

CARACTERIZAÇÃO DA RESISTÊNCIA VERTICAL E HORIZONTAL DO CAFEIEIRO À FERRUGEM (*Hemileia vastatrix* Berk. & Br) EM ACESSO DE HÍBRIDO DE TIMOR

Júlio César BARBOSA¹; Eveline Teixeira CAIXETA^{2,4}; Eunize Maciel ZAMBOLIM^{3,4}; Alexandre Sandri CAPUCHO⁴; Raphael Nascif RUFINO⁴; Samuel Mazzinghy ALVARENGA⁴; Laércio ZAMBOLIM³; Ney Sussumu SAKIYAMA^{5,4}

¹Universidade Federal de Viçosa (UFV)/BIOAGRO, Laboratório de Biotecnologia do Cafeeiro, 36 570-000, Viçosa – MG. E-mail: juliobarbosao@yahoo.com.br; ²Embrapa Café; ³UFV/Departamento de Fitopatologia; ⁴UFV/BIOAGRO; ⁵UFV/Departamento de Fitotecnia

Resumo:

A ferrugem alaranjada, causada por *Hemileia vastatrix* Berk. & Br, constitui um dos principais problemas para a cultura do café. O controle da doença geralmente é feito com o uso de fungicidas, os quais aumentam o custo de produção e os riscos ambientais e à saúde humana. O uso de variedades resistentes é uma alternativa para um controle eficiente, simples, barato e que reduz o uso de agrotóxicos na cafeicultura. Portanto, programas de melhoramento têm sido realizados visando obter variedades resistentes a esta doença. Para dar suporte a esses programas, no presente trabalho, foi realizado o estudo da herança da resistência do Híbrido de Timor UFV 440-22, importante fonte utilizada pelos melhoristas. O conhecimento da herança da resistência é essencial para o planejamento e uso eficiente das fontes no melhoramento genético do cafeeiro. O Híbrido de Timor foi cruzado com a cultivar suscetível Catuaí UFV 2143-193 e a planta F₁ foi autofecundada formando a população segregante F₂, com 113 indivíduos. Os genitores, a planta F₁ e a população F₂ foram inoculados com a raça II de *H. vastatrix*. A avaliação da doença foi realizada aos 50 dias após a inoculação, com base na reação de resistência ou suscetibilidade. A resistência horizontal também foi analisada utilizando-se sete componentes de resistência a doença: período de incubação (PI), período latente (PL), número de lesões (NL), número de lesões esporuladas (NLE), razão de infecção (RI), razão de esporulação (RE) e produção de uredosporos (PE). A fonte de resistência UFV440-22 e o híbrido F₁ comportaram-se como resistentes, enquanto a cv. Catuaí UFV 2143-193 foi severamente atacada. Na geração segregante F₂, das 113 plantas observadas, 101 foram resistentes e 12 suscetíveis, indicando que um gene dominante independente e dois recessivos complementares controlam a resistência deste Híbrido de Timor à raça II de *H. vastatrix* (χ^2 ; P>0,05%). Além da resistência vertical, indivíduos da população F₂ apresentaram resistência horizontal, demonstrando que o Híbrido de Timor UFV 440-22 pode ser utilizado como fonte para resistência vertical ou horizontal nos programas de melhoramento que visam a obtenção de variedades resistente à ferrugem.

Palavras-chave: *Hemileia vastatrix*, herança da resistência, resistência vertical e horizontal, melhoramento do cafeeiro.

CHARACTERIZATION OF THE VERTICAL AND HORIZONTAL RESISTANCE TO COFFEE LEAF RUST (*Hemileia vastatrix* Berk. & Br) IN HÍBRIDO DE TIMOR ACCESSION

