: Zambolim L, ed. *Produção de café com qualidade*. Viçosa, Brasil: Universidade Federal de Viçosa. 134-215.
- Zambolim L, 2009. *Tecnologia para produção do café conilon*. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa.
- Zhu Y, Chen H, Fan J, Wang Y, Li Y, Chen J, Fan J, Yang S, Hu L, Leung H, Mew TW, Teng PS, Wang Z, Mundt CC, 2003. Genetic diversity and disease control in rice. *Nature* **406**, 718-22.

## 6-TABELAS

**Tabela 1** Raça fisiológica de *Hemileia vastatrix* caracterizadas e utilizadas no estudo com os respectivos genes de virulência do patógeno e de resistência do hospedeiro.

Raça identificada	Genes do patógeno	Genes do hospedeiro																	
		S <sub>H 5</sub>	S <sub>H 6,?</sub>	S <sub>H 1</sub>	S <sub>H 1,2,4,5</sub>	S <sub>H 2,3,4,5</sub>	S <sub>H 6</sub>	S <sub>H 1,4</sub>	S <sub>H 1,5</sub>	S <sub>H 2,4,5</sub>	S <sub>H 2,5</sub>	S <sub>H 3,5</sub>	S <sub>H 4,5</sub>	S <sub>H 1,2,5</sub>	S <sub>H 1,3,5</sub>	S <sub>H 1,4,5</sub>	S <sub>H ?</sub>	S <sub>H 5,6,9</sub>	S <sub>H 5,6,7,9</sub>
		Coffea spp. e seus grupos fisiológicos																	
		Bourbon	832/1	128/2	HW 17/12	H 147/1	1343/269	134/4	87/1	H 152/3	32/1	33/1	110/5	1006/10	H 153/2	635/3	644/18	H 419/20	H 420/10
	E	A	α	O	T	R	I	C	Y	D	G	J	L	Z	W	M	3	1	
I	V 2,5	S*	--	--	--	--	--	--	--	S	--	--	--	--	--	--	--	--	--
II	V 5	S	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
XXXIII**	V 5,7 ou V 5,7,9	S	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Legenda: \* S hospedeiro suscetível (presença de uredosporos da ferrugem). -- hospedeiro resistente (ausência de uredosporos da ferrugem). \*\* Não é possível caracterizar essa raça com os diferenciadores de raças presentes no Brasil. A caracterização foi confirmada no CIFC, Oeiras, Portugal com diferenciadores de raças adicionais (Nascimento *et al.*, 2010).

**Tabela 2** Variáveis respostas coletadas nos 13 clones do Conilon Vitória Incaper 8142 e no Catuaí Vermelho IAC 44 inoculados com o isolado de São Gabriel da Palha-ES, pertencente à raça I de *Hemileia vastatrix*.

Trat.	Y1*	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6	Y7	Y8	Y9	Y10	Y11
<b>1V</b>	14,0	25,7	1,7x10 <sup>4</sup>	16,2	1,2 x10 <sup>3</sup>	1,9	2,2 x10 <sup>4</sup>	29,0	15,7	284,0	1,1
<b>2V</b>	13,0	23,7	7,8 x10 <sup>5</sup>	50,4	1,4 x10 <sup>4</sup>	21,2	5,1 x10 <sup>4</sup>	52,7	15,4	673,0	2,2
<b>3V</b>	17,7	----	0,00	1,5	0,00	0,0	0,00	3,5	0,0	0,0	0,2
<b>4V</b>	13,0	24,7	5,0 x10 <sup>5</sup>	55,7	1,2 x10 <sup>4</sup>	5,6	1,1 x10 <sup>5</sup>	32,3	16,6	599,0	3,3
<b>5V</b>	14,0	----	0,00	10,9	0,00	0,0	0,00	12,2	0,0	0,0	0,2
<b>6V</b>	12,3	23,7	2,7 x10 <sup>6</sup>	97,0	2,1 x10 <sup>4</sup>	43,6	4,1 x10 <sup>4</sup>	40,7	4,5	395,3	5,2
<b>7V</b>	12,3	22,0	3,2 x10 <sup>6</sup>	78,7	4,1 x10 <sup>4</sup>	35,5	8,4 x10 <sup>4</sup>	56,0	6,6	525,3	4,0
<b>8V</b>	16,0	25,0	3,3 x10 <sup>3</sup>	5,9	4,5 x10 <sup>2</sup>	0,2	7,1 x10 <sup>3</sup>	11,3	4,2	31,0	0,1
<b>9V</b>	12,3	29,0	4,0 x10 <sup>3</sup>	7,9	6,0 x10 <sup>2</sup>	0,1	1,4 x10 <sup>4</sup>	10,3	5,4	54,7	0,1
<b>10V</b>	13,0	22,3	5,9 x10 <sup>5</sup>	50,9	1,2 x10 <sup>4</sup>	9,9	6,5 x10 <sup>5</sup>	38,0	11,1	501,3	2,8
<b>11V</b>	13,0	20,0	1,1 x10 <sup>7</sup>	98,9	1,1 x10 <sup>5</sup>	74,8	1,6 x10 <sup>5</sup>	57,7	5,1	412,3	4,5
<b>12V</b>	11,7	22,0	5,9 x10 <sup>6</sup>	55,1	1,0 x10 <sup>5</sup>	39,6	1,7 x10 <sup>5</sup>	42,3	4,2	226,7	2,9
<b>13V</b>	13,0	24,0	6,4 x10 <sup>5</sup>	49,5	1,1 x10 <sup>4</sup>	11,2	6,5 x10 <sup>4</sup>	34,0	2,5	130,7	2,5
<b>Catuaí</b>	13,0	24,5	3,0 x10 <sup>5</sup>	14,3	1,5 x10 <sup>4</sup>	2,2	1,0 x10 <sup>5</sup>	13,5	12,3	219,3	0,8

Legenda: \* Y<sub>1</sub> = período de incubação, Y<sub>2</sub> = período latente, Y<sub>3</sub> = produção de uredosporos , Y<sub>4</sub> = área foliar lesionada, Y<sub>5</sub> = produção de uredosporos por área foliar lesionada, Y<sub>6</sub> = área foliar esporulada, Y<sub>7</sub> = produção de uredosporos por área foliar esporulada, Y<sub>8</sub> = severidade com escala, Y<sub>9</sub> = freqüência de infecção, Y<sub>10</sub> = número total de pústulas, Y<sub>11</sub> = taxa de expansão das lesões, ---- = a ferrugem não esporulou nesses genótipos.

**Tabela 3** Variáveis respostas coletadas nos 13 clones do Conilon Vitória Incaper 8142 e no Catuaí Vermelho IAC 44 inoculados com o isolado de Rio Bananal-ES, pertencente à raça II de *Hemileia vastatrix*.

<b>Trat.</b>	<b>Y1*</b>	<b>Y2</b>	<b>Y3</b>	<b>Y4</b>	<b>Y5</b>	<b>Y6</b>	<b>Y7</b>	<b>Y8</b>	<b>Y9</b>	<b>Y10</b>	<b>Y11</b>
<b>1V</b>	21,3	----	0,00	0,4	0,0	0,0	0,0	0,6	0,0	0,0	0,1
<b>2V</b>	19,0	----	0,00	1,4	0,0	0,0	0,0	2,1	0,0	0,0	0,1
<b>3V</b>	20,0	----	0,00	0,2	0,0	0,0	0,0	0,6	0,0	0,0	0,1
<b>4V</b>	22,7	----	0,00	0,3	0,0	0,0	0,0	0,5	0,0	0,0	0,1
<b>5V</b>	13,0	22,7	4,6x10 <sup>6</sup>	77,2	4,9x10 <sup>4</sup>	57,6	5,6x10 <sup>4</sup>	51,0	4,0	308,5	4,5
<b>6V</b>	13,0	23,3	7,7x10 <sup>5</sup>	59,6	1,5x10 <sup>4</sup>	49,1	1,3x10 <sup>4</sup>	48,3	6,4	346,3	4,5
<b>7V</b>	13,1	21,7	2,0x10 <sup>5</sup>	48,6	4,6x10 <sup>3</sup>	16,3	1,2x10 <sup>4</sup>	22,7	6,1	285,7	2,5
<b>8V</b>	13,1	19,3	8,4x10 <sup>6</sup>	73,7	1,1x10 <sup>5</sup>	71,3	1,1x10 <sup>5</sup>	54,3	10,9	765,3	4,1
<b>9V</b>	13,3	19,3	6,9x10 <sup>6</sup>	59,1	1,1x10 <sup>5</sup>	54,5	1,3x10 <sup>5</sup>	51,0	2,2	126,0	3,2
<b>10V</b>	13,0	24,7	5,0x10 <sup>3</sup>	24,3	2,1x10 <sup>2</sup>	4,9	1,6x10 <sup>3</sup>	14,7	16,8	408,0	1,3
<b>11V</b>	13,1	19,7	8,3x10 <sup>6</sup>	74,3	1,1x10 <sup>5</sup>	67,5	1,2x10 <sup>5</sup>	56,7	2,7	207,3	4,3
<b>12V</b>	13,1	18,0	1,5x10 <sup>7</sup>	74,5	2,1x10 <sup>5</sup>	72,8	2,1x10 <sup>5</sup>	81,7	1,1	78,0	3,4
<b>13V</b>	13,1	18,3	1,4x10 <sup>7</sup>	82,3	1,8x10 <sup>5</sup>	74,0	1,9x10 <sup>5</sup>	61,0	2,5	195,7	4,6
<b>Catuaí</b>	13,7	20,7	4,6x10 <sup>6</sup>	31,6	1,5x10 <sup>5</sup>	29,5	1,7x10 <sup>5</sup>	53,3	12,3	327,0	1,8

