

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

**Ferrugem do cafeeiro: Comparação de métodos de inoculação e avaliação da
resistência de genótipos de *Coffea arabica* a *Hemileia vastatrix***

Iago de Carvalho Vieira
Magister Scientiae

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2025**

IAGO DE CARVALHO VIEIRA

Ferrugem do cafeeiro: Comparação de métodos de inoculação e avaliação da resistência de genótipos de *Coffea arabica* a *Hemileia vastatrix*

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

Orientador: Franklin Jackson Machado

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2025**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

V658f
2025

Vieira, Iago de Carvalho, 1997-

Ferrugem do cafeeiro: comparação de métodos de
inoculação e avaliação da resistência de genótipos de cultivares
de *Coffea arabica* a *Hemileia vastatrix* / Iago de Carvalho
Vieira. – Viçosa, MG, 2025.

1 dissertação eletrônica (55 f.): il. (algumas color.).

Inclui apêndice.

Orientador: Franklin Jackson Machado.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Fitopatologia, 2025.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2025.610>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. *Coffea arabica*. 2. Café - Resistência a doenças e pragas
- Aspectos genéticos. 3. Ferrugem-do-cafeeiro. 4. Fenótipos.
I. Machado, Franklin Jackson, 1991-. II. Universidade Federal de
Viçosa. Departamento de Fitopatologia. Programa de
Pós-Graduação em Fitopatologia. III. Título.

CDD 22. ed. 633.7394

IAGO DE CARVALHO VIEIRA

Ferrugem do cafeeiro: Comparação de métodos de inoculação e avaliação da resistência de genótipos de *Coffea arabica* a *Hemileia vastatrix*

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

APROVADA: 30 de julho de 2025.

Assentimento:

Iago de Carvalho Vieira
Autor

Franklin Jackson Machado
Orientador

Essa dissertação foi assinada digitalmente pelo autor em 28/09/2025 às 13:41:43 e pelo orientador em 29/09/2025 às 10:09:55. As assinaturas têm validade legal, conforme o disposto na Medida Provisória 2.200-2/2001 e na Resolução nº 37/2012 do CONARQ. Para conferir a autenticidade, acesse <https://siadoc.ufv.br/validar-documento>. No campo 'Código de registro', informe o código **SIT1.L7SH.CF9C** e clique no botão 'Validar documento'.

Aos meus pais, Maria Lúcia e José Geraldo
Aos meus familiares tios, tias e primos
Aos meus amigos e incentivadores
À minha companheira Ketly
Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pelo dom da vida, pela saúde, por ter me dado força e sabedoria para chegar até aqui.

Aos meus pais, Maria Lúcia e José Geraldo, pelo amor incondicional que tem por mim, por terem sido minha base e incentivo durante toda minha trajetória até aqui.

Aos meus tios(as) e primos(as) que sempre me apoiaram, mesmo que distante. À minha companheira Ketly por toda paciência, carinho, incentivo e ajudas neste período.

Ao Prof. Franklin, pela amizade, confiança e por todo ensinamento ao longo deste período de dois anos que trabalhamos juntos que levarei por toda minha vida.

Ao Prof. Emerson, pela confiança e por todo ensinamento, disponibilidade e auxílio, desde 2020, a primeira vez que estagiei em seu laboratório.

Aos amigos Lucas, David, Gabriel Paiva, Klaus, Marina e Mariana do Laboratório de Manejo de Doenças de Plantas pelos desafios superados e amizade.

Aos colegas de Departamento e aos amigos de Viçosa por toda amizade.

Aos estagiários (Luis, Esdras, Thaís, Damaris, Gabriel e Ana Carolina) que sempre estiveram comigo me auxiliando.

Ao Renatão, pela ajuda nas etapas de coletas iniciais deste trabalho.

À Universidade Federal de Viçosa, ao Departamento de Fitopatologia e ao Programa de Pós-graduação em Fitopatologia pela oportunidade de realizar este curso. A todos os professores que contribuíram para minha formação profissional e a todos os técnicos administrativos que sempre foram muito solícitos em ajudar.

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

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, aqui não fizemos apenas pesquisas, mas para além disso, fizemos amigos, meus sinceros agradecimentos.

Este trabalho foi realizado com o apoio das seguintes agências de pesquisa brasileiras: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

RESUMO

VIEIRA, Iago de Carvalho, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2025. **Ferrugem do cafeeiro: Comparação de métodos de inoculação e avaliação da resistência de genótipos de *Coffea arabica* a *Hemileia vastatrix*.** Orientador: Franklin Jackson Machado.

A ferrugem do cafeeiro, causada por *Hemileia vastatrix*, é uma das principais problemas fitossanitários da cafeicultura. Nesse contexto, o desenvolvimento de cultivares resistentes e a adoção de métodos eficientes de fenotipagem são fundamentais para estratégias sustentáveis de manejo e melhoramento genético. Este estudo teve como objetivos avaliar e otimizar métodos de inoculação quanto à eficiência, reprodutibilidade e preservação do tecido vegetal, bem como caracterizar a resistência de cultivares de *Coffea arabica* frente às duas raças fisiológicas do patógeno. Compararam-se diferentes técnicas de inoculação, desde a utilização do auxílio do pincel para espalhar os uredosporos sob o tecido foliar e a suspensão de uredosporos, com e sem Tween, em discos de folhas, folhas destacadas e em mudas. Nas inoculações em mudas, em todas as avaliações, a suspensão de esporos foi mais eficiente, apresentando maior frequência de mudas com sintomas e sinais em comparação ao pincel ($P < 0,05$). Aos 42 DPI, 85,7% das mudas inoculadas por suspensão já exibiam esporulação, enquanto menos da metade das inoculadas com pincel apresentaram sinais do patógeno. Para os ensaios com discos foliares e folhas destacadas, a inoculação com suspensão de uredosporos, contendo Tween, aplicada em discos foliares mostrou-se a mais eficaz, apresentando maior taxa de infecção, esporulação e melhor conservação do tecido, sendo a mais indicada para estudos de fenotipagem em condições controladas. A caracterização da resistência das 38 cultivares frente às raças II e XXXIII, por meio de análise multivariada, foi possível observar o agrupamento das cultivares em quatro categorias: altamente suscetíveis, suscetíveis, moderadamente resistentes e resistentes. A maioria das cultivares foi classificada como resistente à ferrugem, para raça II e XXXIII. Os resultados deste trabalho fornecem subsídios técnico-científicos relevantes para a seleção de genótipos superiores e para a padronização de protocolos experimentais em programas de melhoramento voltados à resistência à ferrugem-do-cafeeiro.

Palavras-chave: *Coffea arabica*; Fenotipagem; Resistência a doenças; Cultivares Resistentes à Ferrugem

ABSTRACT

VIEIRA, Iago de Carvalho, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2025.
Coffee Leaf Rust: Comparison of inoculation methods and evaluation of the resistance of *Coffea arabica* genotypes to *Hemileia vastatrix*. Adviser: Franklin Jackson Machado.

Coffee leaf rust, caused by *Hemileia vastatrix*, is one of the main phytosanitary limitations of coffee production. In this context, the development of resistant cultivars and the adoption of efficient phenotyping methods are essential for sustainable management and breeding strategies. This study aimed to evaluate and optimize inoculation methods in terms of efficiency, reproducibility, and preservation of plant tissue, as well as to characterize the resistance of *Coffea arabica* cultivars against two physiological races of the pathogen. Different inoculation techniques were compared, including the use of a camel brush to spread urediniospores on leaf tissue and the spray of urediniospore suspensions, with and without Tween, either on leaf discs or detached leaves, and in coffee seedlings. In seedling inoculations, across all evaluations, the spore suspension method was more efficient, showing a higher frequency of seedlings with symptoms and signs compared to the brush method ($P < 0.05$). At 42 days post-inoculation, 85.7% of the seedlings inoculated using the spore suspension already exhibited signs of the pathogen, while less than half of those inoculated with a brush showed any sporulation. For assays using leaf discs and detached leaves, inoculation with a urediniospore suspension containing Tween, applied onto leaf discs, proved to be the most effective, presenting higher infection and sporulation rates and better tissue preservation, making it the most suitable method for phenotyping studies under controlled conditions. The characterization of resistance among the 38 cultivars to races II and XXXIII, through multivariate analysis, revealed the grouping of cultivars into four categories: highly susceptible, susceptible, moderately resistant, and resistant. Most cultivars were classified as resistant to rust for both race II and race XXXIII. The results of this study provide relevant technical and scientific support for the selection of superior genotypes and for the standardization of experimental protocols in breeding programs aimed at resistance to coffee leaf rust.

Keywords: *Coffea arabica*; Phenotyping; Genetic resistance to plant diseases; Resistant cultivar to coffee leaf rust

SUMÁRIO

Capítulo 1: Comparação de métodos de inoculação de Hemileia vastatrix em cultivares de café.....	8
1. Introdução.....	9
2. Material e métodos.....	12
2.1. Inoculação em folhas destacadas e discos.....	12
2.2. Análise de dados inoculação em folhas destacadas e discos.....	13
2.3. Inoculações em muda.....	14
3. RESULTADOS.....	15
3.1. Testes de inoculação em discos e folhas destacadas.....	15
3.2. Testes de inoculação em mudas.....	18
4. DISCUSSÃO.....	20
Referências bibliográficas.....	23
MATERIAL SUPLEMENTAR.....	26
Capítulo 2: Caracterização da Resistência de Cultivares de Coffea arabica à Ferrugem.....	28
1. Introdução.....	29
2. Materiais e métodos.....	31
2.1. Genótipos avaliados.....	31
2.2. Coleta e Preparo do material vegetal para inoculação.....	31
2.3. Preparo do inóculo.....	33
2.4. Inoculação.....	33
2.5. Avaliação.....	33
2.6. Análise de dados.....	35
3. RESULTADOS.....	36
3.1. Caracterização da resistência.....	36
3.2. Resistência de cultivares de Coffea arabica à raça II de H. vastatrix.....	36
3.3. Resistência de cultivares de Coffea arabica à raça XXXIII de Hemileia vastatrix.....	40
4. DISCUSSÃO.....	43
Referências bibliográficas.....	47
APÊNDICE A - CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO OBTIDA DE CULTIVARES RESISTENTES.....	50
Locais de coleta, armazenamento e inoculação.....	50
Resultados preliminares.....	54

Capítulo 1: Comparação de métodos de inoculação de *Hemileia vastatrix* em cultivares de café

1. Introdução

O café é uma das culturas agrícolas mais importantes do Brasil, sendo fundamental para a economia nacional e o sustento de milhares de famílias em regiões produtoras (Silva et al., 2022; Talhinhos et al., 2017). O país é líder mundial na produção e exportação da bebida, destacando-se principalmente no cultivo das espécies *Coffea arabica* e *Coffea canephora* (Zambolim & Caixeta, 2021). Entretanto, a produtividade da cafeicultura é frequentemente ameaçada por doenças, entre as quais a ferrugem-do-cafeeiro, causada pelo fungo *Hemileia vastatrix* Berk. & Br., se destaca como a principal e mais destrutiva (Zambolim & Caixeta, 2021). Desde sua primeira ocorrência no Brasil, em 1970, no sul da Bahia, a ferrugem-do-cafeeiro rapidamente se espalhou pelas regiões cafeeiras do país, tornando-se endêmica e responsável por prejuízos expressivos que podem alcançar entre 30% e 50% da produção, especialmente em anos com condições climáticas favoráveis à doença e em cultivares suscetíveis (Zambolim, 2016).

Os sintomas da doença aparecem inicialmente como pequenas lesões cloróticas, com diâmetro variando entre 1 e 3 mm. Conforme a doença progride, essas lesões expandem-se, podendo atingir até 2 cm, e adquirem um aspecto pulverulento, característico da produção de uredosporos de coloração amarelo-alaranjada. Na face superior, observam-se manchas cloróticas correspondentes às pústulas na face oposta, culminando em necrose (Zambolim, 2016; Zambolim & Caixeta, 2021). A desfolha precoce e a seca dos ramos, consequências diretas da infecção, resultam em significativa redução da produção e encurtamento do ciclo de vida da planta, sendo o dano evidenciado principalmente pela redução do rendimento da cultura (Guzzo et al. 2009; Zambolim et al., 1997).

Embora os fungicidas sejam eficazes, o uso de cultivares geneticamente resistentes é reconhecido como uma das medidas mais eficientes e sustentáveis para o manejo da ferrugem do cafeeiro (Zambolim et al., 2005a; Zambolim, 2016). Portanto, o desenvolvimento de variedades geneticamente resistentes representa uma importante linha de pesquisa para o sucesso do manejo integrado da doença (Waller et al., 2007). Historicamente, diversos programas de melhoramento genético no Brasil tem como objetivo incorporar genes de resistência, principalmente a partir de fontes como o Híbrido de Timor (HdT, *C. arabica* × *C. canephora*), que apresenta resistência a várias raças fisiológicas do fungo (Bettencourt & Rodrigues, 1988; Zambolim, 2016). Por consequência, a busca por cultivares com resistência durável a este patógeno representa um grande desafio aos programas de melhoramento genético por todo mundo (Eskes, 2005; Várzea & Marques, 2005).

Estudos demonstram a existência de mais de 50 raças fisiológicas de *H. vastatrix* em diferentes regiões cafeeiras do mundo (Gichuru et al., 2012; Várzea & Marques, 2005; Talhinhos et al., 2017). No Brasil, já foram identificadas ao menos 17 raças fisiológicas de *Hemileia vastatrix*, incluindo I, II, III, X, XIII, XV, XVI, XVII, XXII, XXIII, XXIV, XXV, XXIX, XXX, XXXIII, XXXVII e XXXIX, com destaque para a raça II, amplamente distribuída nas regiões cafeeiras devido à homogeneidade genética das cultivares de *C. arabica* (Zambolim & Caixeta, 2021). Há exemplos de raças consideradas altamente virulentas, como a raça XXXVII, que apresenta os genes v2,5,6,7 e 9, sendo capaz de suplantar múltiplos genes de resistência, como S_H2, S_H5, S_H6, S_H7 e S_H9 (Zambolim & Caixeta, 2021). Tal virulência, aliada à elevada variabilidade genética do patógeno, representa um desafio constante ao melhoramento genético e à durabilidade da resistência em cultivares comerciais. Essa complexidade exige estratégias de melhoramento contínuo, visando à obtenção de variedades com resistência mais estável e duradoura (Silva et al., 2022).

A fenotipagem da resistência à ferrugem-do-cafeeiro é essencial para o melhoramento genético, pois permite identificar com precisão os diferentes níveis de resistência, bem como os mecanismos associados em genótipos de interesse (Silva et al., 2022; Zambolim, 2016). Métodos clássicos, como o uso de discos foliares, seguem sendo amplamente utilizados por sua eficiência na avaliação de características como taxa de esporulação e tempo de latência das infecções (Eskes, 1982). Estudos utilizando essa metodologia demonstram a importância da fenotipagem na validação de materiais resistentes derivados do HdT bem como a descrição de novas raças ou patótipos (Capucho et al. 2009a; Cabral et al. 2009).

O uso de pincel para distribuição dos uredosporos no tecido foliar tem sido a principal técnica de inoculação de *H. vastatrix*, sendo bem aceita principalmente por ser simples e eficiente na reprodução de sintomas, seja em discos ou em mudas (Souza et al., 2019). Por outro lado, tal técnica tem como desvantagens a dificuldade de padronização o que dificulta estudos comparativos. Poucos trabalhos têm utilizado uma suspensão de uredosporos com uso de algum espalhante, embora a uniformidade da distribuição do inóculo seja fundamental para reprodução dos sintomas.

A utilização de um método de inoculação padronizado descrito por (Capucho et al., 2009b) tem se mostrado eficiente sendo fundamental para garantir a confiabilidade de estudos sobre resistência de plantas a *H. vastatrix*, pois as variações na técnica podem levar a resultados inconsistentes ou interpretações equivocadas da interação patógeno-hospedeiro. A utilização da suspensão de uredosporos em gota descrita por (Capucho et al., 2009b), aliada a outras técnicas pode ser uma boa alternativa.

