

## GERMINAÇÃO E INFEÇÃO DA FERRUGEM EM CAFEIRO CONILON SOB DIFERENTES TEMPERATURAS E MOLHAMENTOS FOLIARES

Alexandre S. Capucho<sup>1</sup>; Laércio Zambolim<sup>2</sup>; Patrícia G.C. Cabral<sup>3</sup>; Eunize Maciel-Zambolim<sup>2</sup>; Eveline T. Caixeta<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Doutorando em Fitopatologia, UFV, Viçosa-MG, alecapucho@yahoo.com.br

<sup>2</sup> Prof. Titular Fitopatologia, UFV, Viçosa-MG, zambolim@ufv.br, eunize@ufv.br

<sup>3</sup> Graduanda em Agronomia, UFV, Viçosa-MG, pat\_pattygoncalves@yahoo.com.br

<sup>4</sup> Pesquisador, D.Sc., EMBRAPA, Brasília-DF, eveline.caixeta@embrapa.br

**RESUMO:** A biologia da ferrugem (*Hemileia vastatrix*) é bem estudada em café arábica (*Coffea arabica*), entretanto pouco se conhece desse assunto no cafeeiro conilon (*C. canephora*). Portanto, o objetivo deste trabalho foi determinar as faixas de temperatura e molhamento foliar ideais para a germinação e infecção da ferrugem no cafeeiro conilon. A idade da folha que é mais infectada pela ferrugem também foi determinada no estudo. Isolados de três cidades do ES foram coletados, obtidos na forma de isolados monopustulares e caracterizados biologicamente, sendo constituídos de dois isolados da raça II e um da raça I de *H. vastatrix*. As seguintes temperaturas e horas de molhamento foliar foram avaliadas nos experimentos: temperaturas de 18°C, 21°C, 24°C, 27°C e 30°C e molhamentos foliares de 4, 8, 12, 24, 48 e 72 horas. A germinação e a infectividade durante a incubação foi determinada. A germinação foi avaliada em placas de petri contendo meio ágar-água e a infectividade foi avaliada pela determinação da área foliar lesionada em discos de folha de café conilon dentro de caixas plásticas (11x11x3cm). Os resultados mostraram elevada taxa de germinação e infectividade em molhamento foliar superior a 24h e temperaturas entre 21 e 24°C durante a incubação. As três idades da folha (jovem, adulta e velha) usadas no estudo apresentaram a mesma área foliar lesionada quando inoculadas com o isolado da raça II da *H. vastatrix*.

**Palavras-chave:** *Hemileia vastatrix*, *Coffea canephora*, favorabilidade.

## GERMINATION AND INFECTION OF COFFEE RUST IN UNDER DIFFERENT CONILON TEMPERATURE AND LEAF WETNESS

**ABSTRACT:** The biology of rust (*Hemileia vastatrix*) is well studied in arabica coffee (*Coffea arabica*), however little is known on this subject for conilon coffee (*C. canephora*). The aim of this study was to determine the best temperature and leaf wetness for germination and infection of rust leaf in conilon coffee. The influence of the leaf age on the infection was also determined in the study. Isolates from three cities of the State of Espírito Santo were collected, obtained in the form of isolated pustule and biologically characterized. It was detected two isolates of race II and one of race I of *H. vastatrix*. The following temperatures and hours of leaf wetness were evaluated in the experiments: temperatures of 18°C, 21°C, 24°C, 27°C and 30°C and leaf wetness of 4, 8, 12, 24, 48 and 72 hours. Germination and infectivity during incubation were determined. Germination was evaluated in Petri dishes containing agar-water and infectivity was assessed by determining the diseased leaf area from leaf discs of conilon coffee inside plastic boxes (11x11x3cm). The results showed high germination rate and infectivity in leaf wetness exceeding 24 hours and temperatures between 21 and 24°C during incubation. The three ages of leaf (young, adult and old) used in the study had the same disease area when inoculated with race II of *H. vastatrix*.

**Key words:** *Hemileia vastatrix*, *Coffea canephora*, favorability.

## INTRODUÇÃO

A produção mundial de *Coffea canephora* corresponde a 46 milhões de sacas, sendo o Brasil o segundo maior produtor com 23% da produção mundial. Esta espécie é conhecida no Espírito Santo como café conilon e é o grupo de *C. canephora* mais plantado no Estado (Fassio & Silva, 2007). A epidemia da ferrugem é bem estudada em *C. arabica*, e neste hospedeiro, de modo geral, ela é favorecida por umidade elevada com molhamento foliar por pelo menos 24 horas e temperaturas moderadas, próxima a 24 °C (Zambolim *et al.*, 1999).

