

# HERANÇA DA RESISTÊNCIA DO HÍBRIDO DE TIMOR UFV 443-3 À *Hemileia vastatrix* Berk. et Br.

Everton de Arruda FRANCHINI<sup>1,2</sup>; Eunize Maciel ZAMBOLIM<sup>1</sup>; Alexandre Sandri CAPUCHO<sup>2</sup>; Eveline Teixeira CAIXETA<sup>1</sup>; Antônio Alves PEREIRA<sup>3</sup>; Laércio ZAMBOLIM<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de Viçosa (UFV)/BIOAGRO, Laboratório de Biotecnologia do Cafeeiro, 36570-000, Viçosa - MG. E-mail: biocafe@ufv.br; <sup>2</sup>(UFV)/Departamento de Fitopatologia; <sup>3</sup>Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG). Apoio financeiro: EPAMIG/CNPq

## Resumo:

A ferrugem do cafeeiro causada por *Hemileia vastatrix* é um das principais doenças do cafeeiro. O uso de variedades resistentes é a alternativa de controle mais eficiente, simples e baixo custo, além de reduzir/eliminar o uso de defensivos agrícolas. O objetivo deste trabalho foi caracterizar a herança da resistência do Híbrido de Timor UFV 443-3 à raça II de *H. vastatrix*. Para isso foi realizado o cruzamento entre o Híbrido de Timor UFV 443-3 e a variedade suscetível Catuaí amarelo IAC 64 (UFV 2148-57EL7). Os genitores e as plantas das gerações F<sub>1</sub> e F<sub>2</sub> foram inoculadas com o patógeno. O Híbrido de Timor e o F<sub>1</sub> foram resistentes, enquanto que o 'Catuaí' foi suscetível. Dos 246 indivíduos F<sub>2</sub>, 243 comportaram-se como resistentes e três como suscetíveis. Esta segregação (63:1) sugere que a resistência do Híbrido de Timor UFV 443-3 à raça II de *H. vastatrix* é condicionada por três genes dominantes e independentes.

Palavras-chave: Ferrugem do cafeeiro, herança da resistência, Híbrido de Timor.

## INHERITANCE OF RESISTANCE TO *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. IN THE TIMOR HYBRID UFV 443-3

## Abstract:

Coffee leaf rust caused by *Hemileia vastatrix* is one of the most destructive diseases of coffee tree. Rust resistant varieties are the most effective alternative control because it is simple, costless and furthermore can minimize/eliminate the use of fungicides. The objective of this work was to characterize the inheritance resistance of the Timor Hybrid UFV 443-3 to *H. vastatrix* race II. For that the Timor Hybrid UFV 443-3 were crossed with the susceptible variety Catuaí amarelo IAC 64 (UFV 2148-57EL7). The parents and the plants of the generations f<sub>1</sub> and f<sub>2</sub> were inoculated with the fungi. The parent Timor Hybrid and the F<sub>1</sub> plants were resistent, while the 'catuaí' was susceptible. Of the 246 individuals F<sub>2</sub>, 243 were resistant and three susceptible. The ratio of segregation (63:1) suggests that the resistance of the Timor Hybrid UFV 443-3 to the race II of *H. vastatrix* is conditioned by three dominants and independents genes.

Key words: Coffee leaf rust, inheritance of resistance, Timor Hybrid

## Introdução

Dentre os fatores culturais que determinam o sucesso ou insucesso da produção de café estão as doenças, que vem ao longo dos anos afetando a qualidade e a produtividade do cafeeiro. A ferrugem do cafeeiro (*Hemileia vastatrix* Berk. et Br.) é a principal doença da cultura, podendo ocasionar perdas na produção na ordem de 35% (Zambolim et al., 1997).

O controle da doença pode ser feito preventivamente com fungicidas protetores, sendo os cúpricos os mais efetivos, ou pelo emprego de fungicidas sistêmicos via foliar ou via solo (Zambolim et al., 1999). Outro método de controle é o uso de variedades resistentes, que é a medida mais econômica e eficiente, por ser simples, baixo custo, além de reduzir/eliminar o uso de defensivos. Entretanto, o parque cafeeiro do País é formado de variedades suscetíveis. Várias fontes de resistência já foram identificadas e podem ser utilizadas pelos Programas de Melhoramento visando à obtenção de variedades resistentes.

