

ANTONIO ALVES PEREIRA

**HERANÇA DA RESISTÊNCIA A *Hemileia vastatrix* Berk. et Br.
EM CAFEEIROS DERIVADOS DO HÍBRIDO DE TIMOR**

Tese Apresentada a Universidade
Federal de Viçosa, como Parte das
Exigências do Curso de Fitopatologia,
para Obtenção do Título *Doctor
Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
JULHO - 1995

A meus pais Joaquim e Clarinda.

A minha esposa Rosali.

Aos meus filhos Elisângela, Marcelo e Vanessa.

Aos meus irmãos Iêdo, Welington, Júlio, Sandra e Jorge.

Ao meu avô João Levino (*in memoriam*).

AGRADECIMENTOS

A Deus, portudo que almejei e consegui.

A minha família, pela compreensão de minha ausência no lar durante inúmeras horas de estudo e trabalho.

Ao professor Geraldo Martins Chaves, pela orientação, amizade e colaboração indispensáveis à conclusão deste trabalho.

Aos professores Cosme Damião Cruz e Laércio Zambolim, pelas decisivas sugestões, pela colaboração e pelo constante apoio e aconselhamento na realização deste trabalho.

A todos os funcionários do Departamento de Fitopatologia da UFV e, em especial, ao Geraldo de Jesus, Delfim, Valtinho, José Carlos e Renato, pela inestimável ajuda na condução das pesquisas.

Aos professores das disciplinas cursadas, pelos ensinamentos.

Ao professor Kiyoshí Matsuoka, pela amizade e pelo exemplo de dedicação ao trabalho que sempre me transmitiu.

Ao Dr. Aníbal Jardim Bettencourt, pela amizade e pelo seu dedicado trabalho ao melhoramento genético do cafeeiro, visando à resistência à ferrugem.

Ao professor Nelson Ferreira Sampaio, pela amizade e pelas valiosas sugestões.

Aos colegas de curso, pela amizade e convivência durante as nossas jornadas de trabalho e lazer.

Ao colega José Clério, pela amizade, colaboração, pelas sugestões e pelo apoio durante a realização do curso.

Aos colegas e amigos da EPAMIG, no CRZM, pela amizade, colaboração e pelo companheirismo durante o dia-a-dia de nossas atividades profissionais.

Aos colegas e amigos Dr. Antônio de Pádua Nacif e Dr^a Glória Zélia T. Caixeta, pela amizade, colaboração, pelo apoio e incentivo durante a realização deste trabalho.

A Helena Aguiar Carrijo, pela amizade, pelo incentivo e estímulo que sempre me ofereceu.

Aos amigos Pastor L. Martins e sua esposa Conceição, pela amizade e pelo constante apoio a mim e a minha família.

A Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais, pela oportunidade de aperfeiçoamento e por tudo que me foi dispensado.

À Universidade Federal de Viçosa, pelo Departamento de Fitopatologia, pela oportunidade de realização deste curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq, pela concessão da bolsa de estudo.

Ao Centro de Investigação das Ferrugens do Cafeeiro (CIFC), em Oeiras, Portugal, pelo reconhecimento do valioso trabalho de melhoramento genético do cafeeiro, visando resistência à ferrugem e aspectos relacionados com o seu patógeno, *Hemileia vastatrix*.

BIOGRAFIA

ANTONIO ALVES PEREIRA, filho de Joaquim Alves Pereira e Clarinda Alves Pereira, nasceu em Ibiraci, Minas Gerais, em 11 de junho de 1945.

Em dezembro de 1971, graduou-se em Engenharia Agrônômica pela Universidade Federal de Viçosa.

Em fevereiro de 1972, iniciou suas atividades profissionais como extensionista rural local de Barreiras (BA), na Associação Nordestina de Crédito e Assistência Rural da Bahia.

Em agosto de 1972, ingressou-se como pesquisador do Programa Integrado de Pesquisas Agropecuárias do Estado de Minas Gerais, hoje Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais.

De março de 1974 a junho de 1976 realizou o curso de Mestrado em Microbiologia Agrícola, no Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa.

Em 1988, iniciou o curso de Doutorado em Fitopatologia, na Universidade Federal de Viçosa.

CONTEÚDO

	Página
EXTRATO	viii
ABSTRACT	x
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
3. MATERIAL E MÉTODOS	15
3.1. Obtenção das Gerações F ₁ e F ₂ , dos Retrocruzamentos e das Descendências dos Genitores	15
3.1.1 .Formação das Mudanças Utilizadas	17
3.2. Raças Fisiológicas do Patógeno	18
3.3. Preparo do Inóculo	19

3.4. Método de Inoculação, Incubação e Condução dos Ensaios ...	20
3.5. Método de Avaliação	22
3.6. Análise dos Dados	23
4. RESULTADOS.....	25
4.1. Inoculações com a Raça II	25
4.2. Inoculações com a Raça XXV	35
5. DISCUSSÃO	45
6. RESUMO E CONCLUSÕES	57
BIBLIOGRAFIA.....	61

EXTRATO

PEREIRA, Antonio Alves, D.S., Universidade Federal de Viçosa, julho de 1995. Herança da Resistência a *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. em Cafeeiros Derivados do Híbrido de Timor. Professor Orientador: Geraldo Martins Chaves. Professores Conselheiros: Cosme Damião Cruz e Laércio Zambolim.

Estudou-se a herança da resistência a *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. em descendências de sete cruzamentos de Catuaí e Mundo Novo com seleções de Híbrido de Timor. Foram estudadas as freqüências de plantas com reações às raças fisiológicas II e XXV de *H. vastatrix* nas classes fenotípicas de resistência e suscetibilidade nas progênies dos genitores P₁ e P₂, nos cafeeiros híbridos F₁ e em suas progênies F₂ e nos retrocruzamentos dos híbridos F₁ com os genitores suscetíveis (RC_{1.1}) e resistentes (RC_{1.2}).