A idade da folha mais suscetível à ferrugem já foi avaliada para os cafeeiros arábica e conilon. Para o café arábica não se observou influência da idade da folha na suscetibilidade das cultivares Catuaí e Mundo Novo, entretanto, as folhas mais jovens e completamente expandidas foram as mais suscetíveis. Já para o café conilon as folhas denominadas de adultas (com poucas semanas a no máximo um mês de idade) são mais resistentes que as novas (consideradas como completamente desenvolvidas com aspecto brilhante e suculento) e velhas (com mais de seis meses

de idade) no cultivar Kouillou (Eskes & Toma-Braghini, 1982). Entretanto esses resultados são controversos, pois para alguns acessos de Kouillou do IAC (69-5, 69-14 e 70-5) já foi observado que folhas novas são mais resistentes que folhas adultas/velhas (Fernandez & Eskes, 1978).

A fase crítica para *H.vastatrix* durante o processo infeccioso é a germinação do urediniósporo, na qual a temperatura e o molhamento foliar são as variáveis climáticas mais importantes para o processo. Para o cafeeiro arábica a maioria dos trabalhos cita temperaturas entre 22°C e 24°C como ideais para ocorrer porcentagem de germinação máxima (Dejong *et al.*, 1987, Rayner, 1972, Saccas & Charpentier, 1971, Akutsu, 1981, Montoya & Chaves, 1974).

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

Para entender melhor como se comporta a epidemia da ferrugem no cafeeiro conilon há necessidade de determinarmos esses parâmetros, conhecendo-os de forma mais aprofundada e precisa para que os dados obtidos em trabalhos epidemiológicos de campo sejam mais bem compreendidos nesse patossistema. Estas informações também podem auxiliar futuros trabalhos de previsão da doença no cafeeiro conilon. Portanto, o objetivo deste trabalho foi determinar a idade da folha de conilon mais suscetível à ferrugem e as faixas de temperatura e molhamento foliar ideais para a germinação e infecção da ferrugem no cafeeiro conilon.

## MATERIAL E MÉTODOS

Esporos do fungo foram coletados em lavouras de cafeeiro conilon a partir de maio de 2009, em três municípios do Espírito Santo, Jaguaré (S18°901', W40°082', 75m de altitude), Rio Bananal (S19°15', W40°19' e 106m de altitude) e São Gabriel da Palha (S19°03,879', W40°32,922' e 190m de altitude). As lavouras coletadas apresentavam até quatro anos de idade e eram formadas com o clone 02 intercalado com o G35, este último usado como polinizador, sob irrigação do tipo gotejamento. Os esporos foram coletados no clone 02 com o auxílio de cápsulas de gelatina e mantidos a 4°C e UR=50% (Zambolim & Chaves, 1974). Os isolados foram multiplicados para a obtenção de isolados monopustulares de *H. vastatrix*. Para isso, a transferência de uma única pústula de ferrugem para mudas do clone 02 foi realizada. Este procedimento foi realizado em compartimentos individualizados para evitar contaminações. A metodologia usada para a obtenção de isolados monopustulares é a mesma descrita por Capucho *et al.* (2009). A caracterização biológica das raças usadas no estudo foi determinada de acordo com a reação de resistência (ausência de uredosporos do patógeno) ou suscetibilidade (presença de uredosporos do patógeno) apresentada pelos clones diferenciadores de raças do CIFC (Centro de Investigação das Ferrugens do Cafeeiro), mantidos no BioCafé/UFV. Para esse fim, utilizou-se a metodologia de disco de folhas, com três repetições para cada clone diferenciador, sendo cada repetição constituída de 16 discos de folha (Capucho *et al.*, 2009). A partir dos esporos caracterizados de cada isolado, o clone 02 foi usado para a multiplicação e obtenção de esporos do fungo em grandes quantidades.

Os ensaios de avaliação da temperatura e do período de molhamento ótimos foram divididos em duas etapas, a primeira realizada *in vitro* para avaliar a maior taxa de germinação dos esporos em placas de Petri contendo ágar-água e a segunda etapa realizada pela inoculação de uma suspensão de esporos em discos de folhas mantidos no interior de caixas plásticas (gerbox de 11x11x3 cm), como discriminado abaixo.