Entender qual o melhor método de inoculação é fundamental para uma fenotipagem precisa durante o processo de melhoramento genético e para a otimização dos processos de pesquisa. Assim, o presente trabalho teve como objetivo comparar diferentes métodos de inoculação tanto para a multiplicação e produção de inóculo de *H. vastatrix* em mudas quanto para a utilização na fenotipagem de materiais dentro de um programa de melhoramento visando a resistência à ferrugem.

2. Material e métodos

2.1. Inoculação em folhas destacadas e discos

Foram utilizados os isolados de *Hemileia vastatrix* das raças II (v5) e XXXIII (v5,7 ou v5, 7, 9) mantidos pelo Laboratório de Biotecnologia do Cafeeiro (Biocafé) na Universidade Federal de Viçosa, através de inoculação periódicas em plantas de Caturra CIFC 19/1. Antes de cada inoculação, uma suspensão de uredósporos foi incubada em uma lâmina por 12 horas a 22 °C no escuro. Após esse período, a porcentagem de uredosporos germinados foi avaliada. Somente os uredosporos com germinação superior a 30% foram utilizados nas inoculações.

Folhas jovens mas completamente expandidas foram obtidas do Ensaio Nacional de Cultivares localizado na Unidade de Ensino, Pesquisa e Extensão em Fitopatologia (UEPE Viveiro de Café, 20°44'30.95" S 42°50'47.91" W). As folhas foram coletadas no início da manhã. Dois métodos de inoculação foram comparados: discos de folhas (2 cm de diâmetro) e folhas destacadas. Discos de folhas ($n = 16$) ou folhas destacadas ($n = 1$) foram posicionados com a face abaxial voltada para cima sobre uma plataforma de tela e espuma, previamente saturada com água destilada, no interior de um gerbox (Figura 1).

As inoculações foram realizadas com: (1) suspensão de esporos + Tween 80 (20µl/L de água destilada estéril), (2) suspensão de esporos sem Tween, (3) pincel e a (4) testemunha não inoculada. Uma suspensão contendo 1×10^5 uredosporos/ml foi preparada para cada isolado. Com o auxílio de uma micropipeta, uma gota de 20µl desta suspensão foi depositada sobre cada disco ou folha destacada (16 gotas por folha; Figura 1A-B). Para as inoculações com pincel, cerca de um miligrama de uredosporos foram depositados sobre os discos ou folha, e espalhados por toda a face abaxial usando um pincel de pêlo de camelo (Figura 1C-D).

Os gerbox foram incubados a $22 \pm 2^\circ\text{C}$, por um período de 48 h no escuro. Em seguida, os gerbox foram incubados à mesma temperatura mas com fotoperíodo de 12h. Após 72 h, os discos e folhas foram cuidadosamente limpos com algodão esterilizado para retirar o excesso uredosporos que não penetraram na folha evitando possíveis contaminações com fungos hiperparasitas.

Foram realizadas três avaliações espaçadas por um período de sete dias. Os índices de esporulação foram analisados pela escala de (Tamayo, 1988). Nesta

escala, as notas 1, 2 e 3 correspondem à reação de resistência do cafeeiro à *H. vastatrix*, e as notas 4, 5 e 6, a reações de susceptibilidade. São elas: nota 1: ausência de sintomas; nota 2: lesões cloróticas pequenas; nota 3: lesões cloróticas grandes; nota 4: lesões cloróticas grandes com pequena esporulação, ocupando menos de 25% da área da lesão com uredosporos; nota 5: lesões com esporulação ocupando de 25 a 50% da área clorótica e nota 6: lesões com esporulação ocupando mais de 50% de sua área.

O experimento foi arranjado no delineamento inteiramente casualizado com três repetições. Cada gerbox contendo 16 discos, ou uma folha destacada, foi considerado uma repetição. Cada um dos 16 discos, ou das 16 gotas na folha destacada, foi considerado uma unidade observacional. Todo experimento foi conduzido duas vezes com uma diferença de sete dias entre si.

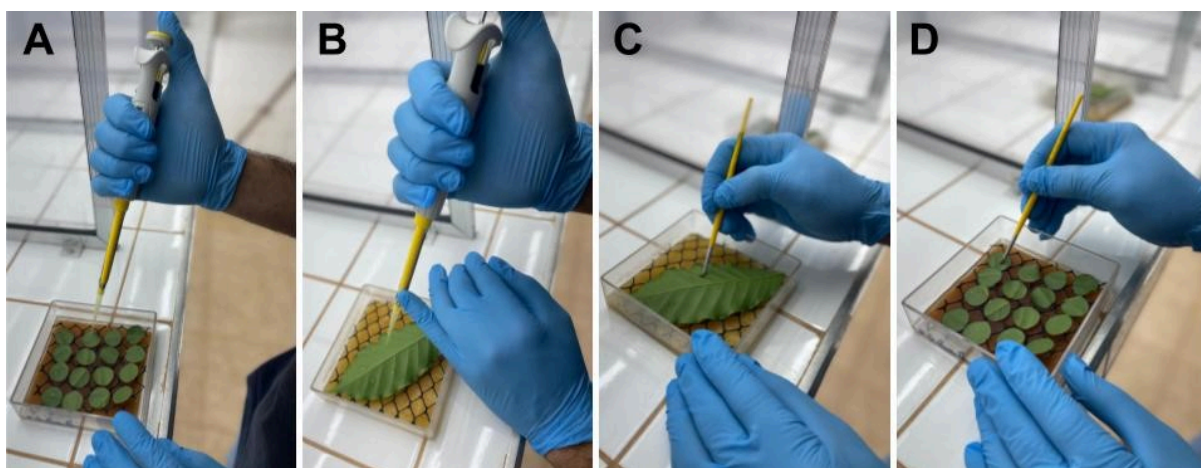


Figura 1: Representação do procedimento de inoculação usando uma suspensão de esporos (com ou sem Tween 80, 20µl/L) em discos de folha (A) ou em folha destacada (B) ou utilizando um miligrama de uredosporos e espalhados com auxílio de um pincel de pêlo de camelo em folhas (C) ou discos (D).

2.2. Análise de dados inoculação em folhas destacadas e discos

Para as inoculações em discos de folha e folha destacadas as notas de severidade foram usadas para calcular o índice de infecção de acordo com o índice de doença = $[(\text{nota da doença} \times \text{número de discos com essa nota}) / (\text{número total de discos} \times \text{nota máxima da doença na escala})]$ (McKinney, 1923).

Posteriormente, foi calculado a área abaixo do progresso do índice da doença (AACPD), período de incubação (PI) e período latente (PL), em dias, usando o critério de $\frac{1}{3}$ da incidência final de discos com sintomas ou sinais, respectivamente. Para as inoculações feitas em discos de folhas e folhas destacadas o intervalo de tempo em dias, decorridos da inoculação até a última avaliação do experimento foi de 35 dias, sendo critério adotado para definição do período incubação e latente quando não houvesse sintomas e esporulação do patógeno nos discos, respectivamente.

Como não houve efeito significativo do experimento, os dados foram analisados de maneira conjunta. Para tal, um modelo misto foi ajustado para cada variável (índice de doença, AUDPC, PI e PL) onde o experimento, as cultivares, as raças, as repetições e os discos/gotas foram consideradas efeitos aleatórios e o método e o tipo de inoculação foram considerados efeitos fixos. Para as comparações múltiplas entre os tratamentos, aplicou-se o teste de Tukey ($p < 0,05$).

2.3. Inoculações em muda

Os primeiros dois pares de folhas jovens e completamente expandidas de mudas da cultivar Caturra CIFC 19/1 foram inoculadas com uredósporos espalhados com pincel (aproximadamente 1 mg) ou pulverizadas com uma suspensão de esporos com Tween 80 na concentração 1×10^5 uredosporos/ml, sendo utilizadas uma planta para cada método de inoculação (Figura 2). Foram utilizados isolados da coleção do Laboratório de Manejo de Doenças de Plantas ($n = 63$) que foram obtidos em lavouras de Minas Gerais e Espírito Santo. As plantas foram avaliadas aos 21, 28 e 42 DPI quanto à presença ou ausência de sintomas e sinais. Após as avaliações, os esporos foram coletados com auxílio de uma cápsula de gelatina e armazenadas em dessecador com 50% de umidade relativa de 5°C acondicionado dentro da geladeira (Zambolim & Chaves, 1974). Os isolados vem sendo reativados com frequência visando manter a viabilidade destes isolados. Cada planta inoculada foi considerada uma unidade amostral.

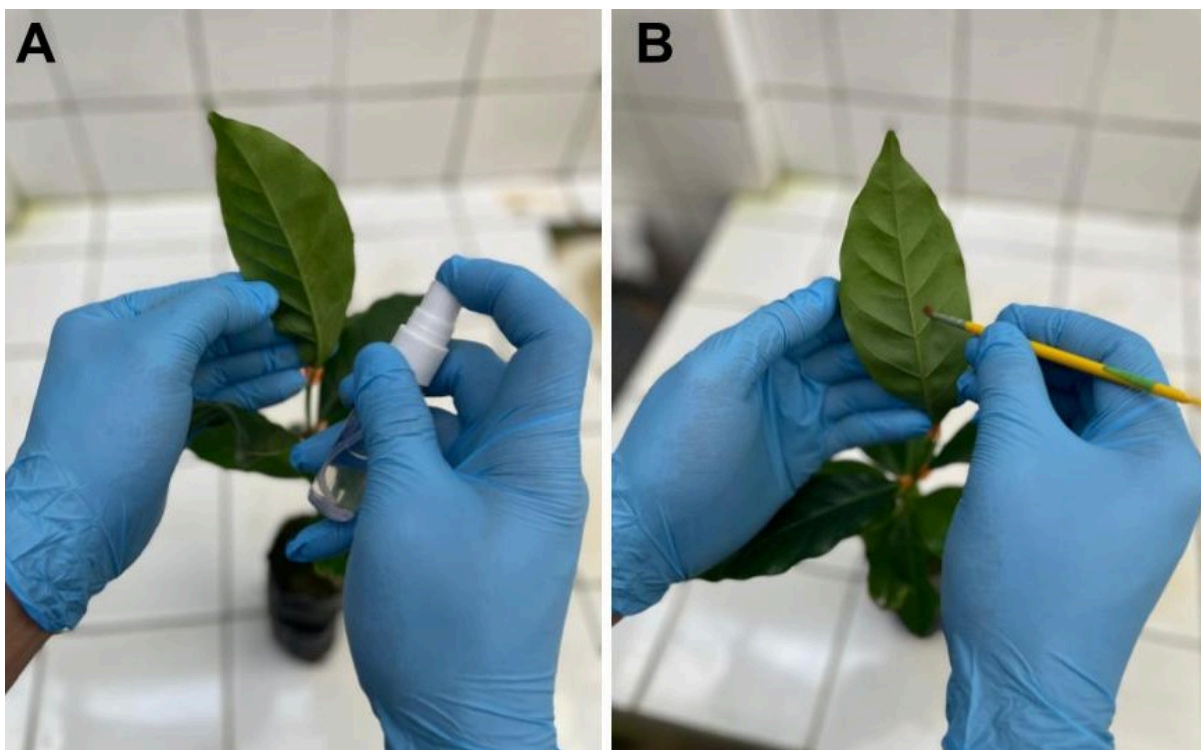


Figura 2: Representação do procedimento de inoculação de *Hemileia vastatrix* em mudas de café da cultivar Caturra CIFC 19/1 por meio da **(A)** pulverização de uma suspensão de esporos com Tween 80 (20µl/L) ou **(B)** utilizando um pincel de pêlo de camelo para espalhar aproximadamente 1 mg de uredosporos por folha .

2.4. Análise de dados inoculações em muda

Para as inoculações em mudas, realizou-se uma análise de frequência descritiva das observações (presença ou ausência de sintomas e sinais). Um conjunto de dados contendo essas avaliações foi importado e filtrado. Em seguida, foi criada uma tabela de contingência e aplicado um teste χ^2 , comparando as frequências observadas.

3. RESULTADOS

3.1. Testes de inoculação em discos e folhas destacadas

Todos os métodos de inoculação foram capazes de reproduzir os sintomas da doença, independente da raça e da cultivar utilizada, diferindo apenas do tratamento controle ($P < 0.05$, Figura S1). Embora tenha sido observado efeito significativo da interação entre os métodos de inoculação (folha ou disco) e o tipo de inoculação (P

$< 0,05$), não houve diferença entre os métodos de inoculação (Figura 4A-B). Por outro lado, maiores valores de índice de doença e de AACPD foram observados nos tratamentos onde foram utilizadas suspensões de esporos, com e sem Tween, para inocular discos quando comparados com folhas (Figura 4A-B).

A interação testada no modelo misto não afetou o PI ($P = 0,0293$) e o PL ($P = 0,0682$). Entretanto, o PI e o PL estimado pelo modelo foram marginalmente maiores nos tratamentos utilizando discos quando comparados com folhas destacadas ($P < 0,05$, Figura 4 C-D). Não houve efeito do método de inoculação sobre o PI ($P = 0,549$) e o PL ($P = 0,232$).

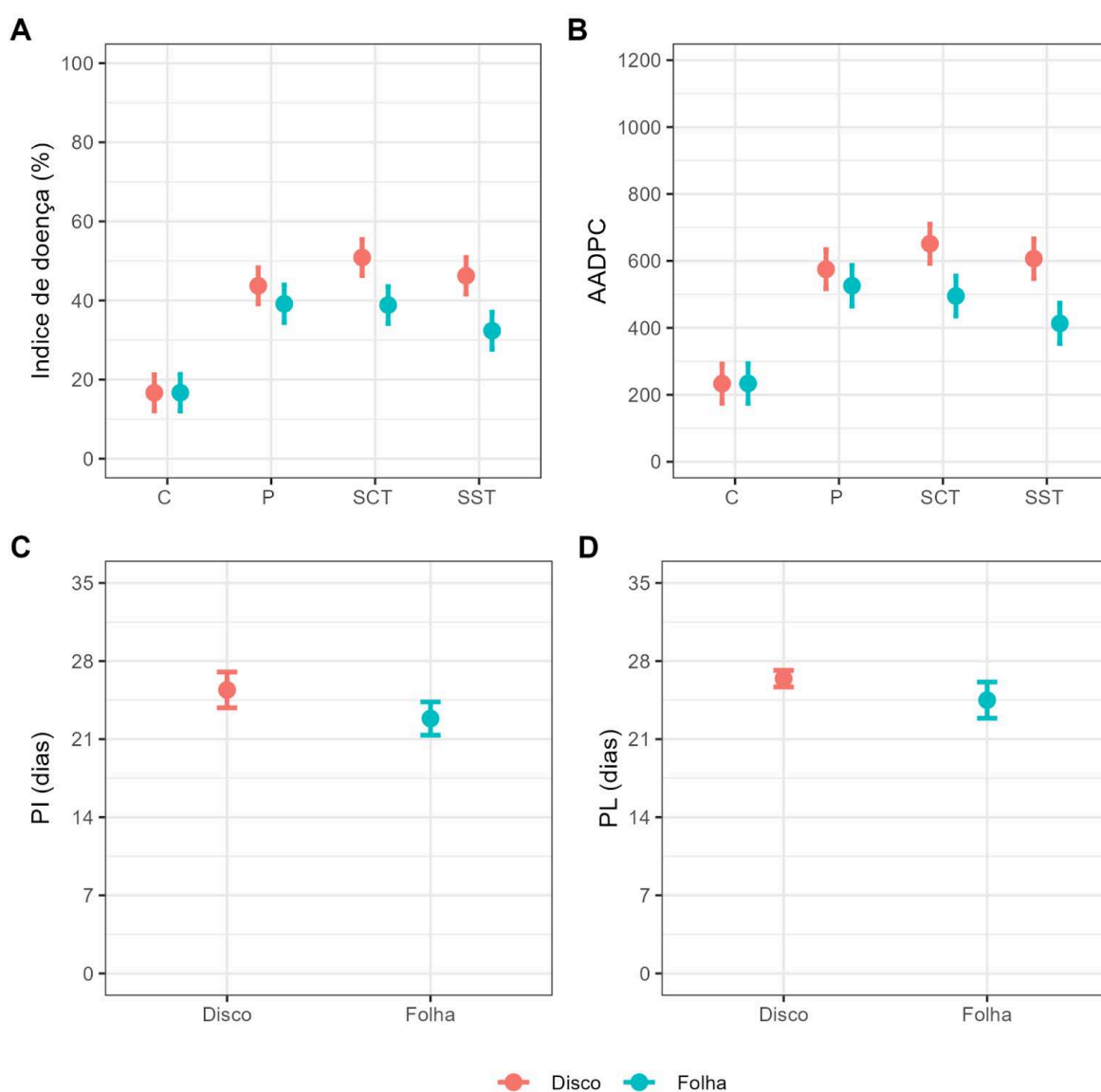


Figura 4: Comparação dos diferentes métodos de inoculação (C: Controle não inoculado; P: uredosporos distribuídos com auxílio de um pincel; SCT: suspensão de uredosporos com Tween 80 (20 µl/L); SST: Suspensão sem Tween) em relação a: **A)** Índice de doença, **B)** Área abaixo da curva de progresso do índice de doença (AACPD), **C)** Período de incubação (PI), e **D)** Período latente (PL).

