



RENATA TIEMI NOMADA

**AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA À FERRUGEM
ALARANJADA EM GENÓTIPOS DE CAFÉ ARÁBICA**

**LAVRAS-MG
2020**

RENATA TIEMI NOMADA

**AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA À FERRUGEM ALARANJADA EM GENÓTIPOS
DE CAFÉ ARÁBICA**

Monografia apresentada ao Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Agronomia, para a obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

Profª. Dra. Flávia Maria Avelar Gonçalves
Orientadora

Agron. João Pedro Gomes Pagan
Coorientador

**LAVRAS-MG
2020**

AGRADECIMENTOS

À Deus, por sempre iluminar o meu caminho e trazer paz no meu coração.

Aos meus pais, Edison e Viviane, por nunca medir esforços para a realização dos meus sonhos e minha felicidade, por todos os ensinamentos e gestos de amor, por sempre me incentivar e apoiar minhas decisões, me levantando nos momentos difíceis e estarem sempre presentes na minha vida. O que eu sou hoje devo a vocês. Minha eterna gratidão, eu amo vocês.

Meu namorado, João Vítor, meu maior presente da vida, obrigada por tudo o que faz para ver um sorriso no meu rosto, pelo seu amor e companheirismo, por todos os nossos momentos juntos, mesmo que as vezes longe, meu sentimento por você cresce a cada dia. Obrigada por segurar minha mão e caminhar ao meu lado. Eu te amo.

Aos meus amigos da graduação, que caminharam comigo nessa jornada, obrigada pela companhia e amizade, e desejo muita felicidade para vocês que me proporcionaram o mesmo durante todos esses anos, e muito sucesso na vida profissional. Levarei vocês no coração.

À minha orientadora Flávia, pela confiança e orientação no trabalho, meu coorientador, João Pedro, por toda a paciência em me ajudar sempre que precisei, e toda a equipe do melhoramento de perenes, obrigada pela força.

A equipe do Laboratório de Fisiologia do Parasitismo, em especial a Deila e a Tharyn, por sempre se disponibilizarem quando precisei, todas as nossas conversas, conselhos e descontrações, foi um prazer enorme ter conhecido vocês.

Ao Núcleos de Estudos em Genética e Melhoramento de Plantas e ao Núcleo de Estudos em Paisagismo e Floricultura, por todo o aprendizado, crescimento e amizades que construí.

Aos professores da UFLA, que foram responsáveis pelo meu crescimento profissional, meu eterno respeito e gratidão por se dedicarem à formação de profissionais qualificados, e por sempre se disponibilizarem quando precisei.

Aos órgãos de apoio a pesquisa CAPES, CNPq, FAPEMIG e UFLA pelas oportunidades de bolsa.

E por fim, agradeço a todos que passaram pela minha vida e contribuíram para o meu crescimento pessoal e profissional, vocês foram essenciais em minha jornada para a realização de um sonho e encerramento de uma etapa da minha vida. Muito obrigada!

RESUMO

O Brasil tem o maior programa de melhoramento genético de cafeeiro do mundo, e um dos principais focos de pesquisa é resistência a doença. A ferrugem do cafeeiro é a principal doença da cultura, ocasionando perdas de até 50% na produção das lavouras. Seu controle químico é oneroso, o que enfatiza a importância de trabalhos visando resistência a ferrugem e estudos do mecanismo de defesa dos cafeeiros contra o seu ataque. Neste trabalho objetivou-se identificar genótipos superiores de *Coffea arabica* que possam apresentar resistência à ferrugem alaranjada do cafeeiro (*Hemileia vastatrix*). Os genótipos avaliados foram inoculados com o patógeno para as análises de severidade da doença e produção de fenóis solúveis e lignina nas folhas. Na análise de severidade, foi utilizada uma escala diagramática para a atribuição de uma nota visual variando de 0 a 6 para severidade da doença nas folhas selecionadas dos 31 genótipos avaliados, em sua face abaxial, através da porcentagem de área foliar infectada. Para as análises bioquímicas foi realizada a quantificação de compostos fenólicos solúveis e lignina solúvel de 25 genótipos inoculados e não inoculados com o patógeno. O delineamento do trabalho foi em blocos completos casualizados, e os dados foram analisados no software Sisvar e agrupados pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade. Na avaliação de severidade, os genótipos 10x16-5, 41xSI-1 e 11x12-1 não apresentaram manifestação da ferrugem, enquanto os genótipos 10x16-4, 10x16-1, 9x32-2 e 9x32-1 obtiveram as menores porcentagens e 8x32-2, 9x16-1 e 5x29-2 as maiores porcentagens de área foliar lesionada. Na avaliação bioquímica, os genótipos 8x32-5, 8x32-3, 10x16-1, 5x8-1 e 9x32-2 apresentaram os menores teores de fenóis solúveis totais, diferindo entre os demais estatisticamente, e na quantificação da produção de lignina, os genótipos 5x8-1, 8x32-5, 10x16-1, 11xCatucaí-1 e 12xCatiguá-1 tiveram maiores teores do composto após inoculação do patógeno, e 10x42-2 e 41xSI-1 tiveram maiores produções na ausência da ferrugem. Desta forma, concluiu-se que há variabilidade de níveis de resistência entre os genótipos de *Coffea arabica* avaliados e não há como determinar a interação entre o acúmulo desses compostos e a severidade da ferrugem do cafeeiro.

Palavras-chave: *Coffea arabica*. *Hemileia vastatrix*. Defesa vegetal.

SUMÁRIO

1	<u>INTRODUÇÃO</u>	6
2	<u>REFERENCIAL TEÓRICO</u>	8
2.1	<u>CAFÉ</u>	8
2.1.1	<u>Café no Brasil</u>	8
2.1.2	<u>Aspectos botânicos e culturais</u>	9
2.2	<u>FERRUGEM-DO-CAFEEIRO</u>	10
2.2.1	<u>Histórico</u>	10
2.2.2	<u>Características e ciclo da ferrugem-do-cafeeiro</u>	10
2.2.3	<u>Melhoramento genético de resistência à <i>Hemileia vastatrix</i></u>	11
2.3	<u>DEFESA DA PLANTA CONTRA FITOPATÓGENOS</u>	12
3	<u>MATERIAL E MÉTODOS</u>	14
3.1	<u>ANÁLISE FENOTÍPICA</u>	14
3.1.1	<u>Plantio e manejo dos tratamentos</u>	14
3.1.2	<u>Inoculação do fungo <i>Hemileia vastatrix</i></u>	14
3.1.3	<u>Avaliação de severidade</u>	14
3.2	<u>ANÁLISE BIOQUÍMICA</u>	16
3.2.1	<u>Quantificação de compostos fenólicos solúveis</u>	16
3.2.2	<u>Quantificação de lignina solúvel</u>	16
3.3	<u>PROCEDIMENTOS ESTATÍSTICOS</u>	17
4	<u>RESULTADOS E DISCUSSÃO</u>	18
4.1	<u>Severidade da ferrugem</u>	18
4.2	<u>Produção de compostos fenólicos solúveis totais</u>	21
4.3	<u>Produção de lignina solúvel</u>	22
5	<u>CONCLUSÃO</u>	25
	<u>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u>	26

1 INTRODUÇÃO

O café é uma das bebidas mais consumidas no mundo, foi introduzido no Brasil em 1727 e teve grande importância na política e economia nacional. O Brasil é o maior produtor e exportador de café, representando um terço da produção mundial. (MAPA, 2018). Ao total são 2,16 milhões de hectares de lavouras de café, com mais de 90% da área plantada concentrada nos estados de Minas Gerais, Espírito Santo, São Paulo e Bahia (CONAB, 2020). Apesar de existir mais de 125 espécies identificadas do gênero *Coffea*, apenas duas tem valor comercial, *C. arabica* L. e *C. canephora* Pierre, no entanto, as demais espécies são exploradas em pesquisas para desenvolvimento de novos genótipos em programas de melhoramento (CAIXETA; PESTANA; PESTANA, 2015; FERREIRA et al., 2019).