Para a instalação dos ensaios da avaliação da germinação em diferentes temperaturas e períodos de molhamento foram preparadas suspensões com 2mg de uredosporos por mililitro de água destilada, contendo 0,5% de Tween 80, mantidas sob constante agitação. Com o auxílio de uma micropipeta, 200µL dessa suspensão foi colocada em placas de Petri contendo ágar-água 2%. A suspensão foi espalhada com o auxílio de uma alça de Drigalsky, as placas foram cobertas com papel alumínio e submetidas ao respectivo tratamento.

Para a análise da temperatura ótima para a germinação foram usados os seguintes tratamentos: 1) temperatura de 18°C; 2) temperatura de 21°C; 3) temperatura de 24°C; 4) temperatura de 27°C; 5) temperatura de 30°C, montados no delineamento inteiramente casualizados, com cinco repetições, sendo o valor de cada repetição obtido da média de quatro campos por placa, constituindo as parcelas do experimento. Os esporos germinados foram contados com o auxílio de um hemacitômetro, onde foram contados pelo menos 50 esporos por campo, totalizando mais de 200 esporos contados por parcela experimental.

Para analisar o período de molhamento ótimo foram testados os seguintes tratamentos: 1) 4 horas de molhamento no escuro; 2) 8 horas de molhamento no escuro; 3) 12 horas de molhamento no escuro; 4) 24 horas de molhamento no escuro; 5) 48 horas de molhamento no escuro; 6) 72 horas de molhamento no escuro, montados no delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, sendo cada repetição obtida da média de quatro campos por placa, constituindo as parcelas do experimento. As avaliações foram as mesmas do experimento de determinação de temperatura ótima de germinação.

Para a instalação dos ensaios da avaliação da infectividade em diferentes temperaturas e períodos de molhamento foi usado a metodologia de discos de folha com o clone 02 de *C. canephora*. As parcelas experimentais foram constituídas por caixas plásticas onde 16 discos de folhas ficavam sobre uma tela de náilon e espuma saturada com água no interior de um gerbox (caixas plásticas de 11x11x3cm). A eficiência dessa metodologia para estudos de resistência vertical e horizontal foi demonstrada por Eskes (1982).

Para a inoculação dos discos de folhas, uredosporos do patógeno foram inoculados em cada disco, na face abaxial, com o auxílio de um pincel. Após a inoculação, os discos foram atomizados com água destilada. Os gerbox foram incubados com os mesmos esporos e nas mesmas faixas de temperatura e período de molhamento do experimento de germinação. Os gerbox também foram acondicionados no escuro nas mesmas condições das placas de petri para o teste de germinação (cobertas com papel alumínio).

Para determinar a influência da idade da folha na intensidade da ferrugem, três estágios de desenvolvimento das folhas foram avaliados em um delineamento inteiramente casualizado com oito repetições. Os tratamentos do experimento consistiram de folhas “jovens”, consideradas como completamente desenvolvidas com aspecto brilhante e suculento; folhas “adultas”, com poucas semanas a no máximo um mês de idade; e folhas “velhas”, com mais de seis meses de idade. As parcelas experimentais foram constituídas por gerbox contendo 16 discos de folha cada. A inoculação seguiu a temperatura e período de molhamento ótimos determinados para cada isolado usado nos experimentos anteriores.

No final dos experimentos de infectividade e idade da folha foi determinada a área foliar da lesão (AFL), fotodocumentando todos os discos de folhas com lesões por meio de uma câmera digital. A área de cada lesão foi determinada com o programa *Quant* (Vale *et al.*, 2003). Todos os experimentos foram realizados duas vezes para assegurar a consistência dos dados obtidos. O experimento de idade da folha só foi realizado para um dos isolados.

Com os dados de germinação obtidos, tanto para o experimento de determinação da melhor temperatura quanto o de melhor período de molhamento, foram realizadas análises de regressão para obter o modelo ajustado. Com o modelo determinado foram plotados os gráficos para cada experimento (isolado) e, no caso dos ensaios de temperatura, foi calculada a primeira derivada da equação quadrática, obtendo-se os pontos de máximo (temperatura ótima) para cada experimento (isolado). As análises foram realizadas com o programa MINITAB 14 e os gráficos com os programas Excel e SigmaPlot.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os isolados usados foram caracterizados biologicamente como pertencentes às raças I e II de *H. vastatrix* (Tabela 1). O isolado de São Gabriel da Palha foi caracterizado com sendo da raça I e os isolados de Rio Bananal e Jaguaré como sendo da raça II de *H. vastatrix*. No Brasil, 15 raças fisiológicas de *H. vastatrix* já foram relatadas em *Coffea* spp. (Cabral *et al.*, 2010), com predominância das raças II, I, III e XV (Bettencourt e Rodrigues Junior, 1988). Portanto, as raças usadas no estudo estão entre as mais frequentes no Brasil.

