



**III Seminário Internacional sobre
Biotecnologia na Agroindústria Cafeeira
III International Seminar on
Biotechnology in the Coffee Agroindustry**

24 - 28 de maio May 24 - 28, 1999

PROGRAMA E RESUMOS



patrocínio oficial



CBP&D/Café
MDIC/Embrapa

**III Seminário Internacional sobre
Biotecnologia na Agroindústria Cafeeira
III International Seminar on
Biotechnology in the Coffee Agroindustry**

24-28 DE MAIO MAY 24-28. 1999

**PROGRAMA E
RESUMOS**



III Seminário Internacional sobre Biotecnologia na Agroindústria Cafeeira

III International Seminar on Biotechnology in the Coffee Agroindustry

COMISSÃO ORGANIZADORA:

- ♦ Carlos R. Soccol (UNIV. FED. DO PARANÁ – Brasil)
- ♦ Sevastianos Roussos (IRD – França)
- ♦ Tumoru Sera (IAPAR – Brasil)

COMISSÃO EXECUTIVA:

- ♦ COORDENADOR: Tumoru Sera
- ♦ SUB-COMISSÃO DE PROGRAMAÇÃO TÉCNICO-CIENTÍFICA: Carlos R. Soccol; Carlos R. Riede; Luiz F. Pereira, Luiz G. Vieira, Sevastianos Roussos; Tumoru Sera.
- ♦ SUB-COMISSÃO DE CAPTAÇÃO DE RECURSOS: Armando Androcio Fº; Francisco B. Lima; Luiz R. Ferrari, Samir Cury.
- ♦ SUB-COMISSÃO DE MARKETING: Marcos V. F. Martins; Michele Peres
- ♦ SUB-COMISSÃO DE IMPRENSA: Oswaldo Petrin.
- ♦ SUB-COMISSÃO DE POSTERS: Maria C. L. L. Dias, Maria L. Crochemore.
- ♦ SUB-COMISSÃO DE RELAÇÕES PÚBLICAS: Luiz F. Kalinowsky
- ♦ SUB-COMISSÃO DE INFORMÁTICA: Welfrid Stenzel
- ♦ SUB-COMISSÃO SERVIÇOS GRÁFICOS: Tadeu K. Sakiyama.
- ♦ SUB-COMISSÃO DE INFRAESTRUTURA: Júlio C. D. Chaves; João da Mata Siqueira.
- ♦ SUB-COMISSÃO DE CONTACTOS INSTITUCIONAIS: Florindo Dalberto; Marcos Krieger; Rogério M. L. Cardoso.
- ♦ SUB-COMISSÃO DE FINANÇAS: José Pereira da Silva; Júlio César Chaves
- ♦ SUB-COMISSÃO DE “DIA DE CAMPO”: Armando Androcio Fº; José A. Azevedo; Marcos. Pavan; Paulo H. Caramori; Rodolfo M. de Carvalho.

COMISSÃO TÉCNICO-CIENTÍFICA:

Aleamar B. Rena (CBP&D CAFÉ/Brasil), Alex Bustillo-Pardey (CENICAFE / Colômbia), Antônio P. Nacif (CBP&DCAFÉ/Brasil), Ashok Pandey (CEFRI/Índia), Carlos R. Soccol (UFPR / Brasil), Christopher Augur (IRD / México), Daniel Martinez-Carrera (COL POST / México), Dominique Berry (CIRAD / França), Eduardo Aranda (INST. ECOLOG. / México), Fernando Vega (USDA / França), Gerardo Saucedo-Castañeda (UAM / México), German Moreno-Ruiz (CENICAFE / Colômbia), Gustavo Viniegra-González (UAM / México), Isabelle Gaime-Perraud (IRD / México), Jaime Zuluaga-Vasco (CENICAFE / Colômbia), Joseph Le Bars (INRA / França), Leo Pyle (UNIV. READING / U. K.), Luis F. Pereira (IAPAR / Brasil), Marc Berthouly (CIRAD / França), Marcel Asther (INRA / França), Mariano Gutierrez-Rojas (UAM / México), Moacyr Paschoal (UFLA / Brasil), Maurice Lourd (IRD / Brasil), Ney Sakiyama (UFV / Brasil), Oliveira Guerreiro (IAC / Brasil), Philippe Lashermes (IRD / França), Robin Duponnois (IRD / Senegal), Serge Hamon (IRD / França), Tumoru Sera (IAPAR / Brasil).

SECRETARIA EXECUTIVA:

- ♦ Secretaria: Françoise Simoni; Emerson Nakamura; Marcos Z. Altéia; Rubens Sacchetto -
- Fone: (043) 376.2294 Fax: (043) 376.2101 E-mail: sibac@pr.gov.br

SUMÁRIO

Pág

SEÇÃO :A / SECTION :A

CONTROLE DE BIOLÓGICO DE PRAGAS, DOENÇAS E NEMATÓIDES/ BIOLOGICAL CONTROL OF INSECTS, DISEASES AND NEMATODES	01
A.01 ESTUDOS FISIOLÓGICOS E PRODUÇÃO DE FUNGOS MICORRÍZEOS	
Alvaro A. De Araujo e Sevastianos Roussos	01
A.02 EL PAPEL DEL CONTROL BIOLÓGICO EN UN PROGRAMA DE MANEJO INTEGRADO DE LA BROCA DEL CAFÉ, <i>Hypothenemus hampei</i>, EN COLOMBIA	
Alex Enrique Bustillo Pardey	02
A.03 ATIVIDADE PREDATÓRIA DE FITOSEÍDEOS SOBRE OS DIVERSOS ESTÁDIOS DO DESENVOLVIMENTO DO ÁCARO DA MANCHA-ANULAR	
Paulo Rebelles Reis; Adenir Vieira Teodoro & Marçal Pedro Neto	03
A.04 CHARACTERIZATION OF <i>B. bassiana</i> AND <i>M. anisopliae</i> ISOLATES OF THE ENTOMOPATHOGENIC FUNGI COLLECTION FROM CENICAFÉ	
Patricia E. Vélez A., María T. González G. Armando Rivera M. Alex E. Bustillo P. , María N. Estrada V. ., Esther C. Montoya R.	04
A.05 COFFEE PATHOSYSTEM MODELLING : 1- EDAPHIC FACTORS INFLUENCE HOST-PATHOGENS RELATIONSHIPS.	
F. Pellegrin, F. Kohler and D. Nandris.	05
A.06 COFFEE PATHOSYSTEM MODELLING : 2 - ASSESSMENT OF HOST AND PATHOGENS BIODIVERSITIES	
D. Nandris, F. Kohler, D. Fernandez, P. Lashermes, J. Rodrigues ^(*) and F. Pellegrin.....	06
A.07 MANEJO ECOLÓGICO DE LA BROCA DEL CAFÉ EN FINCAS CAFETALERAS DEL NORTE DE NICARAGUA: DE EXPERIMENTACION A IMPLEMENTACION MASIVA	
Morales, R. Guharay, F.....	07

A.08 A NEW METHOD OF MASS REARING THE COFFEE LEAFMINER, <i>Perileuoptera coffeella</i> GUÉRIN-MÈNEVILLE (LEPIDOPTERA: LYONETIIDAE), USING COFFEE LEAVES <i>IN</i> <i>VITRO</i> ; Ronaldo Reis Jr., Eraldo R. Lima, Evaldo F. Vilela & Raimundo S. Barros;	08
A.09 FIRST INTRODUCTION TO BRAZIL OF <i>Phymastichus coffea</i> (La Salle) (Hymenoptera; Eulophidae), ENDOPARASITOID OF THE COFFEE BERRY BORER (Ferrari) (Coleoptera; Scolytidae); Fernando Cantor, Evaldo F. Vilela& Alex Bustillo;	09
A.10 THE NEMATOPHAGOUS FUNGI HELPER BACTERIA (NHB): A NEW DIMENSION OF THE BIOLOGICAL CONTROL OF THE ROOT KNOT NEMATODES WITH TRAPPING FUNGI R. Duponnois , M. Gueye and S. Roussos.....	10
A.11 PROPIEDADES DE ENZIMAS DIGESTIVAS PROVENIENTES DE LA BROCA DEL CAFÉ <i>Hypothenemus hampei</i> (Ferrari)(COLEÓPTERA: SCOLYTIDAE) ArnubioValencia J. Claudia P. Martinez, Diana P.Preciado, Maria Teresa González G.Alex E. Bustillo P.....	11
A.12 BUSQUEDA Y EVALUACIÓN DE INHIBIDORES DE AMILASAS COMO ALTERNATIVA PARA LA PRODUCCIÓN DE CAFÉ TRANSGENICO RESISTENTE A BROCA <i>Hypothenemus hampei</i> (Ferrari) (COLEÓPTERA: SCOLYTIDAE) Arnubio Valencia J, Maarten J. Chrispeels ,Gustavo Adolfo Ossa O, María Teresa Gonzales G, Alex E. Bustillo P	12
A.13 EVALUATION OF THE SEX PHEROMONE OF THE COFFEE LEAFMINER, <i>Perileuoptera coffeella</i> GUÉRIN-MÈNEVILLE (LEPIDOPTERA: LYONETIIDAE), IN DIFFERENT TRAPS, IN THE FIELD. Eraldo R. Lima, Evaldo F. Vilela; Shigefumi Kuwahara & Walter Soares Leal;	13
A.14 ATTRACTIVENESS OF THE FRUITS TO COFFEE-BERRY- BORER, <i>Hypothenemus hampei</i> (FERRARI): VISUAL AND OLFACTORY STIMULI - Jorge Rafael Mendoza, José Oscar Gomes de Lima, Evaldo Ferreira Vilela & Cesar José Fanton	14
A.15 FOREIGN EXPLORATIONS FOR NATURAL ENEMIES OF THE COFFEE BERRY BORER Fernando E. Vega and Guy Mercadier.....	15

A.16 DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE UM PLANO DE AMOSTRAGEM SEQUENCIAL BINOMIAL PARA A BROCA-DO-CAFÉ (<i>Hypothenemus hampei</i>) Rodolfo Bianco.....	16
---	----

A.17 AVANÇOS NAS TÉCNICAS PARA CRIAÇÃO MASSAL DO PARASITÓIDE DE <i>Cephalonomia Stephanoderis</i> (HYMENOPTERA:SCOLYTIDAE) sobre <i>Hypothenemus hampei</i> (Coleoptera:scolytidae) MULTIPLICADA EM DIETA ARTIFICIAL. Amador Villacorta & Sônia M. Torrecillas	17
---	----

SEÇÃO: B / SECTION: B

QUALIDADE DO PRODUTO / PRODUCT QUALITY.....	18
--	-----------

B.01 RESULTADOS E DESAFIOS PARA O PROGRAMA DE AUTOFISCALIZAÇÃO DO CAFÉ TORRADO E MOÍDO – SELO ABIC. Vegro, Celso Luis Rodrigues & Ferreira, Célia Regina R.P.T.	18
---	----

B.02 OCRATOXINA A EM CAFÉS VERDES BRASILEIROS: DIFERENÇAS COM RELAÇÃO À ESPÉCIE. Furlani, Regina Prado Zanes ,Oliveira, Paulo Lauro C., Soares, Lucia Maria Valente.	19
--	----

B.03 QUALIDADE DE BEBIDA DA CULTIVAR DE CAFÉ IAPAR-59 E OUTRAS Tumoru Sera, Marcos Aurelio Bacceti, José Alves de Azevedo.....	20
---	----

B.04 IDENTIFICAÇÃO DE IMPUREZAS EM CAFÉ TORRADO E MOÍDO UTILIZANDO ANÁLISE DE PADRÃO DE IMAGENS Eduardo Delgado Assad ,Edson Eyji Sano ,Heleno Silva Bezerra, Hilda da Rosa Rodrigues ,Tânia Barretto Simões Corrêa.....	21
---	----

B.05 EFEITO DA ADUBAÇÃO POTÁSSICA NA QUALIDADE DOS GRÃOS DE CAFÉ BENEFICIADOS Enilson de Barros Silva; Francisco Dias Nogueira, Paulo Tácito Gontijo Guimarães, Sílvia Júlio de Resende Chagas; Laerte Costa....	22
---	----

B.06 CONDUTIVIDADE ELÉTRICA DO EXSUDATO DE GRÃOS DE CAFÉ (<i>Coffea arabica</i> L.) E SUA RELAÇÃO COM A QUALIDADE DA BEBIDA. Prete. C.E.C.	23
---	----

B.07 RELAÇÃO ENTRE O PESO E A CONDUTIVIDADE ELÉTRICA DE GRÃOS DE CAFÉ DE PROGÊNIES DE “ICATÚ” NA QUALIDADE DA BEBIDA	
Prete C.E.C., Sera, T., Fonseca, I.C.B.	24
B.08 CONDUTIVIDADE ELÉTRICA DE EXSUDATOS DE GRÃOS DE CAFÉ COLHIDOS EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO E A QUALIDADE DA BEBIDA	
Prete, C.E.C.; Sera, T; Crudi, C.E e Fonseca I.C.B.	25
B.09 AVALIAÇÃO DE PROGÊNIES DE CAFÉ <i>Coffea arabica</i> “Icatú” QUANTO A CONDUTIVIDADE ELÉTRICA DO EXSUDATO NA QUALIDADE DA BEBIDA	
Prete, C.E.C.; Sera, T. e Fonseca I.C.B.	26
B.10 QUALITY IMPROVEMENT IN COFFEE OIL USING ACELLERATED SOLVENT EXTRACTION (ASE)	
J.S.S.Pinto, F.M. Lanças, S.L. Nixdorf, P.L.C. Oliveira.	27
B.11 THE USE OF GENETIC RESOURCES FOR COFFEE CUP TASTE IMPROVEMENT	
Ky C-L, Louarn J, Akaffou S, Guyot B, Chrestin H, Charrier A, Hamon S & Noirot M.	28
B.12 MYCOTOXIGENESIS IN GRAINS CRITICAL POINTS AND PREVENTION	
J. Le Bars et P. Le Bars.....	29
B.13 ORGANOLEPTIC PROPERTIES OF ESPRESSO COFFEE AS INFLUENCED BY COFFEE BOTANICAL VARIETY	
Marino Petracco	30
B.14 ESTUDOS PRELIMINARES SOBRE FUNGOS PRODUTORES DE OCRATOXINA A EM CAFÉ BRASILEIRO.	
Urbano, G.R.; Vicentini, M.C.; Taniwaki, M.H. & Leitão, M.F.F.	31
B.15 INCIDÊNCIA DE FUNGOS EM CAFÉ	
Taniwaki, M.H. , Banhe, A.A. & Iamanaka, B.T.	32
B.16 MONITORAMENTO DA QUALIDADE DO CAFÉ TORRADO E MOÍDO NO ESTADO DE SÃO PAULO	
Mori, E. E. M.; Anjos, V. D. A .; Bragagnolo, N.....	33

B.17 AQUISIÇÃO DA TOLERÂNCIA À DESSECAÇÃO NOS DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO DE SEMENTES DE CAFEEIRO Brandão JR., Delacyr Da Silva; Vieira, Maria Das Graças Guimarães Carvalho; Hilhorst, Henk; Bernardino Filho, José Roberto.	34
---	-----------

B.18 EFEITO DE ADUBAÇÕES FOLIARES EM PRÉ E POS FLORADA NA PRODUÇÃO E QUALIDADE DAS SEMENTES DE CAFEEIRO. Lima, D.M.; Cunha, R. L. da; Von Pinho, E.R.V.; Vieira, M.G.G.C.; Guimarães, R.J.; Monteiro, J. V.....	35
--	-----------

SEÇÃO: C / SECTION: C

TRATAMENTO DE RESÍDUOS INDUSTRIAIS / INDUSTRIAL RESIDUE TREATMENT	36
--	-----------

C.01 CARACTERIZAÇÃO DAS ÁGUAS RESIDUÁRIAS DA LAVAGEM E DESPOLPA DE FRUTOS DO CAFEEIRO Matos, A.T.; Borges, J.D. Queiroz, D.M.	36
--	-----------

C.02 SUBMERGED FERMENTATION OF COFFEE PULP EXTRACT USING <i>Volvariella volvacea</i> Fan Leifa, Ashok Pandey, Marcos A. Krieger, Carlos R. Soccol	37
---	-----------

C.03 BIOLOGICAL DETOXIFICATION OF THE COFFEE HUSK USING FILAMENTOUS FUNGI IN SOLID STATE FERMENTATION Debora Brand, Ashok Pandey, Sevastianos Roussos, M Raimbault and Carlos R. Soccol.....	38
--	-----------

C.04 COFFEE HUSK AS SUBSTRATE FOR THE PRODUCTION OF GIBBERELIC ACID BY FERMENTATION Cristina M. M. Machado, Braz H. Oliveira, Ashok Pandey and Carlos R. Soccol.....	39
--	-----------

C.05 OPTIMIZATION OF A CULTURE MEDIUM FOR PRODUCTION OF VOLATILE COMPOUNDS BY THE YEAST <i>Pachysolen tannophilus</i> GROWN ON SOLID COFFEE WASTES Marlene Soares, Carlos R. Soccol, Ashok Pandey, R. Fontana and Pierre Christen	40
---	-----------

C.06 THE SCREENING OF FUNGI FOR THE PRODUCTION OF FUNGAL TANNASES IN SOLID STATE FERMENTATION J. van de Lagemaat, D.L. Pyle and C. Augur.....	41
---	-----------

C.07 LOMBRICOMPOSTAJE DE LA PULPA DE CAFÉ EN MÉXICO Eduardo Aranda, Isabelle Barois	42
C.08 PRODUCTION OF FUNGAL TANNASE IN A MODEL SYSTEM BY SOLID STATE FERMENTATION Cristóbal Aguilar, Christopher Augur, Gustavo Viniegra & Ernesto Favela	43
SEÇÃO: D / SECTION: D	
VALORIZAÇÃO DOS SUBPRODUTOS DA AGROINDÚSTRIA VALORIZATION OF AGROINDUSTRY SUBPRODUCTS	44
D.01 POTENCIALIDADE DE USO DE RESÍDUOS E SUBPRODUTOS DO PROCESSAMENTO AGROINDUSTRIAL DO CAFÉ. Vegro, C. L. R. & Carvalho, F. C.	44
D.02 EVALUACION DE LA MADUREZ DE LA COMPOSTA DE PULPA DE CAFE. Sánchez,G., R. Marín y E.J. Olguín.....	45
D.03 DEGRADACION DE CAFEINA EN PULPA DE CAFE FRESCA Y ENSILADA POR FERMENTACION EN MEDIO SOLIDO: INFLUENCIA DEL TRATAMIENTO DEL SUSTRATO Y EL NIVEL DE INOCULO Romano-Machado J., Gutiérrez-Sánchez G., Perraud-Gaime I., Gutiérrez-Rojas M. y Saucedo-Castañeda G.	46
D.04 EVALUACION DE LA ACTIVIDAD CAFEINASA DE <i>Penicillium</i> <i>sp.</i> V33 EN RELACION AL METODO DE CONSERVACION Gutiérrez-Sánchez G., Romano-Machado J.M., I. Gaime P., C. Augur y Saucedo-Castañeda G.....	47
D.05 SELECCION DE BACTERIAS LACTICAS ENDOGENAS DE LA PULPA DE CAFE PARA LA FORMULACION DE INOCULANTES DE ENSILAJE Suzuki-López A., Perraud-Gaime I., Raimbault M. y Saucedo- Castañeda G.	48
D.06 PRODUCTION OF EDIBLE MUSHROOM <i>Lentinus edodes</i> ON THE COFFEE SPENT GROUND Fan Leifa, Ashok Pandey, Marco A. Krieger and Carlos R. Soccol	49
D.07 SOLID STATE FERMENTATION AND FRUITIFICATION OF <i>Pleurotus ostreatus</i> ON THE RESIDUES OF COFFEE Fan Leifa, Ashok Pandey and Carlos R. Soccol	50

D.08 SUBMERGED FERMENTATION OF COFFEE PULP EXTRACT USING <i>Volvariella volvacea</i> Fan Leifa, Ashok Pandey, Marcos A. Krieger and Carlos R. Soccol.....	51
D.09 FRUITY AROMA PRODUCTION BY <i>Ceratocystis fimbriata</i> GROWN ON SOLID COFFEE WASTES M. Soares, P. Christen, M. Rimbault, C.R. Soccol.....	52
D.10 CITRIC ACID PRODUCTION BY <i>Aspergillus niger</i> IN SOLID STATE FERMENTATION ON COFFEE HUSK Luciana P.S. Vanderberghe" Ashok Pandey, Jean-Michel Lebeault and Carlos R. Soccol.....	53
D.11 SELECTIVE HYDROLYSES OF HEMICELLULOSE FRACTION OF COFFEE HUSK FOR PRODUCTION OF SUGARS A. L. Woiciechowski, Carlos R. Soccol, Ashok Pandey and E. Busato.....	54
D.12 A STRATEGY FOR PRODUCTION AND MARKETING OF EDIBLE MUSHROOMS (<i>Pleurotus</i>), CULTIVATED ON COFFEE PULP, IN MEXICO D. Martinez-Carrera, A. Aguilar, W. Martinez, P. Morales, M. Sobal, M. Bonilla.....	55
D.13 PROCESAMIENTO DE FRUTOS DE CAFE POR VIA HUMEDA Y GENERACION DE SUB-PRODUCTOS Jaime Zuluaga Vasco	56
D.14 COFFEE PULP IS A BY – PRODUCT, NOT A WASTE José R. Ramírez Martínez.....	57
<u>SEÇÃO: E / SECTION: E</u> MELHORAMENTO GENÉTICO / COFFEE BREEDING	58
E.01 BIOTECNOLOGIA EM PLANTAS DE <i>Coffea sp.</i> Priscilla Menarin Dzazio; Adriana Van Santen; Adriana Shimandeiro; Ricardo Antonio Ayub.....	58
E.02 BIOTECHNOLOGY FOR GENETIC IMPROVEMENT OF INDIAN COFFEE H.L. Sreenath	59
E.03 INTERSPECIFIC FUSION OF PROTOPLASTS IN <i>Coffea</i> Cordeiro, AT; Zambolim, L; Pétiard, V; Spiral, J.....	60

E.04 APPLICATIONS OF BIOTECHNOLOGY IN THE GENETIC IMPROVEMENT OF COFFEE IN COLOMBIA.