O Brasil tem o maior programa de melhoramento genético de cafeeiro do mundo, os trabalhos tiveram início na década de 30, visando maior produtividade, vigor, qualidade de frutos, longevidade e adaptação regional. A partir de 1970, o principal foco das pesquisas foi direcionado à resistência a doenças, devido à chegada da ferrugem alaranjada (*Hemileia vastatrix* Berk. et Br.) do cafeeiro no país (CAIXETA; PESTANA; PESTANA, 2015). Ela é considerada a principal doença da cultura. Após ser identificada no Brasil pela primeira vez na Bahia, rapidamente foi disseminada para outras regiões produtoras, e já se encontra em 90% das lavouras do país (ZAMBOLIM, 2016).

O fungo causador da ferrugem se estabelece na face abaxial das folhas, caracterizado por uma massa de esporos de coloração alaranjada que causa desfolha na planta, diminuindo a área fotossintética e prejudicando o florescimento e pegamento de frutos (SENAR, 2017). Esses danos podem ocasionar perdas de 35% até 50% dependendo das condições edafoclimáticas da região e características da cultivar plantada (ZAMBOLIM, 2016).

O controle químico da ferrugem alaranjada é a forma de manejo mais utilizada pelos produtores, entretanto o uso indiscriminado de fungicidas pode impactar o meio ambiente e aos seres vivos, além de favorecer a seleção de raças do fungo resistentes a essas substâncias (AMARAL et al., 2007). Desta forma, o uso de cultivares resistentes a ferrugem alaranjada é a melhor estratégia a ser utilizada, visto que apresenta viabilidade econômica e não provoca danos ao meio ambiente (OLIVEIRA et al., 2011).

Um dos fatores que pode estar relacionado a resistência das plantas é o mecanismo de defesa contra o ataque de pragas e patógenos. Alguns compostos oriundos do metabolismo secundário são formados após a infecção, proporcionando maior resistência a doença (SHEEL, 1998; MAIA et al., 2012). Uma vez que as plantas sintetizam essas substâncias capazes de

bloquear ou dificultar o ataque de fungo, a quantificação desses metabólitos secundários, como compostos fenólicos e lignina, pode auxiliar na identificação e seleção de genótipos que apresentem maiores níveis de resistência a doença. Esses compostos pertencem a um extenso grupo de fenóis e são conhecidos pela sua ação antifúngica, antibacteriana e antivirótica (STANGARLIN et al., 2011). Sua atividade e quantidade produzida nas plantas é um aspecto que pode auxiliar na assimilação do nível de resistência ou susceptibilidade do hospedeiro a uma determinada doença.

Tendo em vista os fatos mencionados, o trabalho teve como objetivo identificar genótipos superiores de *Coffea arabica* que possam apresentar resistência à ferrugem alaranjada do cafeeiro (*Hemileia vastatrix*) por meio da avaliação de severidade da doença e produção de compostos fenólicos solúveis e lignina nas folhas.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 CAFÉ

2.1.1 Café no Brasil

O café (*Coffea* sp.) é originário do continente Africano, e foi introduzido no Brasil pelo Sargento-Mor Fernando de Melo Palheta em 1727, que trouxe mudas e sementes providas da Guiana Francesa, atual Suriname. O cafeeiro foi cultivado inicialmente em Belém do Pará, onde não houve uma boa adaptação da planta, e mais tarde distribuindo-se para os outros estados, se estabilizando principalmente na região sudeste do Brasil, devido às condições edafoclimáticas favoráveis à cultura (MAPA, 2018).

A importância da cafeicultura na história do Brasil não se limita apenas na economia nacional, mas também tendo influência nos aspectos políticos e socioculturais. O café teve momentos de ascensão e queda relacionados à novos mercados produtores, recessão mundial e superprodução (MEDEIROS e RODRIGUES, 2017). A diversidade de condições ambientais e climáticas presentes no Brasil proporciona diferentes tipos de grãos de café em toda a região produtora no país, possibilitando atender o mercado consumidor com uma grande variabilidade de preços e paladares (MAPA, 2018). As principais espécies cultivadas para produção comercial são o café arábica (*Coffea arabica*) e robusta (*Coffea canephora*), representando cerca de 75% e 25% da produção nacional (CONAB, 2020).

O Brasil é o maior produtor e exportador mundial de café, representando um terço da produção mundial (CONAB, 2019). Sendo a segunda *commodity* mundial em valor de mercado, é notável a importância da cafeicultura na economia nacional. São aproximadamente 300 mil produtores, em sua grande maioria pequenas propriedades, distribuídos em 15 estados do país. (MAPA, 2018), totalizando 2,16 milhões de hectares de café arábica e robusta, sendo aproximadamente 92,9% da área plantada concentrada nos estados de Minas Gerais, Espírito Santo, São Paulo e Bahia (CONAB, 2020).

O café arábica é a espécie mais cultivada no Brasil, representando uma área total de 1,75 milhões de hectares, e 96,3% das lavouras estão concentradas nos estados de Minas Gerais, São Paulo, Espírito Santo e Bahia. Sua produção em 2019 foi de 34,29 milhões de sacas colhidas, e a estimativa para 2020 é de um aumento de entre 26,0% a 34,1%, totalizando uma colheita de entre 43,20 a 45,98 milhões de sacas. Esse aumento está em virtude ao ciclo de bienalidade positiva que o café arábica é fortemente influenciado. Já o café robusta possui aproximadamente 404,3 mil hectares, com 93,2% da área concentrada nos estados de Espírito Santo, Rondônia e Bahia. Devido à sua rusticidade, o ciclo de bienalidade é menos intenso, em comparação ao

café arábica, apresentando menos variação na produção, totalizando uma colheita em 2019 de 15,01 milhões de sacas, e estimando que em 2020 seja colhido entre 13,95 e 16,04 milhões de sacas (CONAB, 2020).

2.1.2 Aspectos botânicos e culturais

O cafeeiro pertence ao grupo de família das *Rubiaceae*, e gênero *Coffea*, que é composto por mais de 125 espécies conhecidas. Apesar da grande diversidade de espécies pertencentes a esse gênero, apenas duas são mais relevantes no mercado mundial, *C. arabica* e *C. canephora*. A espécie *C. arabica* é uma alotetraploide ($2n = 4x = 44$) proveniente da hibridação natural entre as espécies *C. canephora* e *C. eugenioides* S. Moore. Sua planta é autógama com 90% de autofecundação e mais vigorosa, em comparação à *C. canephora*, gerando frutos de maior qualidade comercial. Já *C. canephora*, uma espécie mais rústica e que por sua vez só gera frutos a partir de fecundação cruzada (FERREIRA et al., 2019).

A planta de café tem comportamento perene e apresenta um hábito de crescimento arbustivo, com uma copa em formato cilíndrico. Possui dimorfismo em seus ramos, determinados pelas suas funções e orientação: ramos ortotrópicos, que são verticais e dão origem, a partir das gemas cabeça-de-série, aos ramos plagiotrópicos, que são horizontais e por sua vez podem gerar ramos secundários e frutos. Suas folhas tem uma coloração verde-escura, formato elíptico e bordas onduladas, podendo variar o tamanho de acordo com a espécie ou cultivar. Sua inflorescência é de coloração branca e formada em glomérulos que se desenvolvem nas axilas foliares a partir de gemas seriadas, gerando um fruto, que pode ser de coloração vermelha ou amarela, do tipo drupa elipsoide com duas lojas e duas sementes (CARVALHO, 2008).

Em regiões equatoriais, é possível obter mais de uma florada ao ano, resultando em várias colheitas no decorrer desse período, ao contrário do Brasil e outras regiões não equatoriais, que representam a maioria da produção mundial de café, as plantas possuem um único ciclo anual de crescimento e frutificação. (FERREIRA et al., 2019). No cafeeiro existe um fenômeno conhecido como bienalidade, no qual em um ano a planta obtém altas produtividades, absorvendo grande parte das atividades metabólicas no crescimento de frutos e, conseqüentemente, diminuindo o desenvolvimento vegetativo, e no outro ano, o oposto (OLIVEIRA et al., 2012). São diversos fatores que podem influenciar na produtividade e qualidade do grão de café: genética, ambiental, manejo, nutrição e aspectos de colheita e pós-colheita. Para os fatores que podem ser controlados, é fundamental a adoção de boas práticas para que se obtenha um alto rendimento (MESQUITA et al, 2016).

Dentro do manejo, uma das atividades mais onerosas praticada pelos cafeicultores é o controle de pragas, doenças e plantas daninhas, portanto, é necessário que se saiba quantificar os danos e conhecer os métodos mais adequados e sustentáveis de controle. (SENAR, 2017). O Brasil é o país com maior atenção em questões sociais e ambientais no plantio e manejo do café, se preocupando com uma produção sustentável e uma rígida legislação que respeita a biodiversidade e os trabalhadores. (MAPA, 2018).