A avaliação dos métodos de inoculação (Figura 5) em folhas destacadas e discos foliares de *Coffea arabica* cv. Catuaí Vermelho IAC 144, aos 35 DPI com *H. vastatrix* raça II, revelou diferenças na eficiência de estabelecimento da doença. O método do pincel (A, D) resultou em menor uniformidade e intensidade de sintomas, enquanto a suspensão de esporos sem Tween (B, E) apresentou maior número de lesões, porém com variação na intensidade. Já a suspensão de esporos com Tween (C, F) proporcionou infecção mais consistente, com maior uniformidade e severidade nos discos foliares, evidenciando o potencial desse método para ensaios de patogenicidade e avaliação de resistência.

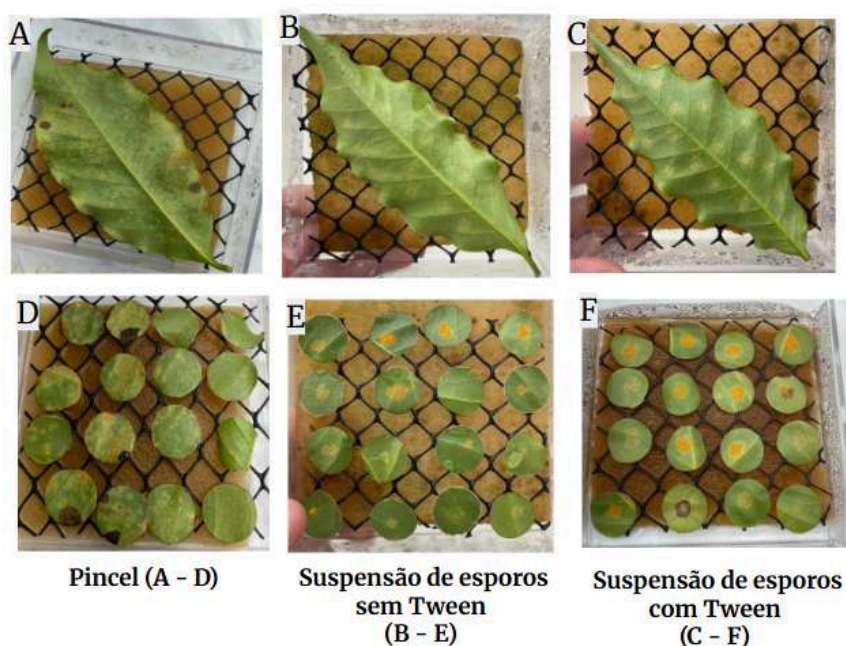


Figura 5. Testes de inoculação em folhas destacadas e discos foliares de *Coffea arabica* cv. Catuaí Vermelho IAC 144, avaliados aos 35 dias após a inoculação (DPI) com *Hemileia vastatrix* raça II. **(A, D)** Inoculação por pincel; **(B, E)** suspensão de esporos sem Tween; **(C, F)** suspensão de esporos com Tween.

Com relação a longevidade do tecido inoculado, foi possível observar que as folhas destacadas senasceram se perdendo mais rápido durante os experimentos, quando comparados com os discos de folha (Figura 6A) independente da raça inoculada e da cultivar (Figura S2). Foi possível observar uma maior perda de unidades observacionais (discos ou folhas) quando a inoculação foi realizada com

auxílio de um pincel (Figura 6B). Por outro lado, a inoculação com suspensão de uredosporos com Tween (SCT) demonstrou a maior durabilidade do material, apresentando a menor perda, inclusive em comparação com a suspensão sem Tween (SST) e o controle (C).

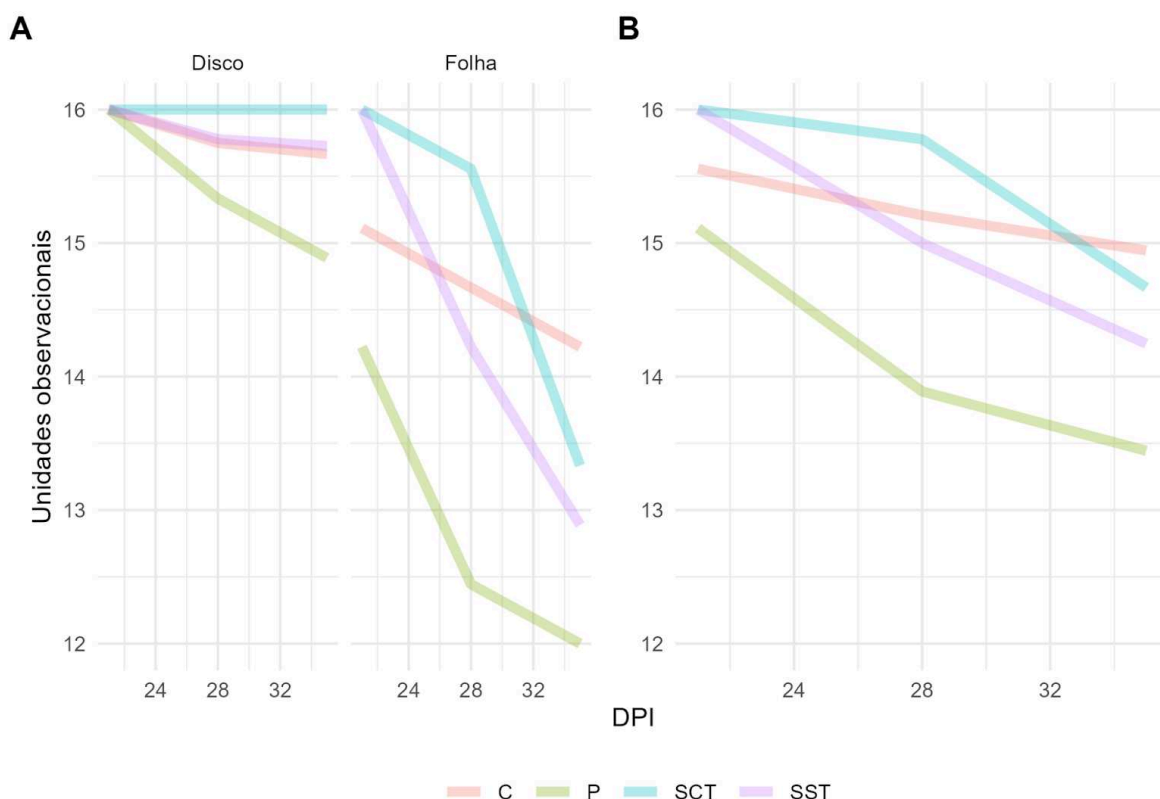
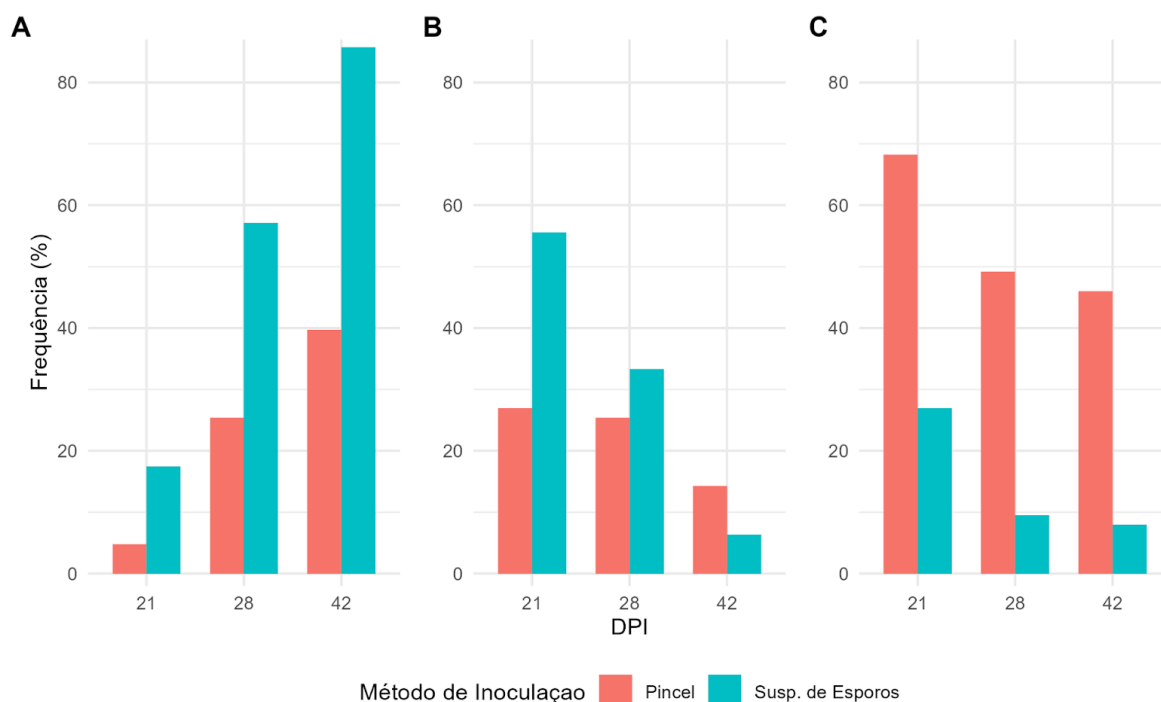


Figura 5: Perdas de unidades observacionais ao longo do tempo (24, 28, 35 dias após a inoculação) para diferentes métodos de inoculação (C: Controle; P: Pincel; SCT: Solução com Tween; SST: Solução sem Tween). **A)** Perdas em folhas destacadas (FI) e discos de folhas (Dis). **B)** Perdas por método de inoculação.

3.2. Testes de inoculação em mudas

Tanto para a inoculação utilizando suspensão de esporos com tween 80 quanto utilizando pincel para espalhar os uredosporos, houve um aumento na frequência de mudas com sinais (A) e uma redução na frequência de mudas apenas com sintomas (B) ou assintomáticas (C). Independente do momento de avaliação, o método de inoculação com suspensão de esporos foi superior quanto a frequência de mudas com sintomas e sinais, quando comparado com o método utilizando o pincel ($p <$

0,05). Aos 42 DPI, 85,7% das mudas já apresentavam esporulação do patógeno nas folhas inoculadas, enquanto que menos da metade das mudas inoculadas com



auxílio do pincel apresentaram qualquer sinal do patógeno (Figura 6).

Figura 6: Porcentagem de mudas com **A)** Sinais, **B)** Sintomas ou **C)** sem sintoma ou sinal aos 21, 28 e 42 dias após a inoculação (DPI) com uredosporos espalhados com auxílio de um pincel (vermelho) ou suspensão de esporos com Tween 80 (20µl/L).

4. DISCUSSÃO

Comparar métodos de inoculação de *H. vastatrix* é essencial para a cafeicultura. Ao identificar que a utilização de suspensão utilizando Tween 80 tanto em mudas quanto em disco de folhas é uma abordagem eficaz na multiplicação e produção de inóculo otimizando o processos visando a fenotipagem e a avaliação da doença. O método de inoculação utilizando uma suspensão de uredosporos com adição de um espalhante como o Tween seja em gotas ou pulverizada em mudas, apresentou melhores resultados no que diz respeito ao desenvolvimento da doença. Ainda, a utilização de discos foliares foi superior ao uso de folhas destacadas, garantindo maior representatividade e longevidade do tecido inoculado. Essa abordagem auxilia diretamente estudos envolvendo a fenotipagem de materiais, permitindo melhor distinção entre genótipos e maior reprodutibilidade dos resultados, sendo ideal para seleção precoce em programas de melhoramento.

Para as inoculações em mudas, observou-se diferenças consideráveis entre os métodos de inoculação por pincel e suspensão de esporos, foi possível observar diferenças consideráveis. Tal diferença demonstra a influência do método de inoculação na infecção e no desenvolvimento da doença. O uso de uma suspensão de esporos, além de ser um método passível de padronização, foi consistentemente superior para favorecer o aparecimento de sintomas e sinais. Tais achados são de suma importância para a otimização e padronização de protocolos de inoculação em mudas de cafeeiro. A Suspensão de Esporos, especialmente quando pulverizada em mudas com uma concentração conhecida, emerge como uma metodologia mais eficiente e promissora para futuros estudos e aplicações que buscam a produção de inóculo, agilizando e aprimorando os processos.

A metodologia de disco de folhas (Eskes, 1982) modificada por (Capucho et al., 2009a), confirma que o uso de discos de folhas é mais eficiente, devido às poucas perdas quando comparada ao uso das folhas destacadas. Essa metodologia vem sendo utilizada e tem sido observada a capacidade dos discos de manterem a viabilidade por um período mais longo sob condições controladas, o que é essencial para o desenvolvimento do patógeno e a manifestação dos sintomas da doença (Cabral et al., 2009). O método dos discos foliares permite um controle mais preciso das variáveis, minimizando a influência de fatores externos que poderiam comprometer a uniformidade da infecção e a reprodutibilidade dos resultados

(Eskes, 1982). Além disso, foi possível observar os primeiros sintomas da ferrugem, como as pústulas alaranjadas, em menos de 21 DPI. Isso indica que a doença pode se manifestar antes deste período. Resultado que é consistente com os achados de (Toniutti et al., 2017), que demonstram um período de latência em torno de 21 dias para o aparecimento de sinais da doença.

A metodologia utilizando a suspensão de uredosporos em gota descrita por (Capucho et al., 2009b) na qual utiliza folhas destacadas inoculadas com suspensão de esporos dá lugar a utilização de suspensão de uredosporos em discos de folhas que se destacou do próprio método de folhas destacadas utilizando suspensões e do método de uredosporos espalhados com pincel. As suspensões vem sendo utilizadas ao longo dos anos para inoculação de diversos fitopatógenos, não sendo diferente com *H. vastatrix*, conforme hipotetizado anteriormente (Cabral et al., 2009), onde a padronização do inóculo é fundamental para garantir a confiabilidade e a reprodutibilidade dos experimentos.

Estudos demonstram metodologias de inoculação em folhas destacadas para avaliação da resistência de *Coffea arabica* à *H. vastatrix*. Enquanto (Barquero-Miranda et al. 2023) propõem um protocolo padronizado para inoculação e avaliação da severidade da ferrugem em condições controladas, outros estudos avançam na análise ao incorporar curvas de sobrevivência para quantificar a resistência incompleta e a dinâmica temporal do desenvolvimento da doença (Quiroga-Cardona et al. 2024) o método de folhas destacadas, quando combinado com análises de sobrevivência, mostrou-se eficiente. Entretanto, os resultados deste trabalho contestam isso demonstrando que a utilização da metodologia utilizando discos de folhas aliados ao uso de suspensão com Tween demonstram melhores resultados.

