

PADRÃO DE HERANÇA DE FONTE DE RESISTÊNCIA DO CAFEIEIRO À FERRUGEM (*Hemileia vastatrix* Berk. & Br.)

Giovani Greigh de BRITO¹; Robson Ferreira de ALMEIDA²; Eveline Teixeira CAIXETA^{2,3}; Marcelo Ehlers LOUREIRO⁴; Eunize Maciel ZAMBOLIM⁵; Laércio ZAMBOLIM⁶; Antonio Alves PEREIRA⁷.

¹Universidade Federal de Viçosa UFV/BIOAGRO, Laboratório de Biotecnologia do Cafeeiro, 36.570-000, Viçosa – MG. E-mail: gbrito@vicosa.ufv.br, ²UFV/BIOAGRO, ³Embrapa Café; ⁴Departamento de Biologia Vegetal/UFV; ⁵UFV/BIOAGRO/Departamento de Fitopatologia; ⁶UFV/Departamento de Fitopatologia; ⁷EPAMIG.

Resumo:

Objetivou-se a descrição da resistência à raça II da ferrugem alaranjada do cafeeiro, raça predominante no Brasil. Para o estudo, o Híbrido de Timor UFV 427-15, genitor resistente, foi cruzado com o genótipo suscetível Catuaí amarelo UFV 2143-236. A planta F₁ foi retrocruzada com o Catuaí UFV 2143-236, obtendo-se 135 plantas resultantes do retrocruzamento suscetível (RC1s). Adicionalmente, a população segregante F₂ foi obtida através da autofecundação controlada da planta F₁. Os genitores, a planta F₁, as 135 plantas do RC1s e as 177 plantas da F₂ foram inoculadas com uredósporos da raça II, na concentração de 2,0 mg.ml⁻¹. As populações inoculadas foram mantidas sob condições controladas durante 49 dias, período de avaliação. Infere-se, com base nos resultados obtidos que o Híbrido de Timor UFV 427-15 apresentou-se completamente resistente à raça II da ferrugem, isento de quaisquer sintomas de suscetibilidade à doença. Resultado semelhante obteve-se ao analisar as plantas F₁, submetidas aos mesmos procedimentos. De outro modo, as plantas de Catuaí amarelo UFV 2143-236 apresentaram-se suscetíveis, com manchas cloróticas pronunciadas e esporulação abundante. A população de retrocruzamento suscetível apresentou 63 plantas resistentes e 72 suscetíveis. Considerando os resultados obtidos pelo teste de Qui-quadrado, evidencia-se que a proporção fenotípica que melhor explicou a distribuição das frequências observadas foi a de uma planta resistente para uma suscetível, indicando que a resistência é monogênica dominante. Quanto a população F₂, observou-se a ocorrência de 134 plantas resistentes e 43 suscetíveis e, através do teste de Qui-quadrado, a melhor proporção fenotípica a explicar a distribuição de frequências observadas foi a de três plantas resistentes para uma suscetível. A análise genética da segregação confirmou a herança monogênica dominante do gene da resistência à raça de ferrugem em questão.

PALAVRAS-CHAVE: *Hemileia vastatrix*, resistência, biotecnologia do cafeeiro, melhoramento.

TÍTULO EM INGLÊS: INHERITANCE PATTERN OF COFFEE RESISTANCE SOURCE TO THE RUST FUNGUS (*Hemileia vastatrix* Berk. & Br.)

