

AVALIAÇÃO DO NÍVEL DE RESISTÊNCIA DO CAFEIEIRO A *H. Vastatrix* (1). W. M. COSTA, (2), A. B. ESKES (3) e I. J. A. RIBEIRO (4). A Seção de Genética, em colaboração com a Seção de Microbiologia Fitotécnica, há alguns anos vem desenvolvendo um programa de estudos da resistência horizontal do cafeeiro a *Hemileia vastatrix*. Esse programa, a partir de junho de 1976, passou a contar com a colaboração da Organização de Alimentação e Agricultura (FAO).

Enquanto a avaliação da resistência vertical se faz qualitativamente, a da resistência horizontal, normalmente incompleta, exige o desenvolvimento de técnicas especiais para avaliar, corretamente, o nível de resistência. Em vista da dificuldade de inoculação de folhas de cafeeiros, em condições de campo, para avaliação dessa resistência, achou-se conveniente proceder à inoculação em plantas colocadas em casa-de-vegetação, onde há possibilidade do controle do ambiente, ao mesmo tempo em que os parâmetros

quantitativos podem ser melhor avaliados. Para determinações qualitativas da resistência, também desenvolveram-se métodos de laboratório, utilizando folhas destacadas ou apenas discos de folhas (5, 6, 7, 8). Este último método parece dar resultados mais acurados do que o de folhas destacadas (7, 8).

Nesta nota são apresentados alguns resultados referentes a esses métodos de avaliação quantitativa do nível da resistência do café icatu a *H. vastatrix*.

Material e métodos: 1. Enxertos de 55 plantas da população de cafeeiros icatu, que apresentavam diversos níveis de resistência a *H. vastatrix*, foram utilizados em um primeiro ensaio. Essas plantas, com um ano pós-enxertia e mantidas em casa-de-vegetação, foram inoculadas pulverizando-se as folhas com uma suspensão de esporos da raça II de *H. vastatrix* na concentração de 0,1%. Aproximadamente 40 dias após a inoculação, as plantas foram classificadas em tipos de reação ao

(1) Pesquisa parcialmente financiada pelo Instituto Brasileiro do Café. Trabalho apresentado no IV Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras, Caxambu, MG, 23-26 de novembro de 1976. Recebido para publicação em 9 de maio de 1977. Os autores agradecem ao Dr. Alcides Carvalho, a colaboração na execução dos trabalhos e revisão do texto.

(2) Bolsista do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

(3) Técnico da FAO, junto ao Programa Internacional de Resistência Horizontal.

(4) Com bolsa de suplementação do C.N.Pq.

(5) DUARTE, C. S.; ARAUJO NETTO, K.; PEREIRA, J. E. & OLIVEIRA, J. C. Preservação de folhas de café em câmara úmida para testes de resistência à ferrugem. In Congresso Brasileiro sobre Pragas e Doenças do Cafeeiro, 1.º IBC-GERCA. p. 37, 1973. Resumos.

(6) MORAES, S. A. & SUGIMORI, M. H. Observações sobre a conservação de folhas de cafeeiros destacadas para uso em inoculação com *H. vastatrix* Berk et Br. In Reunião Anual da SBPC, XXV. 1973, p. 51 b. Resumos.

(7) NARASIMHAWAMY, R. L.; NARAYANAN NAMBIAR, K. K. & SREENIVASAN, M. S. Report on work of testing races of leaf disease fungus on coffee selections at Coffee Research Station, Balehonnur. Indian Coffee 25(11):333-336, 1961.

(8) NUTMAN, F. J. & ROBERTS, F. M. Studies on the biology of *Hemileia vastatrix* Berk et Br. Trans. Brit. mycol. Soc. 46(1):27-48, 1963.

patógeno, segundo uma escala estabelecida ⁽⁹⁾, que varia de 1 (resistente) a 6 (suscetível). Ao mesmo tempo utilizou-se outra escala variando de 0 a 5, ou seja, desde ausência até máxima expressão, para classificar as plantas quanto à esporulação e tamanho da lesão. Realizaram-se leituras em diferentes épocas e a média de campo foi correlacionada com as médias obtidas em casa-de-vegetação.