German Moreno, Myriam de Pena, Ricardo Acuna, Maria Eugenia Aponte, Juan Carlos Herrera, Diana Molina, Alvaro Gaitan, Marco Cristancho, Pilar Moncada and Gabriel Cadena. 61

E.05 CUSTO DE PRODUÇÃO DE SEMENTES HÍBRIDAS DE CAFÉ
Sergio Fadelli & Tumoru Sera..... 62

E.06 ESTUDO DA CAPACIDADE COMBINATÓRIA E DA HETEROSE EM CRUZAMENTOS ENTRE LINHAGENS DE CATUAI E HÍBRIDO DE TIMOR, EM CAFÉ.
José Roberto M. Fontes, Antônio A. Cardoso, Cosme Damião Cruz Laércio Zambolim, Ney S. Sakiyama, Antônio A. Pereira..... 63

SEÇÃO: F / SECTION: F
CLONAGEM E CULTURA DE TECIDOS / CLONING AND TISSUE CULTURE 64

F.01 CLONING AND EVALUATION OF GENE PROMOTERS IN *Coffea spp.*
Alvaro Gaitán and Herb Aldwinckle..... 64

F.02 FACTORES QUE AFECTAN LA RESPUESTA EMBRIOGÉNICA DE GENOTIPOS DE *C. arabica* VAR. CATURRA X HÍBRIDO DE TIMOR.
Molina V., D. M. Aponte A., M. E., Cortina G., H. Moreno R., G..... 65

F.03 DETERMINAÇÃO DO TAMANHO DO BOTÃO FLORAL PARA A CULTURA DE ANTERAS DO CAFEIEIRO (*Coffea arabica* L.)
Andrade, L.M.C.O.; Pereira, A.B.; Santos, E.; Pasqual, M..... 66

F.04 INFLUÊNCIA DOS REGULADORES DE CRESCIMENTO NA CULTURA DE EMBRIÕES "IN VITRO" DA CULTIVAR CATUAI VERMELHO LCH 2077-2-5-44.
Andrade, L.M.C.O.; Pereira, A.B.; Campos, R.J.C. Pasqual, M. 67

F.05 INFLUÊNCIA DOS REGULADORES DE CRESCIMENTO NA MICROPROPAGAÇÃO "IN VITRO" DA CULTIVAR CATUAI VERMELHO LCH 2077-2-5-44.
Andrade, L.M.C.O.; Pereira, A.B.; Maciel, A.L.R.; Pasqual, M. 68

F.06 EVALUACIÓN MORFOLÓGICA Y AGRONÓMICA DE PLANTAS DE CAFÉ REGENERADAS POR EMBRIOGÉNESIS SOMÁTICA.
Juan Carlos Herrera Pinilla, Maria Eugenia Aponte A. 69

F.07 A MODEL FOR THE STUDY OF VARIATION INDUCED BY TISSUE CULTURE ON COFFEE. Fuentes-Cerda, C. F. J., M. Monforte-González, M. Méndez-Zeel, R. Rojas-Herrera ¹ , J. Mijangos-Cortés and V. M. Loyola-Vargas.	70
F.08 STANDARDIZATION OF ENCAPSULATION TECHNIQUE FOR PRODUCING SYNTHETIC SEEDS IN COFFEE B. Muniswamy and H.L. Sreenath.....	71
F. 09 LA EMBRIOGENESIS SOMATICA DEL CAFETO EN MEDIO LIQUIDO. Dr. Alfredo Zamarripa C.	72
F.10 DESARROLLO DE LA VARIEDAD PORTA-INJERTOS "NEMAYA" (<i>C. canephora</i>) POR MEDIO DE EMBRIOGÉNESIS SOMÁTICA EN CENTROAMÉRICA Anzueto F. , Molina A., Figueroa P. , Etienne H. , Bertrand B	73
F. 11 SOMATIC EMBRIOGENESIS EN CAFÉ: EL EJEMPLO DE LA MULTIPLICACION DE HIBRIDOS F1 EN CENTROAMERICA Etienne Hervè	74

SEÇÃO: G / SECTION: G

MARCADORES MOLECULARES /

MOLECULAR MARKERS	75
G.01 FINGERPRINT OF COFFEE TREE DIFERENTIAL HOSTS OF <i>Hemileia vastatrix</i> Berk. et Br. Terezinha A. Teixeira, Laércio Zambolim, Ney S. Sakiyama, Antônio A. Pereira, Dalza G. da Silva	75
G.02 GENETIC DIVERSITY OF THE CENICAFE COFFEE GERMPLASM COLLECTION Marco Cristancho,	76
G.03 GENETIC ANALYSIS OF STRAINS OF <i>Xylella fastidiosa</i> ASSOCIATED WITH CITRUS AND COFFEE TREES R. P. Leite Jr., A. Mehta, F. M. S. Carvalho and B. Ueno.	77
G.04 ESTUDIO BIOQUIMICO Y MOLECULAR DE LA PRINCIPAL PROTEINA DE RESERVA DE LA SEMILLA DEL CAFETO Acuña, R., Bassünér, R. Beillinson, V. , Cortina, H. Cadena-Gómez, G. Montes, V. & Nielsen, N.C.	78

G.05 USO DE PADRÕES ELETROFORÉTICOS NA IDENTIFICAÇÃO DE CULTIVARES E DO NÍVEL DE DETERIORAÇÃO DE SEMENTES DE <i>Coffea arabica</i> L.	
Brandão Jr., Delacyr da Silva; Vieira, Maria das Graças Guimarães Carvalho; Bernardino Filho, José Roberto; Hilhorst, Henk; Guimarães, Rubens José	79
G.06 GENETIC POLYMORPHISM IN SPECIES AND HYBRIDS OF GENUS <i>Coffea</i> DEMONSTRATED BY RAPD AND MICROSATELITE PRIMERS.	
Paulo M. Ruas, Claudete F. Ruas, Leandro E. C. Diniz, and Tumoru Sera.	80
G.07 MOLECULAR MARKERS FOR 40 VARIETIES OF <i>Coffea arabica</i> DETERMINED BY RAPD ANALYSIS ASSOCIATED WITH RESTRICTION ENZYMES.	
leandro E. C. Diniz, Paulo M. Ruas, Claudete F. Ruas and Tumoru Sera.....	81
G. 08 CHARACTERIZATION OF <i>Coffea</i> SPECIES BY RAPD MARKERS.	
Terezinha A.Teixeira; Ney S. Sakiyama, Laércio Zambolim, Antônio A. Pereira, Cássia C H. Sakiyama.	82
G.09 GENETIC FINGER PRINTING OF COFFEE LEAF RUST DIFFERENTIALS WITH RAPD MARKERS	
A Santa Ram & H.L.Sreenath	83
G.10 CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE GENOTIPOS DE CAFÉ.	
José W. Bustamante P. y Delia Polanco L.....	84
AGRADECIMENTOS	85

PROGRAMAÇÃO III SIBAC

Conferências e Temas	
24/05/99 - Segunda-Feira	
9h00 às 20h00	Inscrições
20h00 - 20h30	Solenidade de Abertura do III SIBAC
20h30- 20h40	Palestra: Importancia da pesquisa cafeeira no Brasil
	Dr. Carlos do Carmo Andrade Melles, Deputado Federal - MG
20h40 - 21h00	Palestra: Importancia da biotecnologia no desenvolvimento agroindustrial da cafeicultura na América Latina
	Dr. Gustavo Viniegra González, UAM-I - México
21h00	Coquetel de abertura
25/05/99 - Terça-feira	
Conferência 1	
	Biotecnologia Aplicada ao Melhoramento Genético
8h30 - 9h15	Palestra: Biotechnology Aplicada ao Melhoramento Genético do Café
	Dr. Marc Berthouly, CIRAD - França
9h15 - 10h00	Palestra: Transformação Genética em Café
	Dra. Magali Dufour, CIRAD - França
10h00 - 10h30	Intervalo para Café
Conferência 2	
	Qualidade do Café
10h30 - 11h15	Palestra: Sistemas de preparo e qualidade do café, em diferentes regiões cafeeiras do mundo
	Dr. Carlos H. J. Brando, P&A Marketing Intenacional - Brasil
11h15 - 12h00	Palestra: Influencia da variedade botânica sobre a qualidade organoleptica do Café expresso
	Dr. Marino Petracco, Illycafé - Itália

Sessão Técnica 1

Biotecnologia Aplicada ao Melhoramento Genético

14h00 - 14h45	Desenvolv. de Cafeeiros Resistentes aos Insetos Dr. Oliveira Guerreiro, IAC - Brasil
14h45 - 15h30	Desenvolvimento de cafeeiros geneticamente modificados com vistas à uniformidade de maturação dos frutos Dr. Luiz Felipe Pereira, IAPAR - Brasil
15h30 - 16h00	Intervalo para café
16h00 - 16h45	Potencial para o desenvolvimento de café transgênico tolerante aos insetos e herbicidas Dr. Paul Lavrik, Monsanto - EUA
16h45 - 17h30	Melhoramento clássico do cafeeiro relacionado com a biotecnologia moderna. Dr. Luiz Carlos Fazuoli, IAC - Brasil
17h30 - 18h00	Considerações Finais Dr. Francisco Anzueto, ANACAFE - Guatemala Dr. Antonio Alves Pereira, EPAMIG - Brasil Dr. Michel Noirot, IRD - França Dr. Philippe Lashermes, IRD - França Dr. Alfredo Zamarripa-Colmenero, INIFAP - México

Sessão Técnica 2

Pós-colheita e Qualidade Organoléptica

14h00- 14h45	Qualidade organoléptica do café produzido em diferentes regiões do Brasil Dr. Guilherme Cortez, Ministério Agricultura - Brasil
14h45 - 15h30	Qualidade de café obtido pelo processo via úmida Dr. Silvio Leite, AGRIBAHIA - Brasil
15h30 - 16h00	Intervalo para café
16h00 - 16h45	Qualidade do café solúvel da Indústria Brasileira Dr. Paulo Lauro de Oliveira, Assessor de Qualidade Industrial - Brasil
16h45 - 17h30	Potencial de mercado de cafés orgânicos e especiais Dr. Ivan Caixeta, Associação Cafeicultura Orgânica do Brasil - Brasil
17h30- 18h00	Considerações Finais Dr. Renzo Gorreta Hugo, EMATER - Brasil Dr. Cassio Prete, UEL - Brasil Dr. Aldir Alves Teixeira, Illycafé - Brasil Dr. Yoshio Akashi, Cia Iguaçu de Café Solúvel - Brasil Dr. Carlos A. Monteiro, CCCNP - Brasil

26/05/99 - Quarta-Feira	
Conferência 3	
	Geração de Subprodutos do Café
8h30 - 9h15	Palestra: Processamento de frutos de café por via úmida e geração biotecnológica de subprodutos
	Dr. Jaime Zuluaga-Vasco, Kaffesma - Colômbia
9h15-10h00	Palestra: Processamento Biotecnológico do fruto e da casca do café
	Dra. Isabelle Garme-Perraud, IRD - México
10h00 - 10h30	Intervalo para café
Conferência 4	
	Tratamento de Resíduos do Processamento de Café
10h30-11h15	Palestra: Tratamento biotecnológico de resíduos industriais de café e proteção do ambiente
	Dr. Mariano Gutierrez-Rojas, UAM - México
11h15-12h00	Palestra: Desenvolvimento de bioprocessos para a valorização das polpa e casca do café na América Latina (Projeto Biopulpa União Européia)
	Dr. Maurice Rimbault, IRD - França
Conferência 5	
Controle Biológico	
14h00 - 14h45	Palestra: A biotecnologia no desenvolvimento de cultivares num menor prazo no "Modelo IAPAR de café adensado"
	Dr. Tumoru Sera, IAPAR - Brasil
15h00 - 18h00	DIA DE CAMPO
	Coffee tour - Plantio adensado - Manejo de cultivares - Centro de Biotecnologia Agrícola
	Dr. Armando Androcioli Fº, IAPAR - Brasil
27/05/99 - Quinta-Feira	
Sessão Técnica 3	
	Geração de Subprodutos do Café
8h00 - 8h45	Experiência brasileira na valorização biotecnológica de subproduto da agroindústria do café
	Dr. Carlos Ricardo Soccol, UFPR - Brasil

8h45 - 9h30	Experiência mexicana na valorização biotecnológica de subprodutos da agroindústria do café
	Dr. Gerardo Saucedo Castañeda, UAM - México
9h30 - 10h00	Considerações Finais
	Dr. Daniel Martinez Carrera, Escola de Pós Graduados - México
	Dr. J.R. León, ICDCA - Cuba
	Dr. Celso Luis Vegro, Instituto de Economia Agrícola - Brasil
	Dr. Pierre Christen, IRD - França
	Dr. Sevastianos Roussos, IRD - França
Sessão Técnica 4	
	Controle Biológico
8h00 - 8h30	Controle Biológico de pragas do cafeeiro
	Dr. Alex Enrique Bustillo-Pardey, CENICAFE - Colômbia
8h30 - 9h00	Controle biológico de insetos do cafeeiro por fungos filamentosos
	Dr. Sevastianos Roussos, IRD - França
9h00 - 9h30	Controle biológico de nematóides do cafeeiro
	Dr. Robin Duponnois, IRD - Senegal
9h30 - 10h00	Caracterização de amilases de broca de frutos de café e identificação de plantas inibidoras de amilases
	Dr. Arnubio Valencia Jimenez - Universidade de Caldas - Colombia
10h00 - 10h30	Considerações finais
	Dr. José Braz Matiello, PROCAFE/MARA - Brasil
	Dr. R. Morales, CATIE - Nicaragua
	Dra. Patricia Eugenia Vélez A., CENICAFE - Colômbia
	Dr. Frédéric Pellegrin, IRD - Nova Caledônia
Sessão Técnica 5	
	Tratamento dos Resíduos do Café e Proteção do Ambiente
10h00 - 10h30	Tratamento biotecnológico dos resíduos sólidos do café
	Dr. Eduardo Aranda, Instituto de Ecologia - México
10h30 - 11h00	Tratamento biotecnológico dos efluentes líquidos do café
	Dr. Marc Labat, IRD - França
11h00 - 11h30	Produção de cogumelos sobre polpa de café
	Dr. Daniel Martinez Carrera, Escola de Pós Graduados - México

11h30 - 12h00	Considerações Finais
	Dr Ashok Pandey, CEFRI - Índia
	Dr Carlos Ricardo Soccol, UFPR - Brasil
	Dr. Christophe Augur, IRD - México
	Dr Leo Pyle, Universidade de Reading - Inglaterra
	Dra Isabelle Gaimé - Perraud, IRD - México
Sessão Técnica 6	
	Marcadores de DNA
10h30 - 10h50	Obtenção de marcadores moleculares em <i>Colletotrichum spp.</i> Isolados de cafeeiro (<i>Coffea arabica</i>)
	Dra. Margarida Pedro Rocheta, CIFC - Portugal
10h50 - 11h10	Marcadores de RAPD para hospedeiros diferenciadores de raças de ferrugem
	Dr H.L. Sreenath, Central Coffee Research Institute - Índia
11h10 - 11h30	Marcadores de microsátélites para <i>Coffea arabica</i>
	Dr Giorgio Graziosi, Università degli studi di Trieste - Itália
11h30 - 12h00	Considerações Finais
	Dr Ney Sakiyama, UFV - Brasil
	Dr. Paulo Ruas, UEL - Brasil
	Dra. Terezinha A Teixeira, UFV - Brasil
	Dr Germán Aguillar, ICAFE - Costa Rica
Sessão Técnica 7	
	Micotoxinas em Café
14h00 - 14h45	Micotoxinas em grãos de Café, ocorrências e efeitos na qualidade
	Dr. Joseph le Bars, INRA - França
14h45 - 15h30	Ocratoxinas e aflatoxinas em café no Brasil
	Dra. Lúcia Maria Valente, UNICAMP - Brasil
15h30 - 16h00	Considerações Finais
	Dra. Marta Hiromi Taniwaki, ITAL - Brasil
	Dr. Ivan Caixeta, Ass.Cafeicultura Orgânica do Brasil - Brasil
	Dr. Cassio Prete, UEL - Brasil
	Dr. Marino Petraco, Illycafé - Itália
Conferência 6	
	Biotechnology no Programa de Desenvolvimento de Cultivares
14h00 - 14h45	Palestra: Programa brasileiro de biotecnologia
	Dr. Alemar Braga Rena, Consórcio Brasileiro de P&D Café - Brasil

14h45 - 15h30	Palestra: Aplicações da biotecnologia no melhoramento de café em Colômbia
	Dr. Luis Germán Moreno Ruiz, CENICAFE - Colômbia
15h30 - 16h15	Palestra: Desafios do melhoramento genético na América Central
	Dr. Benoit Bertrand, PROMECAFE - América Central
16h15 - 17h00	Palestra: Programa de melhoramento genético da Índia
	Dr. C.S. Srinivasan, Central Coffee Research Institute - Índia
17h00 - 18h00	SESSÃO DE POSTER
20h00	JANTAR DE CONFRATERNIZAÇÃO
28/05/99 - Sexta-Feira	
Conferência 7	
	Marcadores Moleculares
8h00 - 8h30	Palestra: Marcadores moleculares para obtenção de cultivares de café resistentes à pragas e doenças
	Dr. Ney Sakiyama, UFV - Brasil
8h30 - 9h00	Palestra: Diversidade Genética e Mapeamento em café
	Dr. Philippe Lashermes, IRD - França
9h00 - 9h30	Intervalo para café
Conferência 8	
	Clonagem
9h30 - 10h10	Palestra Intercâmbio internacional de germoplasma de café
	Dr. Thierry Leroy, CIRAD - França
10h10 - 10h40	Palestra: Advances on Coffee Androgenesis
	Dra. Maria Filomena Carneiro, CIFC - Portugal
10h40 - 11h10	Palestra: Custo comparativo de diferentes técnicas de clonagem
	Dr. Maro Sondal, Bionova - Brasil
11h10 - 12h00	Palestra: Cultura de tecidos e micropropagação do cafeeiro
	Dr. Hervé Etienne, CIRAD - Costa Rica
13h00 - 13h30	SOLENIIDADE DE ENCERRAMENTO

ESTUDOS FISIOLÓGICOS E PRODUÇÃO DE FUNGOS MICORRÍZEOS

Alvaro A. De Araujo e Sevastianos Roussos

ORSTOM-Laboratoire de Mycologie et de Fermentation en Milieu Solide Université de Provence, CESB/ESIL, Case 925

F-13288 Marseille cedex 9 - FRANCE

E-mail: dearaujo@esil.univ-mrs.fr

Neste trabalho estudou-se a fisiologia de fungos ectomicorrízicos tais como *Suillus* e *Pisolithus*, cultivados em meio agar e meio sólido (turba e vermiculite). Os objetivos principais são: produção de pré-inóculo para a micorrização de plantas jovens e desenvolvimento de técnicas para o tratamento das amostras possibilitando analisar o consumo de açúcar, produção de enzimas e biomassa produzida. Numa primeira etapa, verificou-se a influência da temperatura, do pH e de sais de magnésio no crescimento apical dos fungos ectomicorrízicos. Desenvolveu-se uma técnica para o tratamento das amostras em meio agar, utilizando uma película de celofane onde pode se analisar separadamente o meio agar da biomassa (fungo que cresceu sobre a película de celofane). Esta técnica permite, entre outros, avaliar o consumo de glucose com o crescimento do fungo, a produção de enzimas e a quantidade de biomassa produzida. Em meio sólido, técnicas de dosagem da biomassa como a dosagem de proteínas (método de Bradford), dosagem de glucosamina e dosagem de ergosterol podem ser aplicadas com sucesso. Adicionando-se a estas técnicas, medidas de respirometria que mostram a viabilidade dos fungos micorrízicos, pode-se conhecer o estado fisiológico e visar a produção a nível industrial de pré-inóculo. Estas técnicas assim como o cultivo/produção de fungos micorrízicos podem ser aplicadas para o caso das endomicorrizas do café.

EL PAPEL DEL CONTROL BIOLÓGICO EN UN PROGRAMA DE MANEJO INTEGRADO DE LA BROCA DEL CAFÉ, *Hypothenemus hampei*, EN COLOMBIA.

Alex E. Bustillo P

La broca del café, *Hypothenemus hampei*, es la principal plaga del café y se encuentra prácticamente en todas las regiones cafeteras del mundo, no sólo causa la pérdida del fruto, sino que demerita la calidad de la bebida. Este insecto fue introducido a Colombia en 1988 sin sus enemigos naturales, por lo cual alcanza poblaciones muy altas que se reflejan en los daños causados. Las investigaciones para controlar esta plaga se han enfocado en la introducción y desarrollo del mayor número posible de agentes de control biológico que sean compatibles en un programa de manejo integrado. En Colombia se han introducido los parasitoides *Cephalonomia stephanoderis* y *Prorops nasuta*, y se ha desarrollado una tecnología de producción que permite la cría masiva de estas especies para su liberación en el campo. Entre 1994 y 1997 se liberaron 1200 millones de parasitoides de *C. stephanoderis*. Actualmente ambas especies se encuentran establecidas en algunas regiones cafeteras de este país y muy pronto se espera que se puedan introducir en más de 500.000 hectáreas de café afectadas por la broca. Una meta a corto plazo es la introducción y producción masiva del parasitoide de adultos de la broca, *Phymastichus coffea*, que sería un complemento de los anteriores. El hongo *Beauveria bassiana* se está utilizando para el control de la broca. En 1993 en Colombia se produjeron 60 toneladas, en 1994 100 toneladas, y en los tres últimos años se estima la producción en 200 toneladas anuales, las cuales se han asperjado en fincas infestadas por la broca. Este hongo se ha establecido en todas las regiones en las que se ha presentado la broca y sus niveles de infección varían desde muy poco (20-30%) hasta alcanzar niveles altos (80-90%). Es importante indicar que siendo la broca del café, un insecto recientemente introducido a Colombia, se ha logrado registrar un complejo numeroso de enemigos nativos compuestos de microorganismos patogénicos, insectos parasitoides y predadores y competidores por su habitat, que están ejerciendo regulación de sus poblaciones la cual merece estudiarse para su cuantificación. El uso apropiado de estos agentes biológicos introducidos y el fomento de la fauna benéfica nativa constituyen una herramienta fundamental junto con las prácticas de control cultural para conformar un programa de manejo integrado que mantenga las poblaciones de broca en niveles que no causen daño económico.

ATIVIDADE PREDATÓRIA DE FITOSEÍDEOS SOBRE OS DIVERSOS ESTÁDIOS DO DESENVOLVIMENTO DO ÁCARO DA MANCHA-ANULAR

Paulo Rebelles Reis; Adenir Vieira Teodoro & Marçal Pedro Neto
EPAMIG-CTSM, Caixa Postal 176, 37.200-000, Lavras, MG

Brevipalpus phoenicis (Acari: Tenuipalpidae) é transmissor do vírus da mancha-anular do cafeeiro e os ácaros predadores *Iphiseiodes zuluagai* e *Euseius alatus* (Phytoseiidae) estão frequentemente a ele associados. Avaliar a atividade predatória sobre os diversos estádios do desenvolvimento de *B. phoenicis* foi o objetivo deste trabalho. A predação foi observada em bioensaios com arenas de 3 cm de diâmetro, confeccionadas com folha de cafeeiro, flutuando em água. Os ácaros, de idade uniforme, foram obtidos de criações de manutenção. Foram realizados quatro bioensaios para cada espécie de ácaro predador, um para cada fase do desenvolvimento de *B. phoenicis*, com delineamento em blocos ao acaso e cinco tratamentos com dez repetições. Foram colocados 20 ácaros *B. phoenicis* /arena, conforme a fase a ser estudada. Após 24 horas da introdução dos ácaros nas arenas, foi feita a contagem do número de ácaros predados. As médias de predação de *E. alatus* e *I. zuluagai* para as diferentes fases do *B. phoenicis* foram respectivamente: larva (79 e 90%) > ovo (47 e 83%) > ninfa (40 e 77%) > adulto (1 e 18%). *I. zuluagai* mostrou maior atividade predatória que *E. alatus*. Para ambos os predadores, a fêmea adulta foi mais eficiente no consumo de todas as fases do desenvolvimento de *B. phoenicis*. A fase de larva foi a mais consumida, seguida da fase de ovo, e os adultos foram menos preferidos para predação. Os ácaros predadores encontrados na cultura do cafeeiro devem ser preservados, pois demonstraram ser eficientes inimigos naturais da praga.

CHARACTERIZATION OF *B. bassiana* AND *M. anisopliae* ISOLATES OF THE ENTOMOPATHOGENIC FUNGI COLLECTION FROM CENICAFÉ

Patricia E. Vélez A¹, María T. González G.², Armando Rivera M.³, Alex E. Bustillo P.⁴, María N. Estrada V.⁵, Esther C. Montoya R.⁶

During this study 76 multiesporic isolates of the entomogenous *Beauveria bassiana* (Bb) and 19 of the fungus *Metarhizium anisopliae* (Ma) were characterized through the evaluation of quantitative variables such as (PCB) pathogenicity against coffee berry borer-CBB, *Hypothenemus hampei* (Ferrari); TL₅₀, time in which the probed dose causes 50% of mortality of the population; (E) spore production; (TCD) diametral growth; (TE) spore size, (PG) germination rate; (PE) enzyme reaction; (TRE) starting time of enzyme reaction. In the case of Ma, the evaluated variables were PCB, PG, PE, TRE. Additionally, the RLUV, resistance to the UV light was evaluated in a group of isolates of Bb (9 isolates) and Ma (5 isolates) and the RT, resistance to the temperature, was evaluated in a group of isolates of Bb (9 isolates) and Ma (12 isolates). In an initial analysis, the isolates were classified according to PCB, establishing 4 groups: Group 1, PCB <25%; G2, 26 - 50%; G3, 51 - 80%, and G4, >80%. For Bb, in the Group 1, were Bb9009, Bb9010, Bb9108, Bb9115, Bb9120 and Bb9307 (Colombia - *H. hampei*), Bb9017 and Bb9020, from other countries. Within the Group 4, isolates from Coleoptera: Bb9002, Bb9007, Bb9012, Bb9021, Bb9102, Bb9116, Bb9202, Bb9203, Bb9207, Bb9208, Bb9212, Bb9213, Bb9216, Bb9218, Bb9301; from Lepidoptera: Bb9018, Bb9019, Bb9112, Bb9204, Bb9205, and from Homoptera: Bb9027 were found; seventeen of those were isolated in Colombia and 2 from other countries. For Ma, most of them belonged to Group 4, nine from Colombia (Coleoptera). Ma9220, from Australia, (Coleoptera), belonged to Group 3. The analysis of variance of the groups showed the effect of them in the variables PPB, TL₅₀, E, TCD, PG, PE and TRE for Bb and the variables PPB y PG for Ma; the Tukey test (5%) showed that the Bb and Ma groups were different in PPB. A multivariate main component analysis was carried out with a group of 17 isolates of Bb in which the following variables were evaluated (PPB, TL₅₀, PG, PE, TRE, E, TCD and TE). Likewise, a dendrogram (descriptive grouping) and a cluster statistic analysis were done in order to select groups of isolates according to the evaluated variables, variance analysis of the clusters (p=0,05) and Tukey test (5%) were applied to the groups of isolates. The components that more contributed to the total variation were. PE, TRE, PPB and E. The dendrogram and the cluster statistical analysis characterised three groups of isolates. The analysis of variance of the groups classified by cluster analysis showed that at least one of them differs in each variable; however, according to the selections criterion, a new grouping was made, so that those isolates with PCB > 80% were grouped in one cluster. The variable pathogenicity to the CBB (PCB) let the separation of groups of isolates in both type of analysis.

¹Investigador Científico I, ²Asistente de Investigación, ³Asistente de Investigación,

⁴Investigador principal I, ⁵Auxiliar IV de Investigación, Disciplina Entomología;

⁶Investigador Científico I, Disciplina Biometría. Centro Nacional de Investigaciones de Café-CENICAFÉ. Chinchiná, Caldas. Colombia. E-mail fcpvel@cafedecolombia.com

COFFEE PATHOSYSTEM MODELLING : 1- EDAPHIC FACTORS INFLUENCE HOST-PATHOGENS RELATIONSHIPS.

F. Pellegrin, F. Kohler and D. Nandris.

IRD (ex-ORSTOM), Lab. of Plant Pathology, BP 5045, 34032 Montpellier, FRANCE.

Investigations on the pathology of *Coffea arabica* were conducted in New Caledonia and in the South Pacific area. They were aimed at gaining (i) an understanding of the overall functioning of the pathosystem (coffee / environment / *Hemileia vastatrix-Colletotrichum gloeosporioides-Cercospora coffeicola*) (ii) identifying the environmental conditions which affect the dynamics of these pathogens. The ultimate objective of this research was to use modelling to devise a decision-making tool enabling the epidemic risk to be forecast. The experimental approach was based on monthly epidemiological observation carried out for 7 years in coffee plots and on environmental characterisation procedures. Management of these pathological and environmental data was achieved with the ORACLE® database. Statistical interpretation is carried out with the ADE-4 software including a three-way analysis of one data cube (variables x sites x observation dates) and a costructure analysis of two data cubes. The existence of a mosaic of highly diverse pathological situations was evidenced. Co-inertia analyses between pathological and environmental data revealed significant combinations of variables : e.g. rust is more likely to occur in sites featuring low soil pH values, low rainfall, high minimum temperatures, high shade and high altitude. Such major trends were used as a basis for modelling the infection risk for each disease, and thus significant forecasts of the level of infestation were made for each plot. Complementary studies were carried out, using biomolecular tools, to evaluate the diversity of the fungal pathogens and the host (cf. poster #2), then to correlate these diversities to the variability observed in diseases kinetics. Now, this holistic approach and the related biometrical tools should be of interest to other coffee pathologists working on diseases and/or pests who seek to understand the functioning of their own pathosystem.