Legenda: \* Y<sub>1</sub> = período de incubação, Y<sub>2</sub> = período latente, Y<sub>3</sub> = produção de uredosporos, Y<sub>4</sub> = área foliar lesionada, Y<sub>5</sub> = produção de uredosporos por área foliar lesionada, Y<sub>6</sub> = área foliar esporulada, Y<sub>7</sub> = produção de uredosporos por área foliar esporulada, Y<sub>8</sub> = severidade com escala, Y<sub>9</sub> = frequência de infecção, Y<sub>10</sub> = número total de pústulas, Y<sub>11</sub> = taxa de expansão das lesões, ---- = a ferrugem não esporulou nesses genótipos.

**Tabela 4** Variáveis respostas coletadas nos 13 clones do Conilon Vitória Incaper 8142 e no Catuaí Vermelho IAC 44 inoculados com a raça XXXIII de *Hemileia vastatrix*.

Trat.	Y1*	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6	Y7	Y8	Y9	Y10	Y11
1V	18,3	32,0	733333,3	61,0	12021,9	32,1	22881,9	24,3	0,9	15,9	959,3
2V	18,3	----	0,0	6,2	0,0	0,0	0,0	5,0	0,7	0,0	0,0
3V	23,5	----	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	1,5	0,0	0,0	0,0
4V	20,7	31,0	175000,0	33,2	5268,4	17,4	10058,5	14,5	0,7	21,9	830,0
5V	19,0	----	0,0	24,7	0,0	0,0	0,0	5,0	0,5	0,0	0,0
6V	17,7	36,3	2251250,0	90,7	24811,7	74,2	30361,8	65,0	1,8	2,1	343,0
7V	23,7	33,0	750000,0	59,6	12594,5	0,0	0,0	24,3	1,5	0,0	0,0
8V	21,3	30,0	140000,0	35,2	3982,9	28,9	4844,3	8,3	0,7	0,9	108,0
9V	19,0	41,5	182500,0	22,1	8257,9	16,5	11094,2	8,3	0,4	9,6	360,0
10V	19,0	34,0	40000,0	35,1	1141,2	7,3	5480,5	11,7	0,8	4,7	522,0
11V	22,0	41,5	365000,0	15,7	23297,9	4,3	84884,7	12,3	0,3	8,1	808,0
12V	26,0	43,0	10000,0	13,6	737,1	1,0	10000,0	16,0	1,1	23,3	518,0
13V	21,7	39,7	5000,0	17,5	285,7	3,3	1515,2	3,7	0,9	53,6	466,0
Catuaí	22,0	37,7	1083333,3	18,0	60185,2	5,5	198777,8	30,3	0,8	31,8	528,5

Legenda: \* Y<sub>1</sub> = período de incubação, Y<sub>2</sub> = período latente, Y<sub>3</sub> = produção de uredosporos , Y<sub>4</sub> = área foliar lesionada, Y<sub>5</sub> = produção de uredosporos por área foliar lesionada, Y<sub>6</sub> = área foliar esporulada, Y<sub>7</sub> = produção de uredosporos por área foliar esporulada, Y<sub>8</sub> = severidade com escala, Y<sub>9</sub> = frequência de infecção, Y<sub>10</sub> = número total de pústulas, Y<sub>11</sub> = taxa de expansão das lesões, ---- = a ferrugem não esporulou nesses genótipos.

**Tabela 5** Estimativas das correlações entre os componentes de resistência avaliados para a raça I de *Hemileia vastatrix*.

Variáveis	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6	Y7	Y8	Y9	Y10	Y11
Y1	1,000										
Y2	0,646**	1,000									
Y3	-0,350	-0,390	1,000								
Y4	-0,592*	-0,589*	0,705**	1,000							
Y5	-0,432	-0,427	0,951**	0,637**	1,000						
Y6	-0,455	-0,476	0,935**	0,875**	0,867**	1,000					
Y7	-0,583*	-0,600*	0,750**	0,619**	0,862**	0,677**	1,000				
Y8	-0,615*	-0,668**	0,648**	0,885**	0,635**	0,794**	0,628*	1,000			
Y9	-0,295	-0,505	-0,184	0,075	-0,141	-0,134	0,199	0,291	1,000		
Y10	-0,503	-0,606*	0,260	0,687**	0,252	0,434	0,454	0,800**	0,702**	1,000	
Y11	-0,589*	-0,599*	0,631**	0,985**	0,584*	0,812**	0,618*	0,859**	0,138	0,706**	1,000

Legenda: \*significativo pelo teste t (P=0,05), \*\* Significativo pelo teste t (P=0,01). Legenda: Y<sub>1</sub> = período de incubação, Y<sub>2</sub> = período latente, Y<sub>3</sub> = produção de uredosporos , Y<sub>4</sub> = área foliar lesionada, Y<sub>5</sub> = produção de uredosporos por área foliar lesionada, Y<sub>6</sub> = área foliar esporulada, Y<sub>7</sub> = produção de uredosporos por área foliar esporulada, Y<sub>8</sub> = severidade com escala, Y<sub>9</sub> = frequência de infecção, Y<sub>10</sub> = número total de pústulas, Y<sub>11</sub> = taxa de expansão das lesões.

**Tabela 6** Estimativas das correlações entre os componentes de resistência avaliados para a raça II de *Hemileia vastatrix*.

Variáveis	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6	Y7	Y8	Y9	Y10	Y11
Y1	1,000										
Y2	0,874**	1,000									
Y3	-0,529*	-0,517*	1,000								
Y4	-0,774**	-0,756**	0,760**	1,000							
Y5	-0,541*	-0,522*	0,887**	0,596**	1,000						
Y6	-0,696**	-0,667**	0,769**	0,968**	0,584*	1,000					
Y7	-0,402	-0,408	0,485	0,239	0,807**	0,170	1,000				
Y8	-0,835**	-0,810**	0,752**	0,897**	0,765**	0,835**	0,531*	1,000			
Y9	-0,258	-0,334	0,069	-0,001	0,442	-0,083	0,783**	0,285	1,000		
Y10	-0,742**	-0,725**	0,752**	0,800**	0,735**	0,718**	0,478	0,837**	0,328	1,000	
Y11	-0,776**	-0,747**	0,713**	0,993**	0,545*	0,961**	0,205	0,886**	-0,040	0,754**	1,000

Legenda: \*significativo pelo teste t (P=0,05), \*\* Significativo pelo teste t (P=0,01). Legenda: Y<sub>1</sub> = período de incubação, Y<sub>2</sub> = período latente, Y<sub>3</sub> = produção de uredosporos , Y<sub>4</sub> = área foliar lesionada, Y<sub>5</sub> = produção de uredosporos por área foliar lesionada, Y<sub>6</sub> = área foliar esporulada, Y<sub>7</sub> = produção de uredosporos por área foliar esporulada, Y<sub>8</sub> = severidade com escala, Y<sub>9</sub> = frequência de infecção, Y<sub>10</sub> = número total de pústulas, Y<sub>11</sub> = taxa de expansão das lesões.



**Tabela 7** Estimativas das correlações entre os componentes de resistência avaliados para a raça XXXIII de *Hemileia vastatrix*.