A aplicação de suspensões de esporos, com ou sem a adição de espalhantes como o Tween, tem demonstrado ser mais consistente estatisticamente do que métodos como o uso do pincel. A utilização do Tween ajuda a quebrar a tensão superficial da água, permitindo uma melhor dispersão e adesão dos esporos à superfície da folha, o que resulta em uma infecção mais homogênea. Outro detalhe é que a uniformidade na distribuição do inóculo é um fator crítico para a acurácia na fenotipagem da resistência, garantindo que as diferenças observadas

entre os tratamentos sejam realmente consistentes, demonstrando a eficiência do método utilizado.

Os resultados obtidos demonstram a superioridade do método de inoculação utilizando uma suspensão de esporos em relação ao método de pincel para a reprodução de sintomas da doença e sinais do patógeno. Assim, esta metodologia não só otimiza o processo de inoculação, sendo diferenciada pela padronização, mas também apresenta maior eficiência na produção de inóculo. Ainda, o método de discos de folha mostrou-se superior ao de folhas destacadas, com a suspensão de uredósporos em gota alinhada aos discos apresentando maior consistência. Entre os tratamentos, a Suspensão Com Tween (SCT) destacou-se estatisticamente, diferenciando-se dos demais métodos (pincel, suspensão sem Tween e controle). Trabalhos futuros serão desenvolvidos utilizando o protocolo aqui desenvolvido para fenotipagem de genótipos de café quanto a resistência à ferrugem, sendo possível caracterizar essa resistência usando diferentes raças/patótipos de *H. vastatrix*.

Referências bibliográficas

Barquero-Miranda, Miguel, María José Cordero-Vega e Kimberly Ureña-Ureña. "Inoculação e Avaliação de *Hemileia vastatrix* em Condições de Laboratório." *Melhoramento de Mutações em Café com Referência Especial à Ferrugem da Folha: Protocolos*. Berlim, Heidelberg: **Springer Berlin Heidelberg**, 2023. 225-232.

Bettencourt AJ., Rodrigues CJ 1988. Principles and practice of coffee breeding for resistance to rust and other diseases. In: CLARKE, R.J.; MACRAE, R. eds. *Coffee: Agronomy*. London: **Elsevier Applied Science** pp 285-292.

Cabral, P.G.C., Zambolim, E.M., Zambolim, L., Lelis, T.P., Capucho, A.S., Caixeta, E.T. 2009. Identification of a new race of *Hemileia vastatrix* in Brazil. **Australasian Plant Disease Notes** 4:129-130.

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

Capucho, Alexandre Sandri et al. *Método de inoculação de *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. em folhas destacadas de cafeeiro*. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2009b. Trabalho técnico-científico.

Eskes, A.B. Phenotypic expression of resistance to coffee leaf rust and its possible relationship with durability. In: Zambolim, L., Maciel-Zambolim, E. & Várzea, V.M.P. (Eds.) **Durable Resistance to Coffee Leaf Rust**. Viçosa MG. Universidade Federal de Viçosa. 2005. pp. 305-332.

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

Gichuru, E.K., Ithiru, J.M., Silva, M.C., Pereira, A.P., Várzea, V.M.P. 2012. Additional physiological races of coffee leaf rust (*Hemileia vastatrix*) identified in Kenya. **Tropical Plant Pathology** 37:424-427.

Guzzo SD, Harakava R, Tsai SM (2009) Identificação do gene do café expresso durante a resistência sistêmica adquirida e interação incompatível com *Hemileia vastatrix*. **J Phytopathol** 1:1–14

McKinney, H. H. Influence of soil temperature and moisture on infection of wheat seedlings by *Helminthosporium sativum*. **Journal of Agricultural Research**, v. 26, p. 195-218, 1923.

Quiroga-Cardona, J., López-Monsalve, L. F., Várzea, V. M. P., & Flórez-Ramos, C. P. (2024). Use of Detached Leaf Inoculation Method for the Early Selection of *Coffea arabica* L. for Resistance to *Hemileia vastatrix* Berk and Broome. **Agronomy**, 14(6), 1283.

Silva, M. do C. et al. An overview of the mechanisms involved in coffee–*Hemileia vastatrix* interactions: plant and pathogen perspectives. **Agronomy**, v. 12, n. 2, p. 326, 2022.

Talhinhas, P. et al. The coffee leaf rust pathogen *Hemileia vastatrix*: one and a half centuries around the tropics. **Molecular Plant Pathology**, v. 18, n. 8, p. 1039-1051, 2017.

Tamayo, P.J. Resistência de Progênies de Catimor a Oito Raças de *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. 1988. 64p. Tese M.S. UFV, Viçosa, MG

Toniutti, L., Breitler, J.-C., Etienne, H., Campa, C., Doulbeau, S., Urban, L., Lambot, C., Pinilla, J.C. H., & Bertrand, B. (2017). Influence of environmental conditions and genetic background of Arabica coffee (*Coffea arabica* L.) on leaf rust (*Hemileia vastatrix*) pathogenesis. **Frontiers in Plant Science**, 8, 2017.

Várzea, VMP., Marques, DV. 2005. Population variability of *Hemileia vastatrix* vs. coffee durable resistance. In: Zambolim, L.; Zambolim, E.M.; Várzea, V.M.P. (Ed.). **Durable resistance to coffee leaf rust**. Viçosa: UFV, p.53-74.

Waller, J.M.; Bigger, M.; Hillocks, R.J. Coffee pests, diseases and their management. **Oxfordshire: CAB International**, 2007. 400p.

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** 151-184

Zambolim, L., Vale, F.X.R., Pereira, A.A. & Chaves, G.M. Café (*C. arabica* L.). Controle de doenças. In: Vale, F.X.R. & Zambolim, L. (Eds.) Controle de doenças de plantas. **Grandes culturas**. Viçosa MG. Universidade Federal de Viçosa. Volume 1. 1997.

Zambolim, L. 2016. Current status and management of coffee leaf rust in Brazil. **Trop. Plant Pathology**. v41: p1–8

Zambolim L, Caixeta ET, 2021. An overview of physiological specialization of coffee leaf rust – new designation of pathotypes. **International Journal of Current Research** 13, 15564–15575.

Zambolim L, Maciel-Zambolim E, Vale FXR, Pereira AA, Sakyama NS, Caixeta ET (2005) Physiological races of *Hemileia vastatrix* in Brazil: physiological variability, current situation and future prospects. In: Zambolim L, Maciel-Zambolim E, Várzea VMP (eds) **Durable resistance to coffee leaf rust**. UFV, Viçosa, pp 53–74.

Zambolim L, Maciel-Zambolim E, Vale FXR, Pereira AA, Sakyama NS, Caixeta ET (2005) Physiological races of *Hemileia vastatrix* in Brazil: physiological variability, current situation and future prospects. In: Zambolim L, Maciel-Zambolim E, Várzea VMP (eds) **Durable resistance to coffee leaf rust**. UFV, Viçosa, pp 53–74.

MATERIAL SUPLEMENTAR

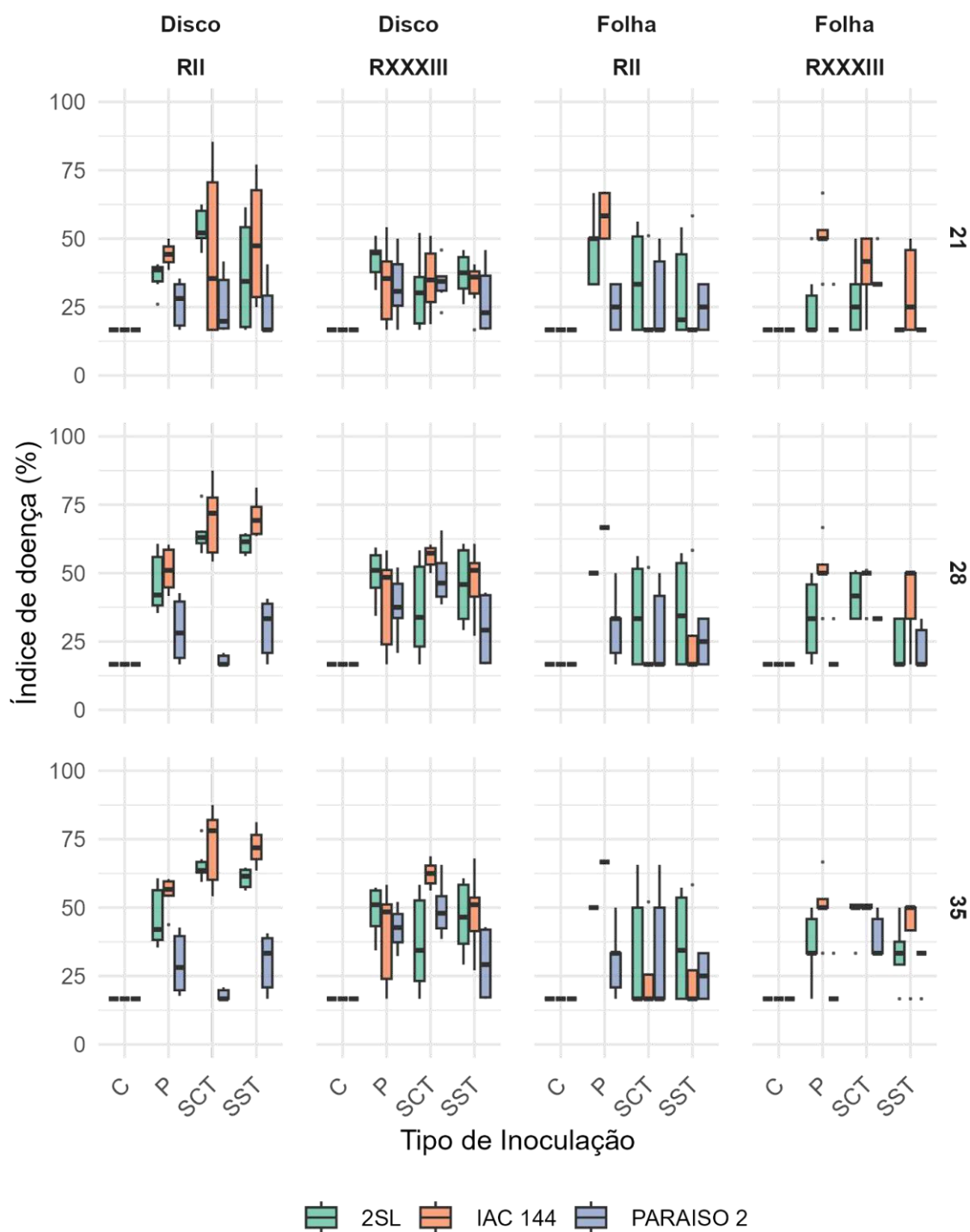


Figura S1: Distribuição do índice de doença de ferrugem em cultivares de cafeeiro, avaliada aos 21, 28 e 35 dias após a inoculação em discos de folha e folhas inteiras para os diferentes métodos de inoculação: Controle (C), Pincel (P), Solução com Tween (SCT) e Solução sem Tween (SST).

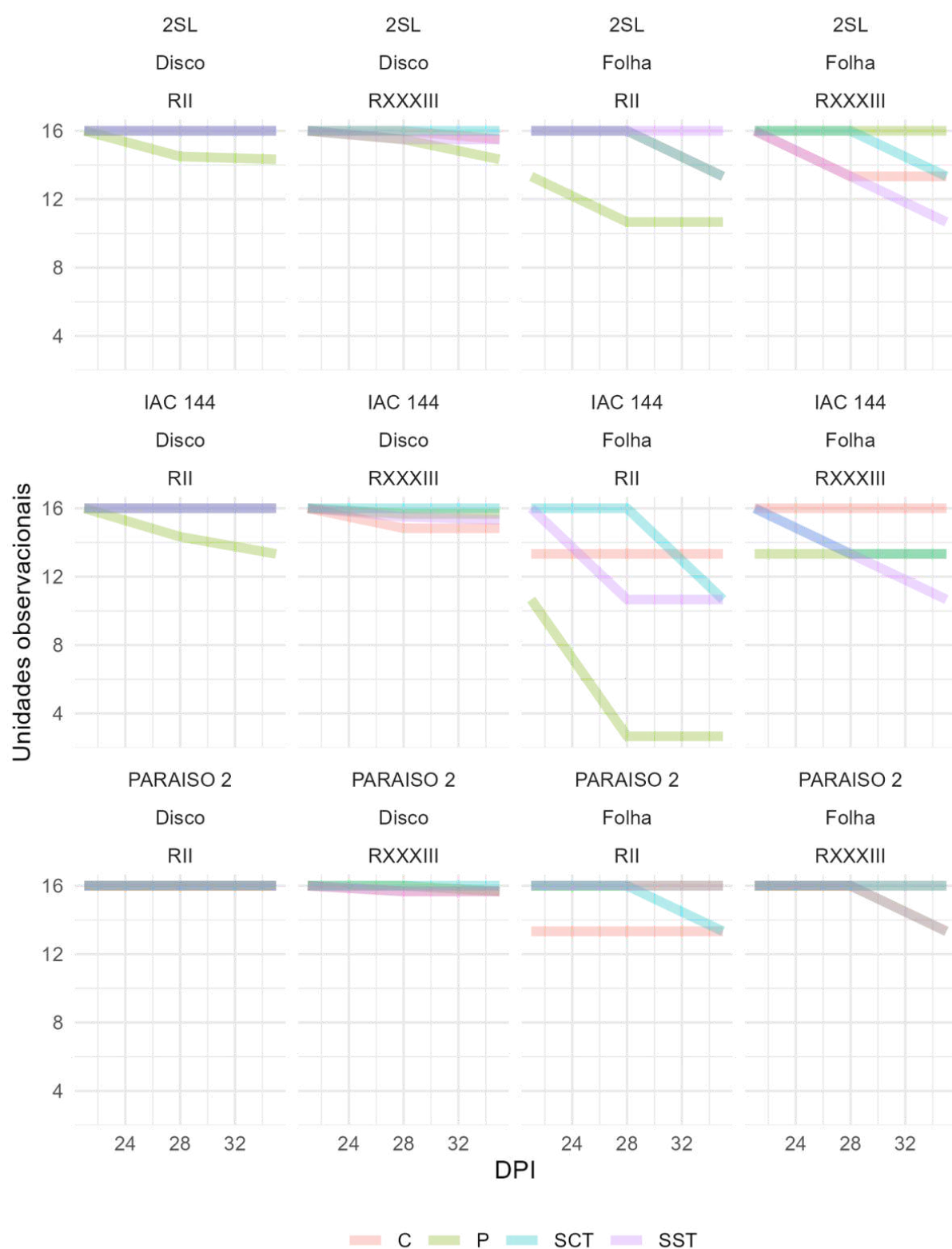


Figura S2. Perdas de unidades observacionais ao longo do tempo (21, 28 e 35 dias pós-inoculação) em função dos diferentes métodos de inoculação: Controle (C), Pincel (P), Solução com Tween (SCT) e Solução sem Tween (SST), avaliados em discos foliares e folhas destacadas, considerando as raças II e XXXIII.