COFFEE PATHOSYSTEM MODELLING : 2 - ASSESSMENT OF HOST AND PATHOGENS BIODIVERSITIES

D. Nandris, F. Kohler, D. Fernandez, P. Lashermes, J. Rodrigues ^(*) and F. Pellegrin

IRD (ex-ORSTOM), BP 5045, 34032 Montpellier, FRANCE; ^(*) CIFC, 2790 Oeiras, PORTUGAL.

In complement to epidemiological investigations performed in New Caledonia on the *Coffea arabica* pathosystem (cf poster #1), it was essential to evaluate the potential variability due to (i) the diversity of the pathogens, (ii) the host.

- Analysis of host genetic diversity: For every survey plot, biomolecular analyses (RAPD) of the genome of surveyed trees were performed. Among these trees, no *canephora* character was found, thus excluding the presence of any rust resistant coffee hybrid *canephora* x *arabica*. But a molecular polymorphism indicates the existence of two cultivated coffee types *typica* and *bourbon* (as well as intraspecific hybrids) that involve variability in the epidemiological results.
- Analyses of *Hemileia vastatrix* population: - races identification : sampled spores were studied in Oeiras by the CIFC. Three different races (I, II, III) were identified, with race II as the most common one. The coexistence of the II & I or II & III races was observed in some plots. molecular polymorphism : rust samples were collected from New Caledonia, Papua New Guinea, Vanuatu. Among various tested methods, only RAPD (with severe constraints for spore collection & DNA extraction) revealed a pattern polymorphism.
- Analysis of *Colletotrichum gloeosporioides* population: - Isolates collected in surveyed plots in New Caledonia, Vanuatu, Papua New Guinea were analysed by RAPD. A high level of genetic diversity was found with differentiation between some out of the populations. A high recombination rate could be hypothesised to explain this situation.

Once included in the statistical model, the various results of these biological investigations constitute important complementary informations for improving the coffee diseases decision-making tool.

MANEJO ECOLOGICO DE LA BROCA DEL CAFE EN FINCAS CAFETALERAS DEL NORTE DE NICARAGUA: DE EXPERIMENTACION A IMPLEMENTACION MASIVA

Morales, R. Guharay, F.

Agropecuaria Chale Haslam, Matagalpa, Nicaragua
Centro Agronómico Tropical de Investigación y
Enseñanza, Managua, Nicaragua,
Catienic@ibw.com.ni

La Empresa Chale Haslam S.A., localizada en el norte de Nicaragua posee 300 ha. de café bajo sombra de *Inga sp* a una altura de 900-1250 m.s.n.m. La floración "*principal*" ocurre al inicio del mayo, contribuyendo al 75-95% de la cosecha. En esta zona, la broca fue detectada en el año 1988 y pronto se extendió en todas las áreas causando alta pérdida. En 1992-93, se evaluaron diferentes manejos en parcelas experimentales (0.15 ha) ubicadas en cuatro fincas. La práctica de *graniteo* (remoción periódica de granos afectados) fue más eficaz en reducir el daño, pero con un costo mayor. En 1993-94 se evaluaron más opciones y todas (*pepena*, *graniteo*, aplicaciones de *Beauveria bassiana* y Endosulfán) lograron mejorar la cosecha. En 1994-95, el manejo convencional (*pepena*, *graniteo* y endosulfán basándose en rutina) fue comparado con el manejo ecológico (*pepena*, *graniteo* y aplicaciones de *Beauveria bassiana* basándose en recuentos) en parcelas comerciales (2.0 ha). El manejo ecológico resultó más económico. Durante los años 1995-98 se implementó en forma masiva el manejo de la broca basado en los recuentos, *pepena* y *graniteo*. En 1997-98, la incidencia de la broca y el daño fue mínimo. El manejo costó entre US \$ 7 y 10/ha. Desde 1992 hasta la fecha, el área de producción de la empresa se incrementó de 225 a 300 ha, el rendimiento se mantuvo alrededor de 1200 Kg / ha y la calidad de granos mejoró significativamente (92% para exportación en 1997-98 comparado con 62% en 1993-94).

A NEW METHOD OF MASS REARING THE COFFEE LEAFMINER, *Perileucoptera coffeella* GUÉRIN-MÈNEVILLE (LEPIDOPTERA: LYONETIIDAE), USING COFFEE LEAVES *IN VITRO*;

Ronaldo Reis Jr., Eraldo R. Lima, Evaldo F. Vilela & Raimundo S. Barros;

Universidade Federal de Viçosa, Depto. Biologia Animal, 36571-000, Viçosa MG, Brasil. E.mail: rreis@alunos.ufv.br

To accomplish systematic studies with coffee leafminer, it is necessary to establish a mass rearing system in artificial conditions. We might explore the possibility of rearing these species, from egg to adult, in laboratory conditions, without using coffee seedlings but detached leaves maintained *in vitro*, optimizing the production of insects and minimizing the inconveniences of the rearing. Synthetic cytokinins are routinely used for maintenance of plant cell and plant tissues *in vitro*. In this case, two plant growth regulators, benzyladenin and kinetin, in concentrations 10^{-6} and $10^{-7} M$, were used. Green leaves collected in the field were maintained in the solution to be tested. Pure water served as control. The experiment lasted 30 days, a period longer than the necessary for the complete development of the coffee leafminer. We observed that both artificial cytokinine in both concentrations indeed increased the lifetime of the coffee leaves, maintaining them green and healthy. Leaves placed in the cages for oviposition were attractive to the insect, with significant number of eggs per leaf. In most cases, eggs resulted in individuals that completed the whole developmental cycle. Tests with regulator in different concentrations with healthy leaves showed efficiency; however, we believed that hormone concentrations to be used with mined leaves should be larger, because when these are submitted to the chosen concentration of $10^{-7} M$, leaves did not present a satisfactory lifetime. Therefore, tests with leaves mined with different hormone concentrations should be made to find out the ideal concentration for leaf survival.

FIRST INTRODUCTION TO BRAZIL OF *Phymastichus coffea* (La Salle) (Hymenoptera; Eulophidae), ENDOPARASITOID OF THE COFFEE BERRY BORER (Ferrari) (Coleoptera; Scolytidae);

Fernando Cantor, Evaldo F. Vilela & Alex Bustillo;

Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Biologia
Animal, 36571-000, Viçosa (MG), Brasil.

Email: fcantor@alunos.ufv.br

The coffee berry borer *Hypothenemus hampei*, is an original pest of Equatorial Africa which introduced in Brazil accidentally in the beginning of the century. Two microhymenopteran species of the family Bethyridae have been used traditionally for the control of *H. hampei*, mainly, in countries such as Mexico, Colombia, Equator and Brazil. However, the infestation rates are still high. *Phymastichus coffea* is an endoparasitoid recently described that attacks the adults of the pest. At the present time, many countries affected by the pest are interested in introducing this parasitoid to complement the action of the other parasitoids. In Brazil, this parasitoid was introduced for the first time for the Center of Applied Biotechnology to the Agriculture (BIOAGRO-Federal University of Viçosa) in August of 1998, coming from CENICAFE (Colombia), through of the Quarantine's Laboratory "Costa Lima"/EMBRAPA, in Jaguariúna (SP). Studies of biology and behavior, is being carried out to test the hypothesis based on mathematical models of simulation, that, *P. coffea* is the only parasitoid to control a population of the pest in the field. Once accepted such an hypothesis, the parasitoids will be sent to the laboratories of the Agronomic Institute of Paraná - IAPAR (Londrina, PR) and Capixaba Company of Agricultural Researches - EMCAPA (Linhares, ES) for massal rearing and liberation in the field.

THE NEMATOPHAGOUS FUNGI HELPER BACTERIA (NHB): A NEW DIMENSION OF THE BIOLOGICAL CONTROL OF THE ROOT KNOT NEMATODES WITH TRAPPING FUNGI

R. Duponnois (1), M. Gueye (2) and S. Roussos (3)

(1) IRD. Laboratoire de Biopedologie. BP 1386. Dakar. Senegal

(2) IFAN. Laboratoire de Botanique. BP 206. Dakar. Senegal

(3) IRD. Laboratoire de Mycologie et des FMS (LAMY-FMS). IFR-BAEM; Universite de Provence, CESB/ESIL, Case 925; 163 Avenue de Luminy. F-13288, Marseille Cedex 9 France

Plant parasitic nematodes and in particular root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) are cosmopolitan and important pest problems affecting the production of both subtropical and tropical crops. During the last decades, nematode control methods have been based on the use of chemical products applied to the soil or the cultivated plants. However, because of environmental toxicity and cost of these chemical, other control techniques have been investigated. Besides various biocontrol agents such as vesicular and arbuscular mycorrhizae, rhizobacteria, fungal endophytes, research focused on nematode-trapping fungi such as *Arthrobotrys* spp.. In Senegal several studies have been performed to (i) test the potential of nematophagous fungal strains isolated in West Africa (Senegal, Niger, Burkina Faso, Ivory Coast) for trapping juveniles of *Meloidogyne* spp. and (ii) develop a control method using the nematophagous fungi incorporated into compost blocks to control *Meloidogyne* populations. These experiments have been realised with several host plants such as tomato, tobacco and fruit trees. Significant fungal effects on nematode population and plant growth were obtained. However none of these fungal strains gave more than 60% control when added to nematode-infested soils. A survey of *Arthrobotrys* spp. made in all vegetable-producing areas in Senegal showed that the presence of the fungi was linked to a relative high organic content and high bacterial population in particular the pseudomonads belonging to the fluorescent group. These bacteria have been tested for their activity on the fungal development and it has been shown that the bacteria stimulated the predatory activity, the saprophytic growth of the fungal strains. Moreover several effects have been observed when the fungus and the fluorescent Pseudomonads were co-inoculated in a very nematode-infested soil such: (1) a dramatic decrease of *Meloidogyne* populations, (2) a decrease of other plant parasitic nematodes (*Rotylenchulus reniformis*) and a stimulation of the plant growth. These bacteria have been called NHB (Nematophagous fungus Helper Bacteria). From a practical point of view, the NHB could also reduce the required quantities of fungal inocula because of their stimulating effect.

PROPIEDADES DE ENZIMAS DIGESTIVAS PROVENIENTES DE LA BROCA DEL CAFÉ *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (COLEÓPTERA: SCOLYTIDAE)

Arnubio Valencia J¹, Claudia P. Martinez² Diana Patricia Preciado R². Maria Teresa Gonzalez G² , Alex E. Bustillo P².

¹Profesor Asistente. Departamento de Química, Universidad de Caldas, Manizales - Colombia. E-mail : fcaval@cafedecolombia.com

²Bacterióloga, Licenciada en Biología y Química, Asistente de Investigación e Investigador Principal I. Centro Nacional de Investigaciones de Café, CENICAFÉ. Apartado Aéreo 2427, Manizales, Caldas. Colombia.

El conocimiento del pH intestinal, y de la actividad y propiedades de las enzimas digestivas de *Hypothenemus hampei*, se hace indispensable para la correcta selección de inhibidores específicos, los cuales puedan ser utilizados en transformación genética del café. Por tal motivo, se determinó para amilasas y proteasas, el pH óptimo de actividad; utilizando soluciones amortiguadoras de pH (3,0 – 9,0), la temperatura óptima; la cual se evaluó entre 25-70°C, así como el perfil isoenzimático y el pH intestinal de la broca. La evaluación de la actividad amilolítica se determinó a 580nm y a 280 nm para proteasas. Los sustratos fueron almidón y hemoglobina respectivamente. El análisis isoenzimático se llevó a cabo en geles de electroforesis nativos, y el pH intestinal se midió por el uso de indicadores de pH en polvo. Los resultados muestran un pH óptimo de 5,0 para amilasas y de 3,0 para proteasas, con una temperatura óptima para ambas enzimas entre 40 y 50°C. Los zimogramas permiten evidenciar 3 bandas mayoritarias para amilasas, y 2 para proteasas. Al parecer, la actividad proteolítica predominante en *H. hampei* corresponde a aspártico proteasas, lo cual es típico de muchos insectos del orden coleóptero. El pH intestinal fluctúa entre 5.0 – 6.0, siendo ligeramente más ácido en la porción media intestinal. Con ésta información, se hace más fácil evaluar inhibidores de enzimas digestivas con especificidad hacia *H. hampei*, y definir cual de ellos podría utilizarse en la transformación genética del café.

BUSQUEDA Y EVALUACIÓN DE INHIBIDORES DE AMILASAS COMO ALTERNATIVA PARA LA PRODUCCIÓN DE CAFÉ TRANSGENICO RESISTENTE A BROCA *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (COLEÓPTERA: SCOLYTIDAE)

ARNUBIO VALENCIA J¹, MAARTEN J. CHRISPEELS², GUSTAVO ADOLFO OSSA O³, MARIA TERESA GONZALES G³, ALEX E. BUSTILLO P³

Con miras, a plantear alternativas para la producción de café transgénico resistente a *Hypothenemus hampei*, se inició un programa de búsqueda y evaluación de inhibidores de amilasas digestivas, con especificidad y efectividad hacia la broca del café. Semillas de especies vegetales existentes en la zona cafetera colombiana, fueron molidas, y el total de proteínas en la harina se extrajo y concentró por liofilización. En todos los casos, el potencial inhibitorio de éstas proteínas sobre las amilasas endógenas de la broca, fue determinado por espectrofotometría. Para dos de los inhibidores más activos, se determinó su punto isoeléctrico y se desarrollo un método analítico, el cual permite la visualización de su actividad en geles nativos de electroforesis. Presencia de actividad inhibitoria hacia amilasas, se encontró en *Phaseolus vulgaris*, *Phaseolus coccineus*, *Brachiaria decumbens*, *Erythrina poeppigiana*, *Canavalia insiformis*, *Vicia faba*, y *Amaranthus cruentus* entre otras. El punto isoeléctrico del inhibidor presente en *P.vulgaris*- radical y greensleeves fue 4,97 y 4,70 respectivamente. El mayor porcentaje de inhibición alcanzado fue del 80%, y se obtuvo con *Phaseolus vulgaris* y *Amaranthus cruentus*. Los resultados encontrados en éste estudio, permiten concluir que la actividad amilolítica de la broca, puede ser inhibida significativamente, y que es posible utilizar inhibidores de amilasas como una valiosa alternativa para conferir resistencia al café contra *H. hampei*, a través de la producción de material transgénico que exprese estas proteínas. Así mismo, el método desarrollado para visualizar la actividad inhibitoria de amilasas, se constituye en una herramienta, para explorar nuevas fuentes de germoplasma.

¹ Profesor Asistente. Departamento de Química, Universidad de Caldas, Manizales - Colombia. E-mail : fcaval@cafedecolombia.com

² Department of Biology, UCSD - USA. E-mail : mchrispeels@ucsd.edu

³ Licenciado en Biología y Química, Asistente de Investigación e Investigador Principal I.

Centro Nacional de Investigaciones de Café, CENICAFÉ. Apartado Aéreo 2427, Manizales, Caldas. Colombia.

EVALUATION OF THE SEX PHEROMONE OF THE COFFEE LEAFMINER, PERILEUCOPTERA COFFEELLA GUÉRIN-MÉNEVILLE (LEPIDOPTERA: LYONETIIDAE), IN DIFFERENT TRAPS, IN THE FIELD.

Eraldo R. Lima, Evaldo F. Vilela; Shigefumi Kuwahara & Walter Soares Leal;

Federal University of Viçosa, Department of Animal Biology, 36571-000, Viçosa MG, Brazil. E.mail: mothman@mail.ufv.br

The need of the inclusion of the sex pheromone of *P. coffeella* in programs of integrated pest management of coffee through the population monitoring has been pointed by several researchers. The population of the coffee leafminer has been sampled in the field through the percentage of mined leaves. Many problems of methodological nature exist in this kind of evaluation, when, for instance, it is taken in consideration the action of natural enemies (wasps, parasitoids and pathogens). On the other hand, the maximum number of sampling points that can be established is limited by the total effort dedicated for sampling and the amount of work dedicated for each sample point. The adoption of the pheromone trap get several advantages that are summarized in the decrease of the collection effort and diminution of time. In this work, the efficiency of a recemic mixture of 5,9 dimetil-pentadecano was evaluated, as a lure, in different types of trap. Four traps were tested, being two of the adhesive Delta type (White and Green), Cica-R (round multidirecional with water) and Tubular (with glue). There were 5 repetitions for each treatment and traps were placed in the field for 22 days. The traps that presented the best capture results along the time were Cica-R and Green Delta with averages of 4.38 and 3.83 insects/trap/day. New experiments will still be carried out, including height of traps, distance among traps, to achieve an ideal tool for this insect monitoring.

ATTRACTIVENESS OF THE FRUITS TO COFFEE-BERRY-BORER, *Hypothenemus hampei* (FERRARI): VISUAL AND OLFACTORY STIMULI -

Jorge Rafael Mendoza, José Oscar Gomes de Lima, Evaldo Ferreira Vilela & Cesar José Fanton -

Depto. Biologia Animal/UFV, Viçosa, MG, 36571-000, e-mail: evilela@mail.ufv.br

To verify the preference of the coffee-berry-borer (CBB) *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Scolytidae) for fruits in different maturation stages (green, yellow, red and black) an experiment was carried in laboratory, at Federal University of Viçosa, MG, at 25°C and 70% RH, approximately. Four fruits of different colors were suspended in pins, settled in an isopor plate and placed in transparent 200 ml plastic glass with a CBB female. A hundred observations were made and the data were submitted to the chi-square at 5% of significance. The same procedure was adopted replacing fruits by 20 mm-diameter polipropilene spheres with the same colors. In relation to natural fruits, CBB showed a significant preference for the black (39.79%) and red (31.63%) compared to the yellows and greens (both with 14.29%). Results with the polipropilene spheres confirm the attractiveness of the black fruits (39.78%) and red colored ones (27.96%), in relation to the yellow and green fruits (both with 16.13%), indicating that the color of the fruit would be a factor of attraction of the CBB. To verify the role of volatile components in the attraction of the CBB, it was tested in a 2-way olfactometer, using the methodology described by Moeck (1970), healthy green fruits (116) and brocades (117) and mature healthy (120) and brocades (97). We tested 444 CBB and it was considered as a positive answer to the stimulus the fact that the insect stop the locomotion when intercepting the scent flow, continuing with a turn and walking then in the direction of the scent source. There was a significant difference in the attraction, as the answer to the mature fruits, both healthy (72.5%) and brocades (78.0%), was superior than the stimulated by the brocades (37.4%) and healthy (14.6%) green fruits, indicating that the stage of maturation of the fruit influences in the attraction of CBB females searching for a place for feeding and oviposition.

FOREIGN EXPLORATIONS FOR NATURAL ENEMIES OF THE COFFEE BERRY BORER

Fernando E. Vega and Guy Mercadier

European Biological Control Laboratory, United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Parc Scientifique Agropolis II, 34397 Montpellier Cedex 5, France. E-mail: fvega@wanadoo.fr

One of the functions of the European Biological Control Laboratory is to search for insect pathogenic organisms (e.g. fungi, viruses, bacteria, protozoa, nematodes) in the area of origin of the insect pest. The goal is to isolate, identify, and conduct bioassays using these organisms. These are the first steps in trying to determine if the organisms could be good candidates as biological control agents in integrated pest management programs. As part of our activities, we have been conducting foreign explorations for natural enemies of coffee berry borer (CBB), *Hypothenemus hampei* Ferrari (Coleoptera: Scolytidae), a serious pest of coffee throughout the world. Damage consists of a hole bored by the female insect; eggs are deposited inside the berry and the larvae feed on the endosperm, destroying the berry or lowering its quality. EBCL has conducted explorations for natural enemies of CBB in Togo, Ivory Coast, Benin, and Uganda. Additional journeys have been scheduled for India, South Africa and Zambia. In the field, coffee berries showing the characteristic hole bored by the female were individually collected and placed in plastic jars. Back at EBCL's quarantine facility, the berries were placed in sealed cardboard canisters with an opening at one end containing a translucent plastic tube, to which emerging insects are attracted. Tubes were examined daily and insects other than CBB were mounted for later identification, while CBBs were collected and placed with their dorsum touching the surface of water agar in sealed Petri dishes, in order to promote growth of any fungal spores carried by the insect. The following fungi have been isolated from CBBs: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus ochraceus*, *Fusarium* sp., *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium brevicompactum* and *Verticillium* sp., as well as the fungal entomopathogens *Paecilomyces farinosus*, *Paecilomyces lilacinus*, and *Beauveria bassiana*. Overall, a wide array of insects have emerged from infected beans, including known CBB parasitoids such as *Phymastichus coffea* (Hymenoptera: Eulophidae), *Prorops nasuta* (Hymenoptera: Bethyridae), *Cephalonomia stephanoderis* (Hymenoptera: Bethyridae).

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE UM PLANO DE AMOSTRAGEM SEQUENCIAL BINOMIAL PARA A BROCA-DO-CAFE (*HYPOTHENEMUS HAMPEI*)

Rodolfo Bianco

Área de Proteção de Plantas – APP Entomologia

Instituto Agrônômico do Paraná, 86001-970, Londrina – PR

A falta de métodos de amostragem, de fácil entendimento e aplicação, levam produtores a tomar decisões de controlar a broca do café de modo empírico, provocando com isso desequilíbrio biológico, além de onerar desnecessariamente o custo de produção. O objetivo deste trabalho é o desenvolvimento de um plano de amostragem sequencial binomial para a praga, que possa subsidiar os cafeicultores no momento de decidir por controlar ou não o inseto. Foram montados ensaios nas cidades de Londrina, Abatiá e Ribeirão do Pinhal – PR entre 1997 e 1998. Em cada ensaio (1 ha) foram marcadas 32 plantas, que foram consideradas pontos amostrais. Cada planta foi dividida em 3 partes (superior, média, inferior), sendo em cada parte avaliados 5, 10 e 20 frutos por ramo, afim de se observar o tamanho e número ideal de amostra, além da distribuição do ataque da praga nas diferentes partes da planta. Avaliações foram realizadas em diferentes épocas para se obter variações no nível de infestação da praga. Aplicação do teste X^2 e modelo de regressão de TAYLOR indicaram ser do tipo agregado a distribuição da praga. Maior infestação da broca foi constatada na parte média e inferior da planta. O tamanho de unidade de amostra de 5 frutos agrupados/ramo subestimou o nível de infestação da broca, além de proporcionar elevada quantidade de amostras vazias, enquanto que a unidade de 20 frutos/ramo conferiu muita alta proporção de amostras infestadas, e por isso não seriam recomendáveis para o desenvolvimento do plano de amostragem. O tamanho de 10 frutos/ramo foi então utilizado como unidade padrão de amostra. Utilizando o modelo binomial (presença-ausência) e considerando $p_0 = 0,2$ e $p_1 = 0,3$ (proporção de amostras infestadas), foram então calculadas as linhas de decisões, com base no teste de razão de probabilidades de WALD, obtendo-se as equações: $Li = 3,818 - 0,215 n$ e $Ls = 3,818 + 0,215 n$. Com base nestas equações foi construída uma tabela de amostragem, que vem sendo testada a campo em 1999, com grandes possibilidades de sucesso.

**AVANÇOS NAS TÉCNICAS PARA CRIAÇÃO MASSAL DO
PARASITÓIDE DE *Cephalonomia* *Stephanoderis*
(HYMENOPTERA:SCOLYTIDAE) sobre *Hypothenemus hampei*
(Coleoptera:scolytidae) MULTIPLICADA EM DIETA
ARTIFICIAL.**

VILLACORTA & SONIA M. TORRECILLAS

APP/Entomologia. IAPAR, CP 481, CEP 86.001-970. Londrina, PR.
Brasil.

Várias dietas artificiais vem sendo utilizadas principalmente no México, Brasil, Colômbia e El Salvador para a criação da broca-do-café, *Hypothenemus hampei*. Basicamente todas as dietas contem caseína, açúcar, Levedo, agar, café cru moído e agentes antimicrobiais. Pesquisas vem sendo realizadas para reduzir o custo da dieta assim na Colômbia um litro de dieta está custando \$1.5 dólares e 0.25 dólares o custo de 1000 vespas. No Brasil se está tentando implantar uma planta piloto para a criação massal dos parasitóides *Cephalonomia stephanoderis*. Utilizando dieta em tubos de vidro para a criação da broca-do-café foi determinado que entre 80-90 dias após sua infestação, se obtém: (i) pellets cilíndricos da dieta com broca em todos seus estágios de desenvolvimento em seu interior e (ii) que no pó da dieta encontram-se livres os diferentes estágios de desenvolvimento da broca. Com o objetivo de maximizar o aproveitamento deste material biológico para a criação de *Cephalonomia stephanoderis* Betrem é proposto dois sistemas de criação. O primeiro utiliza os pellets de dieta como se fossem frutos de café atacados pela broca, e o segundo usa as prepupas e pupas que se encontram livres para serem parasitadas mediante a técnica denominada "in vitro ". Estima-se que com um litro de dieta para criação da broca pode obter-se entre 2800 a 3000 parasitóides. A criação do parasitóide sobre brocas multiplicadas em dieta merídica permite manter uma colônia de parasitóide durante o período de entressafra, quando não existe frutos suficientes com broca no campo, e abre a perspectiva de uma futura criação industrial do parasitóide.

RESULTADOS E DESAFIOS PARA O PROGRAMA DE AUTOFISCALIZAÇÃO DO CAFÉ TORRADO E MOÍDO – SELO ABIC.

Vegro, Celso Luis Rodrigues & Ferreira, Célia Regina R.P.T.