**Tabela 1** - Raças fisiológicas de *Hemileia vastatrix* identificadas no estudo com seus respectivos genes de virulência e resistência.

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

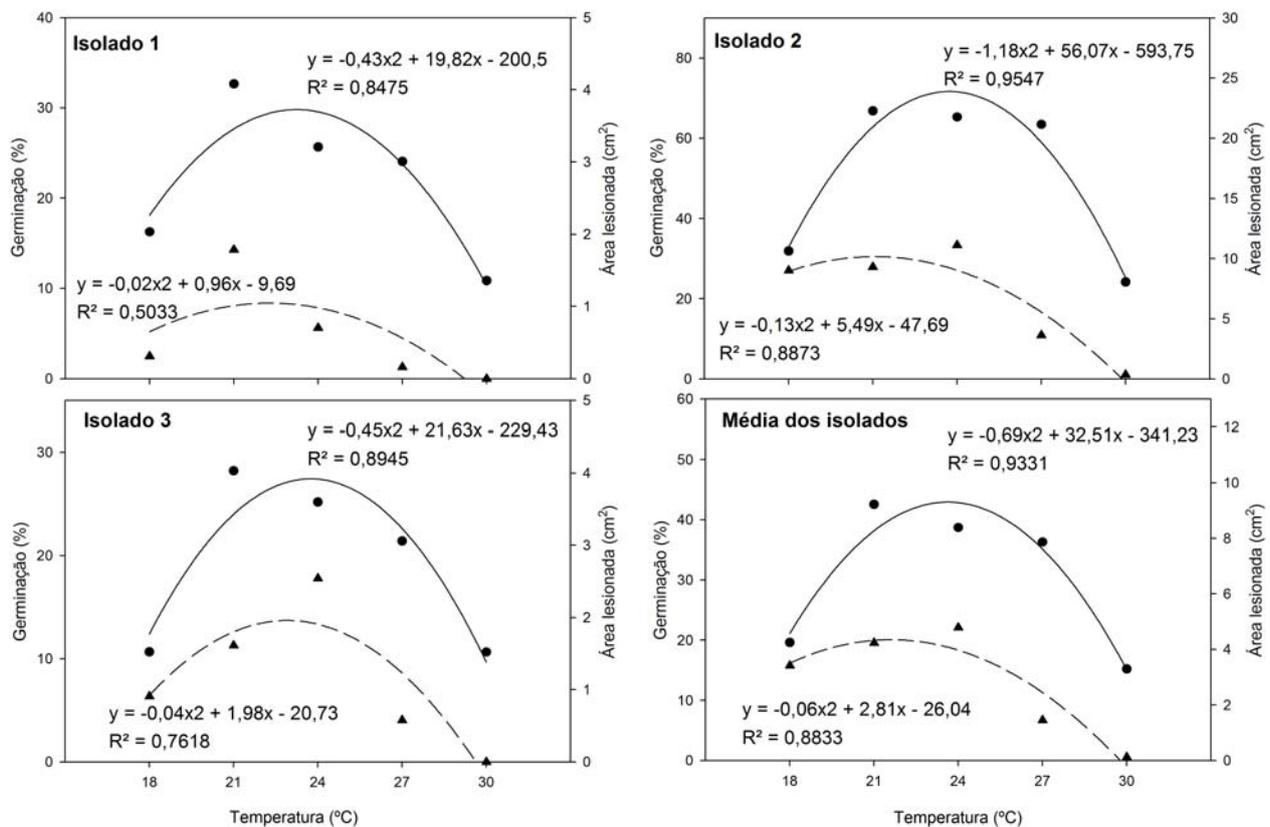
\* S - Suscetível (presença de uredosporos da ferrugem). Os traços correspondem a reação de resistente (ausência de uredosporos da ferrugem). \*\* Raça I corresponde ao isolado coletado em São Gabriel da Palha-ES, a raça II em Rio Bananal-ES e Jaguaré-ES.