Variáveis	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6	Y7	Y8	Y9	Y10	Y11
Y1	1,000										
Y2	0,063	1,000									
Y3	-0,277	-0,344	1,000								
Y4	-0,398	-0,626*	0,779**	1,000							
Y5	0,014	-0,228	0,651**	0,193	1,000						
Y6	-0,510*	-0,454	0,773**	0,799**	0,213	1,000					
Y7	0,108	-0,094	0,405	-0,091	0,947**	-0,012	1,000				
Y8	-0,232	-0,394	0,972**	0,809**	0,574	0,784	0,334	1,000			
Y9	0,261	-0,162	-0,079	-0,210	0,210	-0,158	0,310	-0,062	1,000		
Y10	-0,071	-0,477	0,134	0,154	0,284	0,202	0,340	0,199	0,494	1,000	
Y11	-0,072	-0,459	0,705**	0,796**	0,214	0,550*	-0,024	0,792**	0,044	0,018	1,000

Legenda: \*significativo pelo teste  $t$  ( $P=0,05$ ), \*\* Significativo pelo teste  $t$  ( $P=0,01$ ). Legenda: Y<sub>1</sub> = período de incubação, Y<sub>2</sub> = período latente, Y<sub>3</sub> = produção de uredosporos , Y<sub>4</sub> = área foliar lesionada, Y<sub>5</sub> = produção de uredosporos por área foliar lesionada, Y<sub>6</sub> = área foliar esporulada, Y<sub>7</sub> = produção de uredosporos por área foliar esporulada, Y<sub>8</sub> = severidade com escala, Y<sub>9</sub> = frequência de infecção, Y<sub>10</sub> = número total de pústulas, Y<sub>11</sub> = taxa de expansão das lesões.

**Tabela 8** Frequência de intervalos de correlações significativas entre os componentes de resistência avaliados nos experimentos para as raças I, II e XXXIII de *Hemileia vastatrix*.

Intervalo de correlação	Frequencia (%)*
<b>Raça I</b>	
0,50 - 0,59	17,14
0,60 - 0,69	40,00
0,70 - 0,79	14,29
0,80 - 0,89	20,00
0,90 - 1,00	8,57
<b>Raça II</b>	
0,50 - 0,59	20,51
0,60 - 0,69	5,13
0,70 - 0,79	41,03
0,80 - 0,89	25,64
0,90 - 1,00	7,69
<b>Raça XXXIII</b>	
0,50 - 0,59	15,38
0,60 - 0,69	15,38
0,70 - 0,79	46,17
0,80 - 0,89	7,69
0,90 - 1,00	15,38

Legenda: \* calculada considerando o número de ocorrências do intervalo em relação ao total de 35, 39 e 13 correlações significativas a 1 e 5% de probabilidade para as raças I, II e XXXIII de *Hemileia vastatrix*, respectivamente.

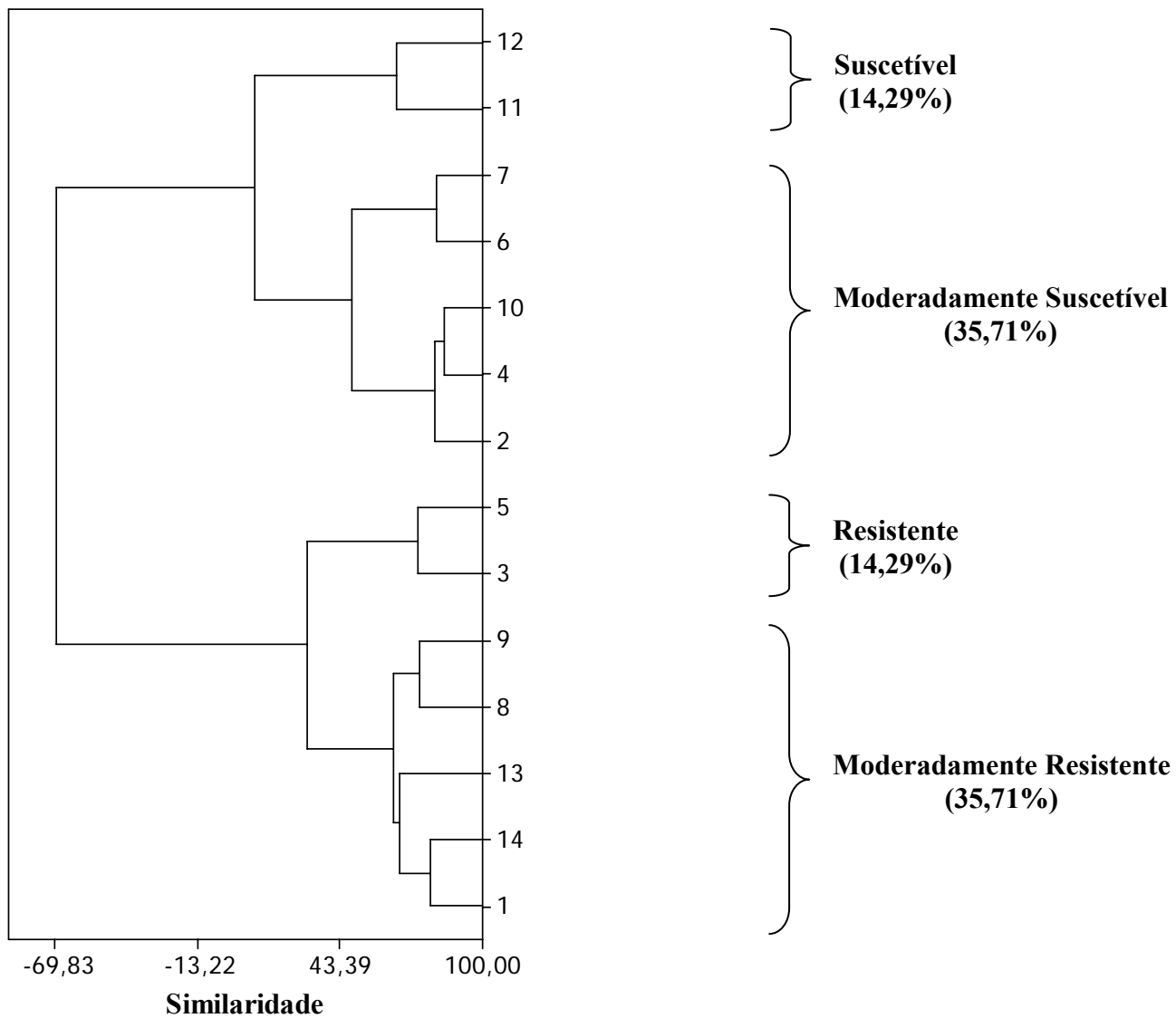
**Tabela 9** Valores médios dos componentes de resistência para cada níveis de classificação de resistência e para a média total quando inoculados com às raças I, II e XXXIII de *Hemileia vastatrix*.

Nível de resistência	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6	Y7	Y8	Y9	Y10	Y11
<i>Raça I de Hemileia vastatrix</i>											
<b>R</b>	15,84	----	0,00	6,20	0,00	0,00	0,00	7,84	0,00	0,00	0,17
<b>MR</b>	13,83	25,92	165166,75	19,91	3417,25	3,36	27294,00	21,17	6,97	125,09	0,94
<b>MS</b>	12,73	23,27	1555000,00	66,55	20126,40	23,15	69998,80	43,93	10,84	538,80	3,50
<b>S</b>	12,34	21,00	8700000,00	77,02	108231,00	57,21	167841,50	50,00	4,63	319,50	3,71
<b>Média</b>	13,68b	23,40b	2605041,69a	42,42a	32943,66b	20,93a	66283,58b	30,73a	5,61a	245,85a	2,08a
<i>Raça II de Hemileia vastatrix</i>											
<b>R</b>	28,00	34,00	7666,67	1,02	2610,00	0,09	40740,67	1,56	4,26	14,78	0,07
<b>MR</b>	21,11	25,83	655555,67	17,45	16004,00	12,15	19539,67	11,78	2,51	81,11	2,03
<b>MS</b>	18,67	24,84	1515833,50	26,60	69894,00	13,70	188749,00	18,34	10,68	223,17	3,12
<b>S</b>	18,40	22,87	7136666,80	44,22	173097,00	34,69	233902,40	27,40	6,54	227,13	5,05
<b>Média</b>	21,55a	26,88b	328930,66a	22,32b	65401,25a	15,16a	120732,93a	14,77b	6,00a	136,55b	2,57a
<i>Raça XXXIII de Hemileia vastatrix</i>											
<b>R</b>	21,25	38,89	9166,67	16,17	360,67	1,93	2832,43	7,14	13,60	251,00	0,66
<b>MR</b>	20,75	36,00	215625,00	26,53	10201,79	16,76	27719,93	10,88	10,10	526,50	0,51
<b>MS</b>	21,00	32,50	741666,67	60,28	12308,16	16,03	11440,46	24,33	7,95	479,67	1,22
<b>S</b>	17,67	36,33	2251250,00	90,73	24811,72	74,15	30360,76	65,00	2,09	343,00	1,84
<b>Média</b>	20,17a	35,93a	804427,08b	48,43a	11920,59b	27,22a	18088,39b	26,84b	8,44a	400,04a	1,06b