A primeira tentativa visando identificar e estudar a herança da resistência do cafeeiro à *H. vastatrix* foi feita por Mayne (1935) na Índia. Ao estudar as interações das seleções Coorg e DK 1/6 de *Coffea arabica* e os segregantes tetraplóides S.288 e S.353 de híbridos de *C. arabica* x *C. liberica* às raças de ferrugem, verificou a existência de dois fatores de resistência nesses genótipos. Noronha-Wagner e Bettencourt (1967) identificaram quatro alelos dominantes (S<sub>H</sub>1, S<sub>H</sub>2, S<sub>H</sub>3 e S<sub>H</sub>4), condicionando resistência de *C. arabica* a 12 raças fisiológicas de *H. vastatrix*. Bettencourt e Carvalho (1968) analisando espectros de reação de plantas de nove grupos de arábica a 22 raças de *H. vastatrix*, admitiram a existência de mais dois fatores de resistência (S<sub>H</sub>5 e S<sub>H</sub>6). Trabalhos realizados no CIFIC (Centro de Investigação das Ferrugens do Cafeeiro) identificaram o fator de resistência S<sub>H</sub>5 em Bourbon e Caturra (Noronha-Wagner Bettencourt, 1967), S<sub>H</sub>3 em *C. liberica*, S<sub>H</sub>6 no genótipo CIFIC 1343/269 e os fatores de resistência S<sub>H</sub>5, S<sub>H</sub>6, S<sub>H</sub>7, S<sub>H</sub>8 e S<sub>H</sub>9 em populações derivadas do Híbrido de Timor (Bettencourt e Rodrigues Jr., 1988). Alguns autores têm referido também a possível existência de outros genes conferindo resistência incompleta em derivados do Híbrido de Timor (Eskes et al.

1983). Embora não possua características agronômicas desejáveis, os acessos de Híbridos de Timor vêm sendo usados nos programas de melhoramento do cafeeiro como fonte de genes de resistência a doenças e pragas.

Na literatura encontram-se alguns trabalhos sobre a herança da resistência à raça II de *Hemileia vastatrix* em plantas de café oriundas de cruzamento entre variedades suscetíveis (Catuaí e Mundo Novo) e acessos do Híbrido de Timor (Barbosa *et al.* 2004; Caixeta *et al.* 2003 e Tedesco *et al.* 2000). Esses autores encontraram na descendência herança monogênica, conferida por um gene com dominância completa para os Híbridos de Timor 420-22, 427-15 e 376-2, respectivamente. Pereira (1995) encontrou herança monogênica na combinação híbrida H 421, originada do Híbrido de Timor UFV 427-15, com o genitor masculino e três genes dominantes e independentes governando a resistência nas combinações híbridas H 419, H 430, H 447, H 464, H 469 e H 484, resultantes do cruzamento das seleções de Híbridos de Timor UFV 445-46, UFV 442-105, UFV 377-1, UFV 334-19, UFV 446-8, UFV 443-3, respectivamente. No presente trabalho foi feito um estudo da herança da resistência dos genes presentes no Híbrido de Timor UFV443-3.

## Material e Métodos

Para caracterizar a herança da resistência do Híbrido de Timor UFV 443-3 à *H. vastatrix*, esse acesso foi usado como genitor masculino no cruzamento com a cultivar suscetível Catuaí UFV 2148-57. A planta F<sub>1</sub> foi submetida a autofecundação controlada a fim de obter a geração F<sub>2</sub>. O Híbrido de Timor UFV 443-3, a cv. Catuaí amarelo IAC 64 (UFV 2148-57EL7) e a planta F<sub>1</sub> H511-1 já se encontravam no Campo Experimental do Viveiro de Café da Universidade Federal de Viçosa. As mudas da geração F<sub>2</sub> foram produzidas e conduzidas sob condições de viveiro, proporcionando luminosidade e temperaturas amenas, adequadas para o seu desenvolvimento. A sementeira foi feita em recipientes plásticos, contendo substrato devidamente fertilizado que receberam duas sementes por recipiente. Quando as mudas adquiriram 30 cm de altura, foram selecionadas e transplantadas para vasos com capacidade de 5 L e mantidas em viveiro. As plantas de todas as populações estão sendo mantidas em condições de campo, sendo realizadas irrigações, adubações e controles de doenças e pragas quando necessário.