Instituto de Economia Agrícola, Av. Miguel Estéfano, 3900 – CEP 04301-903, Tel: (011)577-0244, Fax: (011)276-4062, e-mail: celgro@base.com.br, São Paulo/SP

Desde 1989, o Programa de Autofiscalização do Café Torrado e Moído, da Associação Brasileira das Indústrias de Torrefação e Moagem de Café (ABIC), objetiva garantir a pureza do torrado e moído (T&M) aos consumidores. O objetivo deste estudo é verificar o desempenho desse programa, a partir de resultados de coletas de amostras em nível nacional no período 1996-1998. O T&M não oferece grandes dificuldades para a fraude, pouco perceptível numa análise visual trazendo como "benefícios": a) a rentabilidade, dado que as impurezas e misturas são baratas, b) a adição de açúcar permite alcançar a coloração do produto antes do verdadeiro "ponto de torra" economizando energia e diminuindo a quebra de peso, c) uso de equipamentos tecnologicamente defasados ou mal ajustados resultam em maior teor de impurezas, e d) adição de impurezas ao café verde para baratear o produto. O programa não dispõe de mecanismos jurídicos legais ágeis para coibir as fraudes. A não fiscalização do T&M distribuído nas cestas básicas também incentiva as fraudes que comprometem a imagem da qualidade do T&M. Municípios que não sediam empresas participantes, por não serem objeto de coleta de amostras, podem apresentar mais fraudes. Assim, os percentuais obtidos, válidos apenas para os municípios sede de torrefadoras participantes tendem a subestimar o verdadeiro grau de fraude no café. O relaxamento do patamar tolerado de impureza para 2%, colide com as metas originais do programa.

OCRATOXINA A EM CAFES VERDES BRASILEIROS: DIFERENCAS COM RELAÇÃO A ESPECIE.

FURLANI, REGINA PRADO ZANES¹, OLIVEIRA, PAULO LAURO C.², SOARES, LUCIA MARIA VALENTE¹.

¹ UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS - UNICAMP -
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS - CAIXA
POSTAL 6121 - CAMPINAS-SP - CEP 13081-970

² Cia Cacique de Café Solúvel, Av. Tiradentes, 5000 - Londrina-PR -
CEP 86072-360

A ocratoxina A, produzida por cepas de *Penicillium* e *Aspergillus*, causa danos renais em humanos e animais, além de ser teratogênica. Tem sido encontrada em produtos alimentícios os mais diversos e vários países tem adotado limites para a sua presença em alimentos. O café é uma bebida com alto consumo no país e constitui um item dos mais importantes nas nossas exportações. Dados sobre a presença desta toxina em café nacional são escassos. O presente trabalho examina a incidência de ocratoxina A em 79 amostras de café verde, proveniente de regiões produtoras brasileiras, destinadas ao consumo no mercado interno. A toxina foi isolada com colunas de imunoafinidade e quantificada em cromatógrafo líquido (HPLC), equipado com detetor de fluorescência. O limite de detecção do método foi de 0,7 ng/g. Em 69 amostras de *Coffea arabica* examinadas, 10 continham Ocratoxina A em níveis que variaram de 1,7 a 12,7 ng/g. Em 10 amostras de *C. conephora* examinadas, 2 continham Ocratoxina A em níveis que variaram de 5,5 a 114,2 ng/g. A influência da diferença entre o valor comercial das duas espécies e a conseqüente diferença no trato agrícola que recebem não pode ser descartada na avaliação dos resultados.

QUALIDADE DE BEBIDA DA CULTIVAR DE CAFÉ IAPAR-59 E OUTRAS

¹Tumoru Sera, ²Marcos Aurelio Bacceti, ¹José Alves de Azevedo

¹IAPAR

²Corretora Bacceti, CCCNP

Avaliaram-se a qualidade de bebida das cultivares de *Coffea arabica* L. IAPAR-59 e outras, para confirmar as suas qualidades e para preparar as cultivares experimentais para futura recomendação e plantio comercial. Amostras de frutos em estágio cereja das 10 cultivares foram descascados, degomados microbianamente e secados a sombra. A análise sensorial em xícara foram realizados no Centro de Comércio de Café do Norte do Paraná por 3 provadores para cada cultivar. Testaram-se as cultivares IAPAR-59 ('Sarchimor'), IAC376-4 ('Mundo Novo'), Maragogipe, IAPARLF77028 ('Sarchimor'), F2 IAPAR-59 X Mundo Novo IAC 388-17-10, Icatu Precoce IAC 3282, Catuaí Sh2Sh3, F2 de IAPAR-59 X Icatuaí, IAC2077-2-5-81('Catuaí Vermelho') e IAPAR LF77054-21-22('Icatu x Catuaí'). A testemunha Catuaí Vermelho IAC 2077-2-5-81 apresentou as bebidas dura ácida, dura e dura levemente ácida e com peneira média dos grãos de 15,7. A cultivar IAPAR-59 repetiu os testes anteriores, melhores que Catuaí e Mundo Novo, apresentando bebidas dura para melhor, dura limpa e dura para melhor com peneira 16,0. O Mundo Novo apresentou bebidas dura para melhor, dura limpa e dura com peneira 16,1. A cultivar Icatu Precoce apresentou bebidas dura, dura e dura com peneira 14,6. O Icatu x Catuaí apresentou as bebidas dura, dura e dura, semelhante a Catuaí, e peneira 16,6. A cultivar híbrida F2 IAPAR-59 X Icatu x Catuaí apresentou as bebidas dura ácida, dura e dura levemente ácida com peneira 16,4, grãos maiores que Mundo Novo. A cultivar híbrida F2 IAPAR-59 X Mundo Novo apresentou as bebidas dura, dura e dura com peneira 16,5, grãos maiores que Mundo Novo. A cultivar experimental IAPARLF 77028 apresentou as bebidas dura para melhor ácida, dura ácida e dura encorpada, portanto, melhores que as bebidas de Catuaí e de Mundo Novo e com peneira 16,9 (gráudas), a melhor tanto em bebida como em tamanho de grãos.

IDENTIFICAÇÃO DE IMPUREZAS EM CAFÉ TORRADO E MOÍDO UTILIZANDO ANÁLISE DE PADRÃO DE IMAGENS

**Eduardo Delgado Assad¹, Edson Eyji Sano¹, Heleno Silva Bezerra¹,
Hilda da Rosa Rodrigues², Tânia Barretto Simões Corrêa²**

1- EMBRAPA Cerrados Br 020 Km 18 rod. Bsb/Fortaleza, Planaltina.

D.F

2- EMBRAPA Agroindústria de Alimentos- Av. das Américas, 29501-
Guaratiba, R.J.

No Brasil, as impurezas encontradas com maior frequência no café torrado e moído são cascas e paus, milho torrado, cascas da semente do cacau, cevada, arroz, entre outros. Um dos principais problemas encontrados na identificação destas substâncias está nos métodos analíticos empregados, pois, são demorados, subjetivos e apresentam resultados bastante discordantes. A fim de eliminar divergências na interpretação dos resultados e agilizar o processo de identificação das impurezas, pretende-se estabelecer uma metodologia baseada em análise por imagem. Partiu-se da hipótese de que o pó de café adulterado, sendo submetido a uma fonte artificial de iluminação, teria uma reflectância nos canais R, G e B maior do que a do pó de café não adulterado. Para confirmar esta hipótese, foram feitos testes com 103 amostras de café comercializado no Brasil, em que 41 eram impuras e 62 eram amostras de café puro. Para cada amostra foram coletados os valores de reflectância obtidos por meio do analisador de imagens KS 300, acoplado a uma lupa binocular com iluminação dupla lateral. Foi determinado, também, o valor da variância da reflectância nos 3 canais. Diferentes níveis da cor marrom foram identificados em função da não padronização dos níveis de torrefação. Desse efetivo, o acerto foi, então de, 80,4%.

EFEITO DA ADUBAÇÃO POTÁSSICA NA QUALIDADE DOS GRÃOS DE CAFÉ BENEFICIADOS

Enilson de Barros Silva¹; Francisco Dias Nogueira¹, Paulo Tácito Gontijo Guimarães¹, Sílvio Júlio de Resende Chagas¹; Laerte Costa¹.

¹Pesquisador da EPAMIG/CTSM, Caixa Postal 176, CEP 37.200-000 – Lavras – MG, Email: ebsilva@ufla.br

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da adubação potássio na qualidade do café avaliada pela atividade enzimática da polifenoloxidase. Foram conduzidos dois experimentos, um em LRd de São Sebastião do Paraíso e outro em LVd de Patrocínio, MG. A cultivar utilizada foi Catuaí Vermelho, uma planta por cova no espaçamento 3,5 x 0,7 m. O delineamento experimental foi em blocos casualizados no esquema de parcelas subdivididas, com 3 fontes (KCl, K₂SO₄ e KNO₃) nas parcelas e 4 doses (0, 100, 200 e 400 kg de K /ha) nas subparcelas com 4 blocos. Houve interação entre fontes e doses de K em ambos os locais de cultivo ($P < 0,01$). Obteve-se, em ambos os locais, que as doses de K aplicadas na forma de fontes isentas de cloro foram mais elevadas, mas proporcionaram uma elevada atividade da polifenoloxidase dos grãos de café beneficiados em relação a fonte KCl. Mas, a classificação da bebida do café através da “Bebida Química”, isto é, avaliada pela atividade enzimática da polifenoloxidase; obteve-se que as fontes isentas de cloro proporcionaram classificação de bebida “apenas mole” em São Sebastião do Paraíso contra bebida “dura” para fonte KCl e em Patrocínio, a bebida foi “apenas mole” para a fonte KCl e “estritamente mole” para outras duas fontes. Com este resultado verifica-se que fontes isentas de cloro proporcionaram melhor qualidade da bebida do café.

Biotecnologia em café.

Soluções para o mundo de amanhã.



A **MONSANTO** **ESTÁ DESENVOLVENDO** pesquisas em Biotecnologia para café, que poderão gerar cafeeiros tolerantes a insetos, a geadas, à seca, com frutos de maturação uniforme e melhor qualidade. É a Biotecnologia Monsanto modernizando a produção do café e trazendo soluções para o mundo de amanhã.

MONSANTO
Alimento • Saúde • Esperança™



CONDUTIVIDADE ELÉTRICA DO EXSUDATO DE GRÃOS DE CAFÉ (*Coffea arabica* L.) E SUA RELAÇÃO COM A QUALIDADE DA BEBIDA.

PRETE, C.E.C.

Universidade Estadual de Londrina

Com o objetivo de ampliar os procedimentos usuais para determinação da qualidade do café, foi estudada a relação entre a condutividade elétrica do exsudato de grãos de café e o tipo e qualidade da bebida, através de nove trabalhos experimentais. A metodologia para avaliação da condutividade elétrica foi desenvolvida no Laboratório de Sementes do Departamento de Agricultura da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” em Piracicaba - SP, de 1990 à 1992, podendo se recomendar a utilização de quatro amostras de 50 grãos de café, pesadas, imersas em 75 ml de água destilada (no interior de copos de plásticos de 180 ml de capacidade) e colocadas em ambiente a 25°C por 3,5 horas, seguidas de agitação e leitura em condutivímetro elétrico, expressando os resultados em $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$. Os resultados obtidos nos demais experimentos indicam que: o íon lixiviado em maior quantidade pelos grãos de café é o potássio, que correlacionou diretamente ($r^2 = 99\%$) com a condutividade elétrica; a evolução da condutividade elétrica segue a marcha de lixiviação de íons potássio e a de absorção de água pelos grãos; a condutividade elétrica sofre influência marcante dos defeitos do café (grãos preto-verdes, preto, ardidos, verdes e brocados), pois esta sequência de defeitos corresponde à ordem de importância na degradação do sistema de membranas; a influência do grau de umidade, do genótipo e do tamanho dos grãos foi também verificada; o acréscimo de frutos colhidos no estágio de maturação verde deprecia a qualidade do café, ainda mais quando estes são submetidos à secagem sob temperaturas superiores a 45°C. Nestas condições experimentais o teste de condutividade elétrica e a lixiviação de potássio foram mais sensíveis em detectar diferenças entre os tratamentos do que os procedimentos usuais. O despulpamento dos frutos propiciou a obtenção de cafés de melhor qualidade (melhor bebida, menor número de defeitos e menor condutividade elétrica) em dez locais de colheita (Maringá, Londrina, Piracicaba, Campinas, Garça, Pindorama, Mococa, Patrocínio, Alfenas e Machado). Conclui-se existir uma relação inversa entre padrão de bebida e condutividade elétrica ou seja quanto melhor a bebida, menores os valores de condutividade elétrica dos exsudatos do grão cru de café. Obteve-se com este trabalho um teste rápido, simples, de baixíssimo custo, com base científica consistente, que pode ser utilizado como método auxiliar nos procedimentos para avaliação da qualidade da bebida do café.

RELAÇÃO ENTRE O PESO E A CONDUTIVIDADE ELÉTRICA DE GRÃOS DE CAFÉ DE PROGÊNIES DE “ICATÚ” NA QUALIDADE DA BEBIDA

Prete C.E.C¹., Sera, T²., Fonseca, I.C.B¹.

¹UEL.

²IAPAR.

Foram correlacionadas 500 observações de peso de grãos e condutividade elétrica de 23 progênies de café cv. Icatú, com o objetivo de verificar a hipótese de que quanto maior o peso dos grãos melhor é a qualidade da bebida do café, avaliada indiretamente pela condutividade elétrica. As amostras foram obtidas de um ensaio de competição de progênies de Icatú instalado no Instituto Agronômico do Paraná/Londrina colhidos no mês de julho de 1993. As amostras de café foram colhidas no pano, descascadas para retirada da polpa(exocarpo e mesocarpo), obtendo assim cerejas descascadas que foram secas em terreiro até atingirem graus de umidade próximo de 11% b.u. Cada parcela obtida foi beneficiada em moinho para amostras, de cada amostra foram retirados 4 repetições de 50 grãos, as quais foram pesadas em balança com precisão de duas casas decimais. Após a pesagem cada amostra foi imersa em 75 ml de água deionizada, a 25°C por 3,5 horas, seguida de leitura em condutivímetro elétrico, expressando os resultados em $\mu\text{S}.\text{cm}^{-1}.\text{g}^{-1}$. A correlação foi negativa entre as variáveis peso de grãos e condutividade elétrica, sendo significativa ao nível de 5% de probabilidade; entretanto foi pouco intensa ($r = -0,28$). Os resultados obtidos confirmam a tendência de que quanto maiores e mais pesados os grãos de café maiores as probabilidades de obtenção de uma bebida de boa qualidade, entretanto esta relação é pouco intensa, não permitindo uma utilização segura desta hipótese em programas de melhoramento de café.

CONDUTIVIDADE ELÉTRICA DE EXSUDATOS DE GRÃOS DE CAFÉ COLHIDOS EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO E A QUALIDADE DA BEBIDA

¹Prete, C.E.C.; ²Sera, T; ¹Crudi, C.E e ¹Fonseca I.C.B.

¹UEL,

²IAPAR

Realizou-se este trabalho com o objetivo de verificar o efeito de diferentes estádios de maturação do café sobre os valores de condutividade elétrica, a qual apresenta relação inversa com a qualidade da bebida. Para isto, no Instituto Agrônômico do Paraná/Londrina em 7 de julho de 1993, foram colhidos no pano frutos de café cv. Catuaí Vermelho nos estádios de maturação: verde, verde-cana, cereja (maduro), passa e seco. Foram colhidas quatro repetições de 2 litros de frutos em estádio de maturação, a seguir os frutos foram colocados para secar sobre peneiras com revolvimento periódico até atingirem graus de umidade próximos a 11%. Em seguida as amostras foram beneficiadas e de cada parcela foram separadas quatro amostras de 50 grãos, pesadas, imersas em 75 ml de água destilada, à 25°C por 3,5 horas, seguida de leitura em condutivímetro elétrico, expressando os resultados em $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$. Para cada estádio de maturação foram obtidos os seguintes valores médios de condutividade elétrica: verdes, $149,24 \mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$; verde-cana, $105,72 \mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$; cereja, $76,62 \mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$; passa, $79,60 \mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$; e seco, $76,04 \mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$. A análise estatística dos dados indicam que os frutos colhidos nos estádios verdes e verde-cana foram significativamente inferiores, uma vez que quanto maiores os valores de condutividade elétrica, piores as qualidades da bebida. Os resultados confirmam a necessidade de iniciar a colheita com a menor porcentagem possível de frutos verdes, visando preservar a qualidade do café.

AVALIAÇÃO DE PROGÊNIES DE CAFÉ *Coffea arabica* “Icatú” QUANTO A CONDUTIVIDADE ELÉTRICA DO EXSUDATO NA QUALIDADE DA BEBIDA

¹Prete, C.E.C.; ²Sera, T. e ¹Fonseca I.C.B.

¹UEL,

²IAPAR

Visando relacionar linhagens promissoras de café cv. Icatú quanto a qualidade avaliada indiretamente pelo teste de condutividade elétrica, realizou-se este trabalho. As amostras foram obtidas de um ensaio de competição de 23 progênes de café “Icatú” instalado no instituto Agrônômico do Paraná/Londrina, colhidos no mês de julho de 1993. Como testemunha padrão de qualidade utilizou-se o café cv. Bourbon Vermelho. As amostras foram colhidas em peneira, descascadas para retirada da polpa, obtendo assim cerejas descascadas, que foram secas em terreiro até atingirem graus de umidade próximo de 11% b.u. Cada parcela foi beneficiada em moinho para amostras, e os grãos de café obtidos foram pesados, imersos em 75 ml de água deionizada (no interior de copos de plásticos de 180 ml de capacidade) e colocadas em ambiente a 25°C por 3,5 horas. Após este período as amostras foram submetidas a leitura da condutividade elétrica, expressando os resultados em $\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$. A maioria, 22 linhagens não diferiram entre si e com a testemunha Bourbon Vermelho, sendo que a linhagem Icatú nº 20 apresentou o menor valor de condutividade elétrica merecendo maiores estudos para confirmar suas características superiores.

QUALITY IMPROVEMENT IN COFFEE OIL USING ACCELERATED SOLVENT EXTRACTION (ASE)

J.S.S.Pinto¹, F.M. Lanças¹, S.L. Nixdorf¹, P.L.C. Oliveira².

¹Universidade de São Paulo, Instituto de Química de São Carlos, C.P. 780, 13560-970, São Carlos, SP, Brazil. E-mail: jsspinto@mailcity.com

²Companhia Cacique de Café Solúvel SA - C.P. 824, 86001-970, Londrina, PR, Brazil.

Coffee oil, obtained by mechanical pressing from the roasted coffee beans, is a natural product with high commercial value added. The main application for this oil is to enhance the aroma in the instant coffee industry, as well as, in the flavour and fragrances field. As a “top-line” product, it must attend to some specifications to be able to be exported. Determination of the oil content, in coffee beans, is one of these requirements. The contents knowledge is necessary not only to fulfill the specification, but also to give, with a good approach, a parameter to preview the yield of coffee oil extraction in the industrial process. While production depends on laboratory results, the sooner the process is started the better. Accelerated solvent extraction (ASE) comes to fit this need. Current official methodology adopted for raw coffee oil contents is described by the AOAC, using soxhlet for 8 hours with 150mL of Petroleum Ether as solvent. The ASE is a new extraction procedure, that uses organic solvents at high pressure (1500-2000 psi) and temperature above the boiling point (50-200°C). The aim is to perform a solid sample product extraction quicker and less solvent consuming, compared to traditional methods. An ASE system was constructed consisting of one pneumatic pump, wherein the solvent is placed and pressurized directly with nitrogen (or any other inert gas), different sizes stainless steel extraction cells with filters; valves; oven and connections. The pressurized solvent percolates the sample disposed in cell producing material extraction. Comparison made using ASE and AOAC methodology showed equivalent results with reduction in solvent consumption (30mL), as well as, in analysis time, which now takes 15 minutes to carry out the extraction.

THE USE OF GENETIC RESOURCES FOR COFFEE CUP TASTE IMPROVEMENT

Ky¹ C-L, Louarn² J, Akaffou² S, Guyot³ B, Chrestin H, Charrier⁴ A, Hamon¹ S & Noirot¹ M.

¹GeneTrop Laboratory, Centre IRD (ex ORSTOM) of Montpellier, BP5045, 34032 Montpellier Cedex, France, ²Coffee Breeding Station of IRD, BP434, Man, Côte d'Ivoire, ³Technology, ⁴ENSAM

Abstract : Our purpose was to investigate an interspecific cross between two diploid species *C. pseudo-zanguebariae* (PSE) et *C. liberica dewevrei* (DEW). These species were selected for their differences concerning the main biochemical compounds implied in the cup taste quality : caffeine, chlorogenic acids, sucrose, trigonelline, amino-acids and lipids. Parental species, F1 and back-cross hybrids were evaluated for most of these traits as well as for seed weight, fructification time and fertility. Major genes were emphasised for some traits as the absence of caffeine and mozambioside and the fructification time. Quantitative inheritance (additivity and environmental effects) was also studied for all these traits. In addition, more than 190 molecular markers, mainly AFLP, were used to obtain a genetic map of the [(PSExDEW)xDEW] backcross. Many QTLs (quantitative trait loci) were highlighted. Consequences of these results on coffee cup taste improvement of *C. canephora* are discussed as well as for the development of the assisted selection by markers and the possibilities of improvement by transgenesis.

MYCOTOXIGENESIS IN GRAINS CRITICAL POINTS AND PREVENTION

J. LE BARS ET P. LE BARS

Laboratoire de Pharmacologie - Toxicologie I.N.R.A. ; 180 chemin de Tournefeuille; BP 3 ; 31931 Toulouse cedex 9; France

Tel. + 33 (0) 5 61 28 51 54 Fax. + 33 (0) 5 61 28 53 96

Mycotoxins are toxic secondary metabolites produced by fungi. These toxins are low molecular weight compounds derived from polyketo-acids, terpenes or amino-acids. A toxin can be synthesized by a diversity of fungal species. The term « toxigenic fungal species » means a species for which certain strains can produce, at least under certain conditions, one or several toxic metabolites. Depending on the biology of the fungus and ecological parameters (substrate, hydro-thermic conditions, ...), toxigenesis can occur in the field (i.e. alcaloids from endophytic or parasitix fungi) or during peri-harvest period (i.e. fumonisins from *Fusarium moniliforme*), or during storage (i.e. aflatoxins from *Aspergillus flavus*). Moreover, the contaminating toxin can be stable (i.e. aflatoxins, ochratoxin A, ...) or instable in certain substrate and / or with thermal treatment (i.e. patulin, citrinin, ...). So many parameters have to be considered in the mechanism of a mycotoxic contamination of a commodity. Ochratoxin A, the main reported mycotoxin in green, roasted and soluble coffee, will be discussed all along the chain from the field to the final product, in order to determine, in collaboration with agricultural and technological experts, the appropriate moment and the fate of actual contamination and, as a consequence, effective measures for prevention and obtaining end products without mycotoxin.

ORGANOLEPTIC PROPERTIES OF ESPRESSO COFFEE AS INFLUENCED BY COFFEE BOTANICAL VARIETY

Marino Petracco

Illycaffé S.p.A., via Flavia, 110 - Trieste, Italy

Espresso is a way to enjoy coffee, which is gaining larger and larger popularity worldwide. The cup produced by this brewing method contains a beverage with a high concentration of sensorially active substances: special care must therefore be devoted to prevent and to eliminate defects from the raw material. Moreover, attention should be paid to the variables tending to affect the sensory balance appreciated by consumers. Little is known about their influence on Espresso beverage quality, and genetic parameters are often neglected to the benefit of local traditional cultivars. Coffee improvement programs relying on hybridisation did focus so far essentially on agronomic traits like increased yield and resistance to diseases. Strong market demand for quality coffee has now directed attention to breed for new varieties with enhanced aroma and taste. The experimental work outlined in this paper describes how a tool for sensory evaluation of breeding products must consider each of the five human senses which, with the possible exception of hearing, are involved in the appreciation of an Espresso cup. Resulting figures indicate that the botanical origin of *Coffea arabica* plants is indeed important to get the best industrial outcome in the production of coffee beans appropriate for Espresso preparation.

ESTUDOS PRELIMINARES SOBRE FUNGOS PRODUTORES DE OCRATOXINA A EM CAFÉ BRASILEIRO.

Urbano, G.R.¹; Vicentini, M.C.²; Taniwaki, M.H.² & Leitão, M.F.F.¹.

¹Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP-Campinas-S.P.

²Instituto de Tecnologia de Alimentos-ITAL-Campinas-S.P.

O café é um produto agrícola de extrema importância econômica para o Brasil, que ocupa a posição de maior produtor e exportador mundial. Devido a sua importância, o café brasileiro está sendo estudado quanto à ocorrência de ocratoxina A (OA), que é uma potente micotoxina com propriedades nefrotóxicas e carcinogênicas, produzida principalmente pelo fungo *Aspergillus ochraceus* neste grão. Os objetivos principais deste trabalho foram: verificar a ocorrência desse fungo em café e analisar a presença desta toxina em amostras de café coletadas durante a safra de 1998, em dois locais no estado de São Paulo e um no Norte do Paraná em duas épocas diferentes, no início e no final da safra. O café foi coletado em diferentes estágios de maturação e processo: frutos maduros (cereja), frutos secos (passas) no pé, frutos secos (passas) caídos no chão e frutos em processo de secagem nos terreiros, além de cafés armazenados nas tulhas. À partir dessas amostras foram realizadas as seguintes análises: Contagem Total de Bolores e Leveduras, após 5 a 7 dias à 25°C, seguindo Metodologia Oficial, usando meio de cultura ágar Dicloran Glicerol 18% (DG18) com cloranfenicol e o Plaqueamento Direto (PITT, 1992) também em DG18 com cloranfenicol, e após incubação por 5 a 7 dias à 25°C os resultados foram expressos em porcentagem de sementes infectadas. Em todas as amostras encontrou-se níveis de 10^7 UFC/g na contagem total, portanto uma alta contagem microbiana e encontrou-se 100% de sementes infectadas no Plaqueamento Direto. Também foram isoladas várias cepas de *A. ochraceus*, produtores de ocratoxina A dessas amostras, mas por outro lado, na análise de determinação de ocratoxina A por HPLC (NAKAJIMA et al., 1990) nas amostras coletadas de tulhas e terreiros, detectou-se níveis abaixo dos estabelecidos pela União Européia para exportação, que estão em torno de 4µg/kg.

INCIDENCIA DE FUNGOS EM CAFE

Taniwaki, M.H. , Banhe, A.A. & Iamanaka, B.T.