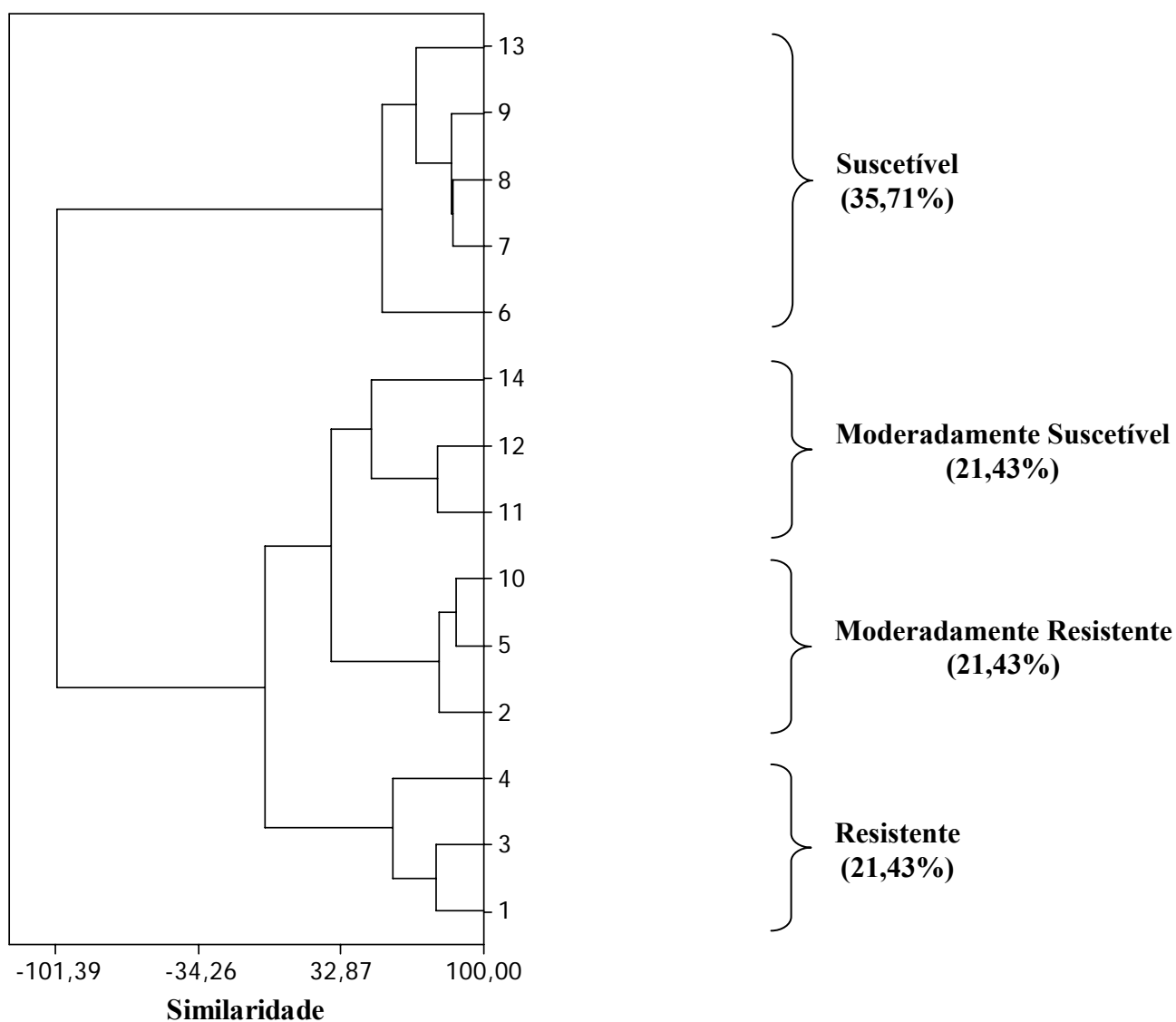
Legenda: Y<sub>1</sub> = período de incubação, Y<sub>2</sub> = período latente, Y<sub>3</sub> = produção de uredosporos, Y<sub>4</sub> = área foliar lesionada, Y<sub>5</sub> = produção de uredosporos por área foliar lesionada, Y<sub>6</sub> = área foliar esporulada, Y<sub>7</sub> = produção de uredosporos por área foliar esporulada, Y<sub>8</sub> = severidade com

escala,  $Y_9$  = frequência de infecção,  $Y_{10}$  = número total de pústulas,  $Y_{11}$  = taxa de expansão das lesões. R = resistente, MR = Moderadamente resistente, MS = moderadamente suscetível e S = suscetível. Letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ( $P=0,05$ ).

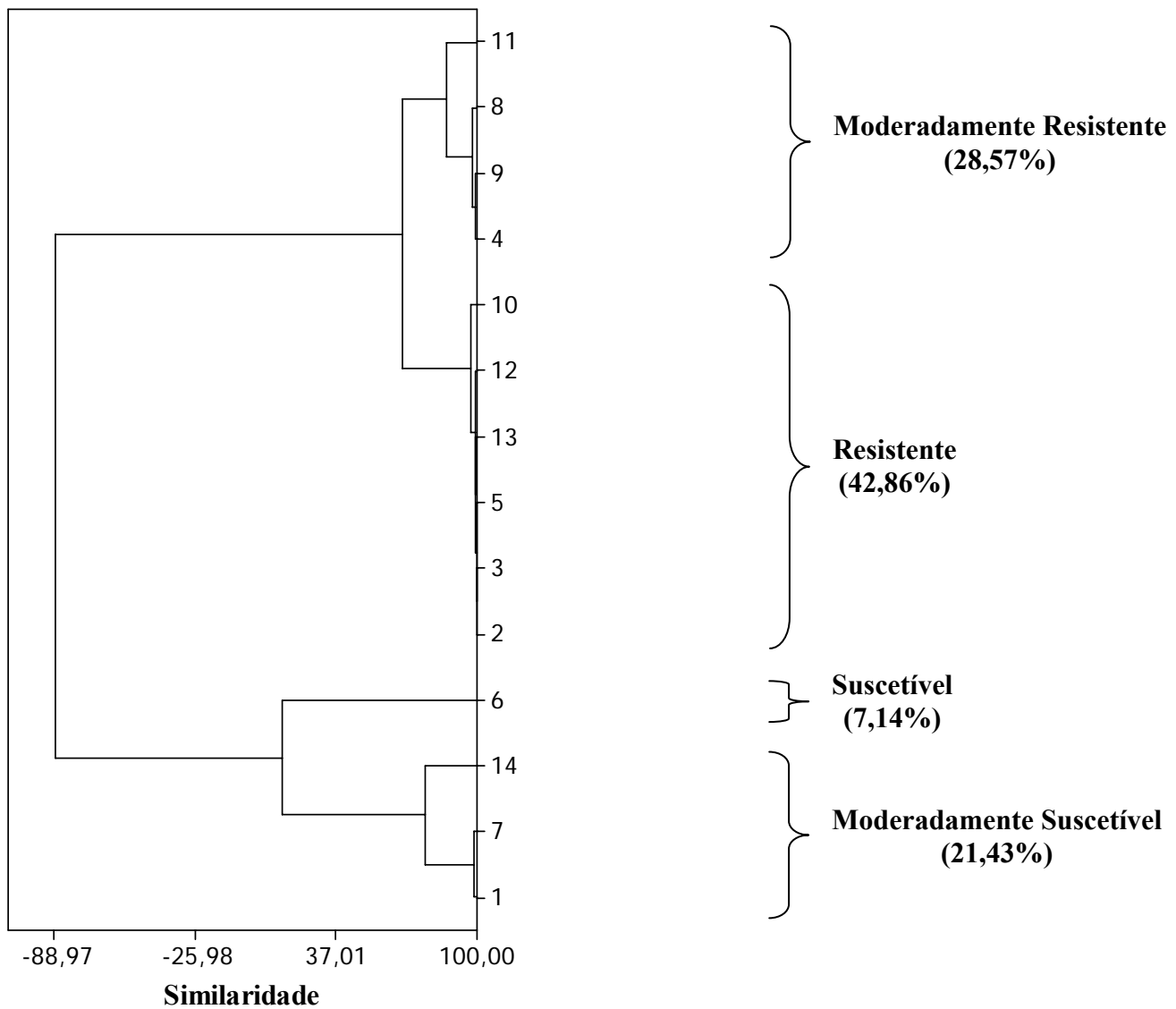
## 7-FIGURAS



**Figura 1** Dendrograma dos genótipos de cafeeiros agrupados em níveis de resistência à raça I de *Hemileia vastatrix* obtidos com a medida de dissimilaridade “distância de Pearson” e métodos de ligação de Ward. Legenda: Os genótipos de 1 a 13 no dendrograma correspondem aos genótipos de 1V a 13V da variedade clonal de *Coffea canephora* Conilon Vitória Incaper 8142. O genótipo 14 no dendrograma corresponde à variedade de *C. arabica* Catuaí Vermelho IAC 144.