Para as sete combinações estudadas - H 419, H 421, H 430, H 447, H 464, H 469 e H 484, as reações de resistência dos cafeeiros mostraram ser conferidas por alelos com dominância completa. Nos

descendentes da combinação H 421, a reação de resistência mostrou ser monogênica (3:1), enquanto nas demais combinações mostrou ser conferida por três alelos dominantes e com segregação independente entre os locos (63:1).

Considerando-se a interação patógeno-hospedeiro e sabendo-se que as raças utilizadas para as inoculações das várias populações do hospedeiro têm genótipos de virulência v5 para a raça II e v2, v5 e v6 para a raça XXV, a luz do conceito gene-agene para o complexo cafeeiro - *H. vastatrix*, conclui-se que a resistência nos derivados do Híbrido de Timor usados como genitores na obtenção das combinações híbridas estudadas, deve ser conferida por alelos diferentes do S_H5 e do S_H6. Admite-se, entretanto, a possibilidade de ter ocorrido perda de alelos para virulência na cultura UFV Hem 3348 do patógeno. Neste caso, a resistência no cafeeiro UFV 427-15, possivelmente, poderá ser conferida pelo alelo S_H6 e esse mesmo fator deve ser um dos alelos responsáveis pela resistência nos outros cafeeiros do Híbrido de Timor que apresentaram essa característica controlada por três alelos dominantes.

ABSTRACT

PEREIRA, Antonio Alves, D.S, Universidade Federal de Viçosa, Brasil, july, 1995. Inheritance of Resistance to *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. in Coffee Trees Derived from the "Híbrido de Timor". Advisor: Professor Geraldo Martins Chaves Committee Members: Cosme Damião Cruz and Laercio Zambolim.

The purpose of this study was to investigate the inheritance of resistance to *Hemileia vastatrix* Berk. et Br., in the descendants of seven crosses between "Catuaí" and "Mundo Novo" with selected "Híbrido de Timor". The frequency of plants exhibiting reactions to the physiological races II and XXV of *H. vastatrix* was investigated in the phenotype classes of resistance and susceptibility of the progenies of the P₁ and P₂ parents of the coffee hybrids F₁ and its progenies F₂ and in the backcrosses of the F₁ hybrids with the susceptible parents (RC_{1.1}) and resistant (RC_{1.2}).

For the seven combinations investigated - H 419, H 421, H 430, H 477, H 464, H 469 and H 484, the reactions of resistance of the coffee

populations were shown to be due to alleles with complete dominance. In the descendants of the **H 421** combination, the reaction of resistance was shown to be monogenic (3:1), whereas for the remainder combinations it was shown to be due to three dominant alleles and with independent segregation between loci (63:1).

Taking into account the pathogen-host interaction, and knowing that the races used for the inoculations of the several host populations have virulence genotypes v_5 for the race **II** and v_2 for the race **XXV**, in view of the gene-to-gene concept for the complex coffee - *H. vastatrix*, it is concluded that the resistance of the 'Híbrido de Timor' derivatives used as parentals in the obtainment of the hybrid combinations under investigation, should be due to alleles different from the **S_{H5}** and the **S_{H6}**. Loss of alleles for virulence might have occurred in the culture UFV Hem 3348 of the pathogen. In this case, the resistance in the coffee tree UFV 427-15, could possibly be due to the **S_{H6}** allele and that this same factor could be one of the alleles responsible for the resistance in the other 'Híbrido de Timor' coffee trees that exhibited this characteristic controlled by three dominant alleles.

1. INTRODUÇÃO

A ferrugem alaranjada do cafeeiro, causada por *Hemileia vastatrix* Berk. et Br., foi constatada em cafeeiros silvestres, em 1861, na região do Lago Vitória, no Quênia (CHAVES et alii, 1970). Durante o primeiro século após a sua constatação, o patógeno disseminou-se por todos os países produtores de café da África, Ásia e Oceania.

No continente americano, após a sua constatação em janeiro de 1970, na Bahia, disseminou-se rapidamente por toda a região cafeeira brasileira. Poucos anos após, atingiu todos os países cafeicultores, nas Américas do Sul, Central e do Norte (CHAVES et alii, 1970; e CARDOSO, 1986). Atualmente, está presente em todas as regiões do mundo, onde o cafeeiro é cultivado (CARVALHO, 1988).

De acordo com WELLMAN (1970), a ferrugem do cafeeiro é considerada por vários autores como uma das mais devastadoras doenças de plantas de todos os tempos.

KUSHALAPPA e ESKES (1989) relatam que essa doença causa, anualmente, prejuízos da ordem de 1 a 2 bilhões de dólares à

cafeicultura mundial. No Brasil, tem-se observado que as perdas ocasionadas pela ferrugem do cafeeiro **são variáveis**, em decorrência das diferenças climáticas regionais e das variações ao longo dos anos. Estima-se, em media, que **há** redução de produção dos cafeeiros em cerca de **30%**, se nenhuma medida de controle da doença for realizada (MONACO, 1977). Diante dessa estimativa de perda, para o caso da cafeicultura brasileira, em que mais de **50%** dos cafeicultores não adotam medidas de controle da ferrugem e entre aqueles que a realizam, a maioria não consegue controlar integralmente a doença, pode-se prever redução na produção anual brasileira de **5** milhões de sacas de café beneficiado. Isso equivale a um prejuízo da ordem de **500** milhões de dólares para os cafeicultores brasileiros, sem considerar os gastos efetuados *com* fungicidas, equipamentos e mão-de-obra por aqueles que praticam o controle químico da doença.