Capítulo 2: Caracterização da Resistência de Cultivares de *Coffea arabica* à Ferrugem

1. Introdução

A ferrugem-do-cafeeiro, causada pelo fungo *Hemileia vastatrix* Berk. et Br., é uma das maiores ameaças à cafeicultura global, impulsionando uma busca urgente por cultivares com resistência duradoura para combater os prejuízos anuais que esta doença causa. Tal relevância de desenvolver cultivares resistentes está fundamentada nas perdas causadas, estimadas entre um e dois bilhões de dólares por ano. Embora a maioria das cultivares tradicionais de *Coffea arabica* permaneça suscetível à ferrugem, o desenvolvimento e a adoção de variedades resistentes representam hoje a estratégia mais sustentável e economicamente viável para o manejo da doença (Silva et al., 2006; Avelino et al., 2018). Até o momento, foram identificados nove genes S_H1 , S_H2 , S_H4 e S_H5 (*Coffea arabica*); S_H3 (*Coffea liberica*); e S_H6 - S_H9 (*Coffea canephora*). Neste contexto, o termo S_H foi utilizado para padronizar a identificação dos genes dominantes que conferem resistência específica a diferentes espécies de café (Silva et al., 2006). O Centro de Investigação das Ferrugens do Cafeeiro (CIFC) foi fundamental nesse trabalho, identificando pelo menos nove genes (S_H1 a S_H9) que são a base para o desenvolvimento de cultivares resistentes (Talhinhas et al., 2017).

Os genes S_H6 , 7, 8 e 9 também foram encontrados em derivados do Híbrido de Timor (HdT), um híbrido natural proveniente do cruzamento entre *C. arabica* e *C. canephora*, o que indica que esses genes são originados de *C. canephora* (Rodrigues et al., 1975; Bettencourt et al., 1988). Além desses, foram detectados pelo menos mais dois genes de resistência ainda não caracterizados, que, isoladamente ou associados aos genes S_H1 - S_H9 , condicionam resistência a mais de 40 raças fisiológicas de *F. vastatrix* (Várzea et al., 2005).

O primeiro estudo sobre a diversidade fisiológica de *H. vastatrix* foi realizado na Índia, na década de 1930 onde foram identificadas quatro raças fisiológicas do fungo por (Mayne, 1932). A criação do Centro de Investigação das Ferrugens do Cafeeiro (CIFC) em Oeiras, Portugal, em 1955, marcou um ponto de virada nas pesquisas sobre a ferrugem do cafeeiro, que se intensificaram com a análise de uredosporos de diferentes origens geográficas (Rodrigues & Bettencourt., 1975). No Brasil foram identificadas ao menos 17 raças fisiológicas, incluindo I, II, III, X, XIII, XV, XVI, XVII, XXII, XXIII, XXIV, XXV, XXIX, XXX, XXXIII, XXXVII e XXXIX. Dentre essas,

destaca-se a raça II, amplamente distribuída nas regiões cafeeiras, fato atribuído à homogeneidade genética predominante nas cultivares de *Coffea arabica* (Zambolim & Caixeta, 2021).

A presença de raças mais agressivas, associada à elevada variabilidade genética do patógeno, impõe desafios significativos ao melhoramento genético e à durabilidade da resistência em materiais comerciais. A emergência de novas raças e isolados mais agressivos ameaçam a agricultura. Como um exemplo da ferrugem do trigo (*Puccinia triticina*) com epidemias expressivas nos últimos anos e também a ferrugem do cafeeiro principalmente na América Latina e Central, que vem enfrentando fortes surtos epidêmicos da doença (Aime et al., 2006; Avelino et al., 2015).

A teoria inicial de que a ferrugem era exclusivamente clonal foi desafiada pelo trabalho de (Rajendren., 1967), que indicou a possibilidade de cariogamia e meiose nos uredosporos. Embora a descoberta tenha sido inicialmente negligenciada por diversos pesquisadores, um estudo brasileiro, utilizando citometria de imagem, revelou um novo tipo de reprodução sexual oculta nos esporos assexuais de *H. vastatrix*. Essa pesquisa confirmou a hipótese de que cariogamia e haploidização podem ocorrer nos uredosporos, um processo denominado criptossexualidade. Este tipo de reprodução pode explicar o surgimento frequente e rápido de novas raças fisiológicas do fungo (Carvalho et al., 2011).

Diversos grupos de pesquisa ao redor do mundo têm se dedicado a desenvolver cultivares de café com resistência duradoura à ferrugem. Contudo, as constantes adaptações do patógeno e o emergir de novas raças, além da complexidade genética de *H. vastatrix*, demonstram o notável potencial evolutivo do fungo e sua capacidade de superar as barreiras de resistência impostas (Cabral et al., 2009).

Cultivares com resistência genética diminuem a necessidade de aplicações químicas, reduzindo custos de produção e minimizando impactos ambientais, como a contaminação do solo e da água (Pereira et al., 2011). Ao contrário dos fungicidas, que podem selecionar patógenos mais agressivos, a resistência genética proporciona um controle mais estável e duradouro (Zambolim, 2016). Quando associadas a boas práticas agrícolas (como adubação equilibrada, controle de

sombreamento e manejo da irrigação), as cultivares resistentes potencializam a eficácia do manejo integrado (Silva et al., 2020).

Neste contexto, em que novas raças de *H. vastatrix* têm comprometido a resistência de cultivares tradicionalmente utilizadas, este trabalho buscou caracterizar 38 diferentes genótipos de *Coffea arabica* frente às raças II (v5) e XXXIII (v5,7 ou v5, 7, 9) do patógeno. A identificação de materiais resistentes ou parcialmente resistentes fornece subsídios fundamentais para programas de melhoramento, contribuindo para a seleção de genótipos superiores e para a busca de estratégias que prolonguem a durabilidade da resistência na cafeicultura.

2. Materiais e métodos

2.1. Genótipos avaliados

A coleta das folhas para inoculação foi realizada no ensaio nacional de cultivares da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG) em parceria com a Universidade Federal de Viçosa, situado na UEPE Viveiro de Café (20°44'30.95" S 42°50'47.91" W) (Tabela 1).

2.2. Coleta e Preparo do material vegetal para inoculação

As coletas foram realizadas no período da manhã e acondicionadas em sacos de papel com as identificações de qual cultivar pertence. Aproximadamente 15 folhas completamente desenvolvidas foram coletadas de cada uma das 38 cultivares de *Coffea arabica* (Tabela 1), neste caso as uma sequência de dez plantas de cada cultivar foi coletada e então feito um mix de folhas a partir das dez plantas. Em seguida este material foi acondicionado em caixa de isopor, com papel toalha umedecido, para evitar a exposição das amostras ao calor e danos mecânicos, durante o transporte, o primeiro experimento foi montado no dia 07 de janeiro e a repetição do mesmo dia 14 de janeiro de 2025.

O processamento das amostras e a instalação dos ensaios foram realizados no mesmo dia das coletas. As folhas coletadas foram cuidadosamente cortadas com um cortador de discos (2 cm de diâmetro) e colocadas no interior de um gerbox, sobre uma tela de nylon e espuma, saturada com água, onde foram posteriormente inoculadas.

Tabela 1: Tabela contendo as cultivares utilizadas no projeto com seu grau de resistência à *Hemileia vastatrix*.

Nº Trat	Descrição do Tratamento	Resistência à ferrugem*
1	IAC Catuaí SH3	Resistente
2	IAC Obatã IAC 4739	Resistente
3	IAC 125 RN	Resistente
4	IPR 100	Resistente
5	IPR 107	Resistente
6	IPR 102	Resistente
7	IPR 103	Parcialmente resistente
8	IPR 105	Resistente
9	Acauã Novo	Resistente
10	Arara	Resistente
11	Asabranca	Resistente
12	Azulão	Parcialmente resistente
13	Beija-flor	Parcialmente resistente
14	Catuaíam 24137	Parcialmente resistente
15	Guará	Parcialmente resistente
16	Japy	Parcialmente resistente
17	Rouxinol	Parcialmente resistente
18	Graúna	Resistente
19	MGS Turmalina	Resistente
20	29-1-8-5 (Icatu x Catimor)	Suscetível
21	H516-2-1-1-7-1-1-1 (Sagarana 19)	Resistente
22	MGS Catucaí Pioneira	Parcialmente resistente
23	MGS Aranãs	Parcialmente resistente
24	MGS Paraíso 2	Parcialmente Resistente
25	MGS Ametista	Resistente
26	UFV 8835 (Sarchimor - Geração F9)	Resistente
27	H514-7-8-2-1-1-1-1 (Progenie Catiguá Amarelo)	Parcialmente resistente
28	MGS EPAMIG 1194	Suscetível
29	Catuaí Amarelo IAC 62	Suscetível
30	Catuaí Vermelho IAC 144	Suscetível
31	Paraíso MG H419-1	Resistente
32	UFV6619c-1341(Catimor Amar.-Geração F7)	Parcialmente resistente

33	MGS Catiguama	Resistente
34	Catiguá MG2	Resistente
35	Catucaí Am. 2SL	Parcialmente resistente
36	H514-7-8-3-3-1-3-1-1(Progênie Catiguá Amar.)	Resistente
37	Oeiras MG6851	Resistente
38	MGS Epamig Amarelão	Parcialmente resistente

*Quanto ao grau de resistência, os genótipos identificados podem ser Resistente, Parcialmente Resistente ou suscetível de acordo com a Fundação Procafé (2025).

2.3. Preparo do inóculo

Foram utilizados os isolados de *Hemileia vastatrix* das raças II (v5) e XXXIII (v5,7 ou v5, 7, 9) mantidos pelo Laboratório de Biotecnologia do Cafeeiro (Biocafé) na Universidade Federal de Viçosa, através de inoculação periódicas em plantas de Caturra CIFC 19/1. Antes de cada inoculação, uma suspensão de uredósporos foi incubada em uma lâmina por 12 horas a 22 °C no escuro. Após esse período, a porcentagem de uredosporos germinados foi avaliada. Somente os uredosporos com germinação superior a 30% foram utilizados nas inoculações.

2.4. Inoculação

Cada disco de folha foi inoculado na face abaxial com uredosporos dos isolados das raças II e XXXIII, sendo utilizada uma suspensão de esporos + Tween 80 (20 µl/L) contendo 1×10^5 uredosporos/ml, utilizando o auxílio de uma micropipeta para inoculação com gotas de 20 µl.

Os gerbox foram incubados $22 \pm 2^\circ\text{C}$, por um período de 48 h no escuro. Em seguida, os gerbox foram incubados à mesma temperatura mas com fotoperíodo de 12h. Após 72 h, os discos e folhas foram cuidadosamente limpos com algodão esterilizado para retirar o excesso uredosporos que não penetraram na folha evitando possíveis contaminações com fungos hiperparasitas.

2.5. Avaliação

A partir do décimo segundo dia após a inoculação (DPI), foram efetuadas observações a cada cinco dias para verificar o surgimento dos primeiros sintomas da doença e sinais do patógeno. Os índices de esporulação foram analisados pela escala de (Tamayo, 1988). A escala foi adaptada para as características dos

sintomas de acordo com a metodologia de inoculação utilizada (Figura 1). As notas 1, 2 e 3 correspondem à reação de resistência do cafeeiro à *H. vastatrix*, e as notas 4, 5 e 6, a reações de susceptibilidade. Nota 1: ausência de sintomas; nota 2: lesões cloróticas pequenas; nota 3: lesões cloróticas grandes; nota 4: lesões cloróticas grandes com pequena esporulação, ocupando menos de 25% da área da lesão com uredosporos; nota 5: lesões com esporulação ocupando de 25 a 50% da área clorótica e nota 6: lesões com esporulação ocupando mais de 50% de sua área.

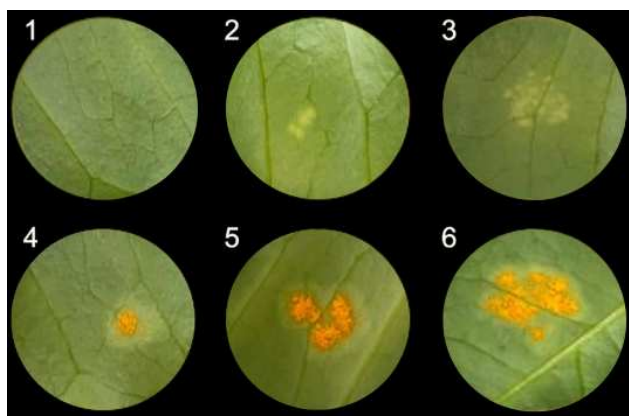


Figura 1: Representação da escala de Tamayo adaptada (1988).

Aos 37 DPI, os discos de cada gerbox foram posicionados sobre um fundo azul e fotografados com câmera digital sob uma mesma altura para estimar a área esporulada. As imagens foram processadas e analisadas utilizando o pacote pliman (Olivoto, 2022) no software R (R Core Team, 2024), gerando variável severidade a partir da quantificação da proporção de área afetada.

Os discos de folhas com esporulação do patógeno em cada gerbox foram lavados com um volume conhecido de água destilada e centrifugados a 1.750 RPM por 20 minutos. A suspensão recolhida teve sua concentração de uredosporos estimada com o auxílio de um hemocítmetro sob microscópio óptico. Conhecidos o volume de água utilizado para recolher os uredosporos e a concentração da suspensão obtida, estimou-se a quantidade de uredosporos produzida em cada disco de folha e em cada gerbox.

O intervalo de tempo em dias, decorridos da inoculação até a última avaliação do experimento (37 DPI) foi o critério adotado, para definição do período de

incubação e o período latente quando não houvesse esporulação do patógeno nos discos. As notas de severidade foram usadas para calcular o índice de doença = $[(\text{nota da doença} \times \text{número de discos com essa nota}) / (\text{número total de discos} \times \text{nota máxima da doença na escala})]$ (McKinney, 1923).

Posteriormente, foi calculada a área abaixo do progresso do índice da doença (AACPD), período de incubação (PI) e período latente (PL), em dias, usando o critério de $\frac{1}{3}$ da incidência final de discos com sintomas ou sinais, respectivamente.

O experimento foi arranjado no delineamento inteiramente casualizado com três repetições. Cada gerbox contendo 16 discos foi considerado uma repetição. Cada um dos 16 discos foi considerado uma unidade observacional. Todo experimento foi conduzido duas vezes. Como não houve efeito significativo do experimento, os dados foram analisados de maneira conjunta.

2.6. Análise de dados

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

Para analisar e classificar os genótipos de acordo com a resistência às raças, realizou-se uma análise de agrupamento usando o método hierárquico Ward, que cria grupos compactos e homogêneos a partir das médias dos resultados. A metodologia seguiu as diretrizes de (Mendonça et al., 2019), para validar a qualidade desses agrupamentos, foi empregada uma análise discriminante. A determinação do número ideal de clusters foi feita através do critério de Mojena ($\lambda =$

1.25), que analisa as distâncias de dissimilaridade no dendrograma, identificando pontos de corte lógicos que revelam os agrupamentos mais naturais nos dados.

Todas as análises foram realizadas no software R (R Core Team, 2024).

3. RESULTADOS

3.1. Caracterização da resistência

A análise de correlação entre os componentes de resistência avaliados foi realizada com as médias dos componentes de resistência para cada uma das 38 cultivares utilizadas, inoculados com as raças II (v5) e XXXIII (v5,7 ou v5,7,9) de *H. vastatrix*, respectivamente. Nem todos os componentes de resistência avaliados apresentaram correlação si pelo teste *t* ($P < 0,05$), como podemos observar o caso da variável AUDPC onde não é observada nenhuma diferença significativa quando correlacionada com as demais variáveis (Tabela 2). A maior correlação (0,582) ocorreu entre o índice de doença e a severidade. Uma baixa correlação (0,008) pode ser observada envolvendo o índice de doença e a variável uredosporos/ml.

3.2. Resistência de cultivares de *Coffea arabica* à raça II de *H. vastatrix*

A análise das cultivares à raça II, ilustrada na Figura 2, demonstrou a maioria das cultivares como resistentes. Dos quatro agrupamentos identificados, o grupo resistente se destaca, abrangendo 76,32% das cultivares (29 materiais). Esse resultado é amplamente consistente com a literatura, visto que 27 das 29 cultivares foram lançadas como resistente à ferrugem. No entanto, a cultivar MGS Epamig 1194 apresenta uma resistência inesperada, contradizendo os dados existentes e indicando a necessidade de futuras investigações para entender essa discrepância

Tabela 2: Coeficientes de correlação entre os componentes de resistência.