ABSTRACT

The coffee leaf rust caused by *Hemileia vastatrix* Berk & Br is the most important disease of *Coffea arabica* L. The control of the disease is based on the application of fungicides, which increase the production costs and the environmental and human health risks. The use of resistant varieties is the best alternative to control the disease, because it is simple and inexpensive; furthermore it decrease the use of agrochemicals in the coffee plantation. Therefore, breeding programs have been accomplished in order to obtain resistant varieties to this disease. To assist these programs, the inheritance resistance of Tymor Hybrid UFV 440-22, which is an important source used by plant breeders, was used. The knowledge about inheritance resistance is essential for both planning and efficient use of the sources in the coffee genetic breeding. The Tymor Hybrid was crossed with the susceptible cultivar Catuaí UFV 2143-193 and the F₁ plant was self-fertilized, forming the F₂ population, with 113 individuals. The genitors, the F₁ plant and the F₂ population were inoculated with the *H. vastatrix* race II. The evaluation of the disease was done 50 days after the inoculation, based on the resistance or susceptibility reaction. The horizontal resistance was also analyzed by the resistance components: incubation period (PI), latent period (PL), lesion number (NL), number of sporulated lesions (NLE), infection rate (RI), sporulation rate (RE) and uredospores production (PE). The resistance source UFV 440-22 and the F₁ hybrid behaved as resistant, while the cultivar Catuaí UFV 2143-193 was severely attacked. On the F₂ population, out of the 113 observed plants 101 were resistant and 12 were susceptible, indicating that one independent dominant and two complementary recessive genes control the Tymor Hybrid resistance to *Hemileia vastatrix* race II (χ^2 ; P>0,05%). Horizontal resistance was also observed in the F₂ population,

demonstrating that the Tymor Hybrid UFV 440-22 can be used as source to either vertical or horizontal resistance in the breeding programs aiming to develop resistant varieties to coffee leaf rust.

Key words: *Hemileia vastatrix*, resistance inheritance, vertical and horizontal resistance, coffee breeding.

INTRODUÇÃO

Um dos grandes problemas enfrentados pelos cafeicultores são os danos causados pelas doenças, entre as quais destaca-se a ferrugem do cafeeiro (*Hemileia vastatrix* Berk. & Br), que pode ocasionar perdas na produção na ordem de 35% (Zambolim et al., 1997). Quase todas as variedades de café cultivadas são suscetíveis a esta doença e o controle tem sido realizado quase que exclusivamente pelo uso de fungicidas. Esta prática, além de aumentar os custos de produção, coloca em risco o meio ambiente e a saúde do homem. Dentre as formas alternativas de controle preconizadas, destaca-se o cultivo de variedades resistentes. A adoção desta estratégia pelos agricultores é simples, barata e reduz o uso de agrotóxicos na cafeicultura. No entanto, a quebra da resistência de algumas cultivares com resistência vertical tem limitado a utilização desses materiais por um período longo no campo. Em contrapartida a superação da resistência horizontal, quando ocorre, é pequena e raramente constitui uma perda completa. Enquanto uma única alteração genética no patógeno é suficiente para vencer a resistência vertical, condicionada por um único ou poucos genes, são necessárias diversas alterações genéticas para o patógeno vencer a resistência horizontal (Vanderplank, 1963). Uma das estratégias para aumentar a durabilidade da resistência do cafeeiro à ferrugem seria, portanto, combinar a resistência vertical e a horizontal nas variedades melhoradas. Estudos anteriores demonstraram que alguns acessos de Híbridos de Timor, descendente de um híbrido natural de *Coffea arabica* e *Coffea canephora*, foram resistentes a *H. vastatrix*. Embora não possua características agrônomicas desejáveis, acessos de Híbridos de Timor vêm sendo usados em programas de melhoramento do cafeeiro como fonte de resistência a doenças e pragas. Para dar suporte aos programas de melhoramento, no presente trabalho, estudou-se a herança da resistência dos genes presentes no Híbrido de Timor UFV440-22 que conferem resistência vertical à raça II de *H. vastatrix*. Avaliou-se, também, o potencial deste genótipo como fonte de resistência horizontal.