A importância econômica da doença, portanto, é o maior estímulo à utilização de cultivares resistentes para se evitar ou, pelo menos, minimizar os prejuízos por ela ocasionados.

Além das vantagens de ordem econômica, o plantio de cafeeiros resistentes à ferrugem **reduzirá** a contaminação do ambiente, por possibilitar a diminuição do uso de agroquímicos na cafeicultura.

Programas de melhoramento genético do cafeeiro, visando à obtenção de cultivares resistentes a *H. vastatrix*, estão sendo desenvolvidos por diversos centros de pesquisas (SREENIVASAN et alii, 1993; MAWARDI e HULUPI, 1993; CASTILLO-ZAPATA e MORENO-RUIZ, 1988; ECHEVERRI, 1987; Van der VOSSSEN e OWUOR, 1981; CHAVES, 1976; MÔNACO et alii, 1974; e CARVALHO e MÔNACO, 1971).

Na América Latina, menção especial deve ser feita ao sucesso do programa de melhoramento visando à resistência a *H. vastatrix*,

desenvolvido na Colômbia, para obtenção da Variedade Colômbia, cultivar composto de vários **genótipos** resistentes à ferrugem do cafeeiro. No Brasil, destaca-se o trabalho do Instituto Agrônomo de Campinas com o lançamento do cultivar **Icatu**, com resistência a ferrugem, e do Instituto Agrônomo do Paraná que lançou o cultivar **IAPAR 59**, que é um **Sarchimor**, também resistente a ferrugem (SERA et alii, **1994**). Além desses, deve-se mencionar o programa de melhoramento que vem sendo desenvolvido pelo Departamento de Fitopatologia da UFV e pela EPAMIG, desde **1972**, no Estado de Minas Gerais, onde o cafeeiro **Catimor** (Caturra Vermelho x Híbrido de Timor) e **outros genótipos** resistentes a ferrugem vêm sendo estudados intensamente (CHAVES et alii, 1976).

Um dos objetivos desse programa é a caracterização da resistência nas descendências de seleções do Híbrido de Timor em relação as raças fisiológicas de ***H. vastatrix***. O presente trabalho estuda a herança da resistência a ***H. vastatrix*** em sete combinações provenientes de cruzamentos do Híbrido de Timor com os cultivares de **Catuaí** e **Mundo Novo**.

2. REVISÃO DE LITERATURA

O cafeeiro da espécie *Coffea arabica* L. é uma planta alotetraplóide, na qual em mais de 40 características analisadas geneticamente apresentaram herança dissômica, com exceção dos genes que controlam a cor das folhas novas (MEDINA FILHO et alii, 1984). CARVALHO et alii (1984) relatam que, de acordo com os resultados de Carvalho e Krug e Carvalho e Mônaco, a espécie *C. arabica* é predominantemente autógama, com cerca de 4 a 10% apenas de fecundação cruzada. No caso dos genes controlando a reação à ferrugem do cafeeiro, os estudos de herança também têm sido feitos considerando segregação diplóide.

A primeira tentativa para se estudar a hereditariedade da resistência a *H. vastatrix* em *Coffea* spp foi feita por Mayne, em 1935, na Índia, estudando as interações das seleções Coorg e DK 1/6 de *Coffea arabica* e de segregantes tetraplóides S.288 e S.353 de híbridos de *C. arabica* x *C. ilberica*, em relação às raças de ferrugem do cafeeiro prevalentes naquele país. Mayne admitiu a existência de dois fatores

responsáveis pela resistência nas referidas seleções a três raças de *H. vastatrix* (BETTENCOURT, 1981).

NORONHA-WAGNER e BETTENCOURT (1967) identificaram quatro alelos dominantes - SH1, SH2, SH3 e SH4, condicionando a resistência de *C. arabica* L. a 12 raças fisiológicas de *H. vastatrix*. É provável que os fatores detectados por Mayne sejam o SH2 e o SH3, sendo o último encontrado apenas em plantas com fenótipos de arábica originadas da Índia. Provavelmente ele veio do *C. liberica*, um dos ancestrais das seleções indianas (NARASIMHASWAMY, 1960).

NORONHA-WAGNER e BETTENCOURT (1967) consideraram que a teoria gene-a-gene pode ser aplicada ao complexo *C. arabica* - *H. vastatrix*, determinando os prováveis genótipos de cada uma das doze raças fisiológicas com que trabalharam. Foram atribuídos os genes v1, v2, v3 e v4 aos locos de virulência do patógeno em correspondência aos respectivos locos dos alelos de resistência SH1, SH2, SH3 e SH4 no hospedeiro.

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, designados de SH5 e SH6, ocorrendo o primeiro nas plantas dos grupos C, E, J e W, associado ou não com outros fatores, e o segundo nas plantas do grupo fisiológico R de reação à ferrugem.

BETTENCOURT e NORONHA-WAGNER (1971), para elucidar a existência desses fatores de resistência, realizaram uma sistemática inoculação de todos os cafeeiros de arábica da coleção do CIFC com as raças IV, XI, XIX, XX e XXI, previamente consideradas não-patogênicas. Aquela espécie. Os resultados dessas inoculações revelaram que alguns cafeeiros incluídos nos grupos fisiológicos C, E e J foram atacados por

todas ou, pelo menos, algumas das referidas cinco raças, enquanto que, as plantas do grupo I foram resistentes a algumas delas. Com isso, foram estabelecidos os novos grupos de reação α , β , γ e W. Correlacionando estes resultados com as conclusões já publicados por NORONHA-WAGNER e BETTENCOURT (1967), os autores admitiram a existência do fator de resistência S_H5 e do respectivo fator de virulência v5.