2.2 FERRUGEM-DO-CAFEIEIRO

2.2.1 Histórico

A Ferrugem-do-cafeeiro (*Hemileia vastatrix*) é a principal doença do cafeeiro. Foi identificada pela primeira vez em 1861 por um explorador inglês na África Oriental em espécies selvagens do gênero *Coffea* (TALINHAS et al., 2017). Poucos anos depois, a doença exterminou o cultivo de café no Ceilão, atual Sri Lanka, ocasionando em grandes prejuízos econômicos e sociais no país (MORRIS, 1880). Rapidamente, a ferrugem do cafeeiro foi se disseminando em todas as regiões produtoras de café no mundo. No Brasil, seu primeiro relato ocorreu em 1970 no sul da Bahia, e até os dias de hoje vem trazendo danos às lavouras no país, podendo alcançar perdas de até 50% da produção (ZAMBOLIM, 2016).

Ambas as espécies cultivadas comercialmente são atacadas pela ferrugem-do-cafeeiro, mas o café arábica apresenta uma maior susceptibilidade à doença (SANDERS, 2019). As condições que favorecem o desenvolvimento do fungo são temperaturas médias entre 20 e 24° C, alta umidade relativa, alto sombreamento, característico em plantios adensados, baixas altitudes, grande quantidade de folhas e alta carga de frutos, iniciando a infecção a partir da saia do cafeeiro e chegando ao ápice em infecções generalizadas (MESQUITA et al., 2016). A doença pode ser identificada por manchas de coloração amareladas que aumentam até se tornarem uma massa de esporos alaranjada na face ventral das folhas, e na clorose na face dorsal. Em condições mais severas, podem ocasionar desfolhas precoces, seca dos ramos e, conseqüentemente, uma queda drástica da produção (SENAR, 2017).

2.2.2 Características e ciclo da ferrugem-do-cafeeiro

A ferrugem-do-cafeeiro é um fungo biotrófico, que penetra nas folhas e se desenvolve e alimenta das células sem matar a planta (MESQUITA et al., 2016). Pertencente ao filo Basidiomycota, classe Pucciniomycetes e ordem Pucciniales, o fungo é hemicíclico e produz urediniósporos, esporos dicarióticos que representam o ciclo assexuado, os teliósporos, que são

estruturas de resistência, sexuados e ocorrem raramente, dando origem os basidiósporos, que não infectam o cafeeiro e se desconhece outros hospedeiros. O processo de infecção se dá pela germinação e penetração dos urediniósporos na face ventral da folha através dos estômatos, colonizando os espaços intra e intercelular (TALINHAS et al., 2017). Durante esse processo, o fungo desenvolve uma estrutura especializada denominado haustório, responsável pela absorção de nutrientes nas células hospedeiras (ALVES et al., 2019). Por meio dessa interação íntima com as células hospedeiras, o fungo *Hemileia vastatrix* modifica os processos metabólicos da planta para atender às suas necessidades. A presença de condições ambientais favoráveis, como clima, adensamento, sombra, fertilidade e arquitetura do dossel, influencia na gravidade da doença (TALINHAS et al., 2017).

Atualmente já foram identificadas mais de 50 raças diferentes do fungo *Hemileia vastatrix* (TALINHAS et al., 2017), sendo 15 já identificadas no Brasil. Dentre elas, a raça II é a mais disseminada nas regiões produtoras do país (ZAMBOLIM et al., 2005). Até então, o mecanismo considerado que correspondia ao surgimento de novas raças era a mutação. Entretanto, em estudos recentes foi identificado uma forma de reprodução sexual oculta disfarçada no estágio assexual. Esse fenômeno denominado criptosexualidade justificou a frequência e a rapidez do surgimento de novas raças fisiológicas de *H. vastatrix* (CARVALHO et al., 2011).

2.2.3 Melhoramento genético de resistência à *Hemileia vastatrix*

Os primeiros trabalhos com melhoramento do cafeeiro no Brasil tiveram início em 1932, com os principais objetivos sendo a seleção de materiais direcionados ao desenvolvimento de cultivares de alto vigor vegetativo, produtividade, longevidade e adaptação às diferentes regiões do país. A partir da década de 70, após a chegada da ferrugem do cafeeiro, os programas de melhoramento genético passaram a dar ênfase em busca de resistência a doenças, se tornando o principal objetivo dos programas até os dias atuais (CAIXETA; PESTANA; PESTANA, 2015).

Dentre as formas de controle à ferrugem-do-cafeeiro, a medida mais eficaz e ambientalmente correta é o melhoramento genético do cafeeiro visando a obtenção de genótipos com resistência ao patógeno, porém a maior dificuldade do desenvolvimento de cultivares resistentes é a alta variabilidade do fungo (SILVA, 2017). Na segunda metade do século XX, foi caracterizado e identificado o Híbrido de Timor (HdT), originado a partir do cruzamento natural de *Coffea arabica* e *Coffea canephora*, que serviu de material base para diversas pesquisas nos programas de melhoramento do cafeeiro e lançamento de novas cultivares

(TALINHAS et al., 2017). As cultivares desenvolvidas a partir do Híbrido de Timor foram capazes de oferecer resistência à raça II, até então a mais prevalente do fungo, por um determinado tempo, reduzindo a ocorrência de surtos da doença. Entretanto, devido à alta variabilidade e adaptabilidade do fungo, as cultivares foram perdendo sua resistência para novas raças desenvolvidas (ROMERO et al., 2014).

Os bancos de germoplasma têm uma grande importância para estudos, sendo um recurso de diversidade genética. Ao redor do mundo existem em torno de 19 bancos de germoplasma de café (KRISHNAN, 2016), e a partir deles foram descobertos 9 genes de resistência presentes no cafeeiro, que podem atuar de forma isolada ou associada, sendo quatro genes no *Coffea arabica* (S_{H1} , S_{H2} , S_{H4} e S_{H5}), quatro genes no *Coffea canephora* (S_{H6} , S_{H7} , S_{H8} e S_{H9}) e um gene em *Coffea liberica* W. Bull ex Hiern (S_{H3}), que apesar de não ser uma variedade produzida comercialmente, conferiu um gene de maior durabilidade de resistência à ferrugem em campo (SANDERS, 2019). Os genótipos do café são classificados em grupos fisiológicos que determinam a resistência e susceptibilidade às raças da ferrugem-do-cafeeiro, sendo do grupo A os que conferem resistência à todas as raças, e o grupo E aqueles que apresentam susceptibilidade à todas as raças conhecidas. No entanto, nenhum dos genes S_H conferem prevenção à doença, apenas apresentam níveis variáveis de resistência (SILVA et al., 2006).

Nos últimos anos foram realizadas diversas pesquisas nos programas de melhoramento genético do cafeeiro para resistência a doenças, com resultados bem-sucedidos. Entretanto, muitas variedades desenvolvidas estão perdendo sua resistência devido ao rápido surgimento de novas raças de *Hemileia vastatrix*, sendo assim, torna-se necessário reavaliar esses materiais frente à essas raças e se atentar na identificação de fontes de resistência que apresentem maior durabilidade (SILVA et al., 2006).

2.3 DEFESA DA PLANTA CONTRA FITOPATÓGENOS

As plantas desenvolveram mecanismos de defesa contra o ataque de patógenos (SHEEL, 1998). Dentre elas, existem os fatores de resistência estruturais e bioquímicos, estes podendo já estar presentes na planta hospedeira ou expressados após o contato com o fitopatógeno, como o aumento da produção de algumas micromoléculas que dificultam ou paralisam seu desenvolvimento. Esses compostos produzidos pelas plantas formados após a infecção proporcionam maior resistência ao patógeno (MAIA et al., 2012).

Alguns compostos fenólicos são exemplos de substâncias que atuam no mecanismo de defesa das plantas. Essas substâncias abrangem um extenso grupo heterogêneo que contém em sua estrutura um grupo fenol, constituído por um anel aromático e pelo menos uma hidroxila

funcional (TAIZ e ZEIGER, 2013). Geralmente, esses compostos estão localizados no vacúolo das células vegetais e podem já estar presentes ou serem formados posteriormente em resposta à entrada de patógenos. Além disso, são conhecidos por sua ação fungitóxica, antibacteriana e antivirótica. Dentre os diversos grupos de fenóis pode-se apresentar variação do efeito inibitório de germinação de esporos, crescimento micelial e produção e atividade das enzimas dos patógenos (STANGARLIN et al., 2011).