MATERIAL E MÉTODOS

Para caracterizar a herança da resistência do Híbrido de Timor UFV 440-22 à ferrugem, esta fonte de resistência foi usada como progenitor masculino no cruzamento com a cultivar suscetível Catuaí UFV 2143-193. A planta F₁ foi submetida à autofecundação controlada a fim de obter a geração F₂. O cruzamento foi realizado adotando-se a técnica de rotina, de acordo com a metodologia utilizada por Pereira (1995). Emascaram-se as flores do progenitor feminino quando os botões florais apresentavam as características adequadas. As flores do progenitor masculino foram coletadas fechadas e armazenadas em placas de Petri até a abertura, para a realização da polinização artificial. Sacos de papel permaneceram cobrindo os ramos com as flores polinizadas artificialmente por cerca de 20 dias após a florada. Observações periódicas foram realizadas visando eliminar os possíveis botões florais surgidos posteriormente. O Híbrido de Timor UFV 440-22 e a cv. Catuaí UFV 2143-193 já se encontravam no Campo Experimental do Viveiro de Café da Universidade Federal de Viçosa. As mudas das gerações F₁ e F₂ foram produzidas e conduzidas sob condições de viveiro, proporcionando luminosidade e temperaturas amenas, adequadas para o desenvolvimento das mudas. Sacos plásticos de 22 cm de altura e 10 cm de diâmetro foram preenchidos com substrato. Em seguida, as sementes foram plantadas, sendo uma semente para cada saco plástico. Quando as mudas adquiriram 30 cm de altura, foram selecionadas e transplantadas para vasos com capacidade de 5 litros e mantidas em viveiro. Irrigações, adubações e controles de doenças e pragas foram feitos adequadamente quando necessário.

Para a inoculação, utilizou-se a raça II do patógeno que foi adquirida da micoteca do Laboratório de Biotecnologia do Cafeeiro - BioCafê. Para multiplicação, o patógeno foi inoculado nas superfícies abaxiais dos segundos e terceiros pares de folhas de plantas de café cv. Catuaí. Os uredosporos foram distribuídos através de um pincel de pêlo de camelo e, em seguida, as plantas foram aspergidas com água destilada até obter-se um leve molhamento superficial. As plantas foram mantidas no escuro durante 72 horas (22°C, UR 90%) e, em seguida transferidas para uma câmara de incubação com condições ideais para a sobrevivência e multiplicação do patógeno. Após uma abundante esporulação, os uredosporos foram coletados, acondicionados em ampolas de vidro vedadas com algodão e colocados em dessecador, contendo na parte inferior solução aquosa de ácido sulfúrico com densidade de 1,8 e concentração de 32,6% (v/v), de modo a manter a umidade relativa em torno de 50% no ambiente interno (Zambolim & Chaves, 1974). Plantas foram inoculadas utilizando a metodologia de folhas destacadas, modificada no laboratório BioCafê. Antes da inoculação, a viabilidade dos uredosporos foi testada utilizando-se placas com ágar-água, obtendo-se uma percentagem de germinação variando de 21 a 39%. Foram avaliadas dez folhas do genitor suscetível, dez do genitor resistente e dez da planta F₁. Na população F₂, constituída de 113 plantas, foi avaliada uma folha de cada indivíduo. Folhas saudáveis, jovens e completamente expandidas foram coletadas e umedecidas em papel toalha para que preservasse sua integridade fisiológica e bioquímica. Estas folhas foram lavadas em água corrente e acondicionadas em gerbox desinfetado contendo o fundo revestido com uma espuma saturada com água destilada. Vinte gotas de 5µl de uma solução de 4mg/ml de uredosporos foi aplicada com auxílio de uma micropipeta automática, sobre cada folha destacada das progênies a serem avaliadas. Os gerbox foram mantidos na ausência de luz durante 72 horas (22°C, UR 90%) e, em seguida, transferidos para uma câmara de incubação com condições controladas de

umidade e temperatura (22°C, UR 90%). Durante a incubação, checkou-se semanalmente o nível de água nos gerbox. Após 50 dias da inoculação procedeu-se a avaliação da resistência vertical de acordo com a escala de notas proposta por Tamayo (1988). As plantas foram divididas em duas classes fenotípicas, suscetível e resistente, com base na ausência de uredosporos (notas 1, 2 e 3) ou presença (notas 4, 5 e 6) (Fig. 1). A análise da segregação fenotípica das plantas foi realizada por meio do teste Qui-quadrado (χ^2), usando-se o programa GENES (Cruz, 2004). Várias proporções fenotípicas foram analisadas, procurando-se detectar aquela que melhor explicasse as frequências das classes fenotípicas observadas.