Para a inoculação, utilizou-se isolado monopustular da raça II do patógeno (Cardoso 1986). Para a multiplicação dos uredosporos procedeu-se a inoculação nas superfícies abaxiais dos segundos e terceiros pares de folhas de plantas de café cv. Catuaí vermelho IAC 44 (UFV 2144). Os uredosporos foram distribuídos por meio de pincel de pêlo de camelo e, em seguida, as plantas foram aspergidas com água destilada até obter-se um leve molhamento superficial, sem ocorrência de escorrimento. As plantas foram mantidas no escuro durante 72 horas (22°C, UR 90%) e, em seguida transferidas para uma câmara de crescimento (22°C e fotoperíodo de 12 horas). Após abundante esporulação, os uredosporos foram coletados, acondicionados em cápsulas de gelatina e colocados em dessecador, contendo na parte inferior solução aquosa de ácido sulfúrico com densidade 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).

As inoculações seguiram a metodologia utilizada por Capucho *et al.* (2005). Este método consistiu na preparação do inóculo pela adição inicial de 1 mL de água destilada em um microtubo contendo 4 mg dos uredosporos de *H. vastatrix*. Após uma ligeira homogeneização da amostra num agitador, adicionou-se mais 1 mL de água na suspensão. Durante todo o processo de inoculação, o inóculo foi submetido a várias homogeneizações para permanecer em suspensão.

Folhas completamente expandidas e destacadas foram selecionadas dos genitores, planta F<sub>1</sub> e das 246 mudas da população F<sub>2</sub> H511-1, sob condições de campo, que após serem lavadas em água corrente e secadas em papel de filtro, foram depositadas com a face abaxial voltada para cima sob uma tela e espuma, saturada com água, no interior de um *gerbox*. Após esse procedimento procedeu-se as inoculações pela aplicação de 10 gotas de 5µL do inóculo (2,0 mg/mL) com auxílio de uma micropipeta. As gotas foram dispostas apenas no lado esquerdo da folha. O outro lado da folha foi utilizado como controle negativo, com o objetivo de observar possível contaminação com inóculo proveniente do campo de cultivo. Após a inoculação, os *gerbox* foram deixados por 48 horas à temperatura de 22±2 °C na ausência de luz. A seguir, foi feita uma limpeza cuidadosa, com auxílio de algodão, na superfície abaxial das folhas, tomando o cuidado para não causar ferimentos. Esse processo teve por finalidade retirar uredosporos germinados ou não que ficam retidos na folha, evitando contaminações por fungos hiperparasitas de *Hemileia vastatrix*, como *Verticillium hemileia* e *Acremonium* spp., que possam prejudicar as avaliações futuras. A seguir os *gerbox* foram transferidos para câmara com fotoperíodo de 12 horas de luz, e temperatura de 22±2 °C.

As avaliações foram iniciadas aos 25 dias após a inoculação, coincidindo com o início do surgimento dos sintomas da doença. Foram feitas quatro avaliações espaçadas por um período de sete dias. Os índices de esporulação foram analisados pela escala de Tamayo *et al.* (1995) (Figura 1). Nesta escala, as notas 1, 2 e 3 correspondem à reação de resistência do cafeeiro à *H. vastatrix*, e as notas 4, 5 e 6, a reações de susceptibilidade. Nota 1: ausência de sintomas; nota 2: lesões cloróticas pequenas; nota 3: lesões cloróticas grandes; nota 4: lesões cloróticas grandes com pequena esporulação, ocupando menos de 25% da área da lesão com uredosporos; nota 5: lesões com esporulação ocupando de 25 a 50% de sua área e nota 6: lesões com esporulação ocupando mais de 50% de sua área.