A luz desses conhecimentos, alguns clones do grupo E, como o CIFC 63/1 (Bourbon) e 19/1 (Caturra), previamente considerados por NORONHA-WAGNER e BETTENCOURT (1967) como suscetíveis universais, devido a reação de resistência As raças IV, XI, XIX, XX e XXI, deveriam possuir na realidade o fator S_H5. O clone CIFC 849/1 (Matari), previamente incluído no grupo E, passou a pertencer ao novo grupo β e não deveria carregar nenhum fator de resistência As raças de *H. vastatrix* com habilidade de infectar *C. arabica* L.

Posteriormente, BETTENCOURT et alii (1980), analisando as reações de plantas híbridas em geração F₂, resultantes do cruzamento do clone do grupo R (CIFC 1343/269) com o Matari (CIFC 849/1, grupo), inoculadas com 19 raças de *H. vastatrix*, identificaram o fator de resistência S_H6, dominante, condicionando a reação do hospedeiro do grupo R a 19 raças do patógeno. O grupo R (CIFC 1343/269) apresenta suscetibilidade As raças XXII, XXV, XXVI e XXVII, que possuem nos seus genótipos o fator de virulência v6. No entanto, esse gene de virulência nestas e outras raças (XXVIII, XXIX e XXXI) vem associado a outros. A presença isolada do gene de virulência v6 ocorre na raça fisiológica XXXII (BETTENCOURT e RODRIGUES JR., 1988).

A continuidade dos trabalhos de caracterização de grupos fisiológicos de reação no CIFC, tem permitido avanços importantes no conhecimento da interação *Coffea* spp - *H. vastatrix*. BETTENCOURT

(1981) BETTENCOURT e RODRIGUES JR. (1988) mencionaram a associação do fator de resistência SH6 com o fator SH1 no grupo 5 (SH1, SH6); com o SH5 no grupo 4 (SH5, SH6); com os fatores SH2 e SH5 no grupo 6 (SH2, SH5, SH6); com o SH1 e SH5 no grupo 7 (SH1, SH5, SH6); com o SH1 e SH4 no grupo 8 (SH1, SH4, SH6); com o SH2, SH3 e SH5 no grupo 9 (SH2, SH3, SH5, SH6); com o SH3 e SH5 no grupo 10 (SH3, SH5, SH6); com o SH4 e SH5 no grupo 11 (SH4, SH5, SH6); com o SH5 e SH9 no grupo 3 (SH5, SH6, SH9) e com o SH5, SH7 e SH9 no grupo 1 (SH5, SH6, SH7, SH9). No grupo A os fatores SH5 a SH9 vêm associados a um ou mais fatores desconhecidos.

BETTENCOURT e RODRIGUES JR. (1988) relatam que as populações do Híbrido de Timor, oriundas do cruzamento natural de *C. arabica* com *C. canephora*, possuem, pelo menos, cinco genes dominantes - SH5, SH6, SH7, SH8 e SH9 que, isolados ou em associação, condicionam espectros de resistência às raças que caracterizam os grupo R, 1, 2 e 3. Os genes SH6 a SH9 vêm de *C. canephora*, um dos genitores do Híbrido de Timor. O efeito desses genes é anulado, total ou parcialmente, pelas raças de ferrugem com diferentes combinações dos genes v5, v6, v7, v8 e v9.

No Quadro 1 são relacionados os grupos fisiológicos com fatores de resistência derivados do Híbrido de Timor e as raps de *H. vastatrix* com seus fatores de virulência, conforme adaptado de BETTENCOURT (1981) e BETTENCOURT e RODRIGUES JR. (1988), por CASTILLO-ZAPATA e MORENO-RUIZ (1988).

BETTENCOURT (1984) relata que, com base nas reações às raças XXII, XXIX, XXX e XXXI, nos derivados dos cafeeiros do Híbrido de Timor CIFC 832/2 e CCC 48-1574 (CIFC 1343), alguns genes responsáveis pela resistência à ferrugem, no Cifc 832/1, também devem ser encontrados em outras descendências do Híbrido de Timor.

QUADRO 1 - Interações Patógeno-Hospedeiro em Cafeeiros de Bourbon Vermelho (63/1), do Híbrido de Timor (1343/269 e 832/1) e Seus Derivados e as Raças de Ferrugem Afins Segundo Investigações Realizadas no CIFC(*)

Raças de <i>H. vastatrix</i>		Clones Diferenciadores e Genes de Resistência						
Denominação	Genes de Virulência	63/1 SH5	1343/ SH6	H440/7 SH5,6	H419/20 SH5,6,9	H420/2 SH5,8	H420/10 SH5,6,7,9	H832/1 SH5,6,7,8,9, ?
II	v 5	S	-	-	-	-	-	-
XXXII	v 6	-	S	-	-	-	-	-
XXII	v 5,6	S	S	-	-	-	-	-
XXV	v 2,5,6	S	S	S	-	-	-	-
XXX	v 5,8	S	-	-	-	S	-	-
XXXI	v 2,5,6,9	S	S	S	S	-	-	-
XXIX	v 5,6,7,8,9	S	S	S	S	MS	S	-
Grupos Fisiológicos		E	R	4	3	2	1	A

(*): S = Suscetível; MS = Moderadamente suscetível; e - = Resistente.

CASTILLO-ZAPATA e MORENO-RUIZ (1988) analisaram a resistência a *H. vastatrix* nas populações que originaram o cultivar Variedade Colombia, proveniente do cruzamento de Caturra Amarelo (CCC 135) com o Híbrido de Timor (CCC 48-574), através de inoculações dos cafeeiros de várias gerações com a coleção de raças de *H. vastatrix* do CIFC. Constataram, em mais de 55.000 plântulas inoculadas, pertencentes às gerações F₂, F₃, F₄ e F₅, que, são portadoras dos genes de resistência dos grupos fisiológicos A, 1, 2, 3, 4-R e E. A frequência de distribuição dos cafeeiros nestes grupos foi de 74,1; 18,7; 0,1; 2,8; 0,6 e 4,2%, respectivamente. De 567 genitores estudados, em geração F₃, apenas três apresentaram toda a descendência no grupo E, enquanto que 402 não apresentaram cafeeiros segregantes neste grupo fisiológico de resistência. Os autores concluíram que nas populações que constituem a Variedade Colômbia estão presentes cinco genes responsáveis pela resistência.