Instituto de Tecnologia de Alimentos – ITAL Av. Brasil, 2880 –
Campinas, SP

Fone (019) 241-5222 Fax (019) 242-4585

No presente trabalho foi realizado um estudo minucioso de todos os fungos que ocorrem no café, desde a árvore até a armazenagem, a fim de verificar em qual etapa a presença de fungos produtores de ocratoxina ocorre. Amostras de café, variedade arábica, provenientes da região de Patrocínio no Cerrado Mineiro, foram analisadas quanto a presença de fungos nos seguintes estágios do café: na árvore, colhido no pano, colheita de varreção, café no lavador, café bóia, no terreiro (1, 2, 3 e 4 dias), na tulha (30 dias). A análise dos fungos da casca e do grão de café foram realizados nos meios Dicloran Glicerol 18% (DG18) e Dicloran Rosa de Bengala Cloranfenicol (DRBC). Todos os fungos isolados foram identificados a nível de espécie. Espécies de *A. ochraceus* foram testadas quanto a capacidade de produzir ocratoxina A em meio de cultura e os extratos foram analisados por cromatografia de camada delgada, juntamente com um padrão de ocratoxina.

Os fungos mais comumente, encontrados foram: *Alternaria alternata*, *Fusarium incarnatum*, *Cladosporium oxysporum*, *Penicillium aurantiogriseum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Khushia oryzae*, *Phoma sorghina*, *Mucor racemosus* e leveduras. O café bóia apresentou o maior índice de contaminação fúngica, principalmente, pela espécie de *M. racemosus*, isto provavelmente pela alta umidade que o café apresenta neste estágio. *M. racemosus* é um bolor invasivo e necessita de uma alta umidade para se desenvolver. Provavelmente, com o tempo de armazenamento do café, os fungos xerofílicos como *Eurotium*, *Aspergillus* e *Penicillium* se tornarão mais comuns. *A. ochraceus* produtor de ocratoxina A foi isolado de apenas uma amostra de café na fase da colheita com o pano. Teste de produção de ocratoxina A demonstrou que esta cepa pode produzir esta toxina em café com 100% de umidade relativa. Mais estudos com a cepa toxigênica estão sendo realizados, a fim de conhecer melhor em que condições o fungo produz a toxina no café.

MONITORAMENTO DA QUALIDADE DO CAFÉ TORRADO E MOÍDO NO ESTADO DE SÃO PAULO

Mori, E. E. M.; Anjos, V. D. A.; Bragagnolo, N.

Instituto de Tecnologia de Alimentos-ITAL

Av. Brasil 2880, C. Postal: 139

CEP: 13073-001-Campinas-SP

Avaliar a qualidade do café torrado e moído visando a melhoria dos processos industriais, desde a seleção das matérias-primas à correta escolha dos equipamentos e padrões de industrialização. Cerca de 100 amostras de café torrado e/ou moído de indústrias paulistas e algumas de outros estados, foram analisadas quanto a umidade, granulometria, cor e análise sensorial da bebida. O teor de umidade foi determinado por secagem em estufa, a granulometria em agitador de peneiras, a cor em espectrofotômetro Comcor e sistema de discos AGTRON e a análise sensorial com equipe de julgadores treinados avaliando características de fragrância, aroma, defeitos, acidez, amargor, sabor, sabor residual, corpo e qualidade global, por meio de uma escala linear não estruturada de 10 cm. Com base nos resultados de todas as amostras analisadas chegou-se às características que diferenciam um café de alta qualidade e de baixíssima qualidade. O melhor café seria portanto aquele nota 10 nos atributos fragrância, aroma, sabor, sabor residual, corpo e qualidade global, livre de defeitos, acidez baixa e com amargor desejável. O teor de umidade variou de 0,3% a 4,0%, a cor que define o ponto de torração variou de “moderadamente escuro” a “moderadamente claro”, a distribuição média das partículas nas peneiras número 16 foi de 6%, na 20 de 18%, na 30 de 30%, na 40 de 40%, na 50 de 5% e no fundo 1%. A análise sensorial permitiu classificar as amostras em qualidade global inferior, média e superior. Chegou-se a conclusão de que o principal fator de qualidade é a matéria-prima. A indústria tem que definir o seu “blend” e, mantê-lo padronizado. Outros aspectos importantes que influenciam na qualidade do produto, referem-se aos equipamentos e aos processos na torrefação. Cabe às indústrias pesquisarem o mercado e saberem o que há de novo em termos de equipamentos e quais as novas tendências. A embalagem à vácuo deverá crescer substancialmente, apesar de hoje 90% dos cafés analisados serem embalados na tradicional “almofada”.

AQUISIÇÃO DA TOLERÂNCIA À DESSECAÇÃO NOS DIFERENTES ESTÁDIOS DE MATURAÇÃO DE SEMENTES DE CAFEIEIRO

Brandão JR., Delacyr Da Silva¹; Vieira, Maria Das Graças Guimarães Carvalho²; Hilhorst, Henk³; Bernardino Filho, José Roberto⁴.

¹Aluno de Doutorado do Curso de Fitotecnia – UFLA

²Professora Titular do Departamento de Agricultura – UFLA

³Professor de Fisiologia de Sementes - Wageningen Agricultural University – Holanda

⁴Aluno de Graduação do Curso de Agronomia -- UFLA

O presente estudo foi realizado no Laboratório de Análise e Biotecnologia de Sementes da Universidade Federal de Lavras (MG) objetivando identificar mudanças na germinação e no vigor, durante o processo de secagem de sementes de cafeeiro, de diferentes estádios de maturação, visando caracterizar às diferenças de tolerância à dessecação bem como selecionar sistemas enzimáticos que permitam verificar variações de perfis eletroforéticos em sementes de café com diferentes níveis de tolerância a dessecação. Foram utilizadas sementes de café da cultivar Catuai vermelho oriundas de frutos nos estádios verde (chumbão), verde cana e cereja. A secagem foi efetuada em estufa de circulação forçada regulada à temperatura constante de 30° C, até as sementes atingirem os graus de umidade de 13, e 50%. Para análise eletroforética foram utilizados os sistemas fosfatase ácida (ACP), esterase (EST), catalase (CAT), peroxidase (PO) e superóxido dismutase (SOD). Os resultados obtidos mostram existir uma correlação entre estágio de maturação e tolerância à dessecação em sementes de cafeeiro. Com o armazenamento, observa-se uma queda acentuada da germinação e vigor das sementes oriundas de frutos verde e verde cana com graus de umidade na faixa de 50% quando comparadas com aquelas que foram secas ao nível de 15% de umidade ou daquelas oriundas de frutos cerejas (50% ou 15% de umidade). Foram detectadas variações nos perfis isoenzimáticos com o estágio de maturidade e com grau de umidade das sementes de cafeeiro, podendo serem utilizados como marcadores fisiológico da qualidade das sementes.

EFEITO DE ADUBAÇÕES FOLIARES EM PRÉ E POS FLORADA NA PRODUÇÃO E QUALIDADE DAS SEMENTES DE CAFEIEIRO.

Lima, D.M.¹; Cunha, R. L. da²; Von Pinho, E.R.V.³; Vieira, M.G.G.C.³; Guimarães, R.J.³; Monteiro, J. V.⁴

¹Eng Agr. Ms.- Bolsista BIOEX/ CNPq - Universidade Federal de Lavras

²Pesquisador da EPAMIG

³Eng.Agr Doutores-Professores do Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras - MG

⁴Aluno de graduação - Universidade Federal de Lavras

O uso de sementes de alta qualidade é um dos fatores primordiais para o sucesso da produção e, entre outros, a adubação é um dos fatores que afeta esta característica. Deste modo, este trabalho tem por objetivo avaliar a influência de nutrientes aplicados em pré e pós florada na produção e qualidade das sementes de cafeeiro. O experimento foi instalado em uma lavoura da cultivar Acaiá, no Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras. O delineamento experimental foi em blocos casualizados com 15 tratamentos e 4 repetições. Os elementos: B, Ca, K, Zn, N, Cu, Mo, Mn e Mg foram aplicados de única vez após a florada principal ou em 2 pulverizações antes e após esta florada. Além da produção, foi avaliada a qualidade das sementes pelos testes de germinação, condutividade elétrica e análise de atividade de isoenzima pelo sistema PAGE para a Esterase, Fosfatase Ácida, Superóxido Dismutase e Catalase. De uma maneira geral, os tratamentos que receberam as duas adubações foliares resultaram em maiores produções; sendo a aplicação de Boro + Cálcio em pré e pós florada o que apresentou maior produção. Não se constatou efeito dos tratamentos na porcentagem de germinação das sementes e condutividade elétrica. Os marcadores bioquímicos selecionados não detectaram diferenças entre os tratamentos.

CARACTERIZAÇÃO DAS ÁGUAS RESIDUÁRIAS DA LAVAGEM E DESPOLPA DE FRUTOS DO CAFEIEIRO

Matos, A.T.¹; Borges, J.D.² Queiroz, D.M.¹

¹Prof. do Dep. de Engenharia Agrícola/UFV, 36571-000, Viçosa-MG

²Estudante de Engenharia Agrícola/UFV, 36.571-000, Viçosa-MG

Com o objetivo de caracterizar as águas residuárias da lavagem e despolpa dos frutos do cafeeiro, foram coletadas amostras do efluente bruto e das águas tratadas em lagoas anaeróbias sequenciais. Amostras das águas brutas foram coletadas no efluente da lavagem e despolpa dos frutos do cafeeiro e as amostras das águas das lagoas de estabilização foram coletadas a 20 cm de profundidade, próximo à tubulação de saída dos reservatórios. O resultado das análises físicas e químicas indicou que as águas residuárias brutas detêm elevadas concentrações de sólidos totais ($10,6 \text{ g.L}^{-1}$), sólidos em suspensão (88 mL.L^{-1}), DQO (7999 mg.L^{-1}) e DBO (5859 mg.L^{-1}), além de apresentar alta condutividade elétrica ($4863 \text{ }\mu\text{S.cm}^{-1}$). As amostras das lagoas anaeróbias indicaram concentrações de sólidos totais e em suspensão, DBO e DQO muito inferiores às das águas residuárias brutas, o que demonstra a viabilidade de tratamentos biológicos para esses efluentes líquidos. Em vista das altas concentrações de N, P, K nas águas residuárias estudadas (463; 15 e 1206 mg.L^{-1} em águas brutas; 45; 0,6 e 154 mg.L^{-1} , em águas da lagoa anaeróbia primária; 38, ND, e 268 mg.L^{-1} , em águas da lagoa anaeróbia secundária, respectivamente), torna-se recomendável sua utilização na fertirrigação de culturas agrícolas, tais como o próprio cafeeiro. Uso na fertirrigação deve minimizar os impactos do lançamento dessas águas residuárias em corpos hídricos e possibilitar seu aproveitamento agrícola como fertilizante.

SUBMERGED FERMENTATION OF COFFEE PULP EXTRACT USING *VOLVARIELLA VOLVACEA*

¹Fan Leifa, ¹Ashok Pandey, ²Marcos A. Krieger, ¹Carlos R. Soccol

¹Laboratorio de Processos Biotecnológicos, Departamento de engenharia Química, Universidade Federal do Paraná, CEP 81531-970 Curitiba-PR, Brazil

²Departamento de Bioquímica e biologia molecular IOC – Fundação Oswaldo Cruz AV. Brasil 4365 CEP 210445-900 Rio de Janeiro-RJ

Coffee production is an economically important agro-industry in more than fifty countries in the world. While most of the industries adopts the wet processing method, in Brazil, majority of the industries use dry-method and only about 10% of production comes from wet processing. The wet method generates a large volume of liquid waste, causing environmental problems and resulting in loss of organic substance with a lot of sugar and pectin. This work aimed to explore the possible ways for making use of the liquid residue by fermentation of *Volvariella volvacea*. A screening programme was initiated to select a suitable strain of *Volvariella* sp. based on radial mycelial growth and biomass production on the petri plate containing extract of coffee pulp. Liquid fermentation was carried out on the extract for testing the biomass and physiological changes. The strain *V. volvacea* LPB 09, which showed the radial growth velocity as 15.34 mm/day and 35.29 mg biomass/plate in 5 days at 32 °C, was selected for further studies. Under the optimised conditions of pH (5-8) and temperature (28-37°C), mycelial growth and biomass yields were 16.42-17.72 mm/day and 28.99-39.67 mg/plate, respectively. Addition of glucose (10-20 g/L) improved the growth, resulting radial growth velocity as 24.53-25.76 mm/day and biomass yields as 39.32-40.12 mg/plate in 5 days at 32 °C. Studies on the effect of addition of nitrogen showed that the best source of nitrogen was soybean which further improved the radial growth (29.73 mm/day) and biomass yields (53.02 mg/plate). When the medium was supplemented with soy flour at 6 g/L concentration, the radial growth velocity was 27.56 mm/day and biomass was 42.74 mg/plate in 5 days at 32°C.

BIOLOGICAL DETOXIFICATION OF THE COFFEE HUSK USING FILAMENTOUS FUNGI IN SOLID STATE FERMENTATION

DEBORA BRAND¹, ASHOK PANDEY¹, SEVASTIANOS ROUSSOS², M. RAIMBAULT³ AND CARLOS R. SOCCOL¹

¹Laboratorio de Processos Biotecnologicos, Departamento de Engenharia Quimica,

Universidade Federal do Paraná, CEP 81531-970 Curitiba-PR, Brazil

²Laboratoire de Microbiologie ORSTOM, Université de Provence, 132288 Marseille, France.

³Laboratoire de Biotechnologie Microbienne Tropicale, ORSTOM, 34000 Montpellier-France

The coffee husk and coffee leaves are the major industrial wastes of coffee processing plants in Brazil and their disposal in the environment is a serious pollution concern. The coffee husk contains 4.7% protein, 15.4% reducing sugars and 26.5% total sugars. In spite of such nutrient contents, coffee husk is not considered an attractive substrate for bioconversion as it contains toxic components, like caffeine and tannins.

With an aim to improve the biological value of the coffee husk by degrading its toxic components, an attempt was made to study the biological detoxification of coffee husk in solid state fermentation (SSF) using filamentous fungal strains. By the selective screening on an agar medium containing 40g/L coffee husk, three strains of *Rhizopus* sp., which showed good growth (radial growth and biomass production), were chosen for further studies. Two strains belonging to basidiomycetes, viz. *Phanerochaete chrysosporium* were also used for comparative purpose. SSF was carried out in Erlenmeyer flasks and in aerated columns using coffee husk as the substrate. Both the cultures, i.e. *Rhizopus* sp. as well as *P. chrysosporium* grew well on coffee husk. *Rhizopus* sp., however, appeared superior to *P. chrysosporium* as it resulted better caffeine and tannin degradation in relatively shorter period. Under the optimized conditions of substrate pH, initial moisture, inoculum size, temperature and aeration, *Rhizopus* sp. degraded 87 and 65% caffeine and tannins in comparison to 70 and 60%, respectively by *P. chrysosporium*. Results obtained are of great significance as these may open new avenue for coffee husk utilization.

COFFEE HUSK AS SUBSTRATE FOR THE PRODUCTION OF GIBBERELIC ACID BY FERMENTATION

**Cristina M. M. Machado,¹ Braz H. Oliveira,² Ashok Pandey¹
and Carlos R. Soccol¹**

¹Laboratório de Processos Biotecnológicos, Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Paraná (UFPR), CEP 81531-970 Curitiba-PR, Brazil,

²Laboratório de Produtos Naturais, Departamento de Química, UFPR..

Brazil is the largest producer of coffee in the world. During the processing of coffee cherries, several residues such as the coffee pulp (term that includes the cherry peels and the pulp), mucilaginous layer of the seed and the seed husk are removed. These residues represent about 50% of total mass and practically do not find any industrial or useful application. Instead, their disposal is a major environmental concern. These products, however, are rich in organic matter, which could make them suitable for bioconversions processes. An approach for this could be to produce useful products from these residues by cultivationg microbes in submerged fermentation (SmF) or solid state fermentation (SSF). The present work aimed at comparing production of gibberellins (plant hormones) in SmF and SSF utilising coffee husk as the carbon source. Five strains of *Gibberella fujikuroi* and one of its imperfect state, *Fusarium moniliforme* were used for comparison. Inoculum was prepared by growing the cultures in Czapek Dox medium. Fermentation was carried out in 250 ml Erlenmeyer flasks by inoculating the substrate at 10% (v/v for SmF and v/w for SSF) and incubating at 32°C for seven days (for SmF the samples were agitated in a rotatory shaker at 220 rpm). Gibberellins isolation was done by acidifying the fermented mash to pH 2.5 and then extraction with ethyl acetate. Organic layer was separated and analysed by thin layer chromatography, which showed the presence of gibberellic acid (GA₃) in all the samples. Further studies including the quantitation of GA₃ by high performance liquid chromatography, are being carried out.

OPTIMIZATION OF CULTURE MEDIUM FOR PRODUCTION OF VOLATILE COMPOUNDS BY *Pachysolen tannophilus* GROWN ON SOLID COFFEE WASTES

MARLENE SOARES¹, CARLOS R. SOCCOL¹, ASHOK PANDEY¹, R. FONTANA¹ AND PIERRE CHRISTEN²

¹Laboratorio de Processos Biotecnológicos, Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Paraná, CEP 81531-970, Curitiba, Brazil;

²Laboratoire de Microbiologie, IRD, Université de Provence, Marseille, France

Investigations were carried out for the aroma production by the yeast *Pachysolen tannophilus* in solid state fermentation. Preliminary studies on the selection of substrate using coffee husk and coffee husk extract showed superiority of steam treated coffee husk. Process parameters optimisation was carried out using an experimental factorial design. Best results were obtained with the fermentation medium having C/N ratio as 20, initial moisture content of 70% and inoculum size of 10^8 cells/g dry matter. The yeast culture produced a strong alcoholic aroma with fruity flavour (volatile compounds). HPLC analysis of the head-space of the bioreactor revealed the accumulation of 4.0 mmol eq. ethanol/l.g DM of volatile compounds. Ethanol was the most abundant compound in the headspace (56%), but acetaldehyde, ethyl acetate, isobutanol and isoamyl acetate were also produced. When the C/N ratio of the substrate was higher, i.e. 30, the fermentation was slower (maximum production reached after 12 days against 3 days for C/N of 20) but the accumulated volatile attained 7.5 mmol eq. ethanol/l.g DM. In this case, in addition to the compounds produced as above, isobutyl acetate and ethyl-3-hexanoate were also produced by the culture, giving a strong pineapple aroma. Experimental pH (4.7 and 6) and temperature (25°C and 30°C) were not found to have an significance influence on aroma production by the yeast culture. Addition of a salt solution displayed a negative effect on yeast's activity of aroma synthesis. When leucine was added to the medium, a strong banana odour was found with increased amounts of isoamyl alcohol and isoamyl acetate.

THE SCREENING OF FUNGI FOR THE PRODUCTION OF FUNGAL TANNASES IN SOLID STATE FERMENTATION

J. van de Lagemaat, D.L. Pyle and C. Augur

Biotechnology and Biochemical Engineering, Department of Food Science and Technology, The University of Reading, PO Box 226, Whiteknights, Reading, RG6 6AP, United Kingdom

Seven different fungal strains (*Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium*) were grown on an inert carrier (polyurethane foam) soaked in a liquid medium containing tannic acid as the main carbon source. Three fermentations were carried out with the liquid medium containing 1, 5 and 10 % (w/v) tannic acid respectively and the tannase activity was monitored every 24 hours for 7 days. Characterisation of the tannases from the different strains was done by detection of the enzymes in polyacrylamide gels. The majority of the strains produced more tannase in the 5 and 10 % tannic acid fermentations compared to the 1 % tannic acid fermentation. *Penicillium frequentans* showed the highest tannase activity for all 3 fermentations while *Fusarium moniliforme* produced none or very small quantities of the enzyme. The tannase activities and order of productivity of the other strains (*Aspergillus niger*, *Aspergillus phoenicis*, *Aspergillus acculatum* and *Penicillium* V33A25) depended very much on the concentration of tannic acid in the fermentation. The native gels showed 1-3 active bands for the different strains and the molecular weights corresponding to the bands varied from approximately 30,000-180,000 daltons. The enzyme extract of *Penicillium frequentans* gave one clear bond at a molecular weight of approximately 100,000 daltons. This enzyme will probably be used in future work to study its effect on tannin degradation in coffee pulp.

LOMBRICOMPOSTAJE DE LA PULPA DE CAFÉ EN MÉXICO

EDUARDO ARANDA, ISABELLE BAROIS

Departamento de Biología de Suelos, Instituto de
Ecología, A.C., Xalapa, Ver. México E-mail:
isabelle@ecologia.edu.mx

México fué el primer país en proponer y utilizar en 1985, la Ecotecnología del Lombricompostaje para la transformación de la pulpa de café en abono orgánico. En la actualidad, la gran mayoría de los países cafetaleros utiliza este método para la producción de abono orgánico para mejorar la estructura y fertilidad de sus suelos o como sustrato nutritivo para el crecimiento de las plantas. Por sus cualidades y efecto beneficioso, el abono no solo se ha utilizado dentro del propio medio cafetalero, sino también comercialmente en otros cultivos agrícolas, hortalizas y jardinería en general. El presente trabajo expone las diferentes estrategias de cultivo de las lombrices, las especies mas utilizadas, sus diferencias y cualidades, la preparación del sustrato, la inoculación y crianza de las lombrices, así como la separación y cosecha del abono, su preparación, envasado y comercialización. Se presentan ejemplos reales de operación de instalaciones de lombricompostaje de pulpa de café en México, su establecimiento, manejo, volúmenes y balances de materiales, mano de obra implicada, así como usos y destino de los productos obtenidos. Se añaden experiencias recientes de aplicación de las aguas mieles del beneficiado húmedo del café hacia las literas de lombricompostaje, como una alternativa sencilla y eficiente para el aprovechamiento de las aguas residuales de la agroindustria cafetalera. Los resultados de las investigaciones y promoción realizadas, junto con la demanda de desarrollo de similares aplicaciones comerciales hacia otros residuos orgánicos, agroindustriales, pecuarios y del medio urbano, indican que la potencialidad de esta tecnología está solo empezando a ser explorada.

PRODUCTION OF FUNGAL TANNASE IN A MODEL SYSTEM BY SOLID STATE FERMENTATION

Cristóbal Aguilar¹, Christopher Augur², Gustavo Viniegra¹ & Ernesto Favela¹

¹Biotechnology Dept. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, México, D.F.

²Institut de Recherche pour le Développement, IRD-México.

Coffee pulp is considered the most abundant waste and pollutant material produced by the coffee industry. Its utilization as animal feed is limited by presence of antiphenological factors, such as polyphenolic compounds, among which, tannic acid is present in high concentrations (3-4%). Thus, the use of tannase-producing fungal strains to degrade tannins might be an alternative in order to use coffee pulp as animal feed; in addition, tannase production from this material by solid state fermentation (SSF) might be an attractive possibility. The production of tannase by *Aspergillus niger* Aa-20 was evaluated. Several concentrations of tannic acid (12.5, 25, 50 and 100 g/L) were tested in a model system. Column reactors were packed with polyurethane foam impregnated with liquid medium and inoculated with spores. Tannase production was carrying out for 48 h. Tannic acid uptake was measured by the phenol-sulphuric method and extracellular and intracellular tannase activities were assayed by HPLC-chromatography. Tannase activity increased with increasing concentration of tannic acid. Maximum extracellular and intracellular tannase activities (11.35 and 6.95 U/mL respectively) were recorded with 100 g/L of tannic acid. The substrate uptake was 100% at concentrations of 12.5, 25 and 50 g/L, while 74.4% was consumed in the presence of 100 g/L of tannic acid after 48 h of culture. These results suggest that high concentrations of tannins can be removed by SSF and tannase production can be reached in high titers. Future work will evaluate the effect of tannase on the levels of tannins of coffee pulp.

POTENCIALIDADE DE USO DE RESÍDUOS E SUBPRODUTOS DO PROCESSAMENTO AGROINDUSTRIAL DO CAFÉ.

Vegro, C. L. R. & Carvalho, F. C.

Instituto de Economia Agrícola, Av. Miguel Estéfano,
3.900 CEP 04301-903, Tel: (011) 577-0244, Fax:
(011) 276-4062, e-mail celgro@base.com.br,
flavio@hydra.com.br, São Paulo/SP.

As atividades industriais ao longo da cadeia do café dão origem a diversos subprodutos, cuja disponibilidade e utilização são objeto de análise no presente estudo fundamentado em revisão bibliográfica. Na primeira etapa de processamento atuam cerca de 3.000 maquinistas, com atividades de limpeza, descascamento, classificação e rebenefício. No segundo processamento, são incluídas atividades de torrefação e moagem (1.200 firmas) e solubilização de café (11 firmas). Os principais resíduos gerados no primeiro processamento são as cascas; o pergaminho; a polpa e a mucilagem. Do segundo processamento, da produção de café solúvel, obtém-se: borra e resíduos líquidos enquanto para o torrado e moído não se registra a produção de resíduos em quantidade significativa. Os principais usos desses produtos são: a) geração de energia (queima ou transformação em carvão); b) produção de ração para animais; e c) produção de adubo, agente condicionante do solo e compostagem. Tendo a produção de café um caráter regionalizado, os custos de coleta, transporte e armazenamento de resíduos podem inviabilizar um aproveitamento mais amplo.

EVALUACION DE LA MADUREZ DE LA COMPOSTA DE PULPA DE CAFE.

Sánchez,G., R. Marín y E.J. Olguín.

Departamento de Biotecnología Ambiental. Instituto de Ecología. Apdo Postal.1 63. Xalapa, Ver. 91000 México.
email:eugenia@ecologia.edu.mx.