A lignina é uma macromolécula fenólica que consiste em um polímero de grupos fenilpropanoides, altamente ramificados. Além de proporcionar suporte mecânico nas plantas, também desempenha funções protetoras às plantas, sendo um importante componente na resistência a patógenos, por limitar sua ação formando uma barreira física (BOTELHO et al., 2005). A lignificação tem o intuito de reforçar a parede celular ou envolver as estruturas do patógeno invasor, impedindo ou dificultando sua chegada no citoplasma, paralisando seu avanço. Entretanto, a quantidade de lignina produzida pode variar entre hospedeiros, determinando se estes apresentam resistência ou susceptibilidade à doença, quando relacionado a aspectos fisiológicos (STANGARLIN et al., 2011; PEREIRA; CARVALHO; PINHEIRO, 2011).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ANÁLISE FENOTÍPICA

3.1.1 Plantio e manejo dos tratamentos

A avaliação de severidade da ferrugem do cafeeiro foi realizada na casa de vegetação do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras - UFLA. Foram avaliadas 26 populações F₄ de cafeeiro provenientes de recombinações do segundo ciclo de seleção recorrente, e cinco testemunhas (Ametista, Catiguá, Catuaí, MGS Paraíso, e Topázio), no delineamento de blocos completos casualizados com três repetições.

O substrato utilizado foi uma mistura de terra e esterco, na proporção de 3:1, e para cada metro cúbico foi adicionado 5kg de superfosfato simples, 1kg de cloreto de potássio e 2kg de calcário dolomítico. Em setembro de 2019 foi realizada a semeadura dos tratamentos, em cada vaso foram feitas três covas e semeadas três sementes, totalizando nove plantas por vaso, que posteriormente passaram por desbaste para se permanecer uma população final de três plantas por vaso.

3.1.2 Inoculação do fungo *Hemileia vastatrix*

Realizou-se a coleta dos esporos do fungo *Hemileia vastatrix* em folhas de plantas nas lavouras de café da Universidade Federal de Lavras. Realizou-se a raspagem dos esporos das folhas infectadas, os quais foram conservados no escuro e em temperatura de 21°C. A solução de esporo foi feita utilizando ágar + 100 mL de água e para se ter uma solução mais homogênea adicionou-se o espalhante surfactante Tween 20. A concentração da solução foi aferida pela contagem do número de esporos na solução, a qual deveria conter no mínimo $2,5 \times 10^5$.

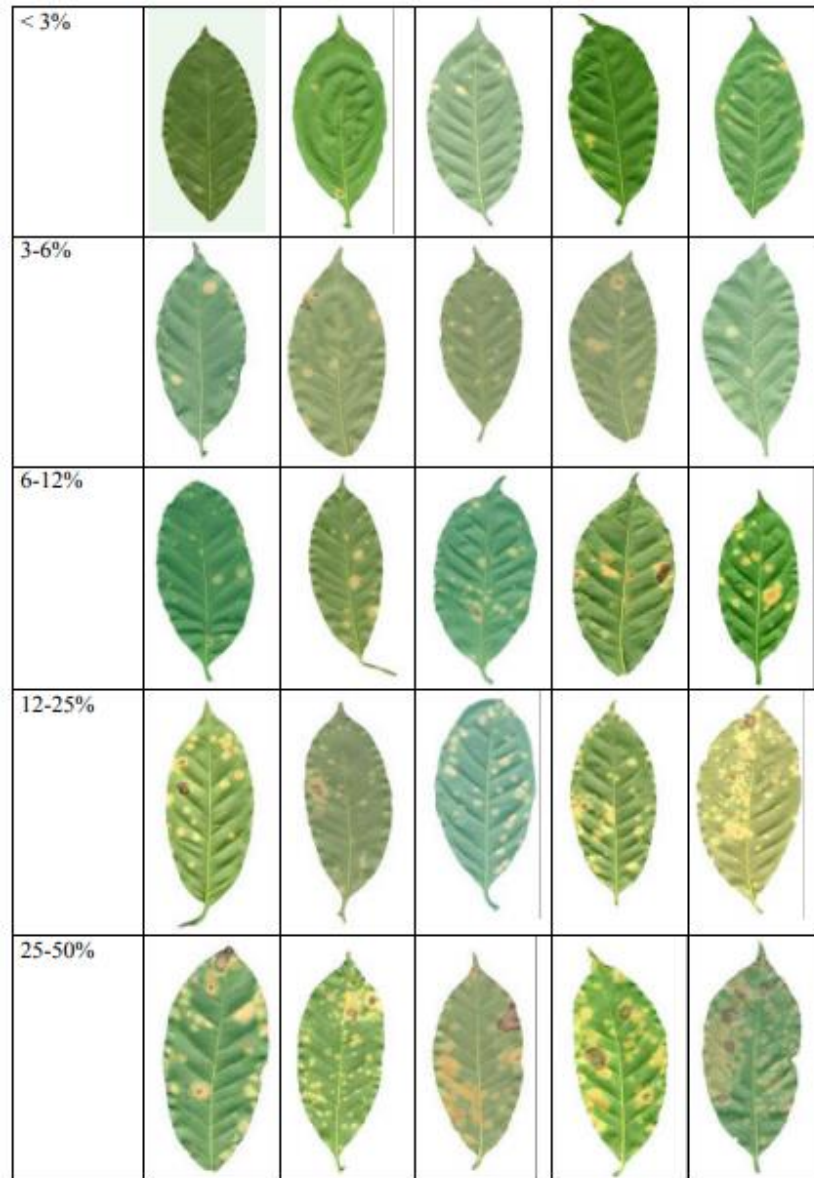
A inoculação ocorreu dia 15 de abril de 2020, quando as plantas já tinham de dois a três pares de folhas totalmente expandidas. A inoculação dos esporos foi realizada se borrifando a solução na face abaxial das folhas, de maneira a facilitar a infecção do fungo. Após a inoculação as plantas foram cobertas com lona preta e mantidas no escuro, por 72 horas, e posteriormente a esse período as plantas foram colocadas sob fotoperíodo de 12 horas.

3.1.3 Avaliação de severidade

As avaliações tiveram início em 28 de maio de 2020, dois dias após os primeiros sinais de esporulação, e foram realizadas semanalmente por três avaliadores, durante três semanas. Os pares de folhas avaliados estavam localizados no terço superior da planta e foram identificados de forma que as mesmas folhas fossem avaliadas por todos os avaliadores e em

todo período de avaliação. Foi utilizada a escala diagramática proposta por Cunha et al. (2001), na qual foram atribuídas notas para severidade variando de 0 a 6, sendo a nota 0 para folhas sem nenhuma lesão esporulando e nota 6 para folhas com mais de 50% de área lesionada (FIGURA 1).

Figura 1 - Adaptação de escala diagramática para avaliação de severidade da ferrugem do cafeeiro.



Fonte: Cunha et al. (2001).

3.2 ANÁLISE BIOQUÍMICA

A quantificação da concentração de lignina e fenóis solúveis totais nas folhas inoculadas e não inoculadas com o fungo *Hemileia vastatrix* foram realizadas no laboratório do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras - UFLA. O delineamento do experimento foi em blocos completos casualizados, com 3 repetições e 25 tratamentos, sendo 24 genótipos de cafeeiro provenientes do programa de seleção recorrente e uma testemunha susceptível.

Foram coletadas as folhas dos tratamentos 240 horas após a inoculação e maceradas em solução tampão e nitrogênio líquido, e armazenadas em tubos eppendorfs de 2 mL, à -80°C. Para ambas avaliações os materiais foram liofilizados por 48 horas e depois pesados em amostras de 30 mg de tecido e colocados em tubos de 2 mL. Adicionou-se 1,5 mL de metanol 80%, cobriu-se o tubo com papel alumínio e deixou as amostras agitando em shaker por aproximadamente 15 horas, à 100 rpm e temperatura ambiente. Após esse tempo, foi coletado o sobrenadante para análise de fenóis e o resíduo para análise de lignina.