As funções ajustadas da determinação das temperaturas ótimas para a germinação e infecção da ferrugem podem ser observadas na Figura 1. A temperatura de germinação máxima foi obtida pelo ponto de máximo de cada regressão. Para isso, a primeira derivada de cada função foi determinada para cada isolado avaliado e para a média dos isolados. Em São Gabriel da Palha, a máxima germinação ocorreu na temperatura de 23,24°C, em Rio Bananal a 23,73°C, enquanto em Jaguaré, a 23,75°C. O valor do ponto de máximo para a regressão da média dos isolados foi de 23,63°C. Esses resultados estão em acordo com os determinados em café arábica, ente 22 e 24°C (Dejong *et al.*, 1987, Rayner, 1972, Saccas & Charpentier, 1971, Akutsu, 1981, Montoya & Chaves, 1974). Em café arábica foi observado

uma completa inibição da germinação a 32,5°C, entretanto, em nosso experimento com café conilon foi observada a germinação até 30°C (valor máximo avaliado). Sendo que a germinação foi reduzida para 36,2% da máxima germinação observada, em termos médios.

Para a temperatura máxima de infecção (área lesionada em cm<sup>2</sup>) observou-se uma tendência semelhante às temperaturas ótimas para a germinação dos esporos da ferrugem. Os discos de folha incubados a 30°C não reproduziram o patógeno, sendo a área lesionada igual a zero (Figura 1) para todos os isolados avaliados. Portanto, possivelmente no campo não ocorrerá epidemias severas da doença caso as temperaturas estejam mais elevadas por um longo período. Observando isoladamente, a máxima infectividade em São Gabriel da Palha ocorreu na temperatura de 22,22°C, em Rio Bananal a 21,05°C, enquanto em Jaguaré, a 22,88°C. O valor do ponto de máximo para a regressão da média dos isolados foi de 21,61°C.

Assim, podemos observar que a avaliação da germinação ótima *in vitro*, em termos médios, superestima em dois graus a temperatura para causar a infecção máxima nas plantas. Esses resultados mostram que não houve uma mesma temperatura ótima para que a germinação e a infectividade sejam máximas. Portanto, sugerimos uma faixa de temperatura ótima para os dois fatores analisados, sendo a infecção da ferrugem no cafeeiro conilon favorável quando a temperatura estiver entre 21 e 24°C. No cafeeiro arábica a faixa de temperatura considerada ótima para a infecção está entre 22 e 24°C (Dejong *et al.*, 1987, Rayner, 1972, Saccas & Charpentier, 1971, Akutsu, 1981, Montoya & Chaves, 1974), bem próximo do valor observado neste estudo.