En nuestro Departamento se ha desarrollado una tecnología de bajo costo para el reciclaje de la pulpa de café a través del compostaje utilizando aceleradores orgánicos ricos en nutrientes fácilmente disponibles (cachaza y gallinaza) que reducen el tiempo requerido para su degradación y mejoran la composición del producto final (% de N y P). El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la madurez de la composta de pulpa de café adicionada de aceleradores orgánicos. Se montaron pilas de 2m³ en un beneficio de café ubicado en Zentla, Ver., con la siguiente composición: P1: solo pulpa, P2: 20% cachaza-12% gallinaza y P3:26% cachaza-10% gallinaza. La madurez fue evaluada a través de parámetros de humificación tales como el Índice de humificación (IH) y el porcentaje de ácidos húmicos en la fracción húmica (%AH), la Capacidad de Intercambio Catiónico (CIC) y la relación C/N en fase soluble en agua (C/Na). Los resultados mostraron que hubo una mayor humificación para las pilas conteniendo los aceleradores, ya que el IH se incrementó desde 15.31 a 23.5, mientras que en la pulpa sola se alcanzó un valor de 15 al final del proceso. El contenido de AH fue significativamente mayor en pilas con aceleradores en comparación al obtenido con solo pulpa (76.28% vs 67.13%). En el caso de la CIC, esta aumentó conforme aumentaron los ácidos húmicos, siendo mayor el incremento en las pilas que contenían mayor cantidad de gallinaza (P2) en comparación a la pulpa sola (51.46% vs 1.05%). Finalmente cuando los aceleradores fueron adicionados, la relación C/N al día 102 alcanzó el rango óptimo de madurez (entre 5 y 6), mientras que el valor en la pila control era mayor a 9.

DEGRADACION DE CAFEINA EN PULPA DE CAFE FRESCA Y ENSILADA POR FERMENTACION EN MEDIO SOLIDO: INFLUENCIA DEL TRATAMIENTO DEL SUSTRATO Y EL NIVEL DE INOCULO

¹Romano-Machado J., ¹Gutiérrez-Sánchez G., ²Perraud-Gaime I.,
¹Gutiérrez-Rojas M. y ¹Saucedo-Castañeda G.

¹Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Ave. Michoacán y La Purísima, Iztapalapa, C.P. 09340, A.P. 55 535, México D.F.

²IRD-México, Ciceron 609, Los Morales, C.P. 11530, México D.F.

Se estudió la degradación de la cafeína en la Pulpa de Café (PC) fresca (PF) y ensilada (PE) utilizando la Fermentación en Medio Sólido (FMS). Se probó la pasteurización y diferentes niveles de inóculo en la fermentación. Por este método de fermentación fue posible degradar 95 % de la cafeína en PE y 55 % usando PF con la cepa de *Penicillium* comune (V33A25) sin un tratamiento térmico previo y después de 10 días de incubación. Por otra parte, la pasteurización disminuyó significativamente la microflora nativa lo que evitó contaminaciones en la FMS. La inoculación masiva inicial permitió degradar 56% de la cafeína, en 4 días de FMS; con un nivel de inoculación de 107 esporas/ g de sustrato húmedo. Por otra parte la presencia de actividades enzimáticas tanasa (tanin-acil hidrolasa) y exopectinasa mostró que el hongo es capaz de utilizar además pectinas y taninos presentes en la PC. La conservación por ensilaje así como la combinación de un tratamiento térmico adecuado y el uso de microorganismos seleccionados permite reducir el contenido de compuestos antifisiológicos y antinutricionales en la PC estableciendo su potencial de aplicación en la alimentación animal.

EVALUACION DE LA ACTIVIDAD CAFEINASA DE *Penicillium* sp. V33 EN RELACION AL METODO DE CONSERVACION

¹Gutiérrez-Sánchez G., ¹Romano-Machado J.M., ²I. Gaime P., ²C. Augur y ¹Saucedo-Castañeda G.

¹Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa, C.P. 09340, A.P. 55-535, México;

²IRD-México, Institut de Recherche pour le Développement

Se evaluó la degradación de cafeína por *Penicillium* sp. V33 (PV33)

empleando un medio de cultivo líquido preparado a partir una infusión de

café con una concentración inicial de cafeína de 0.5 g/L. Una vez inducida la actividad cafeinasa de la cepa PV33, se procedió a la conservación de dicha cepa usando cuatro variantes : 1) la cepa fue conservada en medio café agar; 2) en medio pulpa de café agar y en las otras dos variantes las esporas se cosecharon a partir de medio, 3) agar papa dextrosa y 4) café molido agar, y las esporas fueron liofilizadas en los estos últimos dos casos. La cepa fue sembrada tres veces en medio café agar, antes de ser cultivada en el medio café líquido para evaluar su capacidad de degradación de cafeína . Se observó que con el método de conservación 3 y 4 el hongo empieza a degradar la cafeína después de las 36 y 60 horas de cultivo, respectivamente. Sin embargo, con el método de conservación 1, el hongo comienza a degradar la cafeína a las 12 horas, llegando a un 92 % de degradación de cafeína en 72 horas; con el método 2, hubo una degradación del 39 % a las 72 horas, pero es necesario hacer 6 resiembras para alcanzar una degradación similar a la obtenida por el método 2. Los resultados de este estudio, sugieren que la actividad enzimática responsable de la degradación de la cafeína es inducible y una vez expresada dicha actividad es importante conservar la cepa en medio café agar.

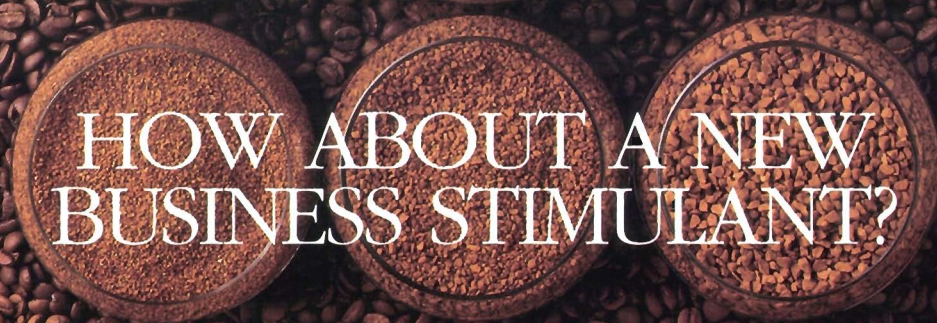
SELECCION DE BACTERIAS LACTICAS ENDOGENAS DE LA PULPA DE CAFE PARA LA FORMULACION DE INOCULANTES DE ENSILAJE

¹Suzuki-López A., ²Perraud-Gaime I., ²Raimbault M. y ¹Saucedo-Castañeda G.

¹Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Ave. Michoacán y La Purísima, Iztapalapa, C.P. 09340, A.P. 55 535, México D.F.

²IRD-México, Ciceron 609, Los Morales, C.P. 11530, México D.F.

El ensilaje controlado de la pulpa de café (PC) puede evitar los problemas de contaminación que provoca cuando no es manejada adecuadamente. En este sentido, el uso de inoculantes de bacterias ácido lácticas (BAL) pueden evitar el desarrollo de las levaduras naturalmente presentes en la cereza. En este trabajo se aislaron, caracterizaron e identificaron bacterias ácido lácticas naturalmente presentes en la PC. Las bacterias ácido lácticas se aislaron de muestras de PC ensilada naturalmente y de PC inoculada con un pie de cuva de PC ensilada naturalmente. La PC provino de un beneficio de café (Arábica) localizado en Coatepec, Veracruz, México, el cual utiliza un despulpador mecánico tipo Penagos, con poco consumo de agua. Se aislaron 80 cepas de bacterias en medio MRS y MRS café. Pruebas bioquímicas y microbiológicas (Gram, catalasa, observación al microscopio, movilidad, acidificación, gas de glucosa, análisis YSI) permitieron seleccionar 20 cepas que respondían a criterios correspondientes a las BAL. Los resultados de los perfiles fermentativos y la identificación de cepas (galerías API) permitieron clasificarlas en homo y heterofermentativas. La utilización de BAL heterofermentativas con ligera producción de ácido acético y propiónico impide el desarrollo de levaduras durante el ensilaje de la pulpa de café. Este resultado establece las bases para el desarrollo de un inoculante adaptado a la conservación de la PC.



HOW ABOUT A NEW BUSINESS STIMULANT?

When it comes to coffee, human appetite is huge and varies more each day. Good for the Iguacu Group, which provides Brazilian coffee and high quality services to the whole world: *spray dried, freeze dried, agglomerated instant coffee, coffee extract, coffee oil, cappuccino, instant coffee and sugar preparation, and green coffee beans.* Great for those who want to take advantage of the vast potential of specialty coffee. We offer the product that best meets your needs. Would you like to talk about new businesses? The cup of coffee now is just the beginning.

MACSOL S.A.
MACSOL - MANUFATURA DE CAFÉ SOLÚVEL

CIA. IGUAÇU DE CAFÉ SOLÚVEL
High Quality Coffees

EXPORTADORA E IMPORTADORA
MARUBENI COLORADO LTDA

LATIN AMERICA
São Paulo Office
Tel.: 55-11-253 4744
Fax: 55-11-285 3375
E-MAIL:
trade@iguacu.com.br

JAPAN
Marubeni Corp.
Tel.: 81-3-5282-6644
Fax: 81-3-5282-7372
E-MAIL:
tokb921@marubeni.co.jp

USA AND CANADA
Marubeni America Corp.
Tel.: 1-212-450 0560
Fax: 1-212-450 0770

UNITED KINGDOM
Marubeni Europe PLC.
Tel.: 44-171-826 8793
Fax: 44-171-826 8627

EUROPE AND ASIA
Panfoods Co. Ltd.
Tel.: 44-171-680 1828
Fax: 44-171-680 1646
E-MAIL:
panfoods@panfoods.prestel.co.uk

www.iguacu.com.br

PRODUCTION OF EDIBLE MUSHROOM *LENTINUS EDODES* ON THE COFFEE SPENT GROUND

FAN LEIFA¹, ASHOK PANDEY¹, MARCO A. KRIEGER² AND CARLOS R. SOCCOL¹

¹laboratorio De Processos Biotecnologicos, Departamento de Engenharia Quimica, Universidade Federal do Parana, Cep 81531-970, Curitiba-Pr, Brazil.

²Departamento de Bioquímica e biologia molecular IOC- Fundação Oswaldo Cruz Av Brasil 4365 CEP 21045-900 Rio de Janeiro –RJ.

Lentinus edodes is one of the most important edible mushrooms cultivated world-wide. It has excellent organoleptical properties of flavour and aroma, and possesses good nutritional and therapeutically values due to the presence of all essential amino acids required for humans. It also shows antitumoral activity, helps in reducing the cholesterol and strengthening the immunological system. *L. edodes* has been generally cultivated in the trunks of some trees. Recently some reports have appeared on its cultivation on some agricultural residues. Coffee spent ground is a residue obtained in voluminous quantity during the processing of coffee (about 30 millions tons yearly). Its disposal is a serious concern as it causes environmental pollution. We undertook a study to cultivate this valuable mushroom on the coffee spent ground. The strain screening programme involved growing the cultures in a medium containing extract of coffee husk and a strain of *L. edodes* LPB 02 was selected for fructification studies. Spawn for inoculation consisted of sawdust (80%) and rice bran (20%). The substrate (coffee spent ground), mixed with water, was placed in plastic bags and sterilized. Spawn rate of 10% and 50-55% substrate moisture were found as most suitable and it took about 20 days for mycelial growth. First fructification occurred 50 days after inoculation and second after 70 days. Biological efficiency reached 65.35%.

SOLID STATE FERMENTATION AND FRUITIFICATION OF *PLEUROTUS OSTREATUS* ON THE RESIDUES OF COFFEE

Fan Leifa, Ashok Pandey and Carlos R. Soccol

Laboratorio de Processos Biotecnologicos, Departamento de Engenharia Quimica,

Universidade Federal do Parana, CEP 81531-970, Curitiba-PR, Brazil

Coffee is one of the most important beverages of the world. Its production is about 100 millions tons yearly in more than 50 countries. At different stages from harvesting from the plants to the processing and consumption, several residues, viz. coffee leaf, husk and dregs are generated. Due to the presence of compounds like caffeine, tannins, and polyphenols, these organic solid residues (about 300 millions tons produced yearly) show toxic nature and thus have not been utilized beneficially. This has also led the problem of environmental contamination. The edible mushroom *Pleurotus* sp. generally shows good ability of producing fruitbody and simultaneously degrading the toxic substances present in the substrate. In view of this, we undertook a study to produce healthy aliment (mushroom) for human consumption and as ration for animals by growing *Pleurotus* sp. on the residues of coffee. By selective screening on the basis of mycelial growth on the petri plates containing the extract of coffee husk, a strain of *P. ostreatus* LPB 09 was selected for solid state fermentation and fructification studies. Spawn for inoculation was made by using sawdust (80%) and rice bran (20%). When coffee husk was used as the substrate, 10-15% spawn rate was more efficient and it took seven days for full mycelial growth. The ideal humidity for mycelial growth was 55-65% and first fructification occurred after 20 days of incubation. During this period, the biological efficiency reached at 96.5% and the degradation of caffeine and tannins was 85.68% and 56.53%. When coffee leaf was used as the substrate, 10% spawn rate was more efficient and it took five days for full mycelial growth. In this case ideal humidity was between 60-70%. Caffeine and tannins degradation was 48.66 and 79.75%, respectively after 30 days of incubation. When coffee dregs was used as the substrate, the best spawn rate was similar to that of coffee leaves, i.e. 10% but it took six days for total colonisation. Ideal humidity was 48-55% and first fructification occurred 23 days after incubation when the biological efficiency reached 90.35%.

SUBMERGED FERMENTATION OF COFFEE PULP EXTRACT USING *VOLVARIELLA VOLVACEA*

Fan Leifa¹, Ashok Pandey¹, Marcos A. Krieger² and Carlos R. Soccol¹

¹Laboratorio de Processos Biotecnologicos, Departamento de Engenharia Quimica, Universidade Federal do Parana, CEP 81531-970 Curitiba-PR, Brazil.

²Departamento de Bioquímica e biologia molecular IOC- Fundação Oswaldo Cruz Av Brasil 4365 CEP 21045-900 Rio de Janeiro –RJ.

Coffee production is an economically important agro-industry in more than fifty countries in the world. While most of the industries adopts the wet processing method, in Brazil, majority of the industries use dry-method and only about 10% of production comes from wet processing. The wet method generates a large volume of liquid waste, causing environmental problems and resulting in loss of organic substance with a lot of sugar and pectin. This work aimed to explore the possible ways for making use of the liquid residue by fermentation of *Volvariella volvacea*.

A screening programme was initiated to select a suitable strain of *Volvariella* sp. based on radial mycelial growth and biomass production on the petri plate containing extract of coffee pulp. Liquid fermentation was carried out on the extract for testing the biomass and physiological changes. The strain *V. volvacea* LPB 09, which showed the radial growth velocity as 15.34 mm/day and 35.29 mg biomass/plate in 5 days at 32 °C, was selected for further studies. Under the optimised conditions of pH (5-8) and temperature (28-37°C), mycelial growth and biomass yields were 16.42-17.72 mm/day and 28.99-39.67 mg/plate, respectively. Addition of glucose (10-20 g/L) improved the growth, resulting radial growth velocity as 24.53-25.76 mm/day and biomass yields as 39.32-40.12 mg/plate in 5 days at 32 °C. Studies on the effect of addition of nitrogen showed that the best source of nitrogen was soybean which further improved the radial growth (29.73 mm/day) and biomass yields (53.02 mg/plate). When the medium was supplemented with soy flour at 6 g/L concentration, the radial growth velocity was 27.56 mm/day and biomass was 42.74 mg/plate in 5 days at 32°C.

FRUITY AROMA PRODUCTION BY *Ceratocystis fimbriata* GROWN ON SOLID COFFEE WASTES

M. SOARES¹, P. CHRISTEN², M. RAIMBAULT³, C.R. SOCCOL¹

¹Laboratorio de Processos Biotecnológicos, Universidade Federal do Paraná, Brazil.

²Laboratoire de Microbiologie, IRD, Université de Provence, Marseille, France.

³Laboratoire de Biotechnologie, IRD, Montpellier, France.

The purpose of this work is to show the feasibility of using solid coffee wastes for aroma production by *Ceratocystis fimbriata*. Static cultures were achieved in Erlenmeyer flasks by using steam treated coffee husk, supplemented with different glucose concentrations to obtain C/N ratio varying from 15 to 45. For C/N ratio of 15 and 30, a strong pineapple aroma was detected in the headspace of the cultures. Fermentation was more rapid with C/N as 15, showing maximum volatile concentration after 2 days against 12 in case of substrate with C/N as 30. Accumulated total volatiles produced were 6.58 and 5.39 mmol eq. ethanol /l.g DM, respectively. Compounds such as acetaldehyde, ethanol, 2-propanol, ethyl acetate (this representing 80% and 74% of total volatiles, respectively), ethyl isobutyrate, isobutyl acetate, isoamyl acetate and ethyl 3 hexanoate were identified by GC analysis. For C/N ratio of 45, only a weak odour of banana was detected, and total volatile production was poor. Addition of leucine (10 mmol/l) to the substrate with C/N 30, increased the total volatile production (8.81 mmol eq. ethanol /l.g DM), especially for ethyl acetate and isoamyl acetate and a strong banana odour was detected. While the addition of soybean oil did not improve the volatile production, addition of mineral salts drastically decreased their production.

CITRIC ACID PRODUCTION BY *ASPERGILLUS NIGER* IN SOLID STATE FERMENTATION ON COFFEE HUSK

Luciana P.S. Vanderberghe^{1,2}, Ashok Pandey,¹ Jean-Michel Lebeault² and Carlos R. Soccol¹

¹Laboratório de Processos Biotecnológicos, Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Paraná, CEP 81531-970 Curitiba-PR, Brazil.

²Laboratoire de Procédés Biotechnologiques, Génie Chimique, Université de Technologie de Compiègne, 60205-Compiègne, Cedex, France.

Brazil is the largest producer of coffee in the world. Its coffee production during the last year (1997-1998) was estimated to be 18.86 million sacks. Coffee processing generates large quantities of solid residue (coffee husk or coffee pulp depending upon the mode of processing). Presently, coffee husk does not find any application and its disposal is a big environmental concern. It could be interesting to use this substrate for processes for the production of value-added products. Thus, the present work was undertaken with an aim to investigate citric acid production in solid state fermentation (SSF) by cultivating a strain of *Aspergillus niger* on coffee husk. Although SSF offers numerous advantages over submerged fermentation (SmF), in case of citric acid, almost entire quantity is produced by SmF mainly with starch or sucrose based media, using the filamentous fungus (Pandey, 1992, Soccol, 1998, Vandenberghe *et al.*, 1998). Fermentation was carried out with coffee husk, which was mixed with a cassava bagasse hydrolysate, prepared by enzymatic hydrolysis using Termamyl 120L and amyloglucosidase – AMG 200L (Novo). Optimum conditions for the hydrolysis were: 70 µL of Termamyl 120L/100 g of cassava bagasse for 1h at 90°C, pH 6.9, 400 µL of AMG 200L/ 100 g of cassava bagasse for 24 h at 60°C, pH 4.5 and a particle size <0.84 mm. Fermentation media was prepared by mixing coffee husk with the hydrolysate and enriched it with MgSO₄.7H₂O, ZnSO₄.7H₂O and methanol. Initial substrate moisture was 65%. Fermentation was carried out with *A. niger* NRRL 2001 at 26°C for 120 h and Citric acid production reached 12.72 g/kg D.M. showing the possibility of using coffee husk as substrate in SSF.

SELECTIVE HYDROLYSES OF HEMICELLULOSE FRACTION OF COFFEE HUSK FOR PRODUCTION OF SUGARS

A. L. Woiciechowski, Carlos R. Soccol, Ashok Pandey and E. Busato

Laboratorio de Processos Biotecnológicos, Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Paraná, CEP 81531-970, Curitiba, Brazil

Brazil produced about two million tons of coffee during 1994/1995, using mainly the 'dry process' to obtain the grains. The husk (including the pulp) so obtained has no utility and is simply disposed in the environment as a waste product. In view of the richness in organic matter and nutrients, it should be possible to use the coffee husk as substrate in the fermentation processes. However, due to its complex nature, it offers difficulties for microbial attack. One of the possibility to resolve this could be to pre-treat and hydrolyse the husk to obtain smaller molecules (simple sugars) and then to use them as the substrate. The hydrolyses of ligno-cellulosic biomass is generally carried out with wet heat, useful to separate efficiently their basic components. The main goal of this work was to evaluate the hydrolysis of the dried coffee husk to produce simple sugars. testing the temperatures of 100 and 120°C and times of 15, 30 and 60 minutes, trying also acid catalyze. Investigations were carried out to hydrolyse of coffee husk at different temperatures, *viz.* 100 and 120°C for varying time (15, 30, and 60 min). Attempts were also made to investigate the effect of addition of various acids. Hydrolysis was carried out by taking 20% coffee husk (dry wt) in distilled water, which resulted two fractions: one water soluble, composed mainly sugars from the hemicellulose, and a solid fraction comprising non-soluble cellulose and lignin components, etc. Best results (48,18 g/L of reducing sugar) were obtained when the hydrolysis was carried at 121°C for 15 min, without addition of any acid. When phosphoric acid was added in the reaction medium, the best result was 48,95 g/L reducing sugar from the same amount of coffee husk at 100°C for 15 minutes. Further studies are being carried out.

A STRATEGY FOR PRODUCTION AND MARKETING OF EDIBLE MUSHROOMS (*PLEUROTUS*), CULTIVATED ON COFFEE PULP, IN MEXICO

D. Martinez-Carrera, A. Aguilar, W. Martinez, P. Morales, M. Sobal, M. Bonilla

College of Postgraduados in Agricultural Sciences, Campus Puebla, Mushroom Biotechnology, Apartado Postal 701, Puebla 72001, Puebla, Mexico Fax. + 52 22 85 21 62

Fundamental technologies of mushroom cultivation and marketing (spawn preparation, mushroom production, and processing) can be carried out in rural conditions within coffee growing regions. Communities from Cuetzalan, Puebla, Mexico, have shown to be capable of adopting mushroom biotechnology, despite peasant inexperience on cultivation processes and business administration. To achieve this, a sustainable model for rural production of edible mushrooms has been developed, whose social, economic, and ecological advantages are discussed. We present reliable and organized data from a rural mushroom farm, which has been operating commercially on a small scale during six years (1992-1997). About 407,871 Kg of fresh weight substrate (barley straw and coffee pulp) were bioconverted to 34,626 Kg of edible mushrooms (*Pleurotus*), generating around 228,888 Kg of spent substrate which was recycled. Although appropriate regional adaptations are necessary, general criteria can be considered for strain selection, spawn preparation, substrate preparation, spawning, production systems, fruiting, post-harvest processing, and mushroom farm design. This intensive biotechnological process should be promoted as an independent industry connected with regional agricultural activities (i.e., agro-industry), providing enough financial and technical assistance. Associations of coffee growers and mushroom producers may be productive. Mushroom production and processing can be scaled up according to marketing strategies. In a further context, the major contribution of mushroom biotechnology to ecosystem/agricultural system sustainability is connected with the disposal and recycling of agricultural and forestry by-products. In comparison with other agro-industries, mushroom cultivation is also an efficient process for using or converting energy and water into a human food.

PROCESAMIENTO DE FRUTOS DE CAFE POR VIA HUMEDA Y GENERACION DE SUB-PRODUCTOS

Jaime Zuluaga Vasco

Gerente TECOL, Tecnologías Ecológicas Colombianas, Via al Magdalena Km 8 - Cerros de la Alhambra Int. 81, Manizales - Colombia

En Colombia el proceso de beneficio del café se ha hecho tradicionalmente por vía húmeda y este es uno de los factores a los cuales se debe la excelente calidad del café Colombiano. No obstante, en este proceso se consumen grandes volúmenes de agua limpia y se contaminan cantidades equivalentes. La situación actual en la zona cafetera, caracterizada por una deficiencia de agua para las labores de beneficio, la necesidad de procesar cada vez volúmenes más grandes de café cerza y una conciencia creciente sobre los problemas de contaminación, hacen necesario un replanteamiento del manejo del agua y de los subproductos en el proceso húmedo de café. La producción de café, durante los últimos años en Colombia, ha sido del orden de 12 millones de sacos de 60 kilos de café verde, equivalente a 720.000 toneladas. La pulpa y el mucilago, principales subproductos del proceso de beneficio húmedo de café, generan 350.770 toneladas de materia seca. Si estos subproductos no son utilizados o dispuestos convenientemente se convierten en una fuente de contaminación del medio ambiente. Las investigaciones hasta ahora realizadas por los institutos del Café y otras instituciones, permiten plantear el desarrollo de un sistema integral para la valorización, a nivel de finca cafetera, de los subproductos del proceso de beneficio húmedo de café, apoyándose fundamentalmente en la racionalización del uso del agua en el proceso (abolición del agua como vehículo de transporte) y en procesos de fermentación sólida (ensilaje de la pulpa de café, producción de hongos comestibles sobre pulpa de café, cultivo de lombriz roja Californiana utilizando la pulpa de café como sustrato) y el medio líquido (Biodigestión Anaeróbica, en fases separadas, del mucilago disuelto en las aguas residuales del lavado del café fermentado). La aplicación de los anteriores desarrollos permiten reducir ocho veces el consumo de agua necesario para el proceso y producir proteína vegetal (hongos comestibles), proteína animal (lombrices), productos mejoradores de las propiedades físico-químicas y microbiológicas del suelo (lombricompuesto), alimento para animales (pulpa residual del cultivo de los hongos), combustible (biogaz) y productos con propiedades fertilizantes (lodos y efluentes de la digestión anaeróbica). Los procesos biotecnológicos están brindando cada vez más mejores oportunidades para el aprovechamiento integral y rentable de los subproductos de los procesos agrícolas, pecuarios y de producción de alimentos; contribuyendo así a mejorar la rentabilidad de los procesos de producción y evitando la contaminación del medio ambiente.

COFFEE PULP IS A BY-PRODUCT, NOT A WASTE

José R. Ramírez Martínez

Universidad Nacional Experimental del Táchira

San Cristóbal, Edo. Táchira, Venezuela

Coffee pulp has been oftenly considered a waste. Large quantities accumulate at the wet-processing factories causing a serious disposal problem. One way to storage and preserve it is by the process of ensiling under which the ensiled material keeps its nutritive value and can be used or dehydrated following the silo opening. Numerous attempts have been made to use coffee pulp as ingredient in the diet of farm animals. Nutritional animal assays have been successful with some species (dairy cattle, pigs and fish). The use of coffee pulp in their diets could contribute to lower the production costs of milk and meat, especially in coffee-producing developing countries.