3.2.1 Quantificação de compostos fenólicos solúveis

As amostras foram centrifugadas à 25°C em 14000 rpm durante dez minutos. Coletou-se o sobrenadante, transferindo-o para um tubo de 1,5 mL e adicionou 150 uL de extrato metanoico + 150 mL de Folin-Ciocalteu 0,25 N, após cinco minutos, foi adicionado 150 uL de Na₂CO₃ 1 M, homogeneizou as amostras manualmente e deixou repousando durante dez minutos. Após esse período acrescentou 1 mL de água destilada, permanecendo por uma hora em repouso antes de ser avaliado no teste Elisa, em uma leitura a 725 nm de absorbância, seguindo a metodologia de Spanos e Wrolstad (1990).

3.2.2 Quantificação de lignina solúvel

Foi adicionada à amostra 1,5 mL de metanol 80% e centrifugou por sete minutos à 14.000 rpm. Posteriormente foi descartado o sobrenadante e os tubos com o resíduo foram levados à estufa à 45°C, onde permaneceu durante 15 horas. Após esse período, adicionou 1,5 mL de ácido tioglicólico + HCl 2 M, em uma proporção de 1:10, deixou as amostras em banho maria por quatro horas, e depois centrifugou novamente. O sobrenadante foi descartado e adicionou à amostra 1,5 mL de água destilada, passou pela centrífuga por mais dez minutos, descartou novamente o sobrenadante e adicionou 1,5 mL de NaOH 0,5 M, e depois as amostras

foram agitadas em shaker por aproximadamente 15 horas. As amostras foram centrifugadas e o sobrenadante foi transferido para um tubo novo, adicionando 200 uL de HCl concentrado e depois levado à geladeira por quatro horas. Centrifugou novamente e em um béquer foi descartado o sobrenadante e adicionado 2 mL de NaOH 0,5 M. A solução foi levada para análise no teste Elisa, em uma leitura a 280 nm de absorbância, seguindo a metodologia de Doster e Bostock (1988).

3.3 PROCEDIMENTOS ESTATÍSTICOS

Os dados foram submetidos à análise de variância usando o software Sisvar. As variáveis quando significativas para o teste F ($P < 0,05$) foram agrupados pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$). A média das notas de avaliação de severidade foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro Wilk, e como eles não atendem às pressuposições de normalidade dos erros, foi necessário realizar a transformação dos dados, sendo a transformação de $(x + 1)^{0,5}$ a que melhor se ajustou aos dados.

Foi realizado o teste de correlação de Pearson entre severidade e concentração de compostos fenólicos solúveis totais e severidade e lignina solúvel total para se verificar a possível correlação entre as variáveis ($P > 0,05$).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Severidade da ferrugem

Após as três avaliações de severidade da doença, foi possível observar que os genótipos 10x16-5, 41xSI-1 e 11x12-1 não apresentaram manifestação da ferrugem até a última avaliação. Enquanto os genótipos 10x16-4, 10x16-1, 9x32-2 e 9x32-1 obtiveram as menores porcentagens de área lesionada (0,03%, 0,07%, 0,07% e 0,19%, respectivamente) (TABELA 1 e FIGURA 2).

Os genótipos que tiveram maior severidade da ferrugem foram 8x32-2, 9x16-1 e 5x29-2, com 6,00%, 3,60% e 3,46% de área lesionada, respectivamente, e as testemunhas susceptíveis Topázio e Catuaí, que manifestaram maiores porcentagens de severidade da doença (6,54% e 21,12%) (TABELA 1 e FIGURA 2).

Tabela 1 - Severidade da ferrugem alaranjada avaliada em 31 genótipos de cafeeiro aos 2, 9 e 16 dias após o início de manifestação dos sinais do patógeno.

(continua)

Genótipo	Severidade (%)		
	Dias após manifestação dos sinais do patógeno		
	2	9	16
10x41-1	0,210000 a	0,620000 a	0,953333 a
10x42-2	0,733333 a	1,180000 a	1,566667 a
10xBourbon-1	0,633333 a	0,940000 a	1,380000 a
10x16-1	0,000000 a	0,076667 a	0,076667 a
10x16-4	0,000000 a	0,036667 a	0,036667 a
10x16-5	0,000000 a	0,000000 a	0,000000 a
9x32-1	0,000000 a	0,020000 a	0,190000 a
9x32-2	0,076667 a	0,076667 a	0,076667 a
9x16-1	1,416667 b	2,553333 b	3,600000 a
9x12-1	0,180000 a	0,236667 a	0,320000 a
9x12-2	0,216667 a	0,350000 a	0,453333 a
9x29-1	0,123333 a	0,266667 a	0,350000 a
9x41-1	0,000000 a	0,076667 a	0,216667 a
9x10-1	0,376667 a	0,730000 a	1,176667 a
41xSI-1	0,000000 a	0,000000 a	0,000000 a

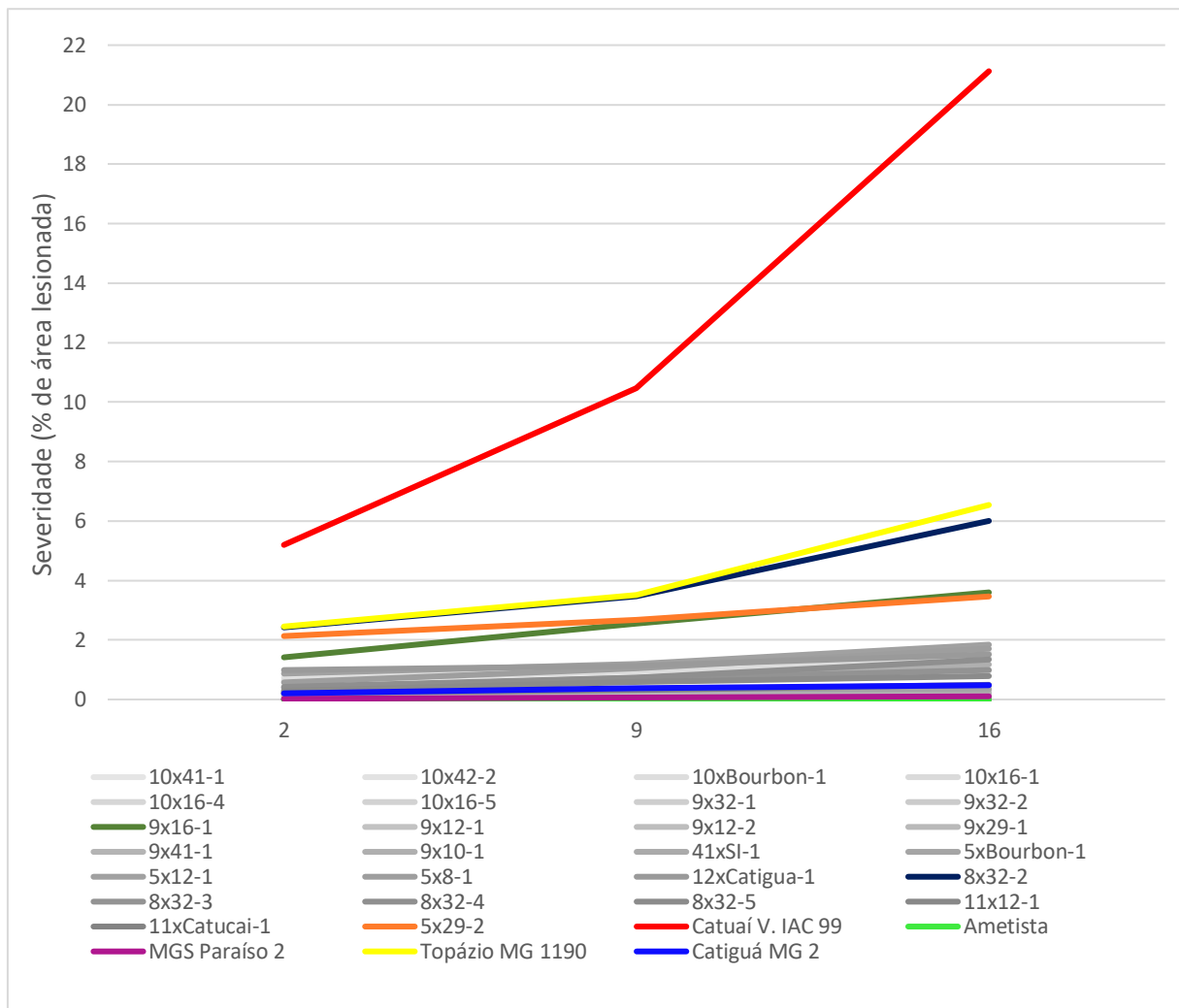
Tabela 1 - Severidade da ferrugem alaranjada avaliada em 31 genótipos de cafeeiro aos 2, 9 e 16 dias após o início de manifestação dos sinais do patógeno.

