

FENOTIPAGEM PRECOCE DE CAFEZEIROS RESISTENTES À MANCHA-AUREOLADA POR ESPECTROMETRIA NO INFRAVERMELHO PRÓXIMO (NIRS).

MG Carneiro^{1,4}, LMR Rodrigues^{1,5} (lucasmrrieverorodrigues@gmail.com), SAL Destéfano², CRL Carvalho³, TJG Salva¹, O Guerreiro Filho^{1,6}.
¹Centro de Café Alcides Carvalho, Instituto Agrônômico (IAC), Campinas, SP. ²Instituto Biológico, Campinas, SP. ³Laboratório de Fitoquímica Instituto Agrônômico (IAC). ⁴Bolsista PIBIC/CNPq. ⁵Bolsista INCT/Café. ⁶Bolsista CNPq/DT.

A espectrometria no infravermelho próximo (NIRS) vem sendo utilizada em diversos estudos com o objetivo de detectar precocemente doenças de plantas e, mais atualmente, com o desenvolvimento de novos equipamentos em grande escala, na detecção em tempo real em condições de campo. Khaled et al. (2018) compilou diversos métodos de espectroscopia aplicados à detecção de fungos, vírus e bactérias fitopatogênicos em diversas culturas, sem qualquer referência à cultura do cafeeiro. Adicionalmente, apenas um estudo foi conduzido com o propósito de utilizar análises espectrais em auxílio a programas de melhoramento genético; o texto se relaciona à seleção de clones de cana-de-açúcar, *Saccharum officinarum* resistentes à pragas e doenças de etiologia fúngica.

Em cafeeiros (*Coffea* spp.), apenas o estudo conduzido por Pires (2018) relacionou padrões espectrais NIR com a incidência da ferrugem, causada por *Hemileia vastatrix*, em áreas irrigadas e de sequeiro. Outros estudos com a cultura foram conduzidos com a finalidade de associar padrões espectrais com a qualidade de bebida para identificação de híbridos interespecíficos ou quantificação de diterpenos.

A mancha-aureolada, causada pela bactéria *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* é uma doença emergente, considerada limitante em locais com alto potencial de inóculo, tais como, viveiros de mudas e lavouras em formação ou recém podadas. Os prejuízos associados à doença vão desde o atraso da formação das mudas e inviabilização do comércio das mesmas até a morte de plantas no campo. Dessa forma, estudos relacionados a esse patossistema vem sendo desenvolvidos com a finalidade de uma melhor compreensão da interação planta-patógeno e seleção de cafeeiros resistentes à doença.

O objetivo deste estudo foi avaliar a possibilidade de se detectar precocemente a resistência ou suscetibilidade de cafeeiros à mancha-aureolada utilizando-se o método de análise de padrões gerados por espectrometria no infravermelho próximo (NIRS), em auxílio ao programa de melhoramento genético da cultura.

Foram utilizadas mudas de *Coffea arabica* das cultivares Catuaí Vermelho IAC 144 e IPR 102, respectivamente suscetível e resistente à mancha-aureolada, com aproximadamente quatro meses de idade. As folhas do primeiro internódio completamente expandidas foram inoculadas por infiltração do limbo foliar com auxílio de seringa. Os tratamentos consistiram de infiltração de suspensão bacteriana da linhagem IBSBF 1197 de *P. syringae* pv. *garcae* (10^8 UFC.mL⁻¹) ou com água destilada. O tratamento controle foi composto por plantas sadias.

Discos foliares, recortados nos locais de infiltração com auxílio de vazador de rolha de 2,5 cm diâmetro, foram coletados um, dois, três e quatro dias após as inoculações DAI e utilizados nas análises NIRS.

Os espectros de refletância difusa, de 400-2498nm, com intervalos de 2nm, foram obtidos e registrados em equipamento NIRSystems 6500 (FOSS NIRSystems, Silver Spring, MD), em triplicata, a partir de seis repetições e parcela de uma planta por período. O controle do instrumento e a manipulação espectral inicial foram efetuados utilizando-se o software Vision 2.22 de acordo com instruções do fabricante. Os dados espectrais obtidos foram submetidos à análise de componentes principais (Principal Component Analysis - PCA) utilizando-se o software Pirouette®, v. 4.5 (Infometrix, Bothell, WA, USA), com os espectros centrados na média.

Resultados e Conclusões

Os resultados das PCAs obtidos a partir dos espectros gerados de discos *in natura* de folhas de duas cultivares coletados 1, 2, 3 e 4 DAI de plantas inoculadas com *P. syringae* pv. *garcae*, plantas infiltradas com água destilada e plantas sadias, estão representados na figura 1.

As análises de espectros oriundos de discos foliares inoculados com a bactéria e coletados 1, 3 e 4 DAI (Figuras 1A, 1C e 1D) permitiram uma clara separação em grupos das cultivares estudadas; aos 2 DAI (Figura 1B), observou-se uma certa polarização das cultivares em lados opostos da figura, mas com a ocorrência de sobreposição dos grupos. Os espectros gerados a partir da análise de discos de folhas *in natura* coletados 1, 2, 3 e 4 DAI em plantas infiltradas com água destilada e em plantas sadias (Figuras 1E-L) não permitiram a separação das cultivares Catuaí Vermelho IAC 144 e IPR 102, sendo os resultados semelhantes àqueles ilustrados na figura 1B.