BIOTECNOLOGIA EM PLANTAS DE *Coffea sp.*

Pryscilla Menarin Dzazio¹; Adriana Van Santen²; Adriana Shimandeiro²; Ricardo Antonio Ayub³

¹Eng.º Agrônoma, Estudante de Mestrado, UFPR.

²Bolsistas de Iniciação Científica CNPq, UEPG.

³Eng.º Agrônomo, Dr., Professor adjunto, Bolsista do CNPq, Departamento de Fitotecnia, UEPG, Praça Santos de Andrade, s/n, CEP 84010330, Ponta Grossa, PR, Email: rayub@uepg.br.

O café é uma cultura de grande importância econômica. O aumento da sua produtividade, bem como a melhoria da qualidade da bebida se faz necessário frente as novas demandas da economia globalizada. A biotecnologia, através de técnicas de cultivo *in vitro* e da inserção de genes em plantas, vem contribuindo para que avanços sejam alcançados em várias espécies. Este trabalho visa apresentar uma revisão dos atuais conhecimentos da biotecnologia aplicada ao melhoramento do cafeeiro. O estudo iniciou-se nos anos 70, através do cultivo *in vitro* de embriões somáticos de *C. canephora* (STARITSKY, 1970). No café são citadas duas maneiras de cultivo *in vitro*: a micropropagação e a embriogênese somática (direta e indireta), tanto em meio sólido como em meio líquido pela obtenção de suspensões celulares. A micropropagação é importante na multiplicação de genótipos excepcionais. Já a embriogênese apresenta-se com um técnica conjunta ao trabalhos de transformação genética de plantas, onde a transferência de genes pode ser feita via *Agrobacterium sp.* (SPIRAL *et al.*, 1993; FENG *et al.*, 1992); via biobalística utilizada por BOXTEL *et al.* (1993), que avaliou a expressão transiente do GUS (β -glucuronidase) em diferentes genótipos de *C. arabica*, *C. canephora* e Arbusta; e a eletroporação utilizada por BARTON *et al.* (1991), para transformar protoplastos de *C. arabica* pela introdução de genes resistentes a kanamicina. Sendo assim, a inserção de genes resistentes a insetos, herbicidas, doenças, uso da macho esterilidade para a produção de híbridos F1, dentre outros, pode contribuir para a melhoria do café.

BIOTECHNOLOGY FOR GENETIC IMPROVEMENT OF INDIAN COFFEE

H.L. Sreenath

BIOTECHNOLOGY CENTRE, UNIT OF CENTRAL COFFEE RESEARCH
INSTITUTE COFFEE BOARD, MANASAGANGOTTHRI, MYSORE - 570 006,
KARNATAKA, INDIA e-mail: tisscult@giasbg01.vsnl.net.in

For India, a developing country, coffee earns around 450 million dollars in foreign exchange which is very important for the economy. Due to sustained research efforts of Central Coffee Research Institute (CCRI), the production and productivity of Indian coffee has improved steadily during the last five decades. However, further intense research efforts are needed to make the Indian coffee industry more vibrant to face the challenges of the next millenium. Biotechnology is identified as a thrust area for meeting these challenges. In India, research efforts on coffee biotechnology are focussed on micropropagation, anther culture, embryo rescue, endosperm culture, protoplast culture, genetic transformation, marker aided selection and *in-vitro* preservation. Research efforts at CCRI have resulted in successful plant regeneration through somatic embryogenesis in more than 20 selections of *C. arabica* (arabica) and *C. canephora* (robusta). Hardening procedure has been evolved for micropropagated plants. Large scale field trials of micropropagated plants is taken up using the 3 selections viz., Cauvery, Sln.9 and CxR and trial plots of tissue cultured plants are established in different agroclimatic zones. Plant regeneration is achieved from the apical bud and nodal explants, but further refinement of this technique is required for commercialization. For the first time in any plant species, plant regeneration is achieved from integument tissues in the CxR cultivar. Protocols have been optimized for direct and indirect plant regeneration from embryo culture. Plants derived from embryo culture of interspecific crosses between cultivated *C. canephora* (robusta) and 3 indigenous wild species, viz., *C. bengalensis*, *C. travancorensis* and *C. wightiana* have been established in the field. Plant regeneration is achieved for the first time from the anther culture in the diploid CxR cultivar of coffee. Plant regeneration is achieved from endosperm cultures of *C. arabica* (S. 2803) which is again a first achievement for any coffee species. Zygotic embryos of *C. arabica* have been preserved for 2 years under slow growth conditions and successful cryopreservation of zygotic embryos is achieved in two species. Protocols have been developed for protoplast isolation from embryogenic calli in two species. Initial success is achieved in developing DNA markers and genetic transformation. These programmes are aimed at developing molecular markers linked to leaf rust resistance, engineering leaf rust resistance with antifungal genes, isolation of genes for leaf rust resistance, using Bt genes to combat major pests and isolating caffeine degradation genes for manipulation of caffeine content in the beans.

INTERSPECIFIC FUSION OF PROTOPLASTS IN *COFFEA*

Cordeiro, AT¹; Zambolim, L²; Pétiard, V³; Spiral, J³.

¹DBV/UFV,

²DFP/UFV: Av. P.H. Rolfs, s/n - 36571000 - Viçosa-MG/Brasil

³CRN - 101, Av. Gustave Eiffel, 37390 - Notre Dame d'Oé, France

Introgression of nematode resistance from *Coffea canephora* cv. Apoatã was attempted in diploid (DH₃) and tetraploid (Catimor and Catuai Amarelo) *C. arabica* genotypes by protoplast fusion to evaluate the feasibility of interspecific protoplast fusion as a tool in the parasexual improvement in *Coffea*. Protoplasts were isolated from embryogenic cell suspensions initiated from leaf explants-derived friable embryogenic calli. The kinetics of growth and protoplast yield of Apoatã and DH₃ cell suspensions was evaluated at different intervals of subcultures and conditions of enzymatic digestion of the cell wall of their small cell aggregates. Investigations concerning selection of protoplast heterofused-derived cell aggregates were also accomplished. Immediately to the subculture, Apoatã and DH₃ cell suspensions showed a typical sigmoidal growth curve. Coincidentally, the lowest protoplast yields were observed for post-subculture intervals above the inflection point. High protoplast yields were achieved when the two pectinases were combined to cellulase, at the highest tested concentrations. The twelve protoplast culture media tested did not allow any distinction between parental protoplasts Apoatã and DH₃, at microcalli growth stages. Alternatively, the metabolic inhibitors iodoacetamide and rhodamine, at the concentrations 2 and 0.9 mM, respectively, were effective in inhibiting microcalli formation from cultured parental protoplasts. The inhibitors allowed the accomplishment of 23 independent interspecific electrofusion assessments, whose products led to the development of embryogenic differentiation. Further work will be carried out in order to characterize the putative heterofused regenerants and to examine the potential of somatic hybridization as a tool for parasexual improvement in *Coffea*.

APPLICATIONS OF BIOTECHNOLOGY IN THE GENETIC IMPROVEMENT OF COFFEE IN COLOMBIA.

German Moreno, Myriam de Pena, Ricardo Acuna, Maria Eugenia Aponte, Juan Carlos Herrera, Diana Molina, Alvaro Gaitan, Marco Cristancho, Pilar Moncada and Gabriel Cadena.

CENICAFE, Chinchiná, Colombia.

Genetic improvement in coffee in Colombia has been in charge of Cenicafe and has been developing for around 60 years, in which the results obtained have become answers to the main problems of colombian coffee culture. Advances made during the last decades in the field of molecular biology have motivated researchers to look for applications of the so called "biotechnologies" in the genetic improvement programs. In coffee cultivation, research related to production has been generally a responsibility of the producing countries, which are economically in development. Colombia can be considered as an example of one of these countries, where the resources for the development of research programs that require mayor investment are limited. This situation introduces the need to do research involving molecular biology, knowingly expensive, only in problems that are real priorities. Biotechnology research in Cenicafe has been evolving for more than 15 years and has as a main objective the development and application of biotechnology methods to obtain improved varieties. The purpose of this presentation is, on one side, to recapitulate on the process followed by Cenicafe to identify and select problems that are priority to the national coffee culture, and appropriate to be investigated with the help of molecular biology, and, on the other side, to report about the principal achievements obtained during the last 10 years in the following areas: a) In vitro regeneration systems, b) Transformation systems, c) Genetic expression systems (genes of interest and promoters) , and d) Molecular marker assisted selection.

CUSTO DE PRODUÇÃO DE SEMENTES HÍBRIDAS DE CAFÉ

Sergio Fadelli¹ & Tumoru Sera²

¹Bolsista do PIBIC/CNPq/IAPAR

²Pesquisador do IAPAR-Instituto Agrônômico do Paraná, Rod. Celso Garcia Cid, km 375 - Fone (043) 376-2295 - Cx. Postal, 1331, 86001-970 - Londrina - Paraná - Brasil

A heterose ou vigor de híbrido é a manifestação de descendentes vigorosos em gerações heterozigotas, quando se realiza cruzamentos entre indivíduos diferentes geneticamente. Do ponto de vista prático, o vigor de híbrido tem interesse quando este é superior ao parental superior. A falta de informações sobre o custo de produção de sementes híbridas de café é um dos principais impedimentos para sua utilização prática na agricultura. O objetivo deste trabalho foi avaliar o custo de produção de sementes híbridas de café para analisar sua viabilidade econômica na agricultura. Utilizou-se três cultivares (Icatu Precoce, linhagem 3282; Mundo Novo, linhagem 376-4 e Catuaí Vermelho, linhagem H2077-2-5-81) como progenitores femininos e duas cultivares (IAPAR 59 e Tupi) como progenitores masculinos resultando na produção de seis híbridos simples. Até o presente foram avaliados, em duas floradas, o nº de flores emasculadas por hora, o nº de flores polinizadas por hora, a % de flores fecundadas que geraram frutos, a % de frutos moca e o tempo gasto na eliminação de frutos e flores não cruzadas dos ramos dos cruzamentos. A primeira florada foi a que apresentou o menor custo por Kg de semente híbrida (US\$32,45/Kg em média) por ser uma florada classificada como grande resultando em maior velocidade de emasculação e polinização. Na segunda florada o custo foi, em média, US\$41,36/Kg devido a menor velocidade de emasculação e polinização em virtude de ser uma florada menor que a anterior. Na primeira florada o Catuaí Vermelho como parental feminino obteve o maior custo por Kg de semente híbrida (US\$33,60/Kg) enquanto o Icatu Precoce obteve o menor custo (US\$29,14/Kg). Na segunda florada o Icatu Precoce foi o que obteve maior custo com US\$41,62/Kg de semente híbrida enquanto o Catuaí Vermelho obteve o menor custo com US\$38,90/Kg.

ESTUDO DA CAPACIDADE COMBINATÓRIA E DA HETEROSE EM CRUZAMENTOS ENTRE LINHAGENS DE CATUAI E HÍBRIDO DE TIMOR, EM CAFÉ.

José Roberto M. Fontes¹, Antônio A. Cardoso¹, Cosme Damião Cruz² Laércio Zambolim³, Ney S. Sakiyama¹, Antônio A. Pereira⁴.

¹DFT/UFV;

²DBG/UFV;

³DFP/UFV;

⁴EPAMIG. 36571-000 - Viçosa-MG.

O estudo da heterose e da capacidade combinatória cresce no melhoramento de plantas e animais, com importância na escolha dos parentais geneticamente divergentes envolvidos, sobretudo quando se deseja identificar híbridos promissores e/ou, a partir deles, desenvolver linhagens superiores. No caso do cafeeiro, um grande número de cruzamentos são realizados mais ou menos ao acaso, sendo a seguir testados para detectar os mais produtivos nas progênes segregantes, sem a importância devida ao aspecto da capacidade combinatória dos progenitores envolvidos. A exploração da heterose em café, por meio da clonagem de híbridos superiores tem sido investigada. Este trabalho teve por objetivo estimar a capacidade de combinação geral e específica, entre linhagens de Catuai e descendentes do Híbrido de Timor, e a heterose nos híbridos F1. O material utilizado faz parte dos Campos de Seleção de Híbrido, do Programa de Melhoramento UFV/EPAMIG. Foi realizada uma análise descritiva a partir dos dados das quatro primeiras colheitas; sendo que alguns híbridos foram avaliados até a décima colheita. Tem-se buscado a utilização de marcadores moleculares para confirmação da natureza híbrida das melhores progênes. A grande maioria dos híbridos apresentaram produções superiores às testemunhas. Aproximadamente 14% dos híbridos, quando analisada a produção média no biênio, apresentaram heterose superior a 100%, chegando a 179%. Na análise das produções acumuladas, a maioria dos híbridos apresentaram produções inferiores à média dos progenitores. A heterose calculada com base na produção acumulada das melhores plantas, apresentou valores de até 477%; sendo que 60% das plantas apresentaram heterose acima de 200%. Para a capacidade geral de combinação, destacaram-se as linhagens: UFV2144-35 e UFV2145-113, de Catuai Vermelho, e UFV445-46 e UFV378-33, de Híbrido de Timor. No estudo da capacidade específica de combinação, os cruzamentos UFV2144-36xUFV439-2, UFV2144-260xUFV439-2, UFV2144-35xUFV435-1 e UFV2145-113xUFV441-1 resultaram em melhores produções nos primeiros quatro, seis, oito e dez anos de colheita, respectivamente.

CLONING AND EVALUATION OF GENE PROMOTERS IN *Coffea spp.*

Alvaro Gaitán¹ and Herb Aldwinckle²

¹Coffee Breeding and Biotechnology, Colombian National Center of Coffee Research (CENICAFE).

²Department of Plant Pathology-Geneva campus, Cornell University.

This research intended to initiate the study of gene promoters in coffee as part of a biotechnology program carried out at CENICAFE. Comparative analyses of constitutive and defense-inducible gene sequences in the GenBank suggested that promoters in *Coffea spp.* may contain novel DNA sequences, since significant homology was found only among exon sequences and not in promoters or introns. The 5' end of the homologous coding regions of the PAL and α tubulin genes of the Timor Hybrid were cloned using a modified "Touchdown" PCR with primers from consensus sequences. To clone the promoter regions, these probes were used to identify positive PCR products from Unpredictably Primed PCR (UP-PCR) reactions. A putative promoter of the α tubulin gene of the Timor Hybrid was cloned, which did not show any similarity to corresponding promoters in other plants. A novel putative PAL promoter from *C. arabica* was also cloned by screening a genomic library. Afterwards, constructs were made with different promoter sequences controlling the *GUS* gene, and transient expression was observed using particle bombardment on tobacco leaves and cell cultures, and on somatic embryos and tissue culture seedlings of *Coffea arabica* cv Colombia. Quantification of promoter strength was done in PEG transformed tobacco protoplasts. Finally, *Agrobacterium* transformed tobacco plants were generated, and MUG assay results indicated that the coffee α tubulin promoter activity was about 5 to 6 times lower than the activity of the double 35SCaMV promoter. These new promoters allow the study and control of gene expression in coffee.

FACTORES QUE AFECTAN LA RESPUESTA EMBRIOGÉNICA DE GENOTIPOS DE *C. ARABICA* VAR. CATURRA X HÍBRIDO DE TIMOR.

Molina V., D. M. Aponte A., M. E., Cortina G., H. Moreno R., G.
Disciplina Mejoramiento Genético y Biotecnología. CENICAFÉ.

Para evaluar la respuesta de Embriogénesis Somática Directa (ESD) e Indirecta (ESI) de diferentes genotipos de café y de acuerdo con ella identificar los más embriogénicos y precoces, y para establecer el efecto de la época de siembra lo mismo que la interacción entre estos factores, se estableció el presente trabajo. Se sembraron 24 experimentos para ESD y 22 para ESI, el diseño experimental fué completamente al azar y en cada experimento se incluyeron de 2 a 4 genotipos. Cada uno de ellos se cultivó como mínimo en dos experimentos. Además, la recolección de explantes en diferentes meses permitió evaluar el efecto de la época de siembra. Las variables estudiadas fueron: Embriogénesis somática de alta, baja frecuencia y total. Los resultados mostraron diferencias en la capacidad embriogénica entre materiales de *C. arabica* var Caturra x Híbrido de Timor, encontrándose genotipos con capacidad embriogénica alta, media y baja, lo cual demuestra la variación de las líneas estudiadas posiblemente por la diversidad de los progenitores. Además, las diferencias en la capacidad embriogénica están relacionadas con el origen genético del material, observándose que hasta la F3 se produce segregación, mientras que los genotipos derivados de una misma progenie F4 producen una respuesta similar, indicando una segregación muy baja en esta generación. También se encontraron diferencias en la respuesta embriogénica dependiendo de la época del año en que se tomen los explantes y la interacción genotipo por mes de siembra fué significativa.

DETERMINAÇÃO DO TAMANHO DO BOTÃO FLORAL PARA A CULTURA DE ANTERAS DO CAFEIEIRO (*Coffea arabica* L.)

Andrade, L.M.C.O.; Pereira, A.B.; Santos, E.; Pasqual, M.
DAG/UFLA, C.P. 37, Lavras-MG: CEP:37200-000.

Em programas de melhoramento de plantas perenes são necessárias várias gerações para se atingir a homozigose. A cultura de anteras em café é de suma importância pois possibilita a redução desse tempo. O objetivo deste trabalho foi verificar a relação entre o tamanho do botão floral e da antera e o estágio de desenvolvimento dos micrósporos para obtenção de plântulas haplóides através da cultura de anteras. Foram utilizados botões florais de 4 cultivares de *Coffea arabica*, sendo: cv. Mundo Novo LCP-37919, Catuaí LCH-2077-2-5-44, Rubi MG-1192 e Icatú LC-3282, pertencentes a coleção "in vivo" da Universidade Federal de Lavras. Os botões florais foram fixados em álcool 70%, e o estágio de desenvolvimento do micrósporo foi analisado através da coloração do mesmo com carmin propiônico a 1%. A análise citológica evidenciou a existência de um sincronismo entre o desenvolvimento da antera, o comprimento do botão floral e os estádios de desenvolvimento do micrósporo. Nas 4 cultivares avaliadas, verificou-se que a maior percentagem de micrósporos apresentando um núcleo central, ideal para a obtenção de plantas haplóides "in vitro", encontra-se em anteras que variam de 4,5 a 5,5 mm de comprimento, presentes em botões florais que variam de 4,5 a 6,0 mm de comprimento.

Bayer



Proteção das Plantas

parceria tecnológica no café



INFLUÊNCIA DOS REGULADORES DE CRESCIMENTO NA CULTURA DE EMBRIÕES “IN VITRO” DA CULTIVAR CATUAÍ VERMELHO LCH 2077-2-5-44.

Andrade, L.M.C.O; Pereira, A.B.; Campos, R.J.C. Pasqual, M.
DAG/UFLA, C.P. 37, Lavras-MG: CEP:37200-000..

A cultura de embriões “in vitro” permite a recuperação de embriões provenientes de cruzamentos interespecíficos, multiplicação rápida do material selecionado e com isso antecipar a época de plantio. Neste trabalho, foi determinada metodologia de cultura de embriões “in vitro” do *Coffea arabica* cv.Catuaí Vermelho LCH 2077-2-5-44, pertencente a coleção “in vivo” da Universidade Federal de Lavras. Especificamente, buscou-se determinar as melhores concentrações dos reguladores de crescimento ANA (ácido naftalenoacético) e BAP (ácido 6-benzilaminopurina). Para isso, foram testadas todas as combinações possíveis entre as dosagens utilizadas, resultando em um fatorial 4x4, disposto em um delineamento inteiramente casualizado. Foram também utilizados modelos de superfície de resposta, onde pode-se determinar as concentrações ideais para as características, número total de brotações, número de brotos maiores que 1cm, número total de folhas, peso da matéria fresca e seca das brotações. Para todas as características avaliadas, observa-se que os melhores resultados foram obtidos utilizando-se BAP na concentração de 7,40 mg/l e ANA na concentração de 1,00 mg/l. Este trabalho participa do programa de melhoramento do cafeeiro da Universidade Federal de Lavras–MG.

INFLUÊNCIA DOS REGULADORES DE CRESCIMENTO NA MICROPROPAGAÇÃO “IN VITRO” DA CULTIVAR CATUAÍ VERMELHO LCH 2077-2-5-44.

Andrade, L.M.C.O.; Pereira, A.B.; Maciel, A.L.R.; Pasqual, M.
DAG/UFLA, C.P. 37, Lavras-MG: CEP:37200-000.

A micropropagação “in vitro”, promove a multiplicação rápida em curto espaço de tempo, sendo importante para cultivares melhoradas de ciclo longo, que possuam pouco material, portanto necessitam serem propagadas rápida e massivamente. O objetivo deste trabalho foi avaliar metodologias de micropropagação para o *Coffea arabica* cv. Catuaí Vermelho LCH 2077-2-5-44, pertencentes a coleção “in vivo” da Universidade Federal de Lavras. Para isso, foi necessário determinar quais as melhores concentrações dos reguladores de crescimento 6-benzilaminopurina (BAP), ácido giberélico (GA_3) e TDZ (N-phenil-N-1,2,3-thiadiazol-5-iluréia). Foram testadas todas as combinações possíveis entre as dosagens utilizadas de BAP X GA_3 e TDZ X GA_3 , resultando em um fatorial 4x5 disposto em um delineamento inteiramente casualizado. Foram também utilizados modelos de superfície de resposta, onde pode-se determinar as concentrações ideais para as características, número total de brotações, número de brotos maiores que 1cm, número total de folhas, peso da matéria fresca e seca das brotações. Para todas as características avaliadas, observa-se que os melhores resultados, para o primeiro experimento, foram obtidos utilizando-se mínimas concentrações de BAP na ausência do GA_3 . Os melhores resultados para o experimento utilizando TDZ e GA_3 foram obtidos quando o TDZ estava na sua dosagem mínima associado a dosagem máxima de GA_3 . Este trabalho faz parte do programa de melhoramento do cafeeiro da Universidade Federal de Lavras –MG.

EVALUACIÓN MORFOLÓGICA Y AGRONÓMICA DE PLANTAS DE CAFÉ REGENERADAS POR EMBRIOGÉNESIS SOMÁTICA.

**JUAN CARLOS HERRERA PINILLA, MARIA EUGENIA APONTE A.
DISCIPLINA MEJORAMIENTO GENETICO Y BIOTECNOLOGIA
CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES DE CAFE –
CENICAFE CHINCHINA, CALDAS – COLOMBIA AA. 2427
MANIZALES. FAX.: (0968) 504723. E- MAIL:
FCJHER@CAFEDECOLOMBIA.COM**

Se presentan los resultados de la evaluación morfológica y agronómica de dos poblaciones de somaclones provenientes de plantas de generaciones F3 y F5 derivadas del cruce entre *Coffea arabica* var. Caturra X Híbrido de Timor. Los somaclones fueron regenerados por las vías de embriogénesis somática directa (ESD) e indirecta (ESI) y se compararon con una población control obtenida a partir de semilla proveniente del mismo árbol donante (SEM). Las plantas fueron sembradas bajo un diseño completamente al azar. Se evaluaron variables morfológicas como: altura, número de nudos, ángulo de inserción de las ramas e índice foliar. La caracterización morfológica incluyó la producción promedio por árbol evaluada a través de dos cosechas, características de grano (% granos vanos, % de granos caracoles y % de grano supremo y tamaño del grano) y resistencia a roya según la escala de calificación propuesta por Eskes & Bragin. El análisis no mostró diferencias significativas para las características de altura, ángulo de inserción de las ramas e índice foliar de las poblaciones de ESD y ESI respecto a las plantas de SEM, pero si para la variable longitud de entrenudos. El estudio del comportamiento agronómico mostró diferencias significantes para las características del grano: % granos vano y % de caracoles, mas no para las demás variables evaluadas incluida la producción. El comportamiento de las diferentes variables fué similar entre las poblaciones analizadas pero su distribución varió de acuerdo con el tipo de árbol donante (F3 ó F5). La estabilidad de los somaclones se discute con respecto a la importancia del sistema de embriogénesis como una vía de regeneración útil en un futuro programa de transformación genética.

A MODEL FOR THE STUDY OF VARIATION INDUCED BY TISSUE CULTURE ON COFFEE.

Fuentes-Cerda, C. F. J., M. Monforte-González, M. Méndez-Zeel, R. Rojas-Herrera¹, J. Mijangos-Cortés and V. M. Loyola-Vargas.

Centro de Investigación Científica de Yucatán. Calle 43, No. 130, Col. Chuburná de Hidalgo, Mérida, Yuc. México. C. P. 97200.

¹Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. Gaveta Postal 1. San José de las Lajas, La Habana. Cuba.

Coffee (*Coffea spp.*) is one of the most important agricultural commodities in the world. *C. arabica* and *C. canephora* are the principal varieties of the genus. Staritsky (1970) firstly described somatic embryogenesis in *C. canephora* in 1970 and in *C. arabica* by Söndal & Sharp in 1977. Both systems are based in the use of growth regulators (auxins and citokynines) to induce a de-differentiation stage and the formation of calli. We had modified the protocol descibed by Yasuda et al., (1985) to create a model that allow us: 1) to use "in vitro" cultured plants as starting material and thus generate lines from selected plants, 2) the inducción of direct somatic embryogenesis avoding the callus stage and 3) a rapid responding system (globular embryos are obtained at day 22) in contrast with other systems where the obtention of embryos take 2 or 3 months. Histological studies using this system had shown that embryos are originated directly from explant cell rather that from callus. When we analyzed regenerated plants, we could not find any somaclonal variation at molecular level.

STANDARDIZATION OF ENCAPSULATION TECHNIQUE FOR PRODUCING SYNTHETIC SEEDS IN COFFEE

B. Muniswamy¹ and H.L. Sreenath²

¹Central Coffee Research Institute, Coffee Research Station-577 117, Chikmagalur District, Karnataka.