ABSTRACT: We aimed the description of the resistance of the coffee rust race II, which is a predominant race in Brazil. For this study, the Híbrido de Timor UFV 427-15, resistant genitor was crossed with the susceptible genotype Catuaí Amarelo UFV 2143-236. The F₁ plant was backcrossed with Catuaí UFV 2143-236, obtaining 135 plants resultant from the susceptible backcross (RC1s). In addition, the F₂ segregant population was obtained by the F₁ plant controlled self-fertilization. The genitors, the F₁ plant, the 135 plants from the (RC1s) and the 177 plants from F₂ were inoculated with uredospores of race II, in the concentration of 2,0 mg.ml⁻¹. The inoculated populations were maintained under controlled conditions during 49 days, evaluation period. We inferred, based on the obtained results that the Híbrido de Timor UFV 427-15 showed to be completely resistant the rust fungus race II, free from any susceptibility symptoms to the disease. A similar result was obtained when the F₁ plants, submitted to the same procedures were analyzed. In the other hand, the Catuaí Amarelo UFV 2143-236 plants showed to be susceptible, with clear chlorine stains and abundant sporulation. The susceptible backcross population presented 63 resistant plants and 72 susceptible plants. Considering the results obtained from the X² test, it becomes evident that the phenotypic proportion that best explained the distribution of the observed frequencies was one resistant plant to one susceptible plant, indicating that the resistance is monogenic dominant. Regarding the F₂ population, we observed the occurrence of 134 resistant and 43 susceptible plants and, by the X² test, the best phenotypic proportion to explain the distribution of the observed frequencies was three resistant to one susceptible plant. The genetic analysis of the segregation confirmed the monogenic dominant inheritance of the resistance gene to the

KEY WORDS: *Hemileia vastatrix*, resistance, coffee biotechnology, breeding.

INTRODUÇÃO

A ferrugem alaranjada do cafeeiro, causada por *Hemileia vastatrix* Berk. et Br., fungo biotrófico exclusivo do gênero *Coffea*, atinge todas as regiões produtoras do Brasil e se não controlada pode ocasionar reduções na produção que oscilam entre 30 e 50% (ZAMBOLIM et al., 2002). Os principais danos provocados pela doença são evidenciados pela queda prematura de folhas, o que resulta na redução de área foliar e seca de ramos laterais conduzindo, gradualmente, a deformação da planta atacada (GUZZO, 2004). No Brasil, o emprego do controle químico para esta doença mostra-se eficaz pela utilização de fungicidas protetores cúpricos e/ou sistêmicos do grupo dos triazóis (MATIELLO et al., 2002; ZAMBOLIM et al., 2002). Embora eficazes, os efeitos causados sobre o meio ambiente e organismos não alvos poderão

conduzir a explosões populacionais de pragas e/ou de outras doenças do cafeeiro. Adicionalmente, a pressão de seleção exercida sobre o patógeno predispõe ao surgimento de raças resistentes aos produtos aplicados (ZAMBOLIM et al., 2002). Com vistas a minimizar os efeitos negativos ocasionados pelo controle químico, vislumbra-se a possibilidade do emprego de cultivares portadores de genes de resistência à doença, visando isentar a planta total ou parcialmente da aplicação de fungicidas (FAZUOLI et al., 2002; PEREIRA et al., 2002; SERA et al., 2002).

Na década de 1940, a elaboração do modelo clássico denominado “gene-a-gene”, propôs que para que haja resistência deve haver complementaridade entre pares de genes dominantes, um do hospedeiro e outro do respectivo patógeno. Estes estudos revelaram ainda que a perda ou alteração do gene *R* da planta ou do *Avr* do patógeno conduz a compatibilidade, ou seja, ao desenvolvimento da doença. A descoberta de que as plantas possuem centros de origem, locais onde está presente grande diversidade genética e que estas co-evoluem com patógenos, impulsionou uma série de programas de melhoramento para identificar germoplasmas resistentes em espécies relativamente selvagens, de importância agrícola, e introduzir características desejáveis presentes nestas espécies em benefício da agricultura (LEPPIK, 1970). No Brasil, alguns programas de melhoramento genético voltados ao desenvolvimento de cultivares resistentes à ferrugem utilizam, como fonte de resistência, progênies oriundas do Híbrido de Timor, planta derivada de cruzamento interespecífico natural entre *Coffea arabica* e *C. canephora* resistentes a todas as raças fisiológicas de *H. vastatrix* avaliadas.