A espectrometria no infravermelho próximo já foi utilizada com sucesso em estudos com o café. Downey & Boussion (1996) evidenciaram o potencial da técnica na discriminação de bebidas preparadas a partir de amostras puras de *C. arabica* e de *C. canephora*, assim como, de misturas entre as espécies. Análises do endosperma por espectrometria no infravermelho próximo revelaram-se também eficientes na identificação de cultivares de *C. arabica* obtidas a partir da introgressão de genes de *C. canephora* (Bertrand et al., 2005).

Em nossos estudos, as análises foram realizadas com tecidos foliares de plantas jovens de cultivares contrastantes em relação à resposta à infecção por *P. syringae* pv. *garcae*, sendo a cultivar IPR 102, resistente e a cultivar Catuaí Vermelho IAC 144, suscetível à bactéria.

Os resultados das análises por NIRS evidenciaram que a infecção pela bactéria tem papel fundamental na identificação dos genótipos, uma vez que plantas sadias, não inoculadas ou inoculadas apenas com água destilada, não permitiram a separação das cultivares.

A separação mais nítida das cultivares IPR 102 e Catuaí Vermelho IAC 144 nas análises realizadas 1 DAI, pode indicar a existência de um mecanismo de defesa dos cafeeiros contra *P. syringae* pv. *garcae* que se manifestaria nas primeiras 24 horas após as inoculações, hipótese que necessita ser melhor estudada.

A detecção precoce de doenças em plantas representa importante ferramenta no manejo de doenças. A espectrometria por NIR aliada a análises multivariadas apresentam-se como técnicas bastante precisas, que vem sendo utilizadas em outros patossistemas (Khaled et al., 2018). Certamente, após alguns aperfeiçoamentos, tais ferramentas poderão ser utilizadas na detecção da mancha-aureolada e identificação de plantas resistentes ao patógeno. Experimentos com maior número de genótipos de cafeeiros e de linhagens bacterianas se fazem necessários para a validação dos resultados.

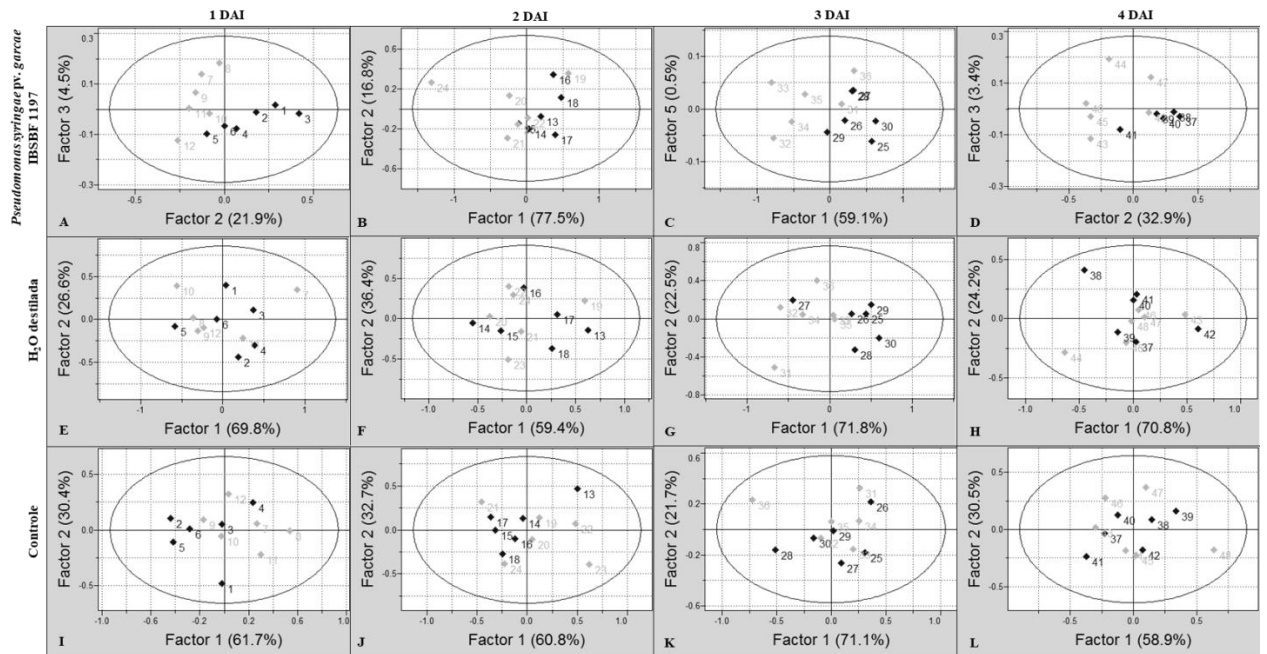


Figura 1: Análise de componentes principais de leituras espectrais por NIRS no intervalo de 400 a 2498nm, de discos foliares *in natura*, obtidos de *Coffea arabica* cv. Catuaí Vermelho IAC 144 (◊) e IPR 102 (●), respectivamente suscetível e resistente à mancha-aureolada, a partir de folhas infiltradas com *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* ou H₂O destilada e sadias (controle) no período de um a quatro dias após as inoculações (DAI) (n = 6).