²Tissue Culture Division, Unit of Central Coffee Research Institute, Coffee Board Research Department, Manasagangotri, Mysore-570 006, Karnataka.

The zygotic embryos of *Coffea arabica* viz., S. 4348 and S. 2794 were encapsulated in sodium alginate gel with 0.1mg/l of BAP in MS medium by dropping into 2% calcium chloride solution resulting in the formation of round beads. These encapsulated beads with zygotic embryos when sown directly in the potted vermiculite soil, would not be regenerated into plantlets. However, fast germination and plantlet development was achieved on basal half strength MS medium and half strength MS medium supplemented with 0.1 mg/l of BAP. The practical significance of the encapsulation techniques are discussed.

LA EMBRIOGENESIS SOMATICA DEL CAFETO EN MEDIO LIQUIDO.

Dr. Alfredo Zamarripa C.¹

¹Responsable del laboratorio de Biotecnología de café del INIFAP-SAGAR.México.

Este estudio describe el proceso de propagación vegetativa del café basado en la obtención de suspensiones de agregados celulares con capacidad embriogénica y en su aptitud a orientar su desarrollo hacia la embriogénesis somática o bien hacia la multiplicación celular indiferenciada. Se determina la aptitud a la embriogénesis somática de diversos genotipos de *C.arabica*, *C. canephora* y el híbrido arabusta. Se demuestra una interacción genotipo / medio de cultivo. Se demuestra la importancia de los reguladores de crecimiento, del medio y de las condiciones de cultivo, particularmente la densidad de inóculo, en la producción de embriones somáticos. Se describe el escalamiento en la producción de embriones del frasco de erlenmeyer a biorreactor de 5 litros. Se define la metodología para el desarrollo de embriones en plántulas. Con la aplicación de la embriogénesis somática en medio líquido se obtienen entre 400,000 y 500,000 embriones por litro en siete semanas de cultivo. La alta productividad alcanzada permite la valorización de híbridos F1 ó genotipos heterocigóticos y una difusión acelerada. Se revisa la aplicación de la embriogénesis en el mejoramiento genético del Café.

DESARROLLO DE LA VARIEDAD PORTA-INJERTOS “NEMAYA” (*C. CANEPHORA*) POR MEDIO DE EMBRIOGÉNESIS SOMÁTICA EN CENTROAMÉRICA

Anzueto F.¹, Molina A.¹, Figueroa P.¹, Etienne H.², Bertrand B.²

¹Depto. de Investigaciones ANACAFE, Guatemala.

²CATIE-CIRAD (Francia), Costa Rica.

Los nemátodos fitoparásitos del cafeto provocan importantes pérdidas económicas en Centroamérica, particularmente en Guatemala y El Salvador. Como principal método de control se utiliza la injertación de Arabicas sobre Robustas no seleccionados, con buenos resultados frente a *Pratylenchus* spp y *Meloidogynes* de baja y mediana agresividad. En años recientes se observó la presencia de especies de *Meloidogyne* altamente agresivas que afectaban también a los Robustas, lo que promovió el desarrollo de un programa de selección, buscando identificar plantas de Robusta con alto nivel de resistencia genética que luego serían clonadas para establecer campos o jardines semilleros de una variedad porta-injertos. Los estudios permitieron identificar finalmente 2 plantas resistentes en la colección del CATIE, Costa Rica. Para la siguiente etapa, el objetivo era la multiplicación rápida y en gran escala de estas plantas, fijándose para el Sub-Proyecto de Guatemala, una meta de 12,000 plantas de ambos clones. La mejor alternativa para esta multiplicación, era la vía asexual por medio de embriogénesis somática indirecta o de “Alta Frecuencia”, constituida por 2 fases: - inducción de callo a partir de explantes de hoja, - diferenciación de embriones de callo friable. Este método permitió en 10 meses, de acuerdo a los objetivos del sub-proyecto, la obtención de numerosos embriones, de los cuales se han desarrollado gradualmente cerca de 15,000 vitro-plantas aptas para aclimatación, que incluye el enraizamiento y aclimatación de las plantas fuera del laboratorio (ex-vitro) en mini-invernaderos, partiendo de una humedad relativa saturante (100%) hacia valores equivalentes al medio exterior. Luego de tres meses de aclimatación, las plantas se transfieren a condiciones de vivero estándar, donde pasan de 5 a 6 meses antes de plantarse en campo definitivo. En el ciclo 1998-99 se completarán 8 hectáreas de campos semilleros, estimándose a partir del año 2001, una producción de 10,000 kg de semilla de la variedad porta-injertos denominada “Nemaya”, destinada a los programas de injertación de los caficultores guatemaltecos.

SOMATIC EMBRIOGENESIS EN CAFÉ: EL EJEMPLO DE LA MULTIPLICACION DE HIBRIDOS F1 EN CENTROAMERICA

ETIENNE HERVE

CIRAD-CP/CATIE/PROMECAFE

Unidad de Biotecnología, Apartado 11, CATIE 7170, Turrialba, Costa Rica. Tel/Fax: (506) 556 09 38 E-mail: hetienne@computo.catie.ac.cr

La embriogenesis somática presenta las mayores potencialidades para la multiplicación a gran escala de estructuras heterocigóticas en café. Los primeros trabajos en *Coffea spp.* fueron realizados en 1970 y desde entonces una gran cantidad de trabajos fueron publicados sobre las especies Arabica y Robusta. La obtención de embriones somáticos es lograda en una gran variedad de cultivares. Además, se ha demostrado la posibilidad de establecer y mantener a largo plazo suspensiones embriogénicas y producir masalmente embriones somáticos en biorreactores. Sin embargo, la embriogenesis somática todavía no está utilizada a escala industrial. Desde 1992, PROMECAFE inició un programa original de creación varietal, cuyo principio está basado en la hibridación de variedades por medio de orígenes silvestres provenientes de Etiopía y de Sudán. La embriogenesis somática es aplicada para multiplicar a gran escala los híbridos F1 de *C. arabica* seleccionados así como los dos padres *C. canephora* de la variedad porta-injerto "Nemaya". Diecisiete híbridos F1 de Arabica son difundidos en Centroamérica para establecer una red de ensayos multilocales. A corto plazo, el objetivo de multiplicar los F1 a gran escala (unos millones plantas / año) lleva a desarrollar innovaciones técnicas tales como la producción de embriones somáticos en biorreactor simplificado o la siembra directa de estos embriones en almacigo.



GSB2 (019) 6513875

Liderando a evolução tecnológica em equipamentos para a cafeicultura.

***Pinhalense:** leader in coffee processing technology.*

***Pinhalense:** liderazgo en tecnologia del beneficio del cafe.*



PINHALENSE
S/A Máquinas Agrícolas

Rua Honório Soares, 80 - Esp. Sto. do Pinhal - SP - Brasil - Fone (019) 651-9200 - Fax (019) 651-9280

FINGERPRINT OF COFFEE TREE DIFERENTIAL HOSTS OF *Hemileia vastatrix* Berk. et Br.

Terezinha A. Teixeira^{1,2}, Laércio Zambolim^{1,3}, Ney S. Sakiyama^{1,2}, Antônio A. Pereira⁴, Dalza G. da Silva^{1,3}

¹BIOAGRO/UFV;

²DFT/UFV;

³DFP/UFV;

⁴EPAMIG. 36571-000 Viçosa-MG, Brazil.

E-mail: zambolim@mail.ufv.br

Previous DNA markers information confirmed the narrow genetic base of the commercial cultivars of *Coffea arabica* L. and the relatively large genetic diversity among species of the genus. Molecular genetic distance information is helpful, since the enlargement of the genetic diversity has become a priority for arabica coffee tree improvement. RAPD markers (*Random Amplified Polymorphic DNA*) were used to evaluate genetic distances among 38 coffee genotypes of the Federal University of Viçosa coffee germoplasm (including 4 different species). A set of 28 arbitrary decamer oligonucleotides (Operon Technologies, Inc.) was used for the PCR amplification of DNA sequences. Amplified DNA fragments were separated by electrophoresis in a 1.4% agarose gel and photographed under UV light after staining with ethidium bromide. RAPD technique was efficient to detect interespecific variations among species of *Coffea*. The highest genetic distance from *C. arabica* was calculated to *C. racemosa*, followed by *C. canephora* and *C. congensis*. This genetic distance order among species is in accordance with previous publications. *C. arabica* cultivars, Timor Hybrid, *Catimor*, Cavimor and *Cachimor* were classified in the same genetic group. Polimorphic loci of arabica cultivars (Catuai and Mundo Novo) will be used for genetic identification of improved lines.

GENETIC DIVERSITY OF THE CENICAFE COFFEE GERMPLASM COLLECTION

Marco Cristancho,

Disciplina de Mejoramiento Genético y Biotecnología,
CENICAFÉ, Chinchiná, Caldas, Colombia.

The genetic diversity of Cenicafe's coffee germplasm collection was studied using the RAPD technique. DNA was extracted from semi-wild ethiopian introductions of *Coffea arabica* by a modification of the protocols of Vroh *et al.* (1996) and Mettler (1987). Ten random 10-mers oligonucleotides were used for the amplification of coffee DNA by the RAPD technique. All primers could detect polymorphism between the different coffee introductions tested, showing the ample genetic variability of this material and their potential in coffee breeding programs. Additionally, three RAPD markers described by Agwanda *et al.* (1997) and linked to the *T* gene that confers resistance to coffee berry disease (CBD) were tested, for their presence in coffee plants of the Cenicafe germplasm collection. It was possible to reproduce two of the markers, M6₂₀₂₇ and N18₂₅₀, in several coffee genotypes but, it was not possible to reproduce the amplification of the marker M20₈₃₀. The markers M6₂₀₂₇ and N18₂₅₀ were present in several CBD resistant individuals of F4 and F5 progenies derived from the cross between Hibrido de Timor plants resistant to CBD and *C. arabica* var. Caturra plants susceptible to the disease, demonstrating the efficiency of the RAPD technique for the selection of promissory individuals that possess CBD resistance genes.

GENETIC ANALYSIS OF STRAINS OF *XYLELLA FASTIDIOSA* ASSOCIATED WITH CITRUS AND COFFEE TREES

R. P. Leite Jr.^{1,3}, A. Mehta¹, F. M. S. Carvalho¹ and B. Ueno².

¹Instituto Agronômico do Paraná, Londrina, PR, Brazil;

²Universidade de Brasília, Brasília, DF, Brazil;

³Fellow of the CNPq.

Xylella fastidiosa causes major diseases on several different plants of economic importance. In Brazil, *X. fastidiosa* causes citrus variegated chlorosis (CVC) on sweet oranges (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) and a dieback type of disease on coffee (*Coffea* spp.). CVC is a major threat to the citrus industry in southern Brazil whereas *X. fastidiosa* is wide spread on coffee in all major growing areas. Studies were carried out to determine the genetic diversity of *X. fastidiosa* associated with citrus and coffee trees. Fifteen strains of the bacterium established from CVC affected citrus and diseased coffee trees from different geographic regions of Brazil were included in the study. The ATCC 35879 type strain of *X. fastidiosa* was also included in the study for comparison purposes. The bacterium strains were characterized genetically based on genomic fingerprints generated by using the rare-cutting restriction enzymes *Not* I and *Sfi* I. The restriction DNA fragments were separated by pulsed-field gel electrophoresis. Restriction fragment patterns were determined by direct comparison of the electrophoretic patterns and the data were used to estimate the genetic relationships between strains based on the proportion of shared DNA fragments. The genetic similarity ($F = 2n_{xy}/(n_x + n_y)$) (Nei, M. & Li, W.-H., 1979, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76: 5269-5273) ranged from 0.77 to 1.00 among citrus strains of *X. fastidiosa* when the *Not* I and *Sfi* I-derived values were averaged. The citrus strains were 0.69 to 0.84 similar to the coffee isolates. In relation to the ATCC 35879 strain of *X. fastidiosa*, the citrus and coffee strains were 0.31 to 0.45 and 0.50 similar, respectively. Although associated with diseases on different plants, the citrus and coffee strains of *X. fastidiosa* are closely related based on genetic analysis.

ESTUDIO BIOQUIMICO Y MOLECULAR DE LA PRINCIPAL PROTEINA DE RESERVA DE LA SEMILLA DEL CAFETO

Acuña, R.¹, Bassüner, R.², Beillinson, V.², Cortina, H.¹, Cadena-Gómez, G.¹, Montes, V.³ & Nielsen, N. C.²

¹Centro Nacional de Investigaciones del Café, CENICAFE, Chinchiná Caldas, Colombia. E-mail: fcracu@cafedecolombia.com.

²Departamento de Agronomía, Purdue University, West Lafayette, IN, USA. E-mail: nnielsen@dep.agry.purdue

³Departamento de Química, Universidad Nacional, Bogotá, Colombia.

En este estudio se determinaron las principales características bioquímicas de la proteína predominante en el endospermo de *Coffea arabica* L., var. Colombia y el cDNA que la codifica. La proteína caracterizada corresponde a una holoproteína hexamérica del grupo de las leguminas. A diferencia de las leguminosas, donde la extracción de las globulinas requiere de soluciones amortiguadoras con pH por encima de pKi de las globulinas, la legumina del café se extrajo con soluciones amortiguadoras ácidas. La legumina del café migra en gradientes de sacarosa como una globulina 11S. Las subunidades de la legumina del café tienen una masa molecular de 55 kDa cuando se analizaron en un gel de electroforesis con SDS-poliacrilamida y sin agente reductor. En la presencia de 2-mercaptoetanol, la proteína se separó como dos polipéptidos con masas moleculares aparentes de 33 kDa y 24 kDa. Se generaron dos secuencias completas de cDNAs, con una homología del 98%, obtenidas del mRNA de semillas de café en desarrollo. Las secuencias tienen un marco de lectura de 1458 y 1467 bp. Cada una codifica los precursores de la legumina de 486 y 489 aminoácidos, respectivamente. El análisis de la región promotora de la legumina del café mostró una caja putativa de legumina. El DNA genómico de *C. arabica* fue digerido con seis enzimas de restricción diferentes. Después de la separación de los fragmentos por electroforesis, se observó la hibridización de un fragmento con una sonda de cDNA correspondiente a la cadena alfa. Con el DNA de otras especies y cultivares del género *Coffea* se obtuvieron resultados similares. Los resultados de inmuno microscopía electrónica detectaron la legumina del café en el citoplasma, como el sitio de síntesis y en la vacuola central de las células del endospermo, como el sitio de almacenamiento. Esta es la primera proteína de reserva que ha sido caracterizada bioquímicamente dentro del género *Coffea* y a ella se le ha dado el nombre de "arabicina".

USO DE PADRÕES ELETROFORÉTICOS NA IDENTIFICAÇÃO DE CULTIVARES E DO NÍVEL DE DETERIORAÇÃO DE SEMENTES DE *Coffea arabica* L.

Brandão Jr., Delacyr da Silva¹; Vieira, Maria das Graças Guimarães Carvalho²; Bernardino Filho, José Roberto³; Hilhorst, Henk⁴; Guimarães, Rubens José⁵

¹ Aluno de Doutorado do Curso de Fitotecnia – UFLA

² Professora Titular do Departamento de Agricultura – UFLA;

³ Aluno de Graduação do Curso de Agronomia – UFLA

⁴ Professor de Fisiologia de Sementes - Wageningen Agricultural University – Holanda

⁵ Professor Adjunto do Departamento de Agricultura – UFLA

A identificação de cultivares requer métodos rápidos e eficientes, para que haja um controle mais rigoroso das cultivares comercializadas. A eletroforese provou ser versátil na análise de identificação varietal de sementes, tendo sido incluída nas regras da ISTA e no manual de pureza varietal da AOSA. O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Análise e Biotecnologia de Sementes da Universidade Federal de Lavras (MG) com o objetivo de verificar variações de perfis eletroforéticos em sementes de cafeeiro com diferentes níveis de deterioração, além de selecionar sistemas isoenzimáticos para diferenciação de cultivares de cafeeiro, que não sofram interferência do nível de deterioração das sementes. Foram utilizadas sementes das cultivares Rubi 1192, Catuaí Vermelho 99, Acaia 474 – 19 e Icatu 3282, oriundas de lotes de diferentes estágios de deterioração. Para avaliação da atividade enzimática foram utilizados géis de poliacrilamida (separador 7,5%/concentrador 4,5%) com sistema de tampão gel/eletrodo Tris-glicina, pH 8,9. As análises isoenzimáticas de semente inteira e embrião foram reveladas para os sistemas: álcool desidrogenase (ADH), fosfatase ácida (ACP), catalase (CAT), esterase (EST), glutamato-oxalacetato-transaminase (GOT) e sorbitol desidrogenase (SDH). Os resultados obtidos com as análises eletroforéticas permitiram concluir que variações eletroforéticas de isoenzimas estão associadas ao processo deteriorativo de sementes de cafeeiro. As enzimas, CAT, EST e ADH, podem ser promissores marcadores bioquímicos para avaliação de qualidade de sementes. Os sistemas isoenzimáticos avaliados não mostraram eficiência na diferenciação das cultivares de cafeeiro estudadas.

GENETIC POLYMORPHISM IN SPECIES AND HYBRIDS OF GENUS *Coffea* DEMONSTRATED BY RAPD AND MICROSATELLITE PRIMERS.

Paulo M. Ruas¹, Claudete F. Ruas¹, Leandro E. C. Diniz¹, and Tumoru Sera².

¹ Departamento de Biologia Geral, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná, Brasil.

² Instituto Agrônômico do Paraná, Londrina, Paraná, Brasil.

Coffee is an important culture in Brazil. Two species represented by *C. arabica* and *C. canephora* are the most economically important. The quality of leverage is associated with *C. arabica* while *C. canephora* is an important source of genes for resistance for several diseases. In Brazil the Instituto Agrônômico do Paraná (IAPAR) has a germoplasm bank with eight species of *Coffea*, 40 varieties and cultivars of *C. arabica*, several populations of interspecific hybrids, 144 accessions of *C. arabica* from Ethiopia, 30 accessions of *C. canephora* and 300 progenies of *C. arabica*. We used the RAPD methodology and microsatellite primers to assess the genetic variability of the eight species of *Coffea* and to determine the paternity of eight interspecific hybrids. A total volume of 15 µl was used in the amplification reaction: 15 mM Tris-Cl, 50 mM KCl, 2.5 mM MgCl₂, 0.1 of each dNTPs, 2.5 µM of primer and 1 U of Taq Polymerase. These matrix data was read by NTSYS-pc (Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis for Personal Computers, V. 1.80) on an IBM compatible computer and analyzed using SIMQUAL (Similarity for Qualitative Data) with Jaccard's similarity coefficients. A dendrogram was constructed employing UPGMA. The results showed the usefulness of RAPD molecular markers for systematic studies, genetic improvement programs, and analysis of interspecific hybrids of *Coffea*.

MOLECULAR MARKERS FOR 40 VARIETIES OF *Coffea arabica* DETERMINED BY RAPD ANALYSIS ASSOCIATED WITH RESTRICTION ENZYMES.

Leandro E. C. Diniz¹, Paulo M. Ruas¹, Claudete F. Ruas¹, and Tumoru Sera²

¹ Departamento de Biologia Geral, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná, Brasil.

² Instituto Agrônômico do Paraná, Londrina, Paraná, Brasil.

Brazil is the most important world producer of *C. arabica*, being the state of Paraná an important coffee exporter. In this state the Instituto Agrônômico do Paraná (IAPAR) has a germoplasm bank with several varieties of *C. arabica* and other species of genus *Coffea*. The genetic variability of the most important cultivars of *C. arabica* and the genetic relationships among all varieties were determined in a preliminary analysis using 70 different primers, no polymorphism or low level of polymorphic bands were observed. To improve the level of polymorphism the DNA of all varieties were digested by restriction enzymes prior to amplification reaction. Three different restriction enzymes were tested: ECOR I, Hae III, and Bam HI in six different varieties. The primers associated with the restriction enzyme that gave the high level of polymorphism was amplified with all the 40 varieties of *C. arabica*. Twenty-five primers associated with one restriction enzyme was amplified with all varieties. A dendogram was constructed employing UPGMA. The results showed the usefulness of restriction enzymes in materials with low level of polymorphic bands.

CHARACTERIZATION OF *Coffea* SPECIES BY RAPD MARKERS.

Terezinha A. Teixeira^{1,2}, Ney S. Sakiyama^{1,2}, Laércio Zambolim^{1,3}, Antônio A. Pereira⁴, Cássia C H. Sakiyama^{1,5}.

¹BIOAGRO, Universidade Federal de Viçosa, UFV.

²DFT, Universidade Federal de Viçosa, UFV.

³DFP, Universidade Federal de Viçosa, UFV.

⁴EPAMIG 36.571-000, Viçosa, MG.

Studies realized with DNA markers confirm the narrow genetic base of the commercial cultivars and the relatively large genetic diversity within the genus *Coffea*. The enlargement of the genetic base has become a priority for further crop improvement, sendo que informations about genetic relationship inter and intraspecific may be helpful in selecting of parents for crossing and identifying lines or populations that should be maintained to preserv maximum genetic diversity. This research was proposed with the objective of to identify DNA markers and to determine genetic distances among 38 coffee genotypes of the germoplasm of UFV using the RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) technique. A series of 28 arbitrary decamer oligonucleotides purchased from Operon Technologies, Inc. were used for the amplification of DNA sequences. Amplified DNA fragments were separated by electrophoresis in a 1.4% agarose gel with a TBE buffer system. Gels were stained with ethidium bromide and photographed under UV. Data were scored on the basis of the presence (1) or absence (0) of the amplified products. These data were subjected to analysis to produce a matrix of dissimilarity values based on percent disagreement. UPGMA was utilized to gerate a dendrogram based on the matrix. The 28 primers identify 131 polymorphic loci. The RAPD technique was efficient on the detection of interspecific variations within *Coffea* genus, sendo que *Coffea racemosa* was the specie far of *Coffea arabica* following of *Coffea canephora* and *Coffea congensis*. This order in relation genetic distances among species is agreement with others studies realized. The formation single group enclosed totality *Coffea arabica* accessions and derived (*Híbrido de Timor*, *Catimor*, *Cavimor* e *Cachimor*), show the narrow genetic variability. Exist polimorphics loci among lines of *Catuai* and *Mundo Novo*, thought in little number, indicando the possibility of the use DNA markers for identification of lines of this varieties.

GENETIC FINGER PRINTING OF COFFEE LEAF RUST DIFFERENTIALS WITH RAPD MARKERS

SANTA RAM & H.L.SREENATH

Tissue Culture & Biotechnology Centre Coffee Board, Manasagangothri
Mysore – 570 006

Coffee is an important commodity of International trade. For India coffee is a very important export trade commodity earning around Rs. 1500 crores in foreign exchange. Leaf rust is a major disease of coffee known to be causing severe crop losses. World wide efforts to combat this disease by various means revealed that resistance in the coffee plant and virulence in the rust pathogen (*Hemileia vastratrix*) are conditioned by a gene-for-gene host-pathogen relationship.

Thus, known genotypes of coffee manifest resistance to specific sets of races of the rust fungus. There are 13 such differentials hosts viz. Bourdon, kents, S.288, S12Kaffa, Geisha, Agaro, Cioce, HDT-A, HDT-R, Blue Mountain x Cioce, S.333 x Dilla & Alghe, Dilla & Alghe x S.333 and Blue Mountains x S₁₂ Kaffa in *Coffea arabica*. Two differential hosts are drawn from other species of *Coffea*. They are *C. racemosa* and *C. congensis*. One genotype of coffee by name Rume Sudan manifests a high degree of field resistance, presumed to be Horizontal Resistance. The present study is undertaken in a bid to identify DNA markers which distinguish each of the differentials. Preliminary data on DNA polymorphism indicates clear distinctions among the differentials

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE GENOTIPOS DE CAFÉ.

José W. Bustamante P¹. y Delia Polanco L.²

¹Laboratorio de Biotecnología FONAIAP (Centro de Investigaciones Agropecuarias del Estado Táchira) Email: jwbustamante@cantv.net Apartado 5030. Rubio, Táchira, Venezuela

²Instituto de Agronomía, Facultad de Agronomía, Universidad Central de Venezuela Email: polancod@camelot.rect.ucv.ve Apartado 4579. Maracay 2110, Venezuela.

La caracterización electroforética de genotipos se realiza hoy en forma rutinaria en los bancos de germoplasma para identificar con precisión cada material. El polimorfismo electroforético de isoenzimas en geles horizontales de almidón (SGE: 12%) fue evaluado en veinte cultivares de café (*Coffea arabica* L.) pertenecientes al Banco de Germoplasma del Centro de Investigaciones Agropecuarias Táchira (FONAIAP-Táchira, Venezuela). El número de bandas y su distribución en el gel (movilidad relativa) fue similar en los sistemas enzimáticos para cada uno de los individuos por cultivar y en todos los cultivares. Un individuo perteneciente al cultivar *Blue mountain* fue el único que presentó polimorfismo, mostrando una banda adicional en la enzima ACO (frecuencia del fenotipo electroforético: 1/10 individuos analizados). Se señala además una posible interpretación genética de fenotipos electroforéticos de los diferentes sistemas enzimáticos evaluados, así como una posible teoría sobre “*HETEROCIGOSIS FIJADA*” en la especie *Coffea arabica*.

A Comissão Organizadora do III SIBAC agradece o apoio prestado pelas seguintes empresas:

- 1- UBY AGROQUÍMICA Ltda.
- 2- Hokko do Brasil Ltda.
- 3- Hoechst Schering AgrEvo do Brasil Ltda.
- 4- PREMOLTEC - Indústria de Pré-moldado Ltda.
- 5- URSO BRANCO - Indústria de Máquinas e Equipamentos Ltda.
- 6- Máquinas Agrícolas Jacto S.A.
- 7- Milenia Agrociências Ltda.
- 8- Prefeitura Municipal de Londrina: COMURB.

patrocínio



CIA. IGUAÇU DE CAFÉ SOLÚVEL

MONSANTO

Alimento Saúde Esperança™



NOVARTIS

Bayer



Proteção das Plantas



PINHALENSE

ZENECA

Agrícola

apoio

Sercomtel



SOCIEDADE RURAL
DO PARANÁ