Os genes de resistência presentes nos Híbridos de Timor, bem como em outras fontes de resistência a essa doença, têm sido estudados considerando a reação da planta a diferentes raças do fungo (NORONHA-WAGNER e BETTENCOURT, 1967; BETTENCOURT e RODRIGUES JR., 1988). No entanto, a maioria das características de interesse agrônomico é codificada por genes desconhecidos (HAMMOND-KOSACK & JONES, 2000). O isolamento desses genes poderá resultar em muitos benefícios aos programas de melhoramento. A obtenção de mapas físicos de alta resolução e a sua utilização para a clonagem dos genes de interesse (“chromosome landing”) torna-se, atualmente, um paradigma metodológico para a clonagem de genes desconhecidos, responsáveis pelos fenótipos de importância agrícola. Essa estratégia envolve a construção de bibliotecas cromossômicas clonadas em cromossomos artificiais de levedura (BACs), e sua ordenação em *contigs* utilizando mapa de alta resolução e marcadores moleculares, os quais serão gerados especificamente com esse propósito. Para utilizar esta metodologia, é necessário que, inicialmente, seja determinado o número de genes presentes nos genótipos de interesse, bem como as suas interações e dominâncias. Dessa forma, no presente trabalho, o Híbrido de Timor UFV 427-15, importante fonte de resistência à ferrugem, será caracterizado geneticamente, permitindo obter informações que nortearão as estratégias de mapeamento de alta resolução, clonagem, interação planta-patógeno e, futuramente, utilização em programas de melhoramento.

MATERIAL E MÉTODOS

Efetou-se a caracterização da resistência à raça II da ferrugem, predominante no Brasil. Para o estudo, o Híbrido de Timor UFV 427-15, genitor resistente, foi cruzado como o genótipo suscetível Catuaí amarelo UFV 2143-236. A planta F_1 foi retrocruzada com o Catuaí UFV 2143-236, obtendo-se 135 plantas resultantes do retrocruzamento suscetível (RC1s). Adicionalmente, a população segregante F_2 foi obtida através da autofecundação controlada da planta F_1 .

Os genitores, a planta F_1 , as 135 plantas do RC1s e as 177 plantas da F_2 foram inoculadas com uredósporos da raça II, na concentração de $2,0 \text{ mg. ml}^{-1}$. Com o auxílio de uma pipeta automática foram aplicadas 20 gotas de $5,0 \mu\text{l}$ cada na superfície abaxial, espaçadas equidistantes, em uma folha jovem e completamente expandida. As folhas foram acondicionadas em gerbox desinfetado e com o fundo revestido por espuma de 1,0 cm de espessura, saturada em água destilada e coberta com tela de nylon. Após a inoculação, os gerbox foram colocados sob escuro por 48 horas a $22 \pm 2^\circ\text{C}$ e, em seguida transferidos para ambiente com fotoperíodo de 12 horas e 22°C , mantendo a umidade saturada no interior do Gerbox. A avaliação foi efetuada aos 49 dias após a inoculação. A determinação de plantas resistentes e suscetíveis nos genitores e populações derivadas foi obtida com base na reação de folhas inoculadas à doença. Foram consideradas resistentes, com notas 1, 2 e 3, aquelas que apresentaram-se isentas de esporos e, suscetíveis, com notas 4, 5 e 6 aquelas com esporos visíveis (TAMAYO, 1988). Com o auxílio do aplicativo computacional GENES (CRUZ, 2001), pelo teste do Qui-quadrado obteve-se a proporção fenotípica a fim de explicar a melhor frequência das classes fenotípicas observadas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O Híbrido de Timor UFV 427-15 apresentou-se completamente resistente à raça II da ferrugem, isento de quaisquer sintomas de suscetibilidade à doença. Resultado semelhante obteve-se ao analisar a planta F_1 , submetida aos mesmos procedimentos. De outro modo, a planta de Catuaí amarelo UFV 2143-236 apresentou-se altamente suscetíveis a esta raça do fungo, com manchas cloróticas pronunciadas e esporulação abundante. A população de retrocruzamento suscetível apresentou 63 plantas resistentes e 72 suscetíveis. Analisando os resultados obtidos pelo teste de Qui-quadrado, evidenciou-se que a proporção fenotípica que melhor explicou a distribuição das frequências observadas foi a de uma planta resistente para uma suscetível, indicando que a resistência é monogênica dominante. Quanto a população F_2 , observou-se a ocorrência de 134 plantas resistentes e 43 suscetíveis e, através do teste de Qui-quadrado, a melhor proporção fenotípica a explicar a distribuição de frequências observadas foi a de três plantas resistentes para uma suscetível. A análise genética da segregação confirmou a herança monogênica dominante do gene de resistência presente no Híbrido de Timor à raça de ferrugem do cafeeiro em questão (Tabela 1). Ressalta-se que estes resultados são oriundos de duas repetições e de análise de diferentes populações e confirmam os resultados preliminares apresentados por CAIXETA et al. (2003).