**Figura 2** Dendrograma dos genótipos de cafeeiros agrupados em níveis de resistência à raça II de *Hemileia vastatrix* obtidos com a medida de dissimilaridade “distância de Pearson” e métodos de ligação de Ward. Legenda: Os genótipos de 1 a 13 no dendrograma correspondem aos genótipos de 1V a 13V da variedade clonal de *Coffea canephora* Conilon Vitória Incaper 8142. O genótipo 14 no dendrograma corresponde à variedade de *C. arabica* Catuai Vermelho IAC 144.



**Figura 3** Dendrograma dos genótipos de cafeeiros agrupados em níveis de resistência à raça XXXIII de *Hemileia vastatrix* obtidos com a medida de dissimilaridade “distância de Pearson” e métodos de ligação de Ward. Legenda: Os genótipos de 1 a 13 no dendrograma correspondem aos genótipos de 1V a 13V da variedade clonal de *Coffea canephora* Conilon Vitória Incaper 8142. O genótipo 14 no dendrograma corresponde à variedade de *C. arabica* Catuai Vermelho IAC 144.

**CAPÍTULO 4 - APLICAÇÃO DE TRIAZÓIS E ESTROBILURINAS NO  
CONTROLE DA FERRUGEM NO CAFEIRO CONILON**



## 1-INTRODUÇÃO

No Brasil os danos e perdas causadas pela ferrugem do cafeeiro não foram conclusivamente determinados, não somente em café conilon como também em arábica. No Brasil, acredita-se que as perdas causadas por esta doença em cafeeiro arábica estejam na ordem de 10-20% do valor da produção (Kushalappa & Eskes, 1989). Os danos em cafeeiro arábica estão estimados na ordem de 35-50% da produção, dependendo do manejo adotado na lavoura (Zambolim *et al.*, 1999). Os principais danos causados pela ferrugem é função da queda precoce das folhas e seca dos ramos que, em consequência, reduz a produção de grãos no ano seguinte. Nos relatos sobre os danos causados pela ferrugem, existe correlação negativa entre a intensidade da doença em um ano e a produção de grãos do ano seguinte (Zambolim *et al.*, 1999).

O estudo epidemiológico da ferrugem no cafeeiro conilon possibilitará não somente quantificar os danos causados por esta doença, como também, por meio do monitoramento das variáveis meteorológicas, identificar períodos mais favoráveis à doença, compreender a dinâmica da doença ao longo do tempo e estabelecer o momento mais apropriado para a aplicação de fungicidas, definindo melhor as estratégias de controle a serem empregadas nesse patossistema. A partir de então, poderá ser definido quando as pulverizações devem ser iniciadas, a que intervalo ou, ainda, se devem ser feitas com a mesma frequência em todas as épocas do ano (Campbell & Madden, 1990).

A medida mais utilizada de manejo, dentre as disponíveis para o controle da ferrugem, é a aplicação de fungicidas. Os fungicidas protetores, principalmente os cúpricos, e os sistêmicos podem ser utilizados para o controle da doença (Ventura *et al.*, 2007; Zambolim, 2009).

Os grupos de produtos sistêmicos mais utilizados e que tem apresentado maior eficiência no controle da ferrugem no cafeeiro arábica são dos grupos dos triazóis e estrobilurinas, geralmente aplicados em associação (Zambolim, 2009). Porém no cafeeiro conilon esta informação é escassa, apesar de se acreditar que estes grupos de produtos também apresentarão os melhores resultados no controle da doença neste cafeeiro.

Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, existem 105 produtos químicos (protetores e sistêmicos) com registro no Sistema de Agrotóxicos

Fitossanitários (Agrofit) colocados à disposição dos produtores para o controle da ferrugem do cafeeiro (Mapa, 2011). Desse total, 62,8% são produtos constituídos em sua formulação por um triazol e/ou uma estrobilurina e ao considerarmos somente produtos sistêmicos esse valor sobe para 95,6% dos produtos registrados no país.

Em virtude do pouco conhecimento do comportamento da ferrugem no cafeeiro conilon não se sabe a época das aplicações e o número de pulverizações para conter o progresso epidêmico da doença no campo (Zambolim, 2009).

Considerando que o uso de fungicidas na agricultura onera os custos de produção, pode intoxicar os aplicadores, aumentar os riscos da presença de resíduos nos produtos e selecionar isolados do fungo resistentes aos fungicidas aplicados, torna-se necessário estabelecer condições que otimizem o uso destes produtos nas lavouras.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência de diferentes produtos fitossanitários do grupo dos triazóis aplicados via solo com ou sem complementação foliar com fungicidas triazóis e/ou estrobilurinas para o controle da ferrugem no cafeeiro conilon. Um segundo objetivo foi estimar o dano causado por esta doença nesse cafeeiro.

## **2-MATERIAL E MÉTODOS**

Em novembro de 2008 foi instalado um experimento em uma lavoura de café conilon com quatro anos de idade, localizada no município de Jaguaré-ES, Brasil (altitude 75m, latitude 18°54,360', longitude 40°08,012'). A lavoura foi formada por quatro linhas do clone 02 intercaladas por uma linha do clone G35, no espaçamento 3,40 x 1,70 m, com irrigação do tipo gotejamento. O clone G35 é usado como polinizador do clone 02, já que *C. canephora* é uma espécie de polinização cruzada e autoincompatível (Conagin & Mendes, 1961). O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso com oito tratamentos e quatro repetições. Cada unidade experimental foi composta por 10 plantas.

Os tratamentos fitossanitários foram compostos por pulverizações com produtos triazóis via solo com ou sem complementação foliar com triazóis ou estrobilurinas seguindo um calendário. A data de aplicação, as doses, a classe química e o nome comercial de cada produto utilizado encontram-se na Tabela 1. Os meses para as aplicações dos tratamentos foram baseados naqueles que os produtores da região norte do Espírito Santo estão realizando, pois não existem trabalhos com o controle químico

via solo da ferrugem no cafeeiro conilon e, também, não se conhece a curva epidemiológica da doença na região. Assim, este trabalho também discute sobre a possibilidade de extrapolar os conhecimentos já desenvolvidos sobre o controle químico da interação *C. arabica* vs. *Hemileia vastatrix* para a interação *C. canephora* vs. *Hemileia vastatrix*.

As aplicações de defensivos via solo foram realizadas no mês de novembro de cada ano, pois, para terem maior efeito, essas aplicações devem acompanhar a época chuvosa na região, que geralmente se inicia no mês de outubro/novembro de cada ano. Para as aplicações dos defensivos, foi utilizado um pulverizador do tipo *drench* calibrado para aplicar 50mL de calda fungicida. Esta pulverização foi realizada em dois lados de cada planta das parcelas, na projeção da copa, de forma que fossem aplicados um total de 100mL da calda por planta. Já as pulverizações foliares foram realizadas no mês de julho de cada ano com o auxílio de um pulverizador costal motorizado calibrado para uma vazão de 400L/ha.

A cada 30 dias foram realizadas amostragens destrutivas constituídas de 50 folhas por parcela, sendo as mesmas coletadas no terceiro ou quarto par dos ramos produtivos em quatro lados das plantas.

A avaliação da incidência da doença foi realizada por meio da contagem do número de folhas com pústulas de ferrugem. A severidade foi avaliada, a partir de janeiro de 2010, pela estimativa da área foliar lesionada com o auxílio da escala diagramática desenvolvida no Capítulo 2 desta tese (Capucho *et al.*, 2011).

Com os dados obtidos foram traçadas as curvas de progresso da incidência da doença e calculada a área abaixo da curva de progresso da incidência ( $AACPD_{inc}$ ) e da severidade da ferrugem ( $AACPD_{sev}$ ) para cada parcela experimental. A produtividade, convertida em sacas de 60Kg de café beneficiadas/ha, também foi quantificada para cada parcela nos anos de condução do experimento.

Para avaliar os diferentes tratamentos fungicidas, os dados de  $AACPD_{inc}$ ,  $AACPD_{sev}$  e da produtividade foram analisados pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade, usando o programa SAEG 9.1 (Ribeiro Jr., 2001). Os gráficos foram obtidos com o programa SigmaPlot 10.