Os autores, utilizando a frequência de genótipos do grupo E (SH5 SH5) para estimar o número de genes de resistência em segregação nas populações em F₂ e retrocruzamentos em F₁ (RC₁F₁), não encontraram nenhum genótipo do grupo E em 80 genitores F₂ analisados e, somente, quatro em 67 genitores RC₁F₁. Estes resultados sugerem a presença de, pelo menos, três genes no grupo de genitores F₂ e o mínimo de quatro genes nos genitores retrocruzados. Estimaram, ainda, o número de genes para a resistência por meio do teste de qui-quadrado, utilizando 225 progênes segregantes, em distintas gerações. Os resultados indicaram que as populações analisadas poderiam ter até quatro genes em segregação. Considerando o conjunto de todas as análises realizadas nos cafeeiros da Variedade Colômbia, CASTILLO-ZAPATA e MORENO-RUIZ (1988) concluíram que na descendência do cruzamento de Caturra com Híbrido de Timor, desenvolvido na Colômbia, o número de genes não é inferior a quatro e, provavelmente, seja 5. A presença dos grupos fisiológicos A, 1, 2, 3, 4-R e E nas gerações F₂ a F₅ sugere que todos ou alguns dos genes que conferem resistência à ferrugem nestes grupos encontram-se em condição heterozigota, dando origem a ampla variação de genótipos de resistência dentro das referidas gerações.

SHREENIVASAN et alii (1993) relataram que têm sido realizadas hibridações do híbrido Devamachy com o Rume Sudan S.881, conhecido por sua resistência horizontal. Esse cruzamento foi realizado visando combinar a resistência do Rume Sudan com a resistência vertical do híbrido Devamachy. Outras hibridações do S.333 com o Híbrido de Timor e outros vêm sendo exploradas para se obter plantas com resistência do grupo A. Além desses, outras progênes avançadas, com resistência estável à ferrugem, estão sendo obtidas pelo cruzamento de *C. arabica* x *C. canephora*, seguidas de retrocruzamentos. Híbridos interespecíficos

entre espécies diplóides de *Coffea* também são produzidos no Instituto Central de Pesquisa de Café, na Índia. Entre eles destacaram-se, por não serem atacados pela ferrugem e serem altamente produtivos, os derivados de um anfidiplóide de *C. liberica* x *C. eugenioides*. Cafeeiros promissores dessas duas últimas combinações são cruzadas com o Híbrido de Timor para melhorar a resistência ao agente da ferrugem do cafeeiro. CARNEIRO et alii (1978) estudaram o comportamento de várias seleções e híbridos tetraplóides portadores de diferentes fatores de resistência a *H. vastatrix* nas condições de Uíge, em Angola. O material estudado incluiu a descendência de vários cafeeiros do grupo A, que era de seleções do Híbrido de Timor e seus derivados provenientes de cruzamentos com o Caturra Vermelho. Entre os cafeeiros do Híbrido de Timor do grupo A incluíram as introduções CIFC 1343/136, 2567, 2568, 2569, 2570 e 2571, com destaque pela sua resistência completa ao agente da ferrugem do cafeeiro.

KUKHANG et alii (1993) estudaram a herança do fator de resistência S_H3 a duas raças de ferrugem do cafeeiro com níveis diferentes de virulência. Plantas F_2 de cruzamentos recíprocos entre a S. 1934 e a AB3 foram inoculadas em laboratório com a raça II e com o isolado H_1 atacando plantas F_1 do mesmo cruzamento, no leste de Java, Indonésia. A S.1934 é portadora do fator S_H3 . Para a raça II observou-se a clássica segregação mendeliana de 3:1, indicando a presença de um gene dominante. Entretanto, com o isolado H_1 , grande variação foi observada entre as plantas F_2 , 50% mostrando resistência intermediária, 25% alta resistência e 25% alta suscetibilidade. Os autores concluíram que os resultados sugerem que o efeito do fator S_H3 pode ser mais complexo do que a hipótese explicada pela ação de um gene. Tal complexidade pode estar relacionada com a relativa durabilidade

observada para esse fator de resistência. Chaves (comunicação pessoal) observou, em 1990 e 1992, que, na província de Yunnan, no Sul da China, a seleção **S. 288**, portadora de **S_H3**, apresenta, praticamente, imune à ferrugem, após **40** anos de introdução naquele país.

Segundo Marques e Bettencourt, citados por BETTENCOURT e RODRIGUES JR. (1988), além desses genes identificados no CIFC é provável que outros genes de efeitos específicos e não-específicos possam condicionar as interações *Coffea* - *H. vastatrix*. Esses genes, provavelmente, seriam aqueles que controlam as expressões de interações intermediárias, algumas vezes instáveis e usualmente definidas por reações heterogêneas em Icatu. Os dois últimos autores relatam também que um ou mais genes maiores ainda não caracterizados devem estar presentes nos genótipos do grupo A do Híbrido de Timor, do Icatu e do híbrido Devamachy que ainda não perderam a resistência completa. Todas essas três fontes de resistência *h* ferrugem do cafeeiro são derivadas do *C. canephora*.