2. Como método de laboratório, inicialmente experimentou-se a inoculação de folhas destacadas com a raça II de *H. vastatrix*. As folhas foram mantidas em caixas cobertas com vidro, sobre espuma de plástico umedecido, com o pecíolo envolto com algodão embebido em água. As caixas foram colocadas na casa-de-vegetação em meados de agosto de 1976. Este método, entretanto, foi abandonado por causa da rápida deterioração das folhas.

Como segundo método de laboratório, utilizaram-se discos de folhas, retirados de plantas do campo. Os discos foram obtidos através de um furador de rolhas de 1,5 cm de diâmetro e colocados em caixas de petri, sobre papel de filtro umedecido.

Os seguintes tratamentos foram testados:

a) Idade da folha: utilizaram-se os primeiros e os terceiros pares de folhas desenvolvidas a

partir do ápice dos ramos, na região mediana da planta.

b) Efeito do produto "Benzamidazole", que vem sendo utilizado para retardar o envelhecimento de tecidos destacados, como em trigo ⁽¹⁰⁾. Foi aplicado na concentração de 50 ppm.

c) Papel de filtro inteiro ou perfurado: este tratamento consistiu na perfuração ou não do papel de filtro, com o mesmo furador, para possibilitar melhor absorção do produto "Benzamidazole".

d) Temperatura ambiente: a temperatura ótima para germinação e desenvolvimento da ferrugem do cafeeiro foi estabelecida em, aproximadamente, 22°C ⁽⁸⁾. Neste ensaio deixou-se a metade dos discos em condições naturais de laboratório, com a temperatura flutuando entre 15 e 25°C e a outra metade numa câmara de crescimento, com temperatura estável de 22°C, obedecendo-se o fotoperíodo de 12 horas. Os discos, em caixas de petri, no laboratório, permaneceram em condições de luz natural.

Escolheram-se três plantas da população de cafeeiros icatu, H 3851-2-291, H 3851-2-437 e H 4782-13-167, que apresentavam respectivamente os tipos de reação, 6, 3 e 1.

A inoculação foi feita com uma suspensão de esporos da

⁽⁹⁾ COSTA, W. M. & RIBEIRO, I. J. A. Resistência a *H. vastatrix* observada no café icatu. In: Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras, Curitiba, Pr., 3.º Instituto Brasileiro do Café, 1975. p. 113. (Resumos).

⁽¹⁰⁾ WILCOXSON, R. D.; ATIF, A. H. & SKOVMAND, B. Slow rusting of wheat varieties in the field correlated with stem rust severity on detached leaves in the greenhouse. Plant Dis. Rep. 58(12):1085-1087, 1974.

raça II de *H. vastatrix* na concentração de 500 mg/litro, usando como espalhante o produto Tween 20 na dosagem de 0,02%. A suspensão foi mantida em constante agitação tendo-se usado uma pipeta de plástico ("Disposable Pipette B-D") através da qual se aplicava uma gota dessa suspensão na face inferior dos discos. O ensaio foi esquematizado segundo um fatorial 2⁴, tendo-se usado 320 discos de cada planta. Geralmente tiraram-se oito discos por folha, os quais foram distribuídos igualmente pelos tratamentos, cada caixa de petri ficando com 10 discos. Os papéis de filtro foram constantemente umedecidos para evitar o secamento dos discos.

Resultados: As leituras realizadas visando medir a manifestação da *H. vastatrix* em diversas plantas da população de cafeeiros icatu, no campo e em casa-de-vegetação, acham-se no quadro 1.