(conclusão)

Genótipo	Severidade (%)		
	Dias após manifestação dos sinais do patógeno		
	2	9	16
5xBourbon-1	0,203333 a	0,340000 a	0,340000 a
5x12-1	0,870000 a	1,196667 a	1,843333 a
5x8-1	0,573333 a	1,046667 a	1,706667 a
12xCatigua-1	0,990000 a	1,130000 a	1,513333 a
8x32-2	2,423333 b	3,480000 b	6,003333 b
8x32-3	0,273333 a	0,683333 a	0,990000 a
8x32-4	0,423333 a	0,730000 a	1,343333 a
8x32-5	0,286667 a	0,593333 a	0,786667 a
11x12-1	0,000000 a	0,000000 a	0,000000 a
11xCatucai-1	0,216667 a	0,326667 a	0,493333 a
5x29-2	2,133333 b	2,686667 b	3,463333 a
Catuai V. IAC 99	5,196667 c	10,473333 c	21,123333 c
Ametista	0,000000 a	0,000000 a	0,000000 a
MGS Paraíso 2	0,023333 a	0,07666 a	0,106667 a
Topázio MG 1190	2,453333 b	3,51666 b	6,540000 b
Catiguá MG 2	0,206667 a	0,390000 a	0,480000 a
CV (%)	19,18	29,72	38,20

As médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem entre si significativamente a 5% de probabilidade pelo teste de Scott-Knott. Dados transformados para $(x + 1)^{0,5}$.

Figura 2 - Curva de progresso da ferrugem alaranjada avaliada em 31 genótipos de cafeeiro aos 2, 9 e 16 dias após o início da manifestação dos sinais do patógeno.



Botelho et al. (2010) relataram variabilidade na severidade da doença entre as progênies avaliadas, através da contagem de pústulas por folha. As progênies avaliadas são oriundas do cruzamento das cultivares Catimor e Icatu, ambas com resistência a ferrugem alaranjada. Assim como nesse trabalho, realizado com genótipos provenientes de cruzamentos que também foram utilizadas cultivares de Icatu.

De acordo com de Mendonça et al. (2019), há variação quanto ao nível de resistência dos genótipos de *Coffea canephora* a ferrugem, assim como os resultados encontrados neste trabalho com *C. arabica*.

Essa variação nos graus de severidade pode ter ocorrido em razão das progênies avaliadas terem sido originadas a partir de cruzamentos entre cultivares de Icatu e Catuaí na seleção recorrente, além da inserção e recombinação de cultivares conhecidas como susceptíveis (Bourbon) e resistentes (Catiguá e Catucaí). Zambolim (2016) relata que a cultivar

Catuaí apresenta susceptibilidade a *Hemileia vastatrix*, enquanto Icatu possui resistência parcial ou moderada. Isso pode justificar a variabilidade na severidade da doença entre os genótipos avaliados neste trabalho.

A respeito da análise de resistência a *Hemileia vastatrix*, é importante a determinação da severidade devido seu papel na seleção de progênies, isso se deve ao fato de que, provavelmente, aquelas que apresentarem uma menor severidade são mais tolerantes a doença, devido a menor desfolha (BOTELHO et al., 2010). Além disso, segundo Ribeiro et al. (1981), as progênies que apresentam menor severidade podem indicar resistência horizontal, ou seja, controlada por muitos genes, sendo mais difícil de ser quebrada por diferentes raças do patógeno.

4.2 Produção de compostos fenólicos solúveis totais

A fonte de variação da interação genótipos e inoculação não foi significativa ($P > 0,05$), evidenciando que os genótipos apresentaram consistência na ausência e presença do patógeno (TABELA 2). Houve diferença significativa entre os genótipos nos teores médios dos compostos fenólicos solúveis totais, sendo 8x32-5, 8x32-3, 10x16-1, 5x8-1 e 9x32-2 os que apresentaram os menores teores (6,36, 6,32, 6,25, 6,24, 6,19 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de massa seca), além da testemunha Catuaí (6,26 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de ms) (FIGURA 3).

Tabela 2 – Análise de variância para teores de compostos fenólicos solúveis ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de massa seca).

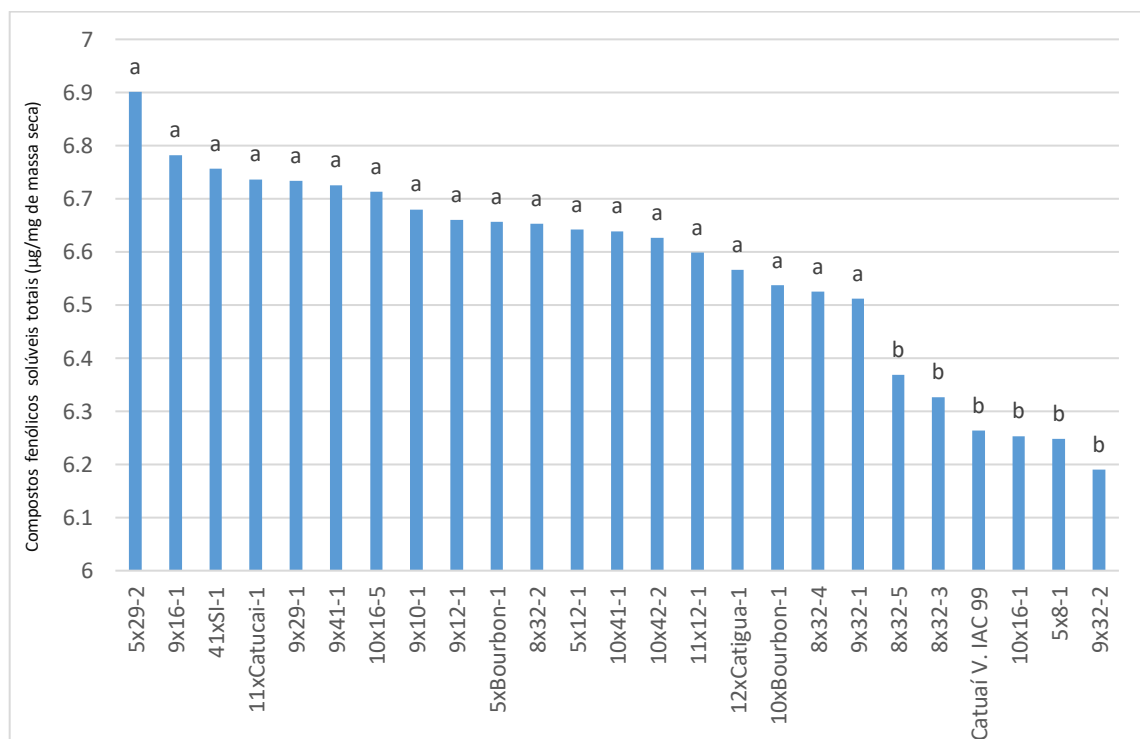
FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	2	0,003924	0,001962	0,022	0,9785
Genótipo	25	5,333769	0,213351	2,366*	0,0013
Inoculação	1	1,116923	1,116923	12,389*	0,0006
G x I	25	3,125044	0,125002	1,387	0,1297
erro	102	9,195876	0,090156		
Total	155	18,775536			

CV (%) = 4,57

De acordo com Silva et al. (2020), é possível diferenciar cafeeiros suscetíveis e resistentes a ferrugem alaranjada com base na concentração de compostos fenólicos, sendo que em plantas suscetíveis foi relatado menor teor desses.

A testemunha avaliada neste trabalho valida o resultado desse autor. No entanto, os demais genótipos não seguiram o padrão em produção dos compostos fenólicos e suscetibilidade a doença, tendo apresentado comportamento semelhante entre si, não sendo possível a caracterização de suscetibilidade ou resistência a partir da produção dessas micromoléculas. Essa semelhança pode estar relacionada ao fato de que todos os genótipos são dos mesmos cruzamentos, podendo justificar a similaridade dos teores dos compostos fenólicos solúveis, e, portanto, ainda não sendo possível identificar essa resistência.

Figura 3 - Quantificação dos compostos fenólicos solúveis totais em 25 genótipos de cafeeiro.