Componentes de resistência	index	AUDPC	severidade	uredosporos/ml	PI	PL
index	-					
AUDPC	0,146	-				
severidade	0,582*	0,114	-			
uredosporos/ml	0,008*	0,081	0,381*	-		

PI	-0,058*	0,031	-0,396*	-0,105*	-
PL	-0,138	-0,203	-0,450*	-0,389*	0,486* -

index (índice de doença) = [(nota da doença x número de discos com essa nota)/(número total de discos x nota máxima da doença na escala)]. **AUDPC (Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença)** = determinação da intensidade da doença ao longo do tempo. **severidade** = quantificação da proporção de área afetada pela doença. **uredosporos/ml** = quantidade final de uredosporos produzidos por área inoculada. **PI** = período (dias) entre a inoculação até a observação de $\frac{1}{3}$ da incidência final de discos com sintomas; **PL** = período (dias) entre a inoculação até a observação de $\frac{1}{3}$ da incidência final de discos com lesões esporulantes.

Em contrapartida, o grupo altamente suscetível representa 2,64% com apenas a cultivar Catuaí Vermelho IAC 144, já as cultivares suscetíveis representam 10,52% sendo representado por quatro cultivares (29-1-8-5, Catuaí Amarelo IAC 62, Guará e Catucaí Amarelo 2SL). Por fim, uma parcela (10,52%, ou quatro cultivares) foi classificada como parcialmente resistente.

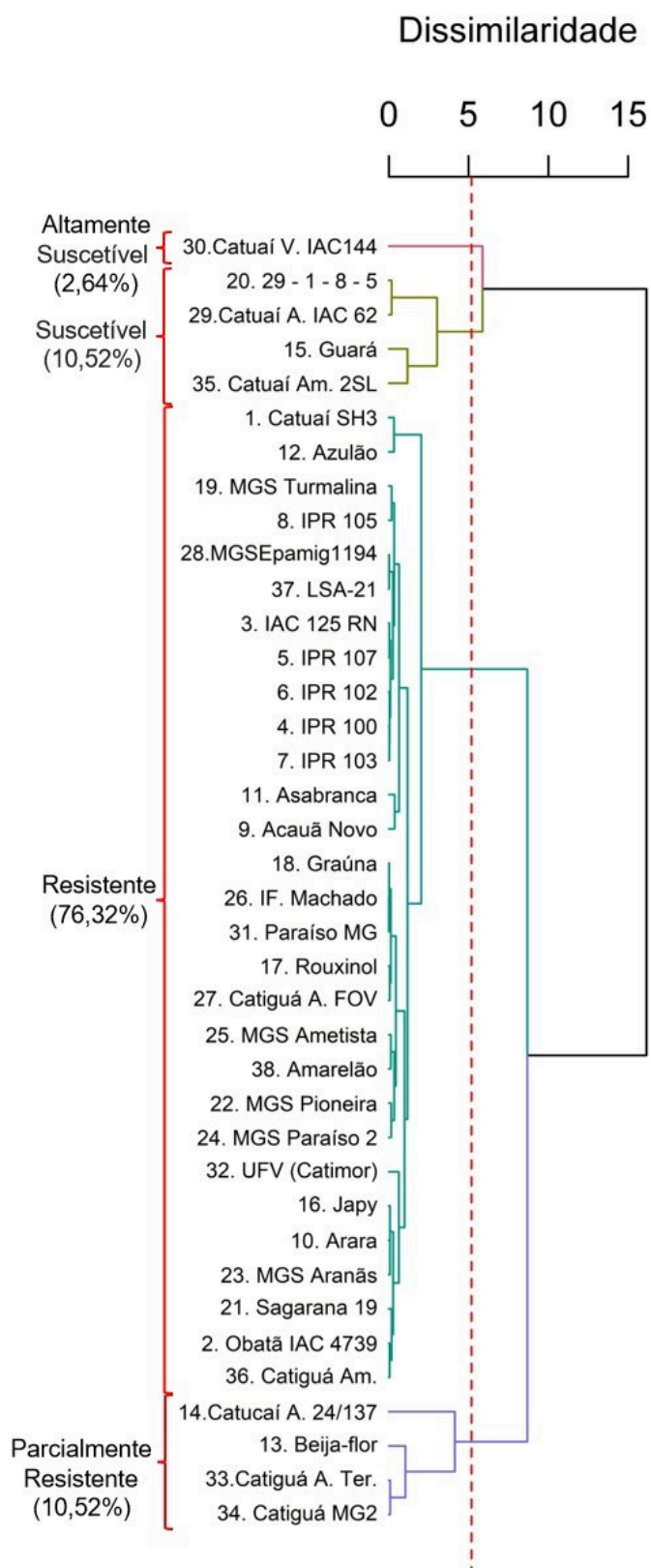


Figura 2: Dendrograma representativo demonstrando a separação de grupos para a RII para os experimentos combinados, contendo a linha tracejada sendo o limite de Mojena ($\lambda = 1.25$).

A Análise de Componentes Principais (CPs), aplicada às 38 cultivares inoculadas com a raça II do patógeno, revelou uma estrutura explicativa para a variabilidade da resistência. O Primeiro Componente Principal (CP1) emerge como o eixo dominante, explicando uma parcela de 62,7% da variância total. Sua forte correlação negativa com o index (-0,979), severidade (-0,975) e uredosporos/ml (-0,896) foram indicadores diretos da menor intensidade da doença, e sua correlação positiva com o PL (0,892) solidificam sua interpretação como um componente de resistência geral (Tabela 3). Isso sugere que o CP1 representa primariamente um eixo de resistência à doença, onde valores elevados indicam menor vulnerabilidade das cultivares ao patógeno.

O Segundo Componente Principal (CP2), por sua vez, explicou 16,9% da variância total, elevando a explicação acumulada para quase 80% (79,6%) com ambos os componentes (Tabela 3). O CP2 destacou-se pela forte correlação positiva com o PI (0,993), enquanto suas correlações com AUDPC (-0,036), severidade (-0,006) e uredosporos/ml (0,007) com baixo valor. Esse resultado indica que o CP2 captura uma dimensão distinta da resistência, possivelmente relacionada ao período de incubação (PI).

Tabela 3: Autovetores do CP1 e CP2 para os componentes de resistência e a correlação entre estas variáveis, para as 38 cultivares inoculadas com a raça II.

P/RII	Autovalores CP1	Autovalores CP2	Correlação CP1	Correlação CP2
index	-0,462	-0,001	-0,979	-0,001
AUDPC	-0,466	-0,035	-0,988	-0,036
severidade	-0,460	-0,006	-0,975	-0,006
uredosporos/ml	-0,423	0,007	-0,896	0,007
PI	0,049	0,988	0,104	0,993
PL	0,421	-0,153	0,892	-0,154
Explicação (%)	74,9	16,9	-	-

index (índice de doença) = [(nota da doença x número de discos com essa nota)/(número total de discos x nota máxima da doença na escala)]. **AUDPC (Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença)** = determinação da intensidade da doença ao longo do tempo. **severidade** = quantificação da proporção de área afetada pela doença. **uredosporos/ml** = quantidade final de uredosporos produzidos por área inoculada. **PI** = período (dias) entre a inoculação até a observação de $\frac{1}{3}$ da

incidência final de discos com sintomas; **PL** = período (dias) entre a inoculação até a observação de $\frac{1}{3}$ da incidência final de discos com lesões esporulantes.

A análise multivariada permitiu condensar a complexidade dos múltiplos componentes de resistência em duas dimensões principais. O CP1 diferencia as cultivares com base em sua suscetibilidade geral ou resistência à doença ao longo do tempo, enquanto o CP2 reflete a resistência em termos de retardo no na infecção.

3.3. Resistência de cultivares de *Coffea arabica* à raça XXXIII de *Hemileia vastatrix*

A análise da resistência de cultivares à raça XXXIII, representada na Figura 3, mostrou a maioria das cultivares apresentando resistência. Foram identificados quatro agrupamentos, o grupo resistente se destaca, contendo 71,05% dos materiais (27 materiais). Esse resultado é amplamente consistente com a literatura, visto que 26 das 27 cultivares foram lançadas como resistente à ferrugem. No entanto, a cultivar MGS Epamig 1194 apresentou uma resistência inesperada, contradizendo os dados existentes e indicando a necessidade de futuras investigações para entender essa discrepância.

Em contrapartida, os grupos altamente suscetível e suscetível representaram 10,53% contendo quatro cultivares. A progênie 29-1-8-5 foi a que apresentou a maior presença de sintomas e sinais sendo considerada altamente suscetível devido a sua alta taxa de progresso da doença, já as três cultivares que compõem o clusters dos suscetíveis ganha destaque por apresentar cultivares como Catuaí Vermelho IAC 144, Catuaí Amarelo IAC 62 consideradas suscetíveis, entretanto a cultivar Guará também se agrupou desta maneira contradizendo a literatura que a confere uma resistência parcial a esta cultivar ou outra hipótese é que a resistência está sendo suplantada pela raça mais virulenta. Por fim, uma parcela de 18,42%, ou sete cultivares, foi classificada como parcialmente resistente, no entanto apenas IPR 100, Amarelão, MGS Pioneira e MGS Aranãs apresentam algum tipo de resistência, já Catuaí Amarelo IAC 62, Catuaí Amarelo 24/137 são cultivares suscetíveis.

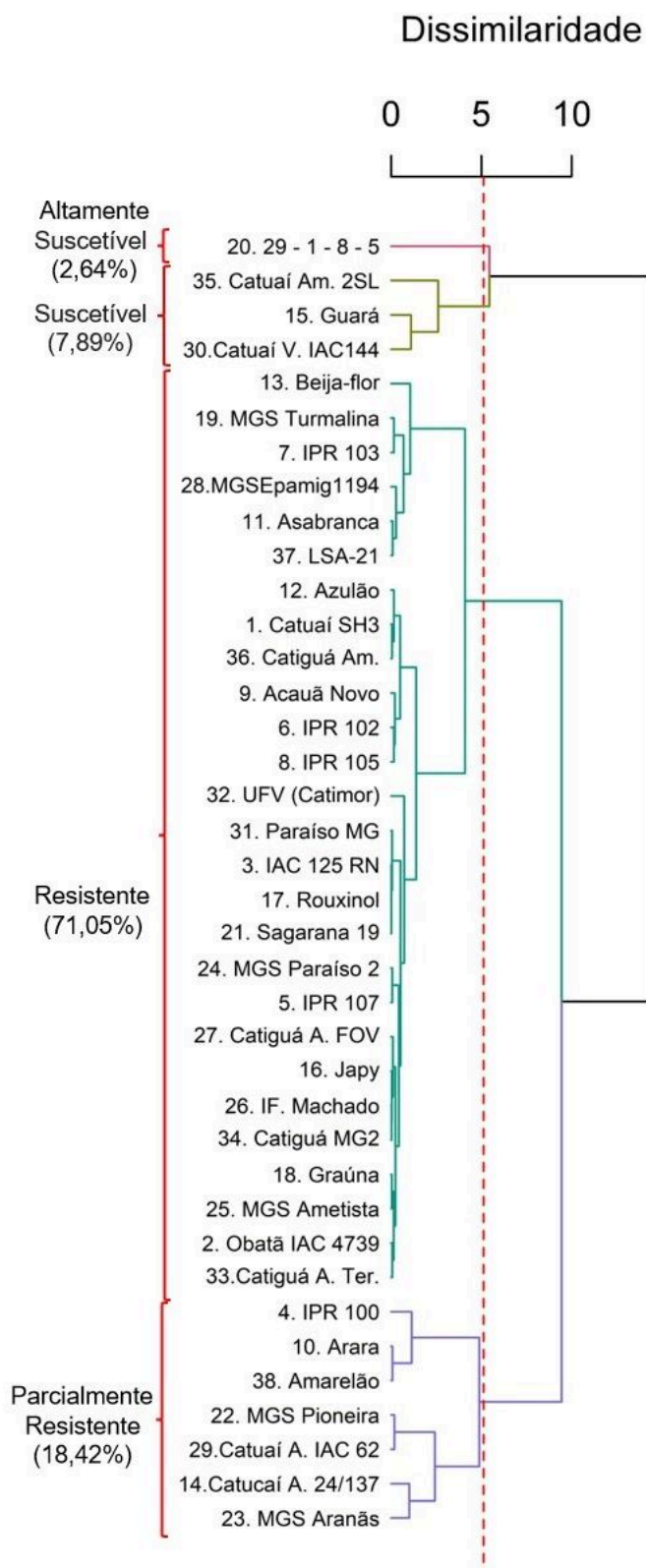


Figura 3: Dendrograma representativo demonstrando a separação de grupos para a RXXXIII para os experimentos combinados, contendo a linha tracejada sendo o limite de Mojena ($\lambda = 1.25$).

A Análise de Componentes Principais (CPs) das 38 cultivares inoculadas com a raça XXXIII do patógeno revelou que a complexa variabilidade na resistência pode ser eficientemente resumida em dois componentes principais, que, em conjunto, explicam 79,0% da variância total (Tabela 4). O Primeiro Componente Principal (CP1) assume a maior parte dessa explicação, respondendo por 56,5% da variância. Sua formação é fortemente influenciada por indicadores de doença como index (0,473), severidade (0,459) e AUDPC (0,466) (com autovetores e correlações positivas), enquanto para a variável PI apresenta uma correlação negativa (-0,393) e para uredosporos/ml uma correlação positiva (0,439). Assim, o CP1 é interpretado como um eixo de suscetibilidade geral, onde valores mais altos do componente tendem a estar diretamente ligados ao progresso da doença de cultivares à raça XXXIII de *H. vastatrix*.

Tabela 4: Autovetores do CP1 e CP2 para os componentes de resistência e a correlação entre estas variáveis, para as 38 cultivares inoculadas com a raça XXXIII.

P/RXXXIII	Autovalores CP1	Autovalores CP2	Correlação CP1	Correlação CP2
index	0,466	-0,003	0,473	0,029
AUDPC	0,473	0,029	0,466	-0,003
severidade	0,459	0,032	0,459	0,032
uredosporos/ml	0,439	-0,106	0,439	-0,106
PI	0,030	0,993	-0,393	0,026
PL	-0,393	0,026	0,030	0,993
Explicação (%)	70,6	16,8	-	-

index (índice de doença) = [(nota da doença x número de discos com essa nota)/(número total de discos x nota máxima da doença na escala)]. **AUDPC (Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença)** = determinação da intensidade da doença ao longo do tempo. **severidade** = quantificação da proporção de área afetada pela doença. **uredosporos/ml** = quantidade final de uredosporos produzidos por área inoculada. **PI** = período (dias) entre a inoculação até a observação de $\frac{1}{3}$ da incidência final de discos com sintomas; **PL** = período (dias) entre a inoculação até a observação de $\frac{1}{3}$ da incidência final de discos com lesões esporulantes.

O Segundo Componente Principal (CP2) complementa essa explicação ao capturar 22,5% da variância total, evidenciando uma importância relativamente maior para a raça XXXIII em comparação com a outra raça (Tabela 4). O CP2 é definido com uma alta correlação positiva voltada a PL (0,993) e uma correlação

negativa com uredosporos/ml (-0,106), enquanto as correlações com as demais variáveis, como index (0,029), AUDPC (-0,003) e PI (0,026), são baixas.

A análise multivariada forneceu uma representação mais simples demonstrando a arquitetura da resistência das cultivares frente à raça XXXIII. O CP1 descreve a dimensão primária da suscetibilidade, enquanto o CP2 demonstra a importância da resistência temporal e da taxa de desenvolvimento da doença. Essa compreensão dos mecanismos de resistência é essencial para caracterizar as cultivares e para subsidiar decisões no melhoramento genético, permitindo o desenvolvimento de variedades com perfis de resistência mais eficazes e adaptados às especificidades da raça XXXIII do patógeno.