Observa-se, entre as três leituras realizadas no campo e na casa-de-vegetação, boa similaridade no tocante ao tipo de reação, obtendo-se um coeficiente de correlação positivo de 0,82, altamente significativo. As plantas suscetíveis (tipos 5 e 6) comportaram-se de maneira análoga nos dois ambientes, com exceção da planta H 3851-2-513 que, no campo, revelou-se mais suscetível. Algumas das plantas que no campo se mostraram resistentes (1 ou 2), chegaram a manifestar tipo 3 na casa-de-vegetação.

A média das leituras do campo foi também correlacionada com a da esporulação e tamanho de

lesões, obtendo-se, respectivamente, os coeficientes $r = 0,83$ e $r = 0,51$, significativos.

Ocorreram necrose e clorose em muitas plantas, variando apenas a intensidade e a época de aparecimento. Em algumas plantas, logo que surgiam pequenas cloroses, suas folhas tornavam-se rapidamente necrosadas nessas regiões, enquanto em outras tal processo se revelou vagaroso.

O quadro 2 mostra a taxa de infecção em discos de folhas, submetidos a diversos tratamentos em condições controladas.

Os dados obtidos revelaram diferenças significativas com relação à taxa de infecção em discos provenientes de folhas novas e velhas, tendo estas últimas maior taxa de infecção, tanto para discos provenientes de planta com reação tipo 6 ou 3. Os discos da planta tipo 1 (resistente) não mostraram sintomas, surgindo, apenas em alguns, reação de hipersensibilidade.

Os discos provenientes da planta tipo 6, suscetível, apresentaram taxa de infecção de 65% na câmara e 62% no laboratório, enquanto nos discos da planta de reação 3, moderadamente resistente, os percentuais de infecção na câmara e em laboratório foram respectivamente de 17 e 23% (quadro 3). Neste mesmo quadro, onde procurou-se isolar o efeito da idade da folha observaram-se diferenças marcantes, apresentando os discos de folhas novas uma taxa de infecção de 27% e os de folhas velhas de 56%.

QUADRO 1. — Comparação do tipo de reação de cafeeiros icatu a *H. vastatrix* no campo e em casa-de-vegetação. Médias obtidas através de leituras em diferentes épocas, seguindo uma escala de 1 a 6, para tipos de reação, e 0 a 5, para esporulação e tamanho de lesões