### **3-RESULTADOS E DISCUSSÃO**

O clima durante a condução do experimento apresentou vários meses favoráveis à ferrugem, fato esse comprovado com a análise da favorabilidade do clima com as funções discriminantes desenvolvidas no Capítulo 1 desta tese. No ano de 2009 ocorreram chuvas bem distribuídas com temperaturas próximas ao ideal para a ferrugem no cafeeiro conilon e uma pequena amplitude térmica, o que favoreceu ainda mais a infecção do hospedeiro pelo patógeno (Figura 1). O ano de 2010 foi atípico em virtude da grande seca ocorrida no início deste ano, notadamente nos meses de janeiro a abril, mesmo assim, ao decorrer do ano, ocorreram meses com clima favorável à doença (Figura 1). Portanto, ao analisar os dados de clima e os resultados da função discriminante de favorabilidade pode-se concluir que os meses de maio a agosto de 2009 e os meses de maio a outubro de 2010 foram os mais favoráveis à infecção do cafeeiro conilon pela ferrugem. Estes meses coincidem com o período de inverno no Brasil, caracterizado, no norte do Espírito Santo, por temperaturas amenas (20-24°C) com pouca chuva (<50mm), que, normalmente, também são a época e condições ambientais mais favoráveis à infecção da ferrugem no cafeeiro arábica no Estado de Minas Gerais (Silva-Acuña, 1985; Kushalappa & Eskes, 1989; Chalfoun *et al.*, 1999; Zambolim *et al.*, 1999).

A dinâmica da epidemia da ferrugem no cafeeiro conilon foi semelhante entre os tratamentos. A intensidade da ferrugem e o mês que ocorreu o pico da doença foram diferentes entre as duas epidemias que ocorreram durante a condução do experimento.

Na primeira epidemia, o pico da incidência da doença ocorreu no mês de julho de 2009, mesmo mês da atomização das plantas dos tratamentos com pulverização foliar (Tratamentos T5 a T8). Nesse período, em que as plantas desses tratamentos foram pulverizadas, o clima estava muito favorável à ferrugem.

Em virtude de um clima desfavorável que durou oito meses, entre agosto de 2009 à abril de 2010, houve um atraso no início da segunda epidemia da doença, que iniciou com baixas taxas a partir de maio de 2010 (Figura 2). Este fato também contribuiu para uma ineficiência das aplicações via solo realizadas em novembro de 2010 para conter a segunda epidemia da doença no experimento.

Observando a segunda epidemia a partir de outubro de 2010 o clima tornou-se a ficar desfavorável à ferrugem e impediu que a doença na segunda epidemia alcançasse grandes taxas de incidência, sendo 50% o seu valor máximo, atingido pela testemunha, bem abaixo dos 97% de incidência alcançada pela testemunha na primeira epidemia da doença (Figura 2). O pico da doença na segunda epidemia ocorreu no mês de janeiro de

2011, um período desfavorável à doença e bem atípico para a região, o que é comprovado pela menor intensidade máxima da doença nessa segunda epidemia (Figura 2).

As pulverizações foliares para conter a doença na segunda epidemia ocorreram em julho de 2010, mês que apresentou um clima muito favorável à doença. Apesar da doença se apresentar com uma incidência muito baixa neste mês, entre 2 e 8% nos tratamentos com realização de pulverizações foliares (tratamentos T5 a T8, Figura 2). O clima favorável impediu que as pulverizações tivessem sucesso e a doença continuou crescendo no campo, porém com uma taxa menor que na primeira epidemia (Figura 2, Tabela 2).

Ao analisar a AACPD<sub>inc</sub> na primeira epidemia, os mesmos tratamentos T1, T3 e T7 apresentaram mais doença, representado por uma maior e significativa AACPD<sub>inc</sub> nestes tratamentos (Tabela 2).

As variáveis AACPD<sub>inc</sub> (Tabela 2) e AACPD<sub>sev</sub> (dados não mostrados) na segunda epidemia da doença não apresentaram diferenças significativas entre os tratamentos. Este fato pode ser explicado pelo sistema de calendário de aplicações adotado, já que com a aplicação realizada no mês de novembro de 2010, não houve eficiência no controle da doença na segunda epidemia, pois a epidemia da doença só iniciou a partir do mês de maio de 2010 (Figura 2).

Assim, os produtos aplicados via solo visando o controle da doença da segunda epidemia não tiveram atuação na redução do progresso da doença, sendo essa redução dependente de uma possível ação residual do controle da doença da primeira epidemia, como na redução do inóculo inicial (Bergamin & Amorim, 1996; Vale *et al.*, 2004).

Durante a primeira epidemia da ferrugem, nos tratamentos que apresentavam pulverizações foliares no mês de julho (tratamentos T5 a T8), a incidência da doença ficou entre 40 e 82%. Porém, as pulverizações associadas a um clima desfavorável à doença a partir de agosto de 2009, tornou muito eficiente a pulverização foliar, sendo observado um rápido decréscimo na incidência da doença (Figura 2).

Os tratamentos T3 e T7 não diferiram estatisticamente da testemunha (T1), sendo pouco efetivos para o controle da ferrugem em café conilon nas condições estudadas (Tabela 2). Assim, os melhores tratamentos no controle da doença foram consideramos os T2, T4, T5, T6 e T8, pois analisando as duas epidemias, eles reduziram a incidência da doença, em termos médios, em 57,8% comparado com a testemunha e

em 32,4% comparando com a média dos tratamentos T3 e T7, tratamentos fungicidas de menor eficiência (Tabela 2).

Ao avaliarmos os princípios ativos aplicados via solo, podemos determinar, avaliando a AACPD<sub>inc</sub> nas duas epidemias, que o ciproconazol (tratamentos T2, T5 e T6) foi o químico mais eficiente no controle da doença, reduzindo 45,77% da intensidade da doença, sendo este efeito mais proeminente na primeira epidemia. O triadimenol (tratamentos T3 e T7) foi o de menor eficiência e reduziu a doença em apenas 17,11%. Estatisticamente estes tratamentos foram semelhantes à testemunha. Já o flutriafol (tratamentos T4 e T8) apresentou eficiência intermediária no controle da doença com 37,37% de redução da AACPD<sub>inc</sub> comparado com a testemunha (Tabela 2). Portanto, o ciproconazol e o flutriafol são os triazóis mais eficientes para o controle da ferrugem no cafeeiro conilon utilizando o sistema *drench* de aplicação via solo de fungicidas.

A colheita de cada parcela do experimento aconteceu em maio de 2009 e abril de 2010. Como esperado não houve diferença significativa na produção entre os diferentes tratamentos para o ano de 2009. Este fato se deve a característica da ferrugem no cafeeiro, que causa a queda das folhas infectadas e reduz as reservas da planta. Assim, o dano da ferrugem no cafeeiro está ligado a uma redução na produção das plantas no ano posterior a uma grande incidência da doença (Zambolim *et al.*, 1999; Zambolim *et al.*, 2009). No cafeeiro conilon a queda das folhas infectadas ocorre com severidades em torno de 40%, sendo que o cafeeiro arábica pode suportar severidades de até 80% sem que ocorra a queda da folha (Capucho *et al.*, 2011).

Em 2010 houve uma diferença significativa na produtividade dos tratamentos, avaliado pelo teste Scott-Knott a 5% de probabilidade, sendo os melhores tratamentos os mesmos que apresentaram melhor controle da ferrugem na primeira epidemia da doença (tratamentos T2, T4, T5, T6 e T8, Tabela 2). Neste ano, o tratamento T2 produziu 47,6 sacas/ha a mais que a testemunha, sendo o mais recomendado em termos médios absolutos (Tabela 2).

Os dados de incidência da doença e de produtividade também foram usados para estimar os danos causados pela ferrugem no clone 02 do cafeeiro conilon.

O valor médio da AACPD<sub>inc</sub>, para as duas epidemias, nos piores tratamentos fungicidas (tratamentos T3 e T7) foi de 15931,6 e nos melhores tratamentos (tratamentos T2, T4, T5, T6 e T8) foi de 11229,4, ou seja, os piores e os melhores tratamentos fungicidas reduziram 17,11% e 41,57% a quantidade da doença

(AACPD<sub>inc</sub>), respectivamente. Essa tendência também ocorreu na produção que foi, na média dos dois anos, de 68,6 sc/ha para o grupo dos melhores tratamentos (tratamentos T2, T4, T5, T6 e T8), enquanto os piores tratamentos produziram 54,9sc/ha, 20% menos que o primeiro grupo (Tabela 2). Portanto, a ferrugem é capaz de causar um dano de 20% na produção do clone 02 de conilon caso seja adotada uma medida de controle da doença ruim.