As médias seguidas da mesma letra não diferem entre si significativamente a 5% de probabilidade pelo teste de Scott-Knott.

No teste de correlação entre a severidade da doença e a concentração de compostos fenólicos solúveis totais não foi possível observar uma correlação entre as variáveis a 5% de probabilidade. Portanto, isso pode indicar que a produção de compostos fenólicos não apresenta ligação com o grau de severidade da doença nos genótipos avaliados neste trabalho.

4.3 Produção de lignina solúvel

Houve diferença significativa na quantidade de lignina produzida nos genótipos quando inoculados e não inoculados (TABELA 3). Cinco dos 25 genótipos avaliados tiveram maiores teores de lignina quando inoculado o fungo: 5x8-1, 8x32-5, 10x16-1, 11xCatucaí-1 e

12xCatiguá-1, sendo esta última a que apresentou maior diferença significativa, com 9,84 µg/mg de massa seca quando não inoculado, e 16,25 µg/mg de ms quando inoculado. O genótipo 8x32-5 foi o que mais produziu lignina quando submetido à inoculação, totalizando 19,63 µg/mg de ms (FIGURA 4).

Tabela 3 – Análise se variância para teores de lignina solúvel (µg/mg de massa seca).

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Bloco	2	26,376471	13,188235	2,016	0,1385
Genótipo	25	671,846459	26,873858	4,108*	0,0000
Inoculação	1	1,161356	1,161356	0,178	0,6744
G x I	25	484,960710	19,398428	2,965*	0,0001
erro	102	667,302663	6,542183		
Total	155	1851,647659			

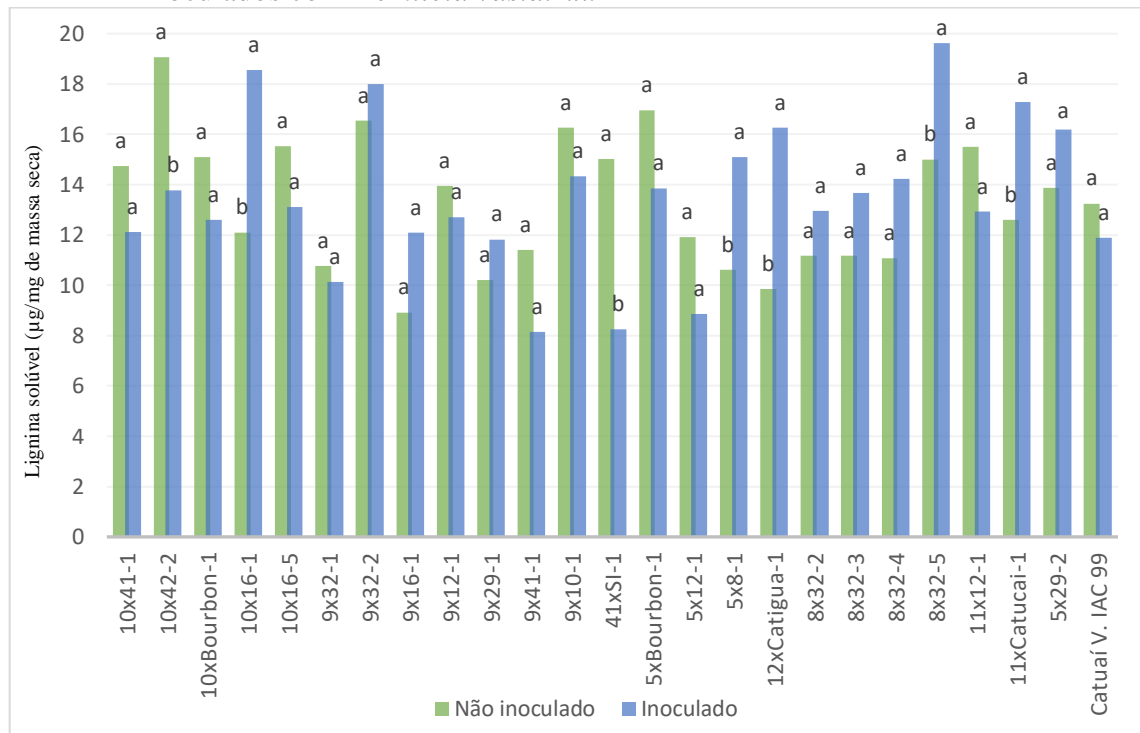
CV (%) = 18,98

Dois genótipos tiveram maiores produções de lignina quando não inoculado o patógeno, 10x42-2 e 41xSI-1 (FIGURA 4). Desta forma, supõe-se que essas plantas possam utilizar outros métodos de defesa contra o ataque da ferrugem alaranjada ao invés de lignificação das folhas, uma vez que o genótipo 41xSI-1 não apresentou danos do patógeno na avaliação de severidade (TABELA 1).

A respeito dos resultados deste trabalho, a maioria dos tratamentos não apresentaram diferença significativa no teor de lignina em relação à presença do patógeno, provavelmente porque a produção desse composto está relacionada com diversos fatores, como aspectos fisiológicos da planta e a própria biossíntese da lignina, não restringindo essa produção pela presença ou ausência do patógeno. Resultados opostos foram encontrados no trabalho de Maia et al. (2012), em que houve o aumento significativo da concentração de lignina quando inoculada com *Colletotrichum gloeosporioides* como uma resposta de defesa da planta.

De acordo com Pereira et al. (2012), foi possível constatar a relação entre o acúmulo de lignina e um fungicida alternativo para o combate a ferrugem alaranjada, assimilando aumento do teor de lignina com o uso do óleo essencial de citronela, que promoveu controle parcial da ferrugem e ativou o mecanismo de defesa das plantas. Isso reforça a ideia de que a produção de lignina pode não estar diretamente relacionada à presença do patógeno, mas com outros fatores que possam influenciar no metabolismo da planta.

Figura 4 - Quantificação da lignina solúvel em 25 genótipos de cafeeiro inoculados e não inoculados com *Hemileia vastatrix*.



As médias seguidas da mesma letra em cada genótipo não diferem entre si significativamente a 5% de probabilidade pelo teste de Scott-Knott.

No teste de correlação entre a severidade da doença e a concentração de lignina solúvel total não foi possível observar uma correlação entre as variáveis a 5% de probabilidade. Desta forma, pode-se supor que a produção de lignina nas folhas não apresenta ligação com o grau de severidade da doença nos genótipos avaliados neste trabalho.

5 CONCLUSÃO

Há variabilidade de níveis de resistência entre os genótipos de *Coffea arabica* avaliados. A respeito da produção dos compostos fenólicos solúveis e lignina não foi possível verificar a interação entre o acúmulo desses compostos e a severidade da ferrugem do cafeeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, D. R. et al. **Identificação e caracterização de genes putativos associados à resistência à *Hemileia vastatrix***. X Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, Vitória – ES, 2019.
- AMARAL, D. R.; RESENDE, M. L. V.; RIBEIRO JÚNIOR, P. M.; PÁDUA, M. A. de; MAC LEOD, R. E.; BOREL, J. C. **Determinação da atividade de peroxidases e teor de lignina em mudas de café tratadas com extratos vegetais contra *Cercospora coffeicola***. In: Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil (5.: Águas de Lindóia, SP: 2007). **Anais...** Brasília, D.F.: EMBRAPA - Café, 2007.
- BOTELHO, C. E. et al. **Seleção de progênies F4 de cafeeiros obtidas pelo cruzamento de Icatu com Catimor**. Revista Ceres, v. 57, n. 3, p. 274-281, 2010.
- BOTELHO, D. M. S., et al. **Intensidade da cercosporiose em mudas de cafeeiro em função de fontes e doses de silício**. Fitopatologia brasileira, Brasília, v. 30, n. 6, p. 582-588, Dec. 2005.
- CAIXETA, E. T.; PESTANA, K. N.; PESTANA, R. K. N. **Melhoramento do cafeeiro: ênfase na aplicação dos marcadores moleculares**. Tópicos Especiais em Produção Vegetal V – EMBRAPA Café, cap. 7, v. 5, 2015.
- CARVALHO, C. H. S. de. **Cultivares de café: origem, características e recomendações**. Embrapa, Brasília-DF, Brasil, 2008.
- CARVALHO, C. R. et al. **Cryptosexuality and the Genetic Diversity Paradox in Coffee Rust, *Hemileia vastatrix***. Plos One, 2011.
- CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra Brasileira café**. Primeiro levantamento, jan. 2020. Brasília: CONAB, 2020.
- CONAB, Companhia Nacional de Abastecimento. **Conjuntura mensal café**. Janeiro de 2019. Brasília: CONAB, 2019.
- CUNHA, R. L.; POZZA, E. A.; DIAS, W. P.; BARRETTI, P. B. **Desenvolvimento e validação de uma escala diagramática para avaliar a severidade da ferrugem (*Hemileia vastatrix*) do cafeeiro**. II Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, 2001.
- DOSTER, M. A.; BOSTOCK, R. M. **Quantification of lignin formation in almond bark in response to woudin and infection by *Phytophthora* species**. Phytopathology, ed. 78, p. 473-477, 1988.
- FERREIRA, T. et al. **Introduction to Coffee Plant and Genetics**. 2019.
- KRISHNAN, S. **Safeguarding coffee genetic resouces: Protecting coffee, forever**. World Coffee Research, 2016. Disponível em: <<https://worldcoffeeresearch.org/work/global-coffee-conservation-strategy/>>. Acesso em: 28 mar. 2020.