Tabela 1 - Caracterização da resistência do Híbrido de Timor UFV 427-15 à raça II de *H. vastatrix*.

População ^a	Nº de plantas observadas		Proporção testada ^c	χ^2	Probabilidade (%)
	R	S			
Híbrido de Timor UFV 427-15	8	0	-	-	-
Catuaí UFV 2143-236	0	8	-	-	-
F ₁	8	0	-	-	-
Retrocruzamento Suscetível	63	72	1:1	0,60	43,8578
F ₂ ^a	134	43	3:1	0,0470	82,8222

^a População proveniente do cruzamento entre o genótipo resistente UFV 427-15 e o suscetível UFV 2143-236

^b Autofecundação controlada

^c Proporção resistente: suscetível

Figura 1. Avaliação de sintomas da ferrugem alaranjada do cafeeiro (*H. vastatrix* Berk. & Br) em folhas de acessos de Híbrido de Timor inoculadas com a raça II. Nas avaliações, as folhas cuja nota situa-se entre 1 e 3 foram consideradas resistentes, as situadas entre 4 e 6, suscetíveis. Fotos: Giovani G. de Brito

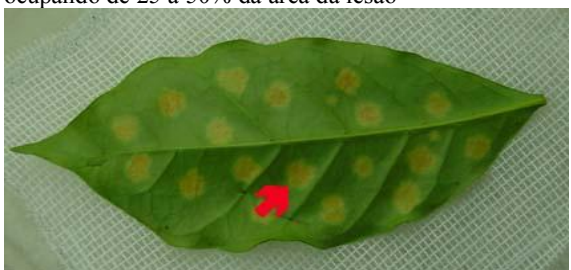
Nota 1: Ausência de sintomas da doença



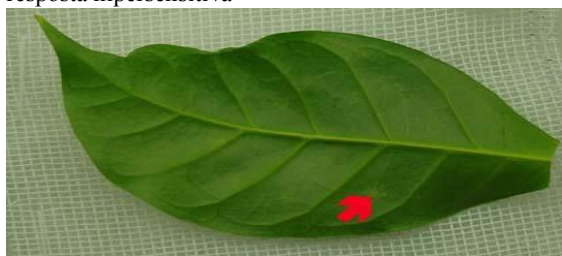
Nota 3: Lesões cloróticas grandes e ausência de uredosporos.



Nota 5: Lesões cloróticas grandes com esporulação ocupando de 25 a 50% da área da lesão



Nota 2: Lesões cloróticas pequenas, características de resposta hipersensitiva



Nota 4: Lesões cloróticas grandes com baixa esporulação, ocupando menos de 25% da área da lesão com uredosporos.



Nota 6: Lesões cloróticas grandes com esporulação ocupando mais de 50% da área da lesão.