4. DISCUSSÃO

Para avaliação da resistência de cada uma das 38 cultivares foram utilizados dois isolados classificados como pertencentes às raças II (v5) e XXXIII (v5,7 ou v5,7,9) de *H. vastatrix* pelo fato de a primeira ser a de maior prevalência no Brasil (Cabral, et al., 2009; Cardoso, 1988; Zambolim, 2005), e a segunda devido a sua capacidade de superar múltiplos genes de resistência (Cabral et al., 2009), somada à elevada variabilidade genética do patógeno (Nunes et al., 2009; Maia et al., 2013).

A utilização dos componentes de resistência, como períodos de incubação e latente, concentração de uredosporos produzidos e severidade da doença, é essencial para caracterizar diferentes níveis de resistência entre cultivares. Embora tais parâmetros não representem diretamente a durabilidade da resistência, eles permitem identificar materiais com resistência quantitativa ou incompleta, geralmente associada a maior estabilidade frente à variabilidade do patógeno (Zambolim et al., 2005; Zambolim, 2016). A comparação da resposta das cultivares frente a diferentes raças de *H. vastatrix*, como a raça II historicamente mais antiga e a raça XXXIII capaz de suplantar a resistência de materiais Catimor fornece informações complementares para inferir sobre o potencial de durabilidade da resistência.

Neste trabalho foram feitas a estimativa de porcentagem de área lesionada (severidade) pelo processamento de imagens fotográficas da última avaliação aos 35 DPI, utilizando o pacote *pliman* (Olivoto et al., 2022) no software R (R Core Team, 2024), além da contagem (uredosporos/ml) de esporos desta área. Todas as

variáveis foram avaliadas conjuntamente por meio de análise multivariada, permitindo a obtenção de uma interpretação unificada para todos os componentes de resistência.

As correlações mais fortes foram observadas entre a severidade e o índice de doença, o que indica que a área foliar afetada é um fator de interferência para o índice de infecção. Outra correlação positiva que chama a atenção é encontrada entre a severidade e a variável uredosporos/ml, sugerindo que as plantas com maior área lesionada permitiu a maior reprodução do patógeno. Por outro lado, correlações negativas significativas foram observadas entre o período latente e a severidade final e a variável uredosporos/ml, demonstrando de forma evidente seu papel na resistência ao inferir sobre o desenvolvimento do patógeno. A correlação moderada entre período de incubação e período latente reforça que esses componentes temporais estão relacionados, possivelmente regulados por mecanismos fisiológicos semelhantes nas diferentes cultivares. Já a ausência de correlação entre índice de doença e produção de esporos indica que a quantidade de esporos não é um bom indicador isolado do estado geral da doença. Por fim, os resultados demonstram uma seleção de genótipos que apresentam um maior período latente e menor severidade da doença.

A análise das inoculações com o isolado da raça II demonstra que a grande maioria das cultivares avaliadas são consideradas resistentes. Corrobora com a informação disponível onde 27 das 29 cultivares são classificadas como resistentes. Possivelmente, estes genótipos foram avaliados em ambientes com a prevalência de isolados pertencentes a esta raça mais predominante. No entanto, observou-se a resistência inesperada da cultivar MGS Epamig 1194 que necessita de melhores investigações. Em contrapartida, a cultivar Catuaí Verm. IAC 144 se agrupou sozinha e foi considerada altamente suscetível. As cultivares que se apresentaram como suscetíveis (29-1-8-5, Catuaí Amarelo IAC 62, Guará e Catuaí Amarelo 2SL) no entanto dados descritos pela Fundação Procafé (2025) apresentam 29-1-8-5, Catuaí Amarelo IAC 62 como suscetíveis e Guará e Catuaí Amarelo 2SL com resistência parcial.

Os resultados para a análise da resistência de cultivares à raça XXXIII demonstra a maioria das cultivares (71,05%) apresentando resistência alinhando-se com os relatos sobre 26 das 27 das cultivares agrupadas neste grupo, diferindo das

descrições de (Carvalho et al., 2022) apenas para a cultivar MGS Epamig 1194 que necessita de novas investigações. Por outro lado, apenas uma progênie H 29-1-8-5 apresentou alta suscetibilidade e outros 7,89% se apresentando como suscetíveis, entretanto apenas Catuaí Am. IAC 62 e Catuaí Verm. IAC 144 confirmam a suas descrições na literatura, no entanto a cultivar Guará apresenta alguma resistência descrita e também apresenta uma característica em comum que é ser originada de cruzamento proveniente de Catuaí. Outras cultivares IPR 100, Amarelão, MGS Pioneira, MGS Aranãs, Catuaí Amarelo IAC 62, Catuaí Amarelo 24/137 o entanto apenas IPR 100, Amarelão, MGS Pioneira e MGS Aranãs apresentam algum tipo de resistência e uma principal característica genética comum entre essas cultivares é a forte presença de linhagens derivadas de Catuaí e Mundo Novo, já Catuaí Amarelo IAC 62, Catuaí Amarelo 24/137 são cultivares suscetíveis.

A Análise de Componentes Principais (CPs) das 38 cultivares inoculadas com a raça II do patógeno revelou dois eixos principais que explicam 79,6% da variância total. O CP1 (62,7% da variância) representou um eixo de suscetibilidade geral, correlacionando-se fortemente de forma negativa com índice de doença, severidade e produção de uredósporos, e positivamente com período de latência (PL). Já o CP2 (16,9% da variância) capturou aspectos temporais da resistência, associando-se positivamente à PI e negativamente à AUDPC, severidade e produção de uredósporos com baixos valores, indicando diferenças na dinâmica de progresso da doença entre cultivares. Essa distinção permite identificar genótipos com resistência imediata (baixo CP1) ou capacidade de retardar a infecção (alto CP2), auxiliando no melhoramento genético.

De forma similar, a CPs para a raça XXXIII explicou 79,0% da variância, mas com proporções distintas: CP1 (56,5%) novamente representou suscetibilidade geral, enquanto CP2 (22,5%) teve maior peso, destacando mecanismos de resistência temporal através de correlações positivas com PL e negativas com uredosporos/ml. Essa maior contribuição do CP2 sugere que, para esse isolado específico, a capacidade de retardar o desenvolvimento do patógeno é particularmente relevante. A análise multivariada permitiu assim caracterizar diferentes perfis de resistência, fornecendo subsídios valiosos para a seleção de cultivares com respostas mais eficazes contra isolados de diferentes raças do patógeno.

Os resultados discutidos indicam que, para a avaliação da resistência de 38 cultivares de café a duas importantes doenças da ferrugem, as raças II e XXXIII. Foi possível observar que o tempo que a doença leva para se manifestar é um fator crucial: quanto mais longo esse período, menos intensa é a doença e menor a produção de esporos. Entretanto, a maioria das cultivares demonstrou alta resistência a ambas as raças. Com algumas exceções como MGS Epamig 1194 e IPR 100, que indicam a necessidade de mais investigações. No geral, percebemos que a resistência não se trata apenas de ser resistente, mas também capacidade de retardar o avanço da doença, o que é especialmente importante para a raça XXXIII. Esses resultados são valiosos para a seleção de cultivares com melhores respostas à doença gerando estratégias mais eficazes no manejo da ferrugem nas lavouras de café.

Referências bibliográficas

- Aime, M. C. *et al.* Origin and evolution of fungal rusts of wheat. **Phytopathology**, v. 96, n. 6, p. S6, 2006.
- Avelino, J. *et al.* The coffee rust crises in Central America and Colombia (2008–2013): Impacts and management. **Phytopathology**, v. 105, n. 1, p. 70-82, 2015.
- Avelino, J., Allinne, C., Cerda, R., Willocquet, L., & Savary, S. (2018). Multiple-Disease System in Coffee: From Crop Loss Assessment to Sustainable Management. **Annual Review of Phytopathology**, 56, 611-635.
- Bettencourt AJ., Rodrigues CJ 1988. Principles and practice of coffee breeding for resistance to rust and other diseases. In: Clarke, R.J.; Macrae, R. eds. Coffee: Agronomy. London: **Elsevier Applied Science** pp 285-292.
- Cabral, P.G.C., Zambolim, E.M., Zambolim, L., Lelis, T.P., Capucho, A.S., Caixeta, E.T. 2009. Identification of a new race of *Hemileia vastatrix* in Brazil. **Australasian Plant Disease Notes** 4:129-130.
- Cardoso, R.M.L., Zambolim, L. & Chaves, G.M. Ocorrência no Brasil da raça XVI de *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. Coletada do germoplasma de *Coffea arabica* L. no Estado de Minas Gerais. **Fitopatologia Brasileira**, v.13, n.4, p.p 343-346.1988.
- Carvalho, C. H. S., Bartelega, L., Sera, G. H., Matiello, J. B., Almeida, S. R., Santinato, F., & Hotz, A. L. (2022). *Catálogo de cultivares de café arábica*. Brasília, DF: Embrapa Café.
- Carvalho CR, Fernandes RC, Carvalho GMA, Barreto WB, Evans HC. 2011. Cryptosexuality and the genetic diversity paradox in coffee rust, *Hemileia vastatrix*. **Plos One** 6(11): e26387.
- FUNDAÇÃO PROCAFÉ. IPR 100. Disponível em: <https://www.fundacaoprocafe.com.br/cultivares-1/ipr-100>. Acesso em: 23 jul. 2025.
- Hair, J.F., Anderson, R.E., Tatham, R.L. & Black, W.C. Análise multivariada de dados, 6 a ed. Bookman Editora, Porto Alegre. 688p. 2009.
- Maia, T. A., Maciel-Zambolim, E., Caixeta, E. T., Mizubuti, E. S. G., Zambolim L. 2013. The population structure of *Hemileia vastatrix* in Brazil inferred from AFLP **Australasian plant pathology**. 42:533–542.

Mayne, W.W. 1932. Annual report of *coffee* scientific officer, 1931-1932. Bangalou, Superintendent at the Government, 32 p. (Mysore Coffee Experiment Station-Bulletin, 7).

Mendonça, R. F. de, Jesus Junior, W. C., Ferrão, M. A. G., Moraes, W. B., Busato, L. M., Ferrão, R. G., Tomaz, M. A., & Fonseca, A. F. A. (2019). Genótipos de café conilon e sua reação à ferrugem alaranjada. **Summa Phytopathologica**, 45 (3), 279-284.

Mendonça, R. F. de, Jesus Junior, W. C., Ferrão, M. A. G., Moraes, W. B., Busato, L. M., Ferrão, R. G., Tomaz, M. A., & Fonseca, A. F. A. (2019). Genótipos de café conilon e sua reação à ferrugem alaranjada. **Summa Phytopathologica**, 45 (3), 279-284.

Noronha-Wagner, M., Bettencourt, A., 1967. Genetic study of the resistance of *coffee* spp. to leaf rust: i. identification and behavior of four factors conditioning disease reaction in *Coffea arabica* to twelve physiologic races of *Hemileia vastatrix*. **Canadian Journal of Botany** 45: 2021-2131.

Nunes, CC., Maffia, LA., Mizubuti, ESG., Brommonschenkel, SH., Silva, JC. 2009. Genetic diversity of populations of *Hemileia vastatrix* from organic and conventional coffee plantations in Brazil. **Australasian Plant Pathology** 38:445 - 452.

Olivoto, T. Lights, camera, pliman! An R package for plant image analysis. **Methods in Ecology and Evolution**, v. 13, n. 4, p. 789-798, 2022.

Pereira, A.B., Carvalho, S.P., & Rodrigues, L.M. (2011). Genetic resistance in coffee disease management: strategies against *Hemileia vastatrix*. **Plant Pathology**, 60(3), 221-234.

Rajendren, R. B. On the nuclear behavior and possible sexuality in *Hemileia vastatrix* Berk. & Br. **Mycopathologia et Mycologia Applicata**, v. 33, n. 1, p. 49-54, 1967.

R Core Team (2024) R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria

Rodrigues, C.J., Bettencourt, A.J. 1975. Races of the pathogen and resistance to coffee rust. **Annual Review of Phytopathology** 13: 49-70.

Silva, M. C., Várzea, V., Guerra-Guimarães, L., Azinheira, H. G., Fernandez, D., Petitot, A.-S., Bertrand, B., Lashermes, P., & Nicole, M. (2006). Coffee resistance to the main diseases: leaf rust and coffee berry disease. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, 18(1), 119-147

Silva, R.M., Teixeira, A.C., & Zambolim, L. (2020). Integrated management of coffee leaf rust: combining resistance, agronomy, and chemical control. **Phytopathology**, 110(2), 156-170.

Talhinhas, P. et al. The coffee leaf rust pathogen *Hemileia vastatrix*: one and a half centuries around the tropics. **Molecular Plant Pathology**, v. 18, n. 8, p. 1039-1051, 2017.

Tamayo, P.J. Resistência de Progenies de Catimor a Oito Raças de *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. 1988. 64p. Tese M.S. UFV, Viçosa, MG

Van Der Vossen, H. A. M. Coffee selection and breeding. In: Coffee: Recent Developments. Edited by R. J. Clarke & O. G. Vitzthum. Oxford: **Blackwell Science**, 2001. p. 257-272.

Várzea, VMP., Marques, DV. 2005. Population variability of *Hemileia vastatrix* vs. *coffee* durable resistance. In: Zambolim, L.; Zambolim, E.M.; Várzea, V.M.P. (Ed.). Durable resistance to coffee leaf rust. Viçosa: UFV, p.53-74

Zambolim, L. 2016. Current status and management of coffee leaf rust in Brazil. Trop. **Plant Pathology**. v41: p1–8

Zambolim L, Caixeta ET, 2021. An overview of physiological specialization of coffee leaf rust – new designation of pathotypes. **International Journal of Current Research** 13, 15564–15575.

Zambolim L, Maciel-Zambolim E, Vale FXR, Pereira AA, Sakyama NS, Caixeta ET (2005) Physiological races of *Hemileia vastatrix* in Brazil: physiological variability, current situation and future prospects. In: Zambolim L, Maciel-Zambolim E, Várzea VMP (eds) **Durable resistance to coffee leaf rust**. UFV, Viçosa, pp 53–74.

APÊNDICE A - CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO OBTIDA DE CULTIVARES RESISTENTES

Locais de coleta, armazenamento e inoculação

Um total de 118 isolados de *Hemileia vastatrix* foram utilizados no estudo (Tabela 1). Foram coletadas folhas contendo esporos de *H. vastatrix* nos experimentos desenvolvidos pela Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG) em parceria com a Universidade Federal de Viçosa nas cidades de Viçosa, Ervália, Araponga e São Miguel do Anta (que pertencem a região conhecida como Mata de Minas, além de um isolado proveniente do município de Laranja da Terra do estado do Espírito Santo (Figura 2).

A inoculação foi feita em mudas de *Coffea arabica* com cinco pares de folhas. A inoculação foi realizada com o auxílio de um pincel de pêlo de camelo, depositando os uredosporos na face abaxial de folhas jovens e completamente desenvolvidas da cultivar Caturra CIFC 19/1 (hospedeiro usado para multiplicação). Em seguida, fez-se a aspersão de água destilada com auxílio de um borrifador sem que atinja o ponto de escoamento para cada uma das amostras. Após esse processo, as plantas foram cobertas com saco plástico e transferidas para uma câmara de nevoeiro a $22 \pm 2^\circ\text{C}$, no escuro por 48 horas sob alta umidade relativa. Quando retiradas da câmara de nevoeiro, as plantas foram mantidas em câmaras de crescimento com repartições individualizadas, com temperatura regulada ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) com fotoperíodo de 12 horas, até o surgimento dos sinais do patógeno.

Após a obtenção do isolado monopustular, os uredosporos foram coletados com auxílio da cápsula de gelatina e armazenadas em dessecador com 50% de umidade relativa à 5°C acondicionado dentro da geladeira (Zambolim & Chaves, 1974), os isolados vem sendo reativados com frequência visando manter a viabilidade destes isolados. A manutenção dos isolados foi feita por meio do cuidado para que não ocorram contaminações entre os isolados, utilizando separadores fazendo com que os espaços de cada isolado fossem individuais, além do monitoramento da temperatura ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) e umidade das câmaras onde estavam sendo mantidos. Outro ponto é manter as plantas em condições fisiológicas ideais para garantir uma boa multiplicação do inóculo.