As plantas foram divididas em duas classes fenotípicas, suscetível e resistente, com base na ausência de uredosporos, notas 1, 2 e 3, ou presença de uredosporos, notas 4, 5 e 6.

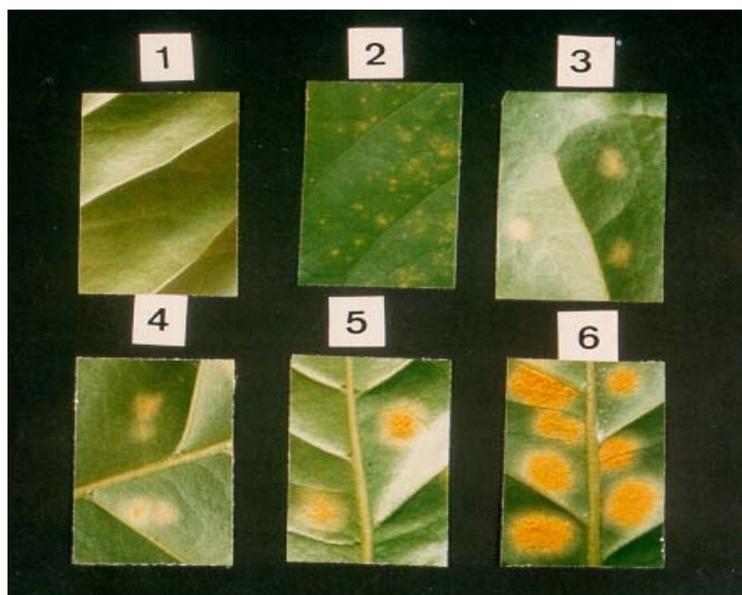


Figura 1- Escala de notas para a avaliação da resistência do cafeeiro à *H. vastatrix* (Tamayo *et al.*, 1995).

A análise da segregação fenotípica das plantas foi realizada por meio do teste Qui-quadrado ( $\chi^2$ ), utilizando o programa GENES (Cruz, 2004). Várias proporções fenotípicas foram analisadas, procurando-se detectar aquela que melhor explicasse as frequências das classes fenotípicas observadas.

## Resultados e Discussão

Após a inoculação das plantas com a raça II de *H. vastatrix*, confirmou-se a suscetibilidade da cv. Catuaí UFV 2148-57 e a resistência do Híbrido de Timor UFV 443-3. Catuaí UFV 2148-57 foi suscetível apresentando pústulas com notas 5 e 6. Em nenhuma folha do genótipo UFV 443-3 inoculada foi observado sinais da doença. A natureza da resistência vertical deste genótipo foi determinada após a análise da segregação fenotípica da planta  $F_1$  e da população segregante  $F_2$ , provenientes do cruzamento do acesso UFV 443-3 com a cultivar suscetível Catuaí UFV 2148-57. Plantas  $F_1$  inoculadas foram resistentes, apresentando notas 1 e 2. Este dado sugere que o gene que controla a reação de resistência é dominante. Na população  $F_2$ , das 246 plantas avaliadas, 243 foram resistentes e 3 suscetíveis. Essa distribuição de frequência foi testada, pelo teste Qui-quadrado, utilizando diferentes proporções fenotípicas de plantas resistentes para suscetíveis, considerando combinações de um, dois e três genes (Tabela 1). Desta forma, foram testadas 13 proporções fenotípicas (R:S): 3:1 resistência controlada por um gene dominante; 15:1 resistência controlada por dois genes dominantes; 13:3 um gene dominante e outro recessivo, controlando a resistência; 9:7 resistência governada por dois genes dominantes complementares; 63:1 indicando três genes dominantes; 27:37 três genes dominantes complementares; 37:27 três genes recessivos; 61:3 a resistência é resultante da ação de dois genes dominantes e um recessivo; 49:15 em que um gene dominante e dois recessivos complementares; 43:21 um gene recessivo e dois genes dominantes complementares; 57:7 um gene dominante e dois dominantes complementares; 51:13 um gene dominante e um gene dominante e outro recessivo complementares; 55:9 onde um gene dominante e dois recessivos governam a resistência.