PLANTA	CAMPO		CASA-DE-VEGETAÇÃO	
	Tipo de reação	Tipo de reação	Esporulação	Tamanho lesões
H 3851-2-457	1,0	2,7	1,0	3,0
H 4782-10-119	1,0	2,0	0,0	1,0
H 4782-7-764	1,0	2,7	1,0	3,0
H 4782-7-785	1,0	2,0	0,0	1,5
H 4782-7-552	1,3	2,7	1,0	3,0
H 4782-13-178	1,3	3,0	2,5	3,5
H 4782-7-788	1,3	2,7	1,0	2,5
H 3851-4-131	1,3	2,3	1,0	3,0
H 4782-7-585	1,7	3,0	1,0	3,5
H 4782-13-79	1,7	2,7	0,5	3,5
H 4782-13-167	1,7	1,7	0,0	1,5
H 3851-4-123	1,7	3,0	2,0	4,5
H 3851-2-363	2,0	2,0	0,0	2,5
H 4782-7-624	2,0	2,0	0,0	1,5
H 4782-13-135	2,0	3,0	1,5	3,5
H 4782-7-736	2,0	2,0	0,0	2,0
H 3851-2-516	2,0	2,7	0,5	3,5
H 4782-10-250	2,0	2,0	0,0	1,0
H 3851-2-687	2,0	2,0	0,0	2,0
H 4782-12-166	2,0	2,7	1,0	3,0
H 4782-7-724	2,3	3,0	1,0	3,5
H 4782-10-360	2,3	3,0	2,5	3,5
H 4782-10-479	2,3	2,3	0,5	3,0
H 3851-2-437	2,7	2,7	1,5	2,5
H 4782-13-154	2,7	3,0	1,5	3,5
H 3851-2-515	3,0	2,3	0,5	2,0
H 3849-7-142	3,0	3,3	1,5	3,5
H 3849-7-169	3,0	3,3	1,5	5,0
H 4782-7-943	3,0	2,7	0,5	2,5
H 3851-4-41	3,3	3,3	3,5	3,5
H 4782-7-885	3,7	3,0	1,0	3,5
H 4782-13-152	4,0	5,3	4,0	3,0
H 3851-2-478	4,0	3,0	3,0	3,0
H 3851-2-598	4,0	5,7	5,0	4,0
H 3851-2-712	4,0	3,0	1,5	3,0
H 3849-9-27	4,0	2,7	1,0	2,5
H 3851-2-689	4,3	3,7	2,0	3,0
H 4782-7-809	4,7	4,0	3,0	3,5
H 4782-13-164	4,7	5,0	4,0	4,5
H 4782-7-596	5,0	4,3	4,0	3,0
H 4782-13-72	5,0	4,7	3,0	3,5
H 3851-2-434	5,0	4,7	3,5	4,0
H 4782-7-1018	5,0	5,0	4,5	3,5
H 4782-10-78	5,3	4,0	2,5	3,5
H 4782-10-184	5,3	5,7	4,5	4,0
H 4782-13-231	5,3	4,3	4,0	3,0
H 4782-7-960	5,3	6,0	5,0	4,0
H 4782-10-36	5,7	5,7	5,0	4,0
H 3849-9-34	5,7	5,0	4,5	3,0
H 3851-2-291	5,7	6,0	5,0	3,5
H 3851-2-509	5,7	4,7	4,5	3,5
H 4782-13-218	5,7	5,7	4,5	4,0
H 4782-7-823	5,7	6,0	5,0	4,0
H 4782-7-1027	5,7	5,0	4,0	3,5
H 3851-2-513	6,0	2,7	2,5	4,0

QUADRO 2. — Média da taxa de infecção em discos de folhas inoculados com *H. vastatrix*

Tratamento (*)	Taxa de infecção	
	Câmara	Laboratório
	%	%
6 L B N	60	35
6 L B V	70	85
6 L A N	54	40
6 L A V	60	85
6 P B N	63	40
6 P B V	75	70
6 P A N	58	35
6 P A V	73	95
3 L B N	20	10
3 L B V	25	30
3 L A N	0	5
3 L A V	25	35
3 P B N	0	0
3 P B V	30	60
3 P A N	0	10
3 P A V	35	26
1 L B N	0	0
1 L B V	0	0
1 L A N	0	0
1 L A V	0	0
1 P B N	0	0
1 P B V	0	0
1 P A N	0	0
1 P A V	0	0

(*) Simbologia dos tratamentos: 6, 3 e 1 (tipos de reação); L (papel filtro liso); P (papel filtro perfurado); B (presença de Benzimidazole); A (presença de água); N (folha nova); V (folha velha).

QUADRO 3. — Taxa de infecção em discos provenientes de plantas H 3851-2-291 (tipo 6) e H 3851-2-437 (tipo 3) apresentando folhas com diferentes idades fisiológicas

Idade da folha	Câmara		Laboratório		Média
	R ₃ *	R ₀ **	R ₃	R ₀	
	%	%	%	%	%
Nova	3	59	6	40	27
Velha	29	71	39	84	56
MÉDIA	17	65	23	62	—

* R₃ = Moderadamente resistente

** R₀ = Suscetível.

O produto químico "Benzamizazole" não se mostrou superior ao tratamento com água somente, mesmo quando se perfurou o papel de filtro. O ambiente controlado (câmara) não proporcionou maior taxa de infecção, com exceção dos discos de folhas novas, retiradas da planta tipo 6, onde a infecção foi maior na câmara do que no laboratório.