ESKES e LEVY (1987) estudaram a resistência a *H. vastatrix* encontrada no Icatu, pela análise genética do diplóide da planta genitora C 37 de *C. canephora* cv **Robusta**, com número de cromossomos duplicados artificialmente. Para os estudos em questão, os autores fizeram cruzamentos e retrocruzamentos da planta C 37 com plantas suscetíveis de *C. canephora* cv **Konillon** C 67-5, C 67-6 e C 67-8, sendo as duas primeiras usadas para a síntese dos híbridos F₁ com a C 37 (**H 1222 e H 1223**) e a terceira, para os retrocruzamentos com plantas dos referidos híbridos F₁. As 34 plantas híbridas F₁ testadas foram todas resistentes *h* raça II e ao Isolado 2 (Is2) de *H. vastatrix*, em inoculações realizadas em laboratório. Os retrocruzamentos inoculados com a raça II, em condições de viveiro, apresentaram segregações em quatro tipos de

reação, classificados pelos autores como reação de resistência (R), moderada resistência (MR), moderada suscetibilidade (MS) e suscetibilidade (S). Inicialmente, os cafeeiros foram avaliados numa escala de 0 a 9 pontos e, posteriormente, redistribuídos nas quatro categorias de reações mencionadas. O Is2 foi capaz de anular a resistência de algumas plantas de Icatu portadoras de um gene de resistência. Para a análise genética realizada, **ESKES** e **LEVY (1987)** basearam-se na suposição de que ocorreu segregação independente dos genes e que houve ausência de epistasia, para estimar o número de genes presentes nas combinações estudadas. Usaram o teste de qui-quadrado aplicado às proporções do número total de plantas com reações R e MR, em relação a aquelas com os tipos de reação MS e S. As análises dos oito retrocruzamentos indicaram que cinco deles apresentaram dois genes dominantes para a reação a raça II do patógeno, um dos retrocruzamentos apresentou, possivelmente, três genes e os dois restantes, quatro genes, não podendo ser descartada a hipótese de cinco genes em um dos dois últimos. Em três dos retrocruzamentos aparece elevado número de plantas com reação do tipo MR, o que sugere a presença, em condição homocigota, de um gene de resistência conferindo esse tipo de reação. A ocorrência de plantas MS pode ainda indicar o envolvimento de genes de resistência de efeitos menores. Os autores mencionaram que o número de genes detectados por retrocruzamentos sugere que a planta C 37 e, portanto, a população de Icatu devem conter quatro ou cinco genes conferindo resistência à raça II de *H. vastatrix*. A ocorrência de pelo menos dois genes em cada cruzamento faz supor que a planta C 37 é homocigota para dois genes e heterocigota para os demais.

ESKES et alii (1990) estudaram a especificidade da raça e da herança da resistência incompleta à ferrugem do cafeeiro em algumas progênies derivadas de Icatu e do Híbrido de Timor, obtendo importantes informações a respeito desses cafeeiros, em relação a raça II e ao Is2 de *H. vastatrix*. Os autores relataram que os estudos genéticos no Icatu e derivados de Híbrido de Timor devem ser analisados com cuidado porque, devido essas populações serem originadas de híbridos interespecífico, irregularidades meióticas podem ocorrer, causando distúrbios nas taxas de segregação. Os resultados daqueles autores mostraram alguns casos, como na progenie autofecundada do Icatu H 4782-10-225, com taxas de segregação mendeliana definidas, quando inoculada com a raça II. Na maioria das outras progênies, distintos grupos de plantas resistentes e suscetíveis foram distinguidos em proporções que poderiam indicar a presença de um ou uns poucos genes, principalmente com dominância incompleta, os quais poderiam estar interagindo como genes complementares. Os genes para resistência incompleta detectados nos derivados de Icatu e Híbrido de Timor podem conferir resistência completa quando homocigotos ou quando associados. Todavia, é provável que alguns destes genes sejam idênticos aos genes maiores SH6 a SH9, detectados nas análises genéticas da descendência de Híbrido do Timor no CIFC, conforme Bettencourt, citado por ESKES et alii (1990). Os autores mencionam que a detecção de especificidade de raça para a resistência incompleta monogênica, em Icatu e Catimor, sugere que o conceito gene-a-gene de flor pode ser aplicável também para genes que proporcionam resistência incompleta à ferrugem do cafeeiro. MORENO-RUIZ (1989) também constatou a resistência incompleta na descendência do Híbrido de Timor; contudo, este autor mencionou que esse tipo de resistência nos

derivados de Híbrido de Timor deve ser resultante da ação de genes diferentes daqueles da série SH. RODRIGUES JR. et alii (1993) relataram o aparecimento de novas raças fisiológicas de *H. vastatrix* em países que iniciaram o cultivo de algumas variedades de café derivados do Híbrido de Timor. Ultimamente foram detectadas, em amostras coletadas na Índia, novas raças com habilidade para infectar cafeeiros dos grupos R, 1, 2 e 3, mas não do grupo A. Os genótipos dessas raças têm sido identificados como v 6; v 1,2,5,8; v 1,2,4,5,8; v 1,5,6,7,9. Essas e outras raças, como a XXIX portadoras dos alelos de virulência (v 5,6,7,8,9) BETTENCOURT e RODRIGUES JR. (1988), representam uma ameaça às variedades comerciais derivadas do Híbrido de Timor. RODRIGUES JR. et alii (1993) concluíram que apenas o futuro dirá se as plantas do grupo A manter-se-ão resistentes ou virão a ser atacadas por novas raças virulentas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Obtenção das Gerações F₁ e F₂, dos Retrocruzamentos e das Descendências dos Genitores

Os cafeeiros resistentes à ferrugem alaranjada utilizados no presente trabalho foram selecionados entre as hibridações realizadas no Departamento de Fitopatologia da UFV e nas Fazendas Experimentais da EPAMIG. Foram estudadas populações descendentes de sete combinações resultantes de cruzamentos do Híbrido de Timor com os cultivares Catuaí e Mundo Novo, conforme discriminado a seguir:

- **H 419** - UFV 2143-235 EL7 (Catuaí Amarelo - LCH 2077-2-5-30) x UFV 445-46 (Híbrido de Timor - CIFC 2570).
- **H 421** - UFV 2143-236 EL7 (Catuaí Amarelo - LCH 2077-2-5-30) x UFV 427-15 (Híbrido de Timor - CIFC 1343-136).
- **H 430** - UFV 2145-113 EL7 (Catuaí Vermelho - LCH 2077-2-5-81) x UFV 442-108 (Híbrido de Timor - CIFC 2570).