Ao analisarmos somente a produtividade do ano de 2010, que, na verdade, repercutiu o controle da doença realizado no ano 2009, o dano causado pela ferrugem comparando o tratamento T2, melhor tratamento em valor absoluto, com a testemunha foi de 47,4% da produção.

Portanto, a ferrugem no clone 02 do cafeeiro conilon, plantado no sistema intercalado de quatro fileiras do clone 02 com uma fileira do clone G35, pode apresentar um dano de até 47% se efetivas medidas de controle da doença não forem implantadas.

O uso do calendário de aplicação de produtos químicos utilizado pelos produtores no norte do Espírito Santo deve ser revisto para o cafeeiro conilon, pois o clima tem influência na dinâmica da ferrugem nesse cafeeiro e o uso de calendário fixo de pulverizações poderá levar ao insucesso do controle da doença e, em consequência, afetar a produção.

Este trabalho também provou a eficiência dessa nova estratégia de controle da ferrugem do cafeeiro, onde pulverizações via solo são realizadas na lavoura para o controle da ferrugem, com a vantagem de ser de mais fácil aplicação pelos produtores.

#### 4-REFERÊNCIAS

- Bergamin Filho A, Amorim L, Eds, 1996. *Doenças de plantas tropicais: Epidemiologia e controle econômico*. São Paulo, Ceres.
- Campbell CL & Madden LV, 1990. *Introduction to plant disease epidemiology*. New York: Wiley-Interscience.
- Capucho AS, Zambolim L, Duarte HSS, Vaz GRO, 2011. Development and validation of a standard area diagram set to estimate severity of leaf rust in *Coffea arabica* and *C. canephora*. *Plant Pathology* Online [http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3059.2011.02472.x].
- Chalfoun SM, Carvalho VL, 1999. Controle químico da ferrugem (*Hemileia vastatrix* Berk & Br.) do cafeeiro através de diferentes esquemas de aplicação. *Pesq. agropec. bras.* **34**, 363-7.
- Conagin CHTM, Mendes AJT, 1961. Pesquisascitológicas e genéticas de três espécies de *Coffea* - autoincompatibilidade em *C. canephora*. *Bragantia* **20**, 787-804.
- Kushalappa AC, Eskes AB, 1989. *Coffee rust: epidemiology, resistance and management*. Boca Roton: CRC Press.
- Mapa, 2011. *Agrofit - Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários*. Brasília: MAPA - Ministério da agricultura, pecuária e abastecimento. [http://www.agricultura.gov.br]. Acesso em: 8 out. 2011.
- Ribeiro Júnior JI, 2001. *Análises estatísticas no SAEG*. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa.
- Silva-Acunã R, 1985. *Fatores que influenciam o progresso da ferrugem do cafeeiro (Hemileia vastatrix Berk et Br)*. Viçosa, Brasil: Universidade Federal de Viçosa. Master's thesis.
- Vale FXR, Jesus Júnior WC, Liberato JR, Souza CA, 2004. Quantificação de doenças e do crescimento do hospedeiro. In: Vale FXR, Jesus Júnior WC, Zambolim L, eds. *Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas*. Belo Horizonte, Brasil: Perffil, 91-126.
- Ventura JA, Costa H, Santana EM, Martins MVV, 2007. Diagnóstico e manejo das doenças do cafeeiro conilon. In: Ferrão RG, Fonseca AFA, Bragança SM, Ferrão MAG & Muner LH, eds. *Café Conilon*. Vitória, Brasil: Incaper, 451-97.



Zambolim L, Vale FXR, Pereira AA, Chaves GM, 1999. Manejo integrado das doenças do cafeeiro. In: Zambolim L, ed. *Produção de café com qualidade*. Viçosa, Brasil: Universidade Federal de Viçosa. 134-215.

Zambolim L, ed, 2009. *Tecnologias para a produção do café conilon*. Viçosa, MG, Brasil: Universidade Federal de Viçosa.

## 5-TABELAS

**Tabela 1** Tratamentos, classe química, nome comercial, doses de i.a. e meses de aplicação dos produtos aplicados contra a ferrugem (*Hemileia vastatrix*) no cafeeiro conilon (*Coffea canephora*) de novembro de 2009 à abril de 2011 na cidade de Jaguaré-ES, Brasil.

<b>Tratamento</b>	<b>Classe química</b>	<b>Produto</b>	<b>Dose de i.a./ha</b>	<b>Mês de aplicação</b>
T1	---	Controle (sem fungicida)	---	---
T2	Ciproconazol, Tiametoxam	Verdadero 600 WG	300g, 300g	Novembro
T3	Triadimenol, Imidaclopride	Premier Plus WG	750g, 525g	Novembro
T4	Flutriafol, Imidaclopride	Impact 125 SC, Premier GR	375g, 525g	Novembro
T5	Ciproconazol, Tiometoxam	Verdadero 600 WG	300g, 300g	Novembro
	Ciproconazol, Azoxistrobin	Priori Xtra SC	150g, 60g	Julho
T6	Ciproconazol, Tiometoxam	Verdadero 600 WG	300g, 300g	Novembro
	Ciproconazol	Alto 100 SL	75g	Julho
T7	Triadimenol, Imidacloprid	Premier Plus WG	750g, 525g	Novembro
	Ciproconazol, Trifloxistrobin	Sphere Max SC	187,5g, 85g	Julho
T8	Flutriafol, Imidaclopride	Impact 125 SC, Premier GR	375g, 525g	Novembro
	Flutriafol	Impact 125 SC	187,5g	Julho

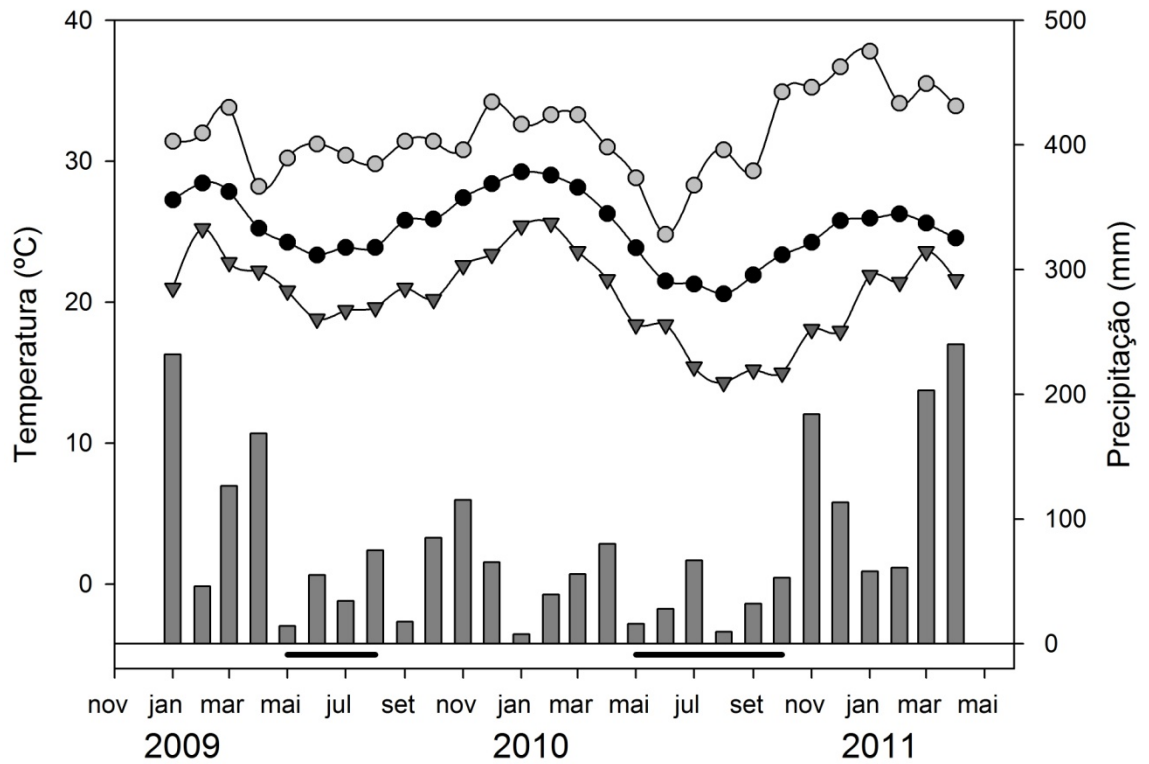
Legenda: \* i.a. = ingrediente ativo.

**Tabela 2** Efeito dos tratamentos via solo com complementação foliar a área abaixo da curva de progresso da incidência da ferrugem (AACPD<sub>inc</sub>) e a respectiva produtividade, em sacas beneficiadas de 60 kg/ha, nos anos de 2009 e 2010.