A frequência esperada que explica os dados observados para os genitores e populações derivadas do cruzamento estão descritas na Tabela 2. A segregação obtida sugere que a resistência vertical do Híbrido de Timor UFV 443-3 à raça II de *H. vastatrix* é condicionada por três genes dominantes e independentes.

Tabela 1- Teste de proporções fenotípicas em progênie F<sub>2</sub> de 246 cafeeiros derivados do cruzamento entre Catuaí amarelo IAC 64 (UFV 2148-57EL7) e o Híbrido de Timor UFV443-3, inoculados com isolado monopustular da raça II de *H. vastatrix*.

Proporções Testadas		Nº Plantas F <sub>2</sub> Observado		Nº Plantas Esperado		$\chi^2$	Probabilidade (%)
R	S	R	S	R	S		
3	1	243	3	184	62	74,19	0,00
15	1	243	3	231	15	10,62	0,11
13	3	243	3	200	46	49,62	0,00
9	7	243	3	138	108	180,81	0,00
63	1	243	3	242	4	0,18	66,45
61	3	243	3	234	12	6,62	1,01
55	9	243	3	211	35	33,57	0,00
37	27	243	3	142	104	169,28	0,00
27	37	243	3	104	142	323,0	0,00
57	7	243	3	219	27	23,85	0,00
51	13	243	3	196	50	55,40	0,00
49	15	243	3	188	58	67,67	0,00
43	21	243	3	165	81	111,37	0,00

Tabela 2- Análise da segregação da resistência à raça II de *H. vastatrix* do Catuaí amarelo IAC 64 (UFV 2148-57EL7), UFV443-3 e progênie derivada de seus cruzamentos.

População	Nº de plantas		Proporção esperada <sup>c</sup>	$\chi^2$	Probabilidade (%)
	R	S			
Catuaí UFV 2148-57	0	1	0:1		
Híbrido de Timor UFV443-3	1	0	1:0		
F <sub>1</sub> <sup>a</sup>	50	0	1:0		
F <sub>2</sub> <sup>b</sup>	243	3	63:1	0,18	66,45

<sup>a</sup> Híbrido obtido pelo cruzamento de Catuaí UFV2148-57 com Híbrido de Timor UFV443-3.

<sup>b</sup> Geração F<sub>2</sub>, obtida pela autofecundação controlada da F<sub>1</sub>.

<sup>c</sup> Proporção de plantas resistente e suscetível, esperada.

## Conclusões

Os resultados obtidos demonstraram que o acesso de Híbrido de Timor UFV 443-3 foi resistente a *H. vastatrix*, confirmando a importância desse genótipo como fonte de resistência à ferrugem para os Programas de Melhoramento Genético do Cafeeiro. A herança da resistência obtida foi de três genes dominantes e independentes controlando a resistência à raça II de *H. vastatrix*. Essas e outras características de interesse, como a alta capacidade produtiva observada, em condições de campo, para as populações derivadas do Híbrido de Timor, ressaltam o potencial dessa fonte de resistência para o melhoramento genético do cafeeiro, visando à obtenção de cultivares com resistência durável à ferrugem.