- **H 447** - UFV 2152-19 EL8 (Mundo Novo - LCP 388-17-16) x UFV 377-01 (Híbrido de Tímor - CIFC 2235).
- **H 464** - UFV 2190-100 EL8 (Mundo Novo - LCMP 464-18) x UFV 440-22 (Híbrido de Tímor - CIFC 2570).
- **H 469** - UFV 2190-304 EL8 (Mundo Novo - LCMP 464-18) x UFV 446-08 (Híbrido de Tímor - CIFC 2570).
- **H 484** - UFV 2164-193 EL8 (Mundo Novo - LCMP 515-3) x UFV 443-03 (Híbrido de Tímor - CIFC 2570).

Dentro de cada combinação híbrida foram selecionados de cinco a oito cafeeiros em geração F_1 para a obtenção das progênes F_2 e retrocruzamentos com os genitores, conforme enumerado nos quadros de resultados.

A partir dos cafeeiros em geração F_1 , em produção, foram retirados ramos para propagações vegetativas dos genótipos selecionados para os estudos da primeira geração.

A geração F_2 de cada um dos cafeeiros híbridos foi obtida pelas progênes oriundas de sementes colhidas nos cafeeiros F_1 , sem autofecundação controlada.

Os retrocruzamentos resultam de cruzamentos de cada um dos cafeeiros híbridos em geração F_1 , com os genitores suscetíveis (P_1) e resistentes (P_2), respectivamente, sempre utilizados como doadores de pólen.

O cruzamento foi realizado utilizando-se a técnica de rotina para o cafeeiro, emasculando-se as flores do genitor feminino quando os botões florais apresentavam as características adequadas. As flores dos genitores masculinos foram coletadas fechadas e armazenadas em placas de Petri, até a abertura, para a realização da polinização artificial.

Os sacos de papel permaneceram cobrindo os ramos com as flores polinizadas artificialmente por cerca de 20 dias após a florada. Observações periódicas foram realizadas para se eliminar os possíveis botões florais surgidos após as hibridações.

Os retrocruzamentos obtidos pelo cruzamento dos cafeeiros F₁ com os genitores suscetíveis como doadores de pólen foram designados como RC_{1,1} e os obtidos com os genitores resistentes, como RC_{1,2}.

O estudo dos genitores suscetíveis e resistentes, bem como a comprovação de seu estado de homozigose, foi feito em suas progênes obtidas a partir de sementes sem controle da polinização.

3.1.1. Formação das Mudanças Utilizadas

As propagações vegetativas dos cafeeiros F₁ foram obtidas pelo enraizamento dos ramos, em areia lavada, previamente tratada com brometo de metila ($150 \text{ cm}^3 \cdot \text{m}^{-3}$), acondicionada em vasos de argila com capacidade aproximada para 10 litros. No centro desse vaso grande com areia era colocado outro vaso de argila, de aproximadamente 250 ml, ao qual era adicionada água para manutenção da umidade no leito de areia e no ambiente de uma pequena câmara úmida, que se formava quando o vaso com areia contendo as estacas era recoberto com um saco plástico sustentado por suporte de arame. Os ramos a serem enraizados foram cortados em segmentos contendo de dois a três internódios, com as extremidades basais em forma de bisel, mergulhados de 5 a 10 minutos numa solução aquosa de 0,2% de ácido indol acético e em seguida introduzidos no leito de areia do vaso, onde permaneciam até o enraizamento e a emissão de folhas. Após esse estágio, eram transferidos para sacos de plásticos contendo aproximadamente 2,0 kg de substrato constituído de solo e matéria orgânica, na proporção de 3:1.

Essas propagações receberam, periodicamente, suplementação de adubações de macro e micronutrientes, sendo mantidas nessas condições até o momento das inoculações.

As mudas das várias progenies em geração F₂ e dos retrocruzamentos foram formadas a partir de sementes semeadas diretamente em sacos plásticos com dimensões de 22 x 11 cm, contendo mistura de solo (70%) e esterco de curral curtido (30%), suplementada com adubação química de 5,0 kg de superfosfato simples e 1,0 kg de cloreto de potássio por metro cúbico da mistura que, em seguida, era tratada com brometo de metila na dosagem de 150 cm³.m⁻³, por 48 horas.

As mudas eram irrigadas, periodicamente, com solução de 1,0% de sulfato de amônio, sendo formadas e mantidas em condições de viveiro com cobertura de "sombrite" de cor preta, que proporcionava cerca de 40% de insolação.

3.2. Raças Fisiológicas do Patógeno

Foram utilizadas para as inoculações as culturas UFV Hem. 17 e UFV Hem. 334B de *H. vastatrix* Berk. et Br., da coleção do Departamento de Fitopatologia da UFV. Essas culturas foram identificadas com base nas reações sobre os clones diferenciadores do CIFC, como raça II e XXV, respectivamente.