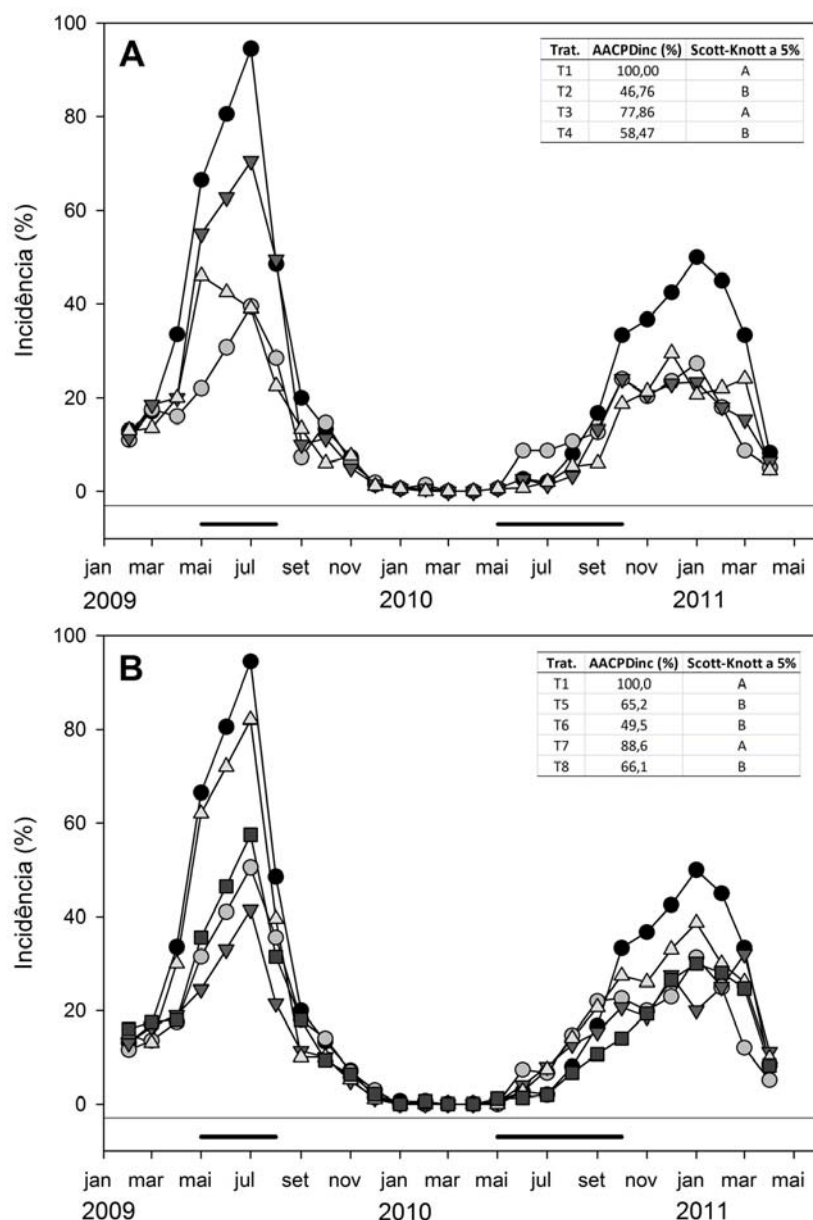
Tratamentos**	AACPDinc*		Produção 2009 (sc/ha)*	Produção 2010 (sc/ha)*
	1ª epidemia	2ª epidemia		
T1	13013,0 a	6202,2 a	51,0 a	52,6 b
T2	5940,7 b	3043,7 a	48,6 a	100,2 a
T3	10884,7 a	4077,0 a	52,5 a	68,7 b
T4	7789,0 b	3446,5 a	55,3 a	79,9 a
T5	8018,7 b	4379,3 a	50,8 a	83,2 a
T6	6145,7 b	3737,7 a	51,4 a	79,4 a
T7	11657,7 a	5243,8 a	53,3 a	51,6 b
T8	8866,7 b	3971,7 a	54,6 a	83,5 a
CV (%)	16,75	29,32	8,12	18,99

Legenda: \* Teste de agrupamento de médias Scott-Knott a 5% de probabilidade. \*\* Tratamentos, onde T1-Controlle (sem fungicida); T2-Ciproconazol e tiametoxam via solo; T3-Triadimenol e imidaclopride via solo; T4-Flutriafol e imidaclopride via solo; T5-Ciproconazol e tiametoxam via solo associado com ciproconazol via foliar; T6-Tiametoxam e ciproconazol via solo associado com azoxistrobin e ciproconazol via foliar; T7-Triadimenol e imidaclopride via solo associado a trifloxistrobin e ciproconazol via foliar; T8-Flutriafol e imidaclopride via solo associado a flutriafol via foliar. CV= coeficiente de variação.

## 6-FIGURAS



**Figura 1** Precipitação, temperaturas média, máxima e mínimas e favorabilidade do clima à ferrugem do cafeeiro conilon, durante a condução do experimento em Jaguaré-ES, Brasil. Legenda: precipitação acumulada mensal, temperatura média mensal, temperatura máxima média, temperatura mínima média e favorabilidade do clima à ferrugem (função discriminante do Capítulo 1 desta Tese).



**Figura 2** Curvas de progresso da incidência da ferrugem em cafeeiro conilon com os respectivos valores de AACPD<sub>inc</sub> nos tratamentos fitossanitários em porcentagem em relação à testemunha. **A** - Tratamentos T1 a T4: —●— T1-Controlle (sem fungicida); —○— T2-Ciproconazol e tiametoxam via solo; —▽— T3- Triadimenol e imidaclopride via solo; —△— T4- Flutriafol e imidaclopride via solo e — favorabilidade do clima à ferrugem. **B** - Tratamentos T1, T5 a T8: —●— T1-Controlle (sem fungicida); —○— T5- Ciproconazol e tiametoxam via solo associado com ciproconazol via foliar; —▽— T6- Tiametoxam e ciproconazol via solo associado com azoxistrobin e ciproconazol via foliar; —△— T7- Triadimenol e imidaclopride via solo associado a trifloxistrobin e ciproconazol via foliar; —■— T8- Flutriafol e imidaclopride via solo associado a flutriafol via foliar e — favorabilidade do clima à ferrugem (função discriminante do Capítulo 1 desta Tese).

## CONCLUSÕES GERAIS

### CAPÍTULO 1

1) A biologia de *H. vastatrix*, avaliada pela germinação e infectividade, no cafeeiro conilon se assemelha à biologia do fungo em cafeeiro arábica.

2) Não foi observado infecção de *H. vastatrix* em discos de folha incubados a 30°C, mesmo havendo germinação *in vitro* dos uredosporos nessa faixa de temperatura;

3) Uma função discriminantes foi obtida e validada para determinar a favorabilidade ou não do clima à infecção do cafeeiro conilon por *H. vastatrix*.

### CAPÍTULO 2

1) As características das lesões de *H. vastatrix* foram semelhantes entre a variedade Catuaí Vermelho IAC 144 do cafeeiro arábica e o clone 02 do cafeeiro conilon;

2) Uma escala diagramática adequada para determinar a severidade da ferrugem no cafeeiro arábica e no cafeeiro conilon foi desenvolvida e validada.

### CAPÍTULO 3

1) Quatro níveis de resistência à ferrugem foram formados com os onze componentes de resistência avaliados: plantas resistentes, moderadamente resistentes, moderadamente suscetíveis e suscetíveis às raças I, II e XXXIII de *H. vastatrix*;

2) Os clones mais resistentes à raça I de *H. vastatrix* foram os 3V e 5V do Conilon Vitória Incaper 8142.

3) Os clones s mais resistentes à raça II de *H. vastatrix* foram os 1V, 3V e 4V do Conilon Vitória Incaper 8142.

4) Os clones mais resistentes à raça XXXIII de *H. vastatrix* foram os 2V, 3V, 5V, 10V, 12V e 13V do Conilon Vitória Incaper 8142.

## CAPÍTULO 4

1) Os fungicidas ciproconazol e flutriafol aplicados via solo, isoladamente, ou com complementação foliar foram os tratamentos mais eficientes no controle da ferrugem. Esses tratamentos também foram os mais produtivos do experimento.

2) A ferrugem pode causar um dano de até 47% no clone 02 do cafeeiro conilon, caso a ferrugem não seja controlada;

3) O uso do calendário de aplicações de produtos utilizados pelos produtores do norte do Espírito Santo não foi eficiente para o controle da doença.