## Referências Bibliográficas

- BARBOSA, J. C.; CAIXETA, E. T.; KOEHLER, A.; MAIA, T.; CAPUCHO, A. S.; ZAMBOLIM, L.; SAKIYAMA, N.S. Herança da resistência do Híbrido de Timor UFV 440-22 à raça II de *Hemileia vastatrix*. In: Anais do XXXVIII Congresso Brasileiro de Fitopatologia. Porto Seguro, BA (Resumos). 2004.
- BETTENCOURT, A.J.; & CARVALHO, A. Melhoramento visando a resistência do cafeeiro à ferrugem. *Bragantia*, 27(24):35-68, 1968.
- BETTENCOURT, A.J.; RODRIGUES JR., C.J. Principles and practice of coffee breeding for resistance to rust and other diseases. In: CLARCKE, R.J.; MACREA, R. (Eds.). *Coffee*, London, Elsevier Applied Science, p.199-235. v. 4: Agronomy. 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 Pesquisa dos Cafés do Brasil e Workshop Internacional de Café & Saúde, (3. : 2003 : Porto Seguro). Anais. Brasília, DF: Embrapa Café, p. 226. 2003.
- CAPUCHO, A.S., RUFINO, R., ZAMBOLIM, E.M., CAIXETA, E.T. & ZAMBOLIM, L. Método de inoculação de *Hemileia vastatrix* em folhas destacadas de cafeeiro. pp. In: IV Simpósio de Pesquisas dos Cafés do Brasil, Londrina-PR (Resumos). 2005.
- CARDOSO, R. M. L. Novas raças fisiológicas de *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. no Brasil, métodos de identificação, e detecção de grupos fisiológicos em cafeeiros derivados do Híbrido de Timor. *Magister Scientiae*, Universidade Federal de Viçosa, Depto Fitopatologia, Viçosa-MG. 1986.
- CRUZ, C.D. Programa Genes-Applicativo computacional em genética e estatística. Viçosa, MG: 2004.
- ESKES, A.B., HOOGSTRATEN, J.G.J., THOMA-BRAGHINI, M. & CARVALHO, A. Genetic studies on incomplete resistance to coffee leaf rust (*Hemileia vastatrix*). pp. 441-444 In: Simpósio das Ferrugens do Cafeeiro, Oeiras, Portugal (Resumos). 1983.
- MAYNE, W. W. Annual Report of the Coffee Scientific Officer, 1934-35. *Mysore Coffee Exp. Stn. Bull.* 13 1935. 28p.
- NORONHA-WAGNER M. & BETTENCOURT, A.J. Genetic study of the resistance de *Coffea* spp. to leaf rust 1. Identification and behavior of four factores conditioning disease reation in *Coffea arabica* to twelve physiologic races of *Hemileia vastatrix*. *Canadian Journal of Botany*, 45:2021-31, 1967.
- PEREIRA, A.A. Herança da resistência a *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. em cafeeiros derivados e Híbrido de Timor. *Doctor Scientiae*, Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Fitopatologia, Viçosa-MG. 1995.
- TAMAYO, P. J.; VALE, F. X. R.; ZAMBOLIM, L.; CHAVES, G. M.; PEREIRA, A. A. Resitência do Catimor à ferrugem e virulência de raças fisiológicas de *Hemileia vastatrix* Berk & Br. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 20, n. 4, p. 572-576, 1995.
- TEDESCO, N.S., SAKIYAMA, N.S., ZAMBOLIM, L., TEIXEIRA-CABRAL, T. & PEREIRA, A.A. Marcadores OPF-151280 e OPC-091120 ligados ao gene de resistência à Ferrugem do Cafeeiro (*Hemileia vastatrix* Berk. et Br.). pp. 569-571 In: Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, Poços de Caldas, MG (Resumos). 2000.
- 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* 151-184. 1974.
- ZAMBOLIM, L., VALE, F.X.R.D., PEREIRA, A.A. & CHAVES, G.M. Café (*Coffea arabica* L.): Controle de doenças causadas por fungos, bactérias e vírus. pp.83-180 In: VALE, F.X.R. & ZAMBOLIM, L. (Eds.) Controle de doenças de plantas. Viçosa-MG: Departamento de Fitopatologia, UFV. 1997.
- ZAMBOLIM, L.; VALE, F.X.R.D.; PEREIRA, A.A.; CHAVES, G.M. Manejo integrado das doenças do cafeeiro. pp.134-215 In: ZAMBOLIM, L. (Ed.) Produção de café com qualidade. Viçosa-MG: Universidade Federal de Viçosa. 1999.