A raça II é portadora do gene de virulência v5, capaz de anular a resistência conferida pelo fator SH5 encontrado nos cafeeiros dos cultivares comerciais de Catuaí, Caturra, Mundo Novo, Bourbon e outros. A raça II de *H. vastatrix* é a de maior distribuição nas diferentes regiões cafeeiras do mundo (BETTENCOURT e NORONHA-WAGNER, 1971).

A raça XXV, portadora dos genes de virulência v 2,5,6 (BETTENCOURT e RODRIGUES JR., 1988) é a única, até o momento,

constatada no Brasil, capaz de anular os alelos de resistência SH5 e SH6 e tem distribuição bastante restrita. Foi constatada apenas em três regiões: na Índia, na Ilha de Timor (RODRIGUES JR., 1984) e no Brasil, em cafeeiros de Catimor, na região de Lavras, no sul do Estado de Minas Gerais (CARDOSO, 1986).

CARDOSO (1986) não conseguiu esclarecer se as culturas de *H. vastatrix* - UFV Hem 333 b e 334 B pertenciam à raça XXV ou à XXXI, pelo fato de não dispor do clone CIFC H 419/20 (SH5, SH6, SH9). Recentemente, a cultura UFV Hem 334B foi inoculada sobre o referido clone, observando-se reação de resistência. Essa observação, em complementação As de CARDOSO (1986), que verificou as reações de suscetibilidade para esta cultura sobre os cafeeiros do grupo E (SH5 - Catuaí), do grupo R (SH6 - CIFC 1343/269, Híbrido de Timor) e do grupo G (SH2, SH5 - CIFC 32/1, DK 1/6), possibilita identificar a cultura UFV Hem 334B como pertencente à raça XXV.

3.3. Preparo do Inóculo

A partir de pequenas quantidades de inóculo das culturas UFV Hem 17 e UFV Hem 334B de *H. vastatrix* procedeu-se, periodicamente, à inoculação de dois ou três pares de folhas de mudas de Catuaí Vermelho - LCH 2077-2-5-44, para multiplicação dos uredosporos necessários para o presente trabalho. Após a inoculação, as mudas de Catuaí eram incubadas de 48 a 72 horas em câmara úmida, com temperatura de $21 \pm 2^\circ\text{C}$ e umidade relativa de aproximadamente 100%. Após esse período, as plantas inoculadas eram transferidas, em lotes de 10 a 12 mudas, para compartimentos de madeira, no interior de uma casa de vegetação. Após abundante esporulação, os uredosporos eram

coletados com auxílio de pincel de "pêlo de camelo". Três a quatro coletas eram realizadas sobre uma mesma folha inoculada.

Os esporos, em geral, eram coletados na véspera do dia da inoculação. Quando havia necessidade de armazená-los, por uma ou duas semanas, eram acondicionados em ampolas de vidro, vedadas com algodão, e colocadas em dessecador contendo, na parte inferior, solução aquosa de ácido sulfúrico com densidade de 1,8 e na concentração de 32,6% (V/V), de modo a manter a umidade relativa em torno de 50% no ambiente interno, conforme a técnica descrita e recomendada por ZAMBOLIM e CHAVES (1974).

Os uredosporos utilizados para as inoculações apresentavam cerca de 20% de germinação, em avaliações feitas em vários lotes, amostrados durante a realização do trabalho, para as duas raças utilizadas.

3.4. Método de Inoculação, Incubação e Condução dos Ensaio

Para a avaliação do tipo de reação dos cafeeiros da geração F₂ e dos retrocruzamentos em estudo, inocularam-se mudas provenientes de sementes no estágio de dois a cinco pares de folhas definitivas. Para o estudo de primeira geração dos cafeeiros híbridos, utilizou-se mudas provenientes de propagações vegetativas de ramos dos cafeeiros F₁, conforme já descrito.

As inoculações foram realizadas pelo método do pincel, que consistiu em distribuir, com auxílio de um pincel de "pêlo de camelo", os uredosporos do patógeno sobre a face abaxial de um par de folhas definitivas com desenvolvimento completo, porém com o limbo ainda tenro. As mudas inoculadas foram atomizadas com água, com auxílio de

atomizador DeVilbiss nº 15 acionado por compressor elétrico portátil e, em seguida, levadas para a câmara de incubação, no escuro, à temperatura média de $21 \pm 2^\circ\text{C}$ e umidade relativa de, aproximadamente, 100%, por 40 a 72 horas.

Após esse período de incubação, as mudas retomavam para as condições de viveiro sob "sombrite", com aproximadamente 60% de sombra. As mudas permaneceram sob esta condição durante todo o período de avaliação. A temperatura média nas condições do viveiro foi de $21,7 \pm 2,4^\circ\text{C}$, registrada com auxílio de um termohigrógrafo. Para o cálculo da temperatura média foram tomados dados nos horários padrões de 9, 15 e 21 horas.

As mudas a serem inoculadas eram etiquetadas e acondicionadas em caixas plásticas, em lotes de 20 plantas, distribuídas ao acaso, tanto no momento da inoculação como no posterior reencanteiramento no viveiro. A cada lote de 20 plantas era acrescentada uma muda de Catuaí, como testemunha suscetível, para aferição da eficiência das inoculações. Naqueles lotes em que não ocorreu infecção da testemunha, os resultados foram desconsiderados.

As inoculações foram realizadas em três épocas diferentes: i) de janeiro a abril de 1992; ii) de janeiro a abril de 1993; e iii) de dezembro a fevereiro de 1994. Dentro de cada uma das épocas as inoculações eram realizadas em várias etapas seqüenciadas, em função da capacidade máxima da câmara de incubação, que era cerca de 3.000 mudas.

Dentro de cada uma das populações estudadas, as mudas disponíveis foram divididas em dois lotes aproximadamente iguais, sendo um inoculado com a raça II e o outro, com a raça XXV.

3