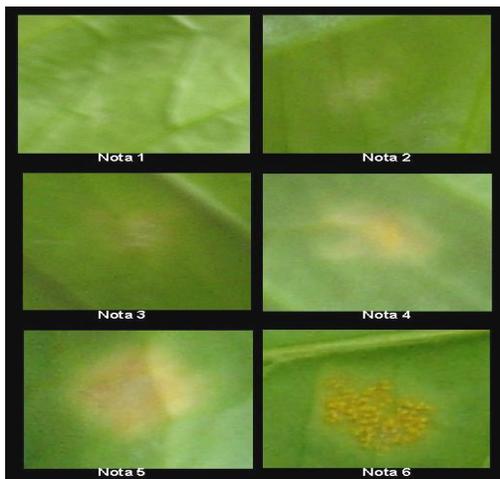


Figura 1- Escala de notas para a avaliação da resistência do cafeeiro à *H. vastatrix* (Tamayo, 1988)

Para a resistência horizontal, foram avaliados sete componentes. O período de incubação (PI) corresponde ao tempo, em dias, decorrido desde a inoculação até o aparecimento dos primeiros sintomas em cada folha inoculada. O período latente (PL) é tempo, em dias, desde a inoculação até a esporulação de 50% das pústulas presentes na folha inoculada. Número de lesões (NL) corresponde ao número de lesões esporuladas e não esporuladas por folha inoculada. Número de lesões esporuladas (NLE) corresponde ao número de lesões esporuladas por folha, independente do grau de reação. Razão de esporulação (RE) foi obtida dividindo-se o número de folhas inoculadas com lesões esporuladas, pelo número total de folhas inoculadas. A razão de infecção (RI) foi obtida dividindo-se o número de folhas lesionadas pelo número total de folhas inoculadas, sendo que cada folha no gerbox representa uma planta de uma população. O último componente avaliado foi a produção de uredosporos (PE), obtida por meio da estimativa do número médio de uredosporos por lesão. As lesões esporuladas foram recortadas e transferidas para um tubo de 2000 μ l contendo 1000 μ l de água destilada. Após uma intensa agitação, 10 μ l de suspensão de esporos foi depositada em lâmina, com auxílio de micropipeta automática. Foi realizada contagem direta dos uredosporos em microscópio com objetiva de 40X e o valor extrapolado para 1000 μ l, que corresponde ao volume total contendo todos os esporos da lesão. A avaliação desses componentes foi realizada aos 60 dias após as inoculações com exceção do PI e PL que foram avaliados diariamente, a partir do décimo dia da inoculação até a constatação dos primeiros sintomas e sinais nas folhas. Como testemunha suscetível utilizou-se a cultivar Catuaí.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A escolha da raça II de *H. vastatrix* para a caracterização da resistência da fonte UFV 440-22 foi realizada por ser esta a raça predominantemente encontrada no Brasil. Após a inoculação das plantas com esta raça de ferrugem, confirmou-se a susceptibilidade da cv. Catuaí UFV 2143-193 e a resistência do Híbrido de Timor UFV 440-22. Folhas inoculadas da cv. Catuaí UFV 2143-193 foram severamente atacadas, apresentando lesões com notas 5 e 6. Em nenhuma folha do genótipo UFV 440-22 inoculada observou-se sintoma e sinais da doença. A natureza da resistência vertical deste genótipo foi determinada após a análise da segregação fenotípica da planta F₁ e da população segregante F₂, provenientes do cruzamento do acesso UFV 440-22 e a cv suscetível Catuaí UFV 2143-193. Plantas que apresentaram notas de 1 a 3 foram consideradas resistentes e de 4 a 6, suscetíveis. As folhas da planta F₁ inoculadas foram resistentes, apresentando notas 1 e 2. Este dado sugere que o fator de resistência apresenta dominância. Na população F₂, das 113 plantas avaliadas, 101 foram resistentes e 12 suscetíveis. Essa distribuição de frequência foi testada, pelo teste de Qui-quadrado, utilizando diferentes proporções fenotípicas de plantas resistentes para suscetíveis, considerando as possíveis combinações de um, dois e três genes. As frequências observadas e as esperadas que melhor explicaram os dados encontrados para os genitores e populações derivadas do cruzamento estão descritas na Tabela 1. A segregação obtida sugere que a resistência vertical do

Híbrido de Timor UFV 440-22 à raça II de *H. vastatrix* é condicionada por um gene dominante independente e dois recessivos complementares. Para a confirmação desses resultados estão sendo produzidas populações de retrocruzamentos da planta F₁ com os dois genitores, resistente e suscetível. No entanto, os resultados obtidos, a respeito do controle genético da resistência à raça II de *H. vastatrix*, são de grande utilidade na tomada de decisões sobre estratégias a serem adotadas nos Programa de Melhoramento genético do cafeeiro da EPAMIG/UFV, visando a obtenção de cultivares resistentes à ferrugem.