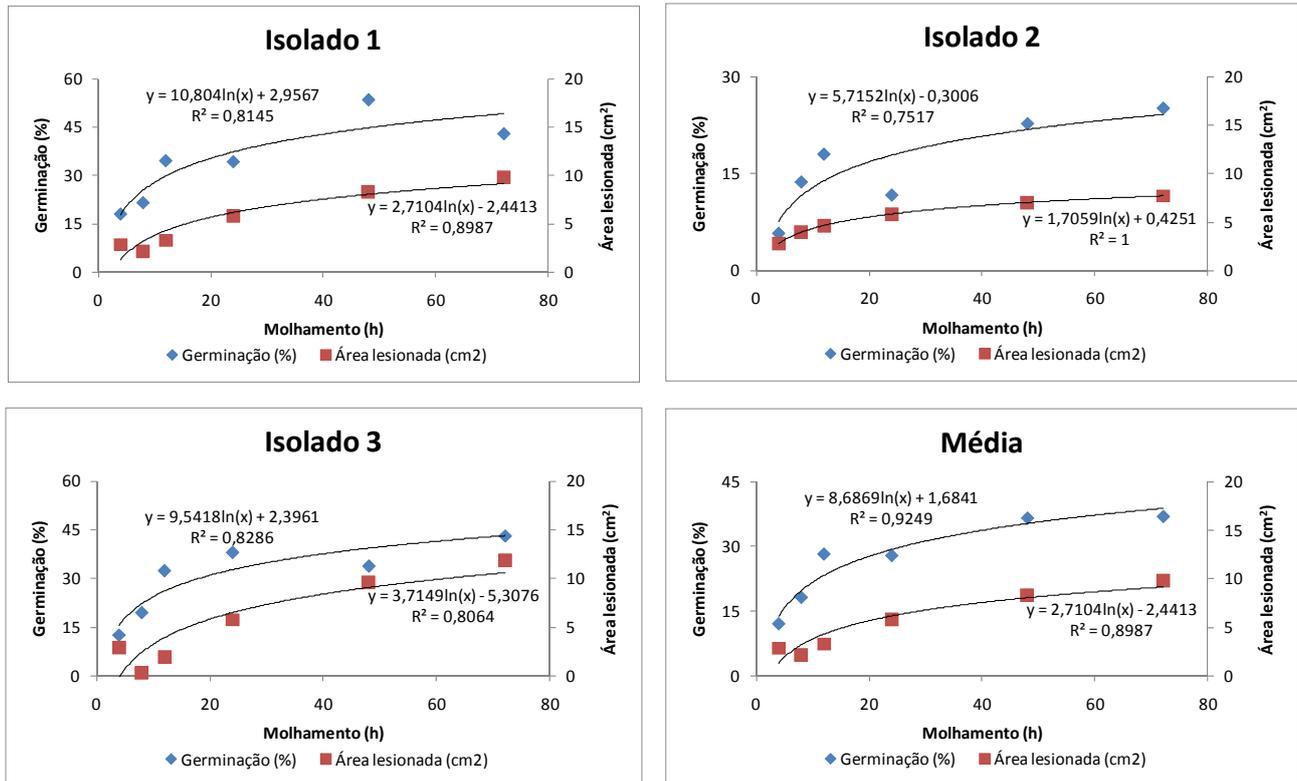


**Figura 1** - Germinação e infectividade da ferrugem (*Hemileia vastatrix*) em cafeeiro conilon (*Coffea canephora*) sobre diferentes temperaturas durante a incubação com 48h de molhamento. A germinação está representada pela linha contínua com círculos cheios e a infectividade está representada por linha pontilhada com triângulos cheios.

A germinação dos esporos em ágar-água e os sintomas da doença (infectividade) em disco de folhas de café foram observados em todos os períodos de molhamento que o patógeno foi incubado. O período de molhamento que se observou o máximo de germinação dos esporos *in vitro* foi o de 72 horas, período máximo avaliado (Figura 2). O mesmo ocorreu para o período de molhamento ótimo para ocorrer a infectividade máxima, obtida pela maior área foliar lesionada (Figura 2). Ao analisarmos esses dados podemos observar que um período de molhamento foliar, no escuro, de 24 horas já se obteve a germinação de 76% do máximo analisado (72 horas). Assim, podemos sugerir que um molhamento a partir de 24h já seria suficiente para a infecção da ferrugem no cafeeiro conilon ser bem sucedida. No campo esse fato poderia ser representado por um dia nublado seguido de uma noite com temperatura amena e presença de sereno (molhamento foliar), o que poderia levar a uma grande germinação dos esporos e, conseqüentemente,

favorecer um surto epidemiológico da ferrugem na lavoura. O molhamento de 24h foi o mesmo observado para as infecções máximas de ferrugem no cafeeiro arábica no campo (Montoya & Chaves, 1974, Zambolim *et al.*, 1999).

Com relação ao efeito da idade da folha no desenvolvimento de lesões, a análise dos dados nos permite concluir que as três fases de desenvolvimento da folha definidas (folhas jovem, adulta e velha) apresentam a mesma área foliar lesionada quando inoculadas com a raça II de *Hemileia vastatrix* (isolado de Rio Bananal-ES), pois o teste F não foi significativo a 5% de probabilidade (Tabela 2). Os resultados para os outros isolados estão em fase de obtenção.



**Figura 2** - Germinação e infectividade da ferrugem (*Hemileia vastatrix*) em cafeeiro conilon (*Coffea canephora*) sobre diferentes horas de molhamento foliar durante a incubação. Isolado 1 = isolado da raça I de *H. vastatrix* coletado de São Gabriel da palha, Isolado 2 = raça II de *H. vastatrix* de Rio Bananal e Isolado 3 = raça II de *H. vastatrix* de Jaguaré.

**Tabela 2** - Análise de variância da área foliar lesionada causada pela raça II de *Hemileia vastatrix* nos diferentes tratamentos (folhas jovem, adulta e velha).