Discussão e conclusões: Os resultados obtidos nos ensaios efetuados sugerem a possibilidade de se poder avaliar parâmetros quantitativos na interação *H. vastatrix* — cafeeiro, em condições controladas ou semicontroladas.

A alta correlação observada entre a reação das plantas no campo e em casa-de-vegetação, oferece perspectivas animadoras. A taxa de esporulação mostrou maior relação com a reação da planta no campo do que o tamanho da lesão. Este último parâmetro, que é freqüentemente usado para avaliar resistência horizontal em outras culturas, mostrou baixo coeficiente de correlação: 0,51. Isto deveu-se, provavelmente, ao freqüente aparecimento de lesões grandes, com pouca esporulação, nas plantas dos tipos 3 e 4. Por isso, para a população estudada pode-se considerar o tamanho da lesão como um parâmetro menos apropriado para medir o nível de resistência, na relação *H. vastatrix* — cafeeiro.

O fato de algumas plantas darem tipos de reação 3 na casa-de-vegetação e 1 ou 2 no campo,

mostrou que o patógeno na casa-de-vegetação revelou uma maior agressividade, provavelmente devido à maior quantidade de inóculo e ao meio ambiente mais propício.

O método de discos de folhas também mostrou-se efetivo para a avaliação da interação *H. vastatrix* — cafeeiro, nessa população. A taxa de infecção, em discos provenientes da planta suscetível (tipo 6), foi de três a quatro vezes maior do que na planta moderadamente resistente (tipo 3), e a taxa de esporulação das lesões mostrou muita similaridade com a observada no campo.

A idade fisiológica das folhas em plantas da população de icatu parece interferir na taxa de infecção, visto que esta foi praticamente duas vezes maior em discos provenientes de folhas velhas em relação aos de folhas novas. Carece, entretanto, de confirmação se esta diferença também ocorre em condições naturais.

A conservação dos discos de folhas postos em papel de filtro umedecido com água mostrou-se tão boa quanto nos tratamentos com Benzamizazole e papel de filtro perfurado. Assim, com metodologia relativamente simples e condições normais de laboratório, a inoculação em discos de folhas pode ser considerada uma técnica aproveitável para medir a interação *H. vastatrix* — cafeeiro. SEÇÕES DE GENÉTICA E DE MICROBIOLOGIA FITOTÉCNICA, INSTITUTO AGRÔNOMICO DO ESTADO DE SÃO PAULO.

PRELIMINARY RESULTS ON THE USE OF QUANTITATIVE METHODS FOR
DETERMINING THE LEVEL OF RESISTANCE OF COFFEE PLANTS TO
HEMILEIA VASTATRIX

SUMMARY

To study horizontal resistance of coffee plants to *H. vastatrix* quantitative measurements on resistance are necessary. In this paper the results of some greenhouse and laboratory tests are compared to field observations.

Regular field readings within the Icatu population, using a 6 point scale for disease access, have shown that a continuous variation for resistance exists within this population. Grafts of 55 plants of Icatu have been inoculated in the greenhouse with race II of the pathogen. Besides readings using the 6 point scale, estimates on sporulation rate and lesion size were made. The results show a good relation between field and greenhouse observations. Lesion size, however, was less correlated with disease incidence since many plants show large chlorotic areas with only sparse sporulation.

As a laboratory method detached leaves and leaf disks have been inoculated and maintained at high relative humidity. Conservation of detached leaves was unsatisfactory and this method has been subsequently abandoned. Leaf disks, when placed on wetted filter paper in petri dishes, stayed green and apparently healthy for even more than 120 days. An inoculation experiment, using a susceptible, moderate susceptible and resistant plant of Icatu, indicates that the rate of infection of the leaf disks could be a promising parameter for quantitative disease assessments. Investigation with other plant material will be undertaken to further determine the effectiveness of this method.