MAIA, F. G. M.; OGOSHI, C.; VIEIRA, J. F.; PIERRE, R. O.; MAIA, J. B.; JUNIOR, P. M. R.; De ABREU, M. S. **Pigments, total soluble phenols and lignin levels of coffee seedlings inoculated with *Colletotrichum gloeosporioides***. Coffee Science, Lavras 7(2):152–159, 2012.

MAPA, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Café no Brasil**. 18 set. 2018. Disponível em <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/politica-agricola/cafe/cafeicultura-brasileira>>. Acesso em: 21 mar. 2020.

MEDEIROS, R. V. V.; RODRIGUES, P. M. A. **A economia cafeeira no Brasil e a importância das inovações para essa cadeia**. A Economia em Revista - AERE, v. 25, n. 1, 2017.

MENDONÇA, R. F. D.; JESUS JUNIOR, W. C.; FERRÃO, M. A. G.; MORAES, W. B.; BUSATO, L. M.; FERRÃO, R. G.; TOMAZ, M. A.; FONSECA, A. F. A. D. **Genotypes of conilon coffee and their reaction to coffee leaf rust**. Summa Phytopathologica, v. 45, n. 3, p. 279-284, 2019.

MESQUITA, C. M. et al. **Manual do café: colheita e preparo**. Belo Horizonte: EMATER-MG, 2016.

MESQUITA, C. M. et al. **Manual do café: distúrbios fisiológicos, pragas e doenças do cafeeiro**. Belo Horizonte: EMATER-MG, 2016.

MISHRA, M. K.; SLATER, A. **Recent Advances in the Genetic Transformation of Coffee**. Biotechnology Research International, v. 2012, p. 1-17, 2012.

MORAIS, T. P. de; MELO, B. de. **Biotecnologia aplicada ao melhoramento genético do cafeeiro**. Ciência Rural, Santa Maria, v. 41, n. 5, p. 753-760, mai. 2011.

MORRIS, D. **Note on the Structure and Habit of *Hemileia vastatrix*, the Coffee-leaf Disease of Ceylon and Southern India**. Journal of the Linnean Society of London, Botany, 17, p. 512–517, 1880.

OLIVEIRA, A. C. B. de; PEREIRA, A. A.; SILVA, F. L. da; PEREIRA, H. de. A.; BONOMO, V. S.; BOTELHO, C. E.; REZENDE, J. C. de. **Seleção de Cafeciros Arábica Portadores do Gene Sh3 de Resistência à Ferrugem**. In: Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, 7, Araxá. Anais. Araxá – MG, 2011.

OLIVEIRA, I. P. et al. **Cultura de café: histórico, classificação botânica e fases de crescimento**. Revista Faculdade Montes Belos, v. 5, n. 4, ago. 2012.

PEREIRA, R. B.; CARVALHO, A. D. F. de; PINHEIRO, J. B. **Severidade da queima das folhas e quantificação de fenóis solúveis totais e lignina solúvel em cultivares de cenoura**. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 80 - EMBRAPA Hortaliças, Brasília, DF, p. 17, 2011.

PEREIRA, Ricardo Borges et al. **Citronella essential oil in the control and activation of coffee plants defense response against rust and brown eye spot**. Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v. 36, n. 4, p. 383-390, aug. 2012.

- PINTO, M. F.; CARVALHO, G. R.; PAIVA, R. F.; FERREIRA, A. D.; MENDES, A. N. G.; PEREIRA, A. A. **Comportamento de cultivares de cafeeiro (*Coffea Arabica* L.) resistentes à ferrugem (*Hemileia vastatrix*) na região de Lavras-MG.** 2007. Disponível em:
<http://www.sbicafe.ufv.br/bitstream/handle/123456789/2536/179995_Art196f.pdf?sequence=1&isAllowed=y> Acesso em: 02 fev 2020.
- RIBEIRO, I. J. A.; BERGAMIM FILHO, A.; CARVALHO, P. C. T. **Avaliação da resistência horizontal a *Hemileia vastatrix* Berk et Br. em cultivares de *Coffea arabica* L. em condições naturais de epidemia.** Summa Phytopathologica, 7:80-95, 1981.
- RODRIGUES, W. P. et al. **Assessment of genetic divergence among coffee genotypes by Ward-MLM procedure in association with mixed models.** Genetics and Molecular Research, 2016.
- ROMERO, G. et al. **Identification of a major QTL for adult plant resistance to coffee leaf rust (*Hemileia vastatrix*) in the natural Timor hybrid (*Coffea arabica* x *C. canephora*).** Plant Breeding 133, p. 121–129, 2014.
- SAKIYAMA, N. S.; PEREIRA, A. A.; ZAMBOLIM, L. **Melhoramento do café arábica.** In: Borém, A. Melhoramento de espécies cultivadas. Editora UFV, p. 189-204, Viçosa - MG, 1999.
- SANDERS, M. **Breeding for Coffee Leaf Rust Resilience in *Coffea* sp.** Natural Sciences Education, v. 48, p. 1-3, 2019.
- SENAR, Serviço Nacional de Aprendizagem Rural. **Café: controle de pragas, doenças e plantas daninhas.** Brasília, 2017.
- SCHEEL, D. **Resistance response physiology and signal transduction.** Current opinion in plant biology, v. 1, n. 4, p. 305-310, 1998.
- SILVA, F. L. F.; NASCIMENTO, G. O.; LOPES, G. S.; MATOS, W. O.; CUNHA, R. L.; MALTA, M. R.; LISKA, G. R.; OWEN, R. W.; TREVISAN, M. T. S. **The concentration of polyphenolic compounds and trace elements in the *Coffea arabica* leaves: Potential chemometric pattern recognition of coffee leaf rust resistance.** Food Research International, v. 134, 2020.
- SILVA, M. do C.; VARZEA, V.; GUERRA-GUIMARÃES, L.; AZINHEIRA, H. G.; FERNANDEZ, D.; PETITOT, A-S.; BERTRAND, B.; LASHERMES, P.; NICOLE, M. **Coffee resistance to the main diseases: leaf rust and coffee berry disease.** Brazilian Journal of Plant Physiology, v. 18, n. 1, Londrina - PR, 2006.
- SILVA, R. A. **Caracterização de raças fisiológicas e análise de proteínas candidatas a efetoras em população de *Hemileia vastatrix* no Brasil.** 2017. 86f. Tese de doutorado (Doutorado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa - MG, 2017.
- SPANOS, G. A.; WROLSTAD, R. E. **Influence of processing and storage on the phenolic composition of Thompson seedless grape juice.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 38, n. 7, p. 1565-1571, 1990.

STANGARLIN, J. R., et al. **A defesa vegetal contra fitopatógenos**. Scientia Agraria Paranaensis, v. 10, n. 1, p. 18, 2011.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. et al. **Fisiología vegetal/Plant physiology**. Universitat Jaume I, 2013.

TALINHAS, P. et al. **The coffee leaf rust pathogen *Hemileia vastatrix*: one and a half centuries around the tropics**. Molecular Plant Pathology, 2017.

ZAMBOLIM, L. **Durable resistance to coffee leaf rust**. Universidade Federal de Viçosa, 2005.

ZAMBOLIM, L. **Current status and management of coffee leaf rust in Brazil**. Tropical Plant Pathology, v. 41, 2016.