Tabela 1 - Análise da segregação da resistência a raça II de *H. vastatrix* em Catuaí UFV 2143-193, UFV 440-22 e populações derivadas do cruzamento entre eles.

População	Nº de plantas		Proporção esperada ^c	χ^2	Probabilidade (%)
	R	S			
Catuaí UFV 2143-193	0	10	0:1		
Híbrido de Timor UFV 440-22	10	0	1:0		
F ₁ ^a	10	0	1:0		
F ₂ ^b	101	12	57:7	0,011	91,37

^a Catuaí UFV 2143-193 x Híbrido de Timor UFV 440-22

^b F₁ com autofecundação controlada

^c Proporção resistente: suscetível

Além da presença da resistência vertical, foi observado resistência horizontal na população F₂ do cruzamento do Híbrido de Timor UFV 440-22 e a cv. Catuaí UFV 2143-193. O período latente (PL) médio da população em F₂ foi de 23,20 dias, demonstrando ser superior a testemunha, que obteve 20 dias. Do mesmo modo, o período de incubação (PI) médio foi mais longo, alcançando 33 dias, enquanto na testemunha foi de 27 dias (Tabela 2). Além de uma menor capacidade de penetração e colonização do patógeno nos tecidos foliares, visto pelo PL e PI, as médias dos demais componentes da resistência horizontal (NL, NLE, RI, RE e PE) quando comparados com a testemunha sugeriram uma evolução mais lenta da doença (Tabela 2).

Tabela 2 - Avaliação dos componentes da resistência horizontal a *H. vastatrix* em Híbrido de Timor UFV 440-22

População	Componentes da Resistência Horizontal						
	PL ^a	PI ^b	NL ^c	NLE ^d	RI ^e	RE ^f	PE ^g
F ₂ - (UFV 2143-193 x UFV 440-22) ⊗	23,60	33	13,80	14,10	0,93	0,07	2583
Testemunha: Catuaí	20	27	20	20	1	1	4499

^a PL - Período latente, em dias

^b PI - Período de incubação, em dias

^c NL - Número de lesões. Considerou-se o número máximo de lesões igual a 20

^d NLE - Número de lesões esporuladas. Considerou-se o número máximo de lesões igual a 20

^e RI - Razão de infecção

^f RE - Razão de esporulação

^g PE - Produção de uredosporos

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos demonstraram elevado nível de resistência a *H. vastatrix* no acesso de Híbrido de Timor UFV 440-22, confirmando a importância desse genótipo como fonte de resistência a ferrugem nos programas de melhoramento genético do cafeeiro. O padrão de herança da resistência obtido foi um gene dominante independente e dois recessivos complementares responsáveis pela resistência à raça II de *H. vastatrix*. Além da resistência vertical, foi observada resistência horizontal na população derivada desse Híbrido de Timor. Essas e outras características de interesse, aliadas à alta capacidade produtiva observada, em condições de campo, para as populações derivadas do Híbrido de Timor, ressaltam o potencial desse genótipo, para o melhoramento genético do cafeeiro visando à obtenção de cultivares com resistência durável à ferrugem.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CRUZ, C. D. **Programa Genes**. Aplicativo computacional em genética e estatística. 2004. CD Rom.
- PEREIRA, A.A. **Herança da Resistência a *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. em Cafeeiros Derivados do Híbrido de Timor**. 1995. 66p. Tese (Doutorado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- TAMAYO, P.J. **Resistência de Progênies de Catimor a Oito Raças de *Hemileia vastatrix* Berk. et Br.** 1988. 64p. Tese (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- VANDERPLANK, J. E. **Plant Disease: Epidemics and Control**. New York: Academic Press, 1963.
- ZAMBOLIM, L. & CHAVES, G.M. Efeito de baixas temperaturas e do binômio temperatura-umidade relativa sobre a viabilidade dos uredosporos de *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. e *Uromyces phaseolityca* Arth. **Experientiae**, p. 151-184. 1974.
- ZAMBOLIM, L., VALE, F.X.R., PEREIRA, A.A., CHAVES, G.M. Café (*Coffea arabica* L.): controle de doenças. In: VALE, F.X.R., ZAMBOLIM, L. (Eds.). **Controle de doenças de plantas. Grandes culturas**, v.1, p. 83-140, 1997.