Fator de variação	G.L.*	F	P-valor
Tratamento	2	1,70	0,207 <sup>a</sup>
Resíduo	21		
Total	23		

\* G.L.: grau de liberdade; <sup>a</sup> A hipótese de nulidade (as lesões são iguais) foi aceita, de acordo com o teste F ( $P = 0,05$ ). O coeficiente de variação foi de 11,87%.

## CONCLUSÕES

- 1) A biologia da ferrugem, avaliada pela germinação e infectividade, no cafeeiro conilon se assemelha à biologia do fungo em cafeeiro arábica.
- 2) Elevada germinação e infectividade foi observada em molhamento foliar superior a 24h e temperaturas entre 21 e 24°C;
- 3) Não foi observado infecção pela ferrugem em discos de folha incubados a 30°C;
- 4) Não houve diferença na suscetibilidade à ferrugem das folhas novas, adultas e velhas de conilon.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKUTSU, M. Relação de funções climáticas e bióticas com a taxa de infecção da ferrugem do cafeeiro (*Hemileia vastatrix* Berk. et Br.). Mestrado, Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG. 67p. 1981.
- CABRAL, P.G.C.; MACIEL-ZAMBOLIM, E.; ZAMBOLIM, L.; LELIS, T.P.; CAPUCHO, A.S.; CAIXETA, E.T. Identification of a new race of *Hemileia vastatrix* in Brazil. **Australasian Plant Disease Notes**, v.4, p.129-130. 2009.
- CAPUCHO, A.S.; CAIXETA, E.T.; MACIEL-ZAMBOLIM, E.; ZAMBOLIM, L. Herança da resistência do Híbrido de Timor UFV 443-03 à ferrugem-do-cafeeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.44, n.3, p.276-282. 2009.
- DEJONG, E. J.; ESKES, A. B.; HOOGSTRATEN, I. G. J.; ZADOKS, J. C. Temperature requirements for germination, germ tube growth and appressorium formation of urediniospores of *Hemileia vastatrix*. **Netherlands Journal of Plant Pathology**, Wageningen, v. 93, n. 2, p. 61-71, Feb. 1987.
- ESKES, A.B.; TOMA-BRAGHINI, M. The effect of leaf age on incomplete resistance of coffee to *Hemileia vastatrix*. **Neth. J. Pl. Path.** v.88, pp.219-230, 1982.
- FASSIO, L.H. & SILVA, A.E.S.D. Importância econômica e social do café conilon. p.35-49 In: FERRÃO, R.G.; FONSECA, A.F.A.; BRAGANÇA, S.M.; FERRÃO, M.A.G. & MUNER, L.H. (Eds.) **Café Conilon**. Vitória-ES: INCAPER. 2007.
- FERNANDEZ A.R.; ESKES A.B. Testes de adaptação da ferrugem do cafeeiro (*Hemileia vastatrix*) em *C. canephora* cv "Kouillou" com uso de discos de folhas. **6º Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras**. p.132-133. 1978.
- MONTOYA, R.H. & CHAVES, G.M. influência da temperatura e da luz na germinação, infectividade e período de geração de *Hemileia vastatrix* Berk. & Br. **Experientiae**. v.18. p.239-266. 1974.
- RAYNER, R. W. **Micologia y biologia de la roya del cafeto**. Turrialba: Instituto Interamericano de Ciências Agrícolas de la O E A, 1972. 175 p.
- SACCAS, A. M.; CHARPENTIER, J. **La rouille des caféiers due a *Hemileia vastatrix* Berk. & Br.** Paris: Institut Français du Café, du Cacao et autres Plantes Stimulantes, 1971. 123 p. (Bulletin, 10).
- VALE F.X.R; FERNANDES E.I.; LIBERATO J.R. QUANT: A software plant disease severity assessment. In: CLOSE R; BRAITHWAITE M.; HAVERY I. (eds). **Proceedings of the 8th International Congress of Plant Pathology**, New Zealand, v. 8, p. 105. 2003.
- ZAMBOLIM, L. & CHAVES, G.M. Efeito de baixas temperaturas e do binômio temperatura-umidade relativa sobre a viabilidade dos uredosporos de *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. e *Uromyces phaseolytica* Arth. **Experientiae**. v.18, p.151-184. 1974.
- ZAMBOLIM, L.; VALE, F.X.R. do; PEREIRA, A.A.; CHAVES, G.M. Manejo integrado das doenças do cafeeiro. p.134-215. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.) **Produção de café com qualidade**. Viçosa-MG: Universidade Federal de Viçosa. 1999.