CONCLUSÕES

Os resultados obtidos são importantes uma vez que nortearão a adoção de estratégias visando a obtenção de cultivares resistentes à ferrugem, considerando tanto o melhoramento clássico quanto o desenvolvimento de estudos biotecnológicos. Adicionalmente, irão auxiliar na geração de mapas físicos, uma das principais ferramentas para a identificação de genes de importância agrícola. Pretende-se ainda mapear, com alta resolução, o gene de resistência à raça II de ferrugem, presente no Híbrido de Timor UFV 427-15. Estes procedimentos possibilitarão a clonagem do gene de interesse (“chromosome landing”), um paradigma metodológico para a clonagem de genes desconhecidos, responsáveis pelos fenótipos de importância agrícola. Em longo prazo, considerando que a resistência do cafeeiro à ferrugem é regida pelo modelo clássico “gene-a-gene”, os resultados alcançados nesse trabalho possibilitarão o desenvolvimento de estudos da interação planta-patógeno, com vistas a elucidar os mecanismos fisiológicos e moleculares envolvidos na resistência do cafeeiro à *H. vastatrix*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BETTENCOURT, A.J. & RODRIGUES, Jr., C.J. Principles and practice of coffee breeding for resistance to rust and other diseases. In: CLARKE, R.J. & MACRAE, R. (eds). **Coffee**, London, Elsevier Applied Science, Agronomy, p. 199-235. v. 4.; 1988
- CAIXETA, E. T.; RUFINO, R. J. N.; OLIVEIRA, A. C. B.; SAKIYAMA, N.S; ZAMBOLIM, E. M.; ZAMBOLIM, L. Caracterização da resistência genética do Híbrido de Timor UFV 427-15 à ferrugem do cafeeiro. In: Simpósio de Pesquisas dos Cafés do Brasil (3.: Porto Seguro, BA). **Anais do III Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil**. Brasília: embrapa Café, 2003, 450p.
- CRUZ, C.D. **Programa Genes: aplicativo computacional em genética e estatística: versão Windows**. Viçosa: UFV, 2001. 648p.
- FAZUOLI, L.C. et al., Melhoramento do cafeeiro: variedades tipo arabica obtidas no Instituto Agronômico em Campinas. In: ZAMBOLIM, L. **O estado da arte de tecnologias na produção de café**. Viçosa: UFV, 2002. cap. 5 p.163 – 215.
- GUZZO, S. D. Aspectos bioquímicos e moleculares da resistência sistêmica adquirida em cafeeiro contra *Hemileia vastatrix*. **Tese de doutorado**, Piracicaba, Centro de Energia Nuclear na Agricultura, 2004, 236p.
- HAMMOND-KOSACK, K.; JONES, J.D.G. Responses to plant pathogens. In: BUCHANAN, B.B.; GRUISSSEN, W.; JONES R.L. (Ed.) **Biochemistry and Molecular Biology of plants**. Rockville: American Society of Plants Biologists, 2000. cap. 21, p.1102-1157.
- LEPPIK, E.E. Gene centers of plants as sources of disease resistance. **Annu. Rev. Phytopathol.** v. 8 p.323–441, 1970.
- MATIELLO, J.B.; SANTINATO, R.; GARCIA, A.W.R.; ALMEIDA, S.R.; FERNANDEZ, D.R **Cultura de café no Brasil**. Novo Manual de Recomendações. In: MATIELLO, J.B. (Ed.) Rio de Janeiro, MAPA/PROCAFE., 2002, 387p.
- NORONHA-WAGNER, M. & BETTENCOURT, A.J. Genetic study of the reistance of *Coffea* sp. to leaf rust 1. Identification and behavior of four factors conditioning disease reation in *Coffea arabica* to twelve physiologic races of *Hemileia vastatrix*. **Canadian Journal of Botany**, v. 45, p. 2021-31, 1967.
- PEREIRA, A.A. et al. Melhoramento genético do cafeeiro no Estado de Minas Gerais: cultivares lançados e em fase de obtenção. In: ZAMBOLIM, L. **O estado da arte de tecnologias na produção de café**. Viçosa: UFV, 2002. cap. 7 p.253 – 295.
- SERA, T.; ALTEIA, M.Z.; PETEK, M.R. Melhoramento do cafeeiro: variedades melhoradas no Instituto Agronômico do Paraná. (IAPAR). In: ZAMBOLIM, L. **O estado da arte de tecnologias na produção de café**. Viçosa: UFV, 2002. cap. 6 p.217 – 251.
- TAMAYO, P.J. Resistência de Progênes de Catimor a oito raças de *Hemileia vastatrix*. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal de Viçosa: UFV, 1988. 64p.
- ZAMBOLIM, L. et al., Epidemiologia e controle integrado da ferrugem-do-cafeeiro. In: ZAMBOLIM, L. **O estado da arte de tecnologias na produção de café**. Viçosa: UFV, 2002. cap. 10 p.163 – 215.