Os isolados monopustulares vem sendo multiplicados em plantas de Caturra CIFC 19/1 e mantidos e os uredosporos foram coletados e armazenados e armazenadas em dessecador conforme descrito, para caracterização das raças fisiológicas, processo ainda em andamento, as plantas seguem sendo mantidas com os esporos sempre com cuidado para não haver contaminação cruzada com a finalidade de passar os isolados obtidos nas diferenciadoras a fim de fazer sua caracterização e parte de análise molecular.

Tabela 1: Descrição e origem geográfica dos isolados de *Hemileia vastatrix* utilizados no trabalho.

ISOLADO	GENÓTIPO/ CULTIVAR	MUNICÍPIO	UF	COORDENADAS
LMD 01	Bourbon Amarelo UFV 535	Viçosa	MG	20°32.20"S/42°52'16.20"W
LMD 02	Catuaí vermelho 785/15	Viçosa	MG	20°32.20"S/42°52'16.20"W
LMD 03	Icatu Precoce IAC 3282	Viçosa	MG	20° 15' 25"S/41° 52' 37"W
LMD 04	Catuaí Amarelo 20/15	Viçosa	MG	20°32.20"S/42°52'16.20"W
LMD 05	Pau Brasil MG1	Viçosa	MG	20°32.20"S/42°52'16.20"W
LMD 06	H419-10-6-2-12-1	Viçosa	MG	20°32.20"S/42°52'16.20"W
LMD 07	Catuaí Vermelho 20/15	Viçosa	MG	20°32.20"S/42°52'16.20"W
LMD 08	Catuaí Amarelo 2 SL	Viçosa	MG	20°32.20"S/42°52'16.20"W
LMD 09	Tupi Amarelo IAC 5162	Viçosa	MG	20°32.20"S/42°52'16.20"W
LMD 10	Catuaí Amarelo 24/137	Viçosa	MG	20°32.20"S/42°52'16.20"W
LMD 11	IPR 100	Viçosa	MG	20°32.20"S/42°52'16.20"W
LMD 12	Tupi	Viçosa	MG	20°32.20"S/42°52'16.20"W
LMD 13	Catuaí Amarelo 2 SL	Viçosa	MG	20°32.20"S/42°52'16.20"W
LMD 14	Catiguá MG2	Viçosa	MG	20°32.20"S/42°52'16.20"W
LMD 15	Bourbon Amarelo UFV 535	Viçosa	MG	20°32.20"S/42°52'16.20"W
LMD 16	Catuaí Vermelho IAC 144	Viçosa	MG	20°32.20"S/42°52'16.20"W
LMD 17	Tupi Amarelo IAC 5162	Viçosa	MG	20°32.20"S/42°52'16.20"W
LMD 18	Oeiras MG 6851	Viçosa	MG	20°32.20"S/42°52'16.20"W
LMD 19	Tupi Amarelo IAC 5162	Viçosa	MG	20°32.20"S/42°52'16.20"W
LMD 20	Catuaí vermelho 785/15	Viçosa	MG	20°32.20"S/42°52'16.20"W
LMD 21	Sabiá	Viçosa	MG	20°32.20"S/42°52'16.20"W
LMD 22	IPR 100	Viçosa	MG	20°32.20"S/42°52'16.20"W
LMD 23	Acauã	Viçosa	MG	20°32.20"S/42°52'16.20"W
LMD 24	Mundo Novo	Viçosa	MG	20°32.20"S/42°52'16.20"W
LMD 25	Catuaí Amarelo 2 SL	Viçosa	MG	20°44'38"S/42°50'51"W
LMD 26	Trat. 6 - Pneuzinho novo	Viçosa	MG	20°44'37"S/42°50'51"W
LMD 27	Catuaí Am. 24/137	Viçosa	MG	20°44'38"S/42°50'51"W
LMD 28	MGS Pioneira	Viçosa	MG	20°44'38"S/42°50'51"W

LMD 29	Oeiras MG 6851	Viçosa	MG	20°44'39"S/42°50'51"W
LMD 30	Rouxinol	Viçosa	MG	20°44'38"S/42°50'51"W
LMD 31	MGS ametista	Viçosa	MG	20°44'39"S/42°50'51"W
LMD 32	MGS Aranãs	Viçosa	MG	20°44'39"S/42°50'51"W
LMD 33	Catuaí Am. 20/15 cv-479	Viçosa	MG	20°44'39"S/42°50'51"W
LMD 34	Azulão	Viçosa	MG	20°44'39"S/42°50'51"W
LMD 35	Trat. 21 - BV (Alexandrino)	Viçosa	MG	20°44'39"S/42°50'51"W
LMD 36	IPR 100	Viçosa	MG	20°44'39"S/42°50'51"W
LMD 37	Catuaí Vermelho IAC 144	Viçosa	MG	20°44'38"S/42°50'51"W
LMD 38	MGS Paraíso 2	Viçosa	MG	20°44'38"S/42°50'51"W
LMD 39	IPR 104	Viçosa	MG	20°44'38"S/42°50'51"W
LMD 40	IPR 100	Araponga	MG	20°40'5"S/42°29'43" W
LMD 41	IPR 103	Araponga	MG	20°40'5"S/42°29'42" W
LMD 42	Catuaí Amarelo IAC 62	Araponga	MG	20°40'5"S/42°29'43" W
LMD 43	Catuaí Vermelho IAC 144	Araponga	MG	20°40'5"S/42°29'43" W
LMD 44	Oeiras MG 6851	Araponga	MG	20°40'5"S/42°29'42" W
LMD 45	34 I P24 FV PN	Araponga	MG	20°40'5"S/42°29'42" W
LMD 46	MGS Paraíso 2	Araponga	MG	20°40'5"S/42°29'42" W
LMD 47	Catuaí Amarelo 24/137	Araponga	MG	20°40'5"S/42°29'43" W
LMD 48	Palma II	Araponga	MG	20°40'5"S/42°29'41" W
LMD 49	24 I P28 FA PN	Araponga	MG	20°40'6"S/42°29'41" W
LMD 50	MGS Catiguá 3	Araponga	MG	20°40'5"S/42°29'41" W
LMD 51	MGS Catiguá 3	Araponga	MG	20°40'6"S/42°29'41" W
LMD 52	Catiguá Amarelo	Araponga	MG	20°40'5"S/42°29'41" W
LMD 53	19 I MS (IF. MACHADO)	Araponga	MG	20°40'5"S/42°29'42" W
LMD 54	MGS Aranãs	Araponga	MG	20°40'5"S/42°29'42" W
LMD 55	51 I P46 PN FA	Araponga	MG	20°40'5"S/42°29'42" W
LMD 56	22-II-P9-FBS	Araponga	MG	20°40'5"S/42°29'42" W
LMD 57	Arara	Araponga	MG	20°40'5"S/42°29'42" W
LMD 58	Sabiá	Araponga	MG	20°40'5"S/42°29'42" W
LMD 59	MGS Catiguá 3	Araponga	MG	20°40'5"S/42°29'42" W
LMD 60	MGS Paraíso 2	Ervália	MG	20°54'19"S/42°37'38"W
LMD 61	Oeiras MG 6851	Ervália	MG	20°54'19"S/42°37'38"W
LMD 62	IPR 102	Ervália	MG	20°54'19"S/42°37'37"W
LMD 63	MGS Pioneira	Ervália	MG	20°54'19"S/42°37'37"W
LMD 64	Acauã	Ervália	MG	20°54'19"S/42°37'37"W
LMD 65	Catiguá Amarelo FOV	Ervália	MG	20°54'20"S/42°37'38"W
LMD 66	29 - I - 8 - 5	Ervália	MG	20°54'19"S/42°37'37"W
LMD 67	MGS Epamig 1194	Ervália	MG	20°54'20"S/42°37'38"W
LMD 68	Catuaí Vermelho IAC 144	Ervália	MG	20°54'20"S/42°37'38"W
LMD 69	19 I MS (IF. MACHADO)	Ervália	MG	20°54'20"S/42°37'37"W

LMD 70	MGS Aranãs	Ervália	MG	20°54'19"S/42°37'37"W
LMD 71	Grauna	Ervália	MG	20°54'20"S/42°37'38"W
LMD 72	Rouxinol	Ervália	MG	20°54'20"S/42°37'38"W
LMD 73	Japy	Ervália	MG	20°54'20"S/42°37'38"W
LMD 74	Guará	Ervália	MG	20°54'20"S/42°37'38"W
LMD 75	Azulão	Ervália	MG	20°54'20"S/42°37'38"W
LMD 76	Catucaí Amarelo 2 SL	Ervália	MG	20°54'19"S/42°37'37"W
LMD 77	Beija-flor	Ervália	MG	20°54'19"S/42°37'37"W
LMD 78	IPR 103	Ervália	MG	20°54'19"S/42°37'38"W
LMD 79	IPR 100	Ervália	MG	20°54'19"S/42°37'38"W
LMD 80	IPR 125	Ervália	MG	20°54'19"S/42°37'38"W
LMD 81	Catucaí Am. 24/137	Ervália	MG	20°54'19"S/42°37'38"W
LMD 82	Catuaí SH3	Ervália	MG	20°54'19"S/42°37'38"W
LMD 83	Catuaí Amarelo IAC 62	Ervália	MG	20°54'19"S/42°37'38"W
LMD 84	MGS Aranãs	Viçosa	MG	20°44'4"S/42°45'57" W
LMD 85	Catucaiã 24/137	Viçosa	MG	20°44'4"S/42°45'57" W
LMD 86	Japy	Viçosa	MG	20°44'4"S/42°45'57" W
LMD 87	Rouxinol	Viçosa	MG	20°44'4"S/42°45'57" W
LMD 88	Catuaí SH3	Viçosa	MG	20°44'5"S/42°45'57" W
LMD 89	Guará	Viçosa	MG	20°44'5"S/42°45'57" W
LMD 90	Catuaí Vermelho IAC 144	Viçosa	MG	20°44'5"S/42°45'57" W
LMD 91	IPR 100	Viçosa	MG	20°44'6"S/42°45'58" W
LMD 92	IPR 103	Viçosa	MG	20°44'6"S/42°45'58" W
LMD 93	MGS Paraíso 2	Viçosa	MG	20°44'6"S/42°45'58" W
LMD 94	Azulão	Viçosa	MG	20°44'6"S/42°45'58" W
LMD 95	Catucaiã 20.15/479	Viçosa	MG	20°44'6"S/42°45'58" W
LMD 96	MGS Epamig 1194	Viçosa	MG	20°44'4"S/42°45'57" W
LMD 97	Catucaiã 78515	Viçosa	MG	20°44'4"S/42°45'57" W
LMD 98	Trat. 6 - Pneuzinho novo	Viçosa	MG	20°44'4"S/42°45'57" W
LMD 99	MGS Pioneira	Viçosa	MG	20°44'3"S/42°45'57" W
LMD 100	Oeiras MG 6851	Viçosa	MG	20°44'3"S/42°45'56" W
LMD 101	Catucaí Amarelo 2 SL	Viçosa	MG	20°44'3"S/42°45'56" W
LMD 102	Catucaí Amarelo 2 SL	São Miguel	MG	20°45'30"S/42°40'34"W
LMD 103	Catuaí Vermelho IAC 144	São Miguel	MG	20°45'30"S/42°40'34"W
LMD 104	Híbrido de Timor UFV	Viçosa	MG	20°32.20"S/42°52'16.20"W
LMD 105	Híbrido de Timor UFV	Viçosa	MG	20°32.20"S/42°52'16.20"W
LMD 106	Conilon	Viçosa	MG	20°32.20"S/42°52'16.20"W
LMD 107	Conilon	Viçosa	MG	20°32.20"S/42°52'16.20"W
LMD 108	Caturra CIFC 19/1	Viçosa	MG	20°32.20"S/42°52'16.20"W
LMD 109	Conilon	Viçosa	MG	20°32.20"S/42°52'16.20"W
LMD 110	Conilon	Viçosa	MG	20°32.20"S/42°52'16.20"W

LMD 111	Conilon	Viçosa	MG	20°32.20"S/42°52'16.20"W
LMD 112	Conilon	Viçosa	MG	20°32.20"S/42°52'16.20"W
LMD 113	Conilon	Viçosa	MG	20°32.20"S/42°52'16.20"W
LMD 114	Conilon	Viçosa	MG	20°32.20"S/42°52'16.20"W
LMD 115	Conilon	Viçosa	MG	20°32.20"S/42°52'16.20"W
LMD 116	Conilon	Viçosa	MG	20°32.20"S/42°52'16.20"W
LMD 117	H419-3-3-7-16-4-1	Viçosa	MG	20°32.20"S/42°52'16.20"W
LMD 118	Conilon	Laranja da terra	ES	19° 53' 38" S/41° 3' 42" W

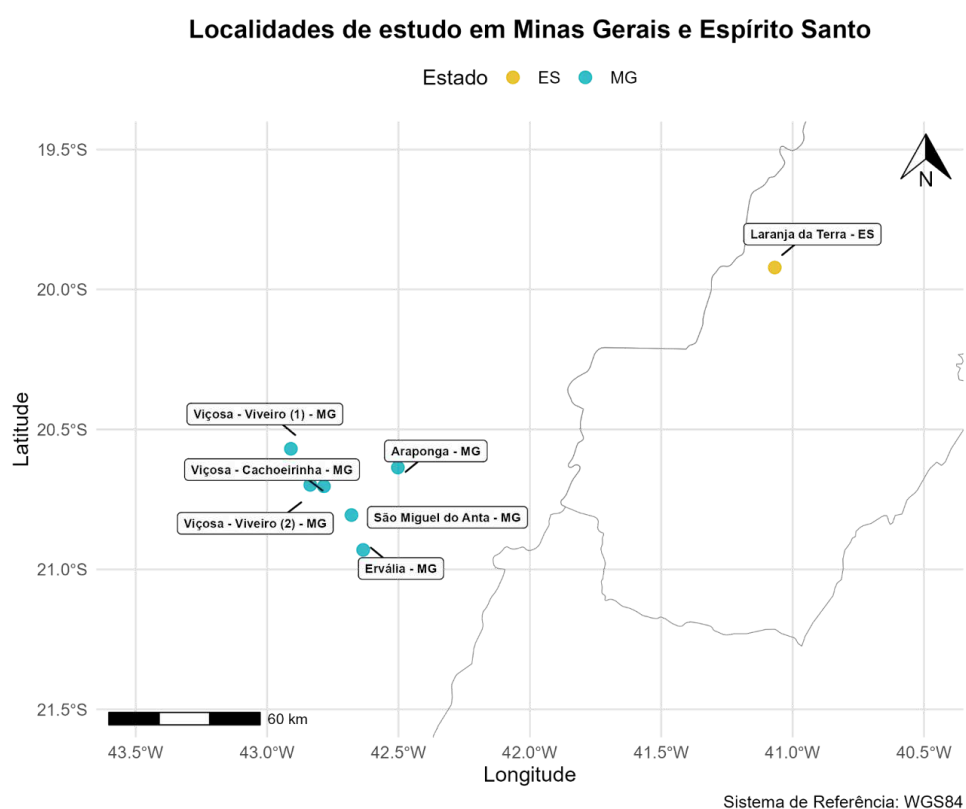


Figura 1: Origem geográfica dos isolados de *Hemileia vastatrix* coletado para este estudo, nos estados de Minas Gerais e Espírito Santo.

Resultados preliminares

Dos 118 isolados coletados, todos foram submetidos à inoculação para obtenção de isolados monopustulares, resultando na seleção de 48 isolados. Dentre estes, 24

são oriundos de cultivares resistentes e serão submetidos à caracterização detalhada da população obtida, utilizando a série diferenciadora e análises moleculares. Este trabalho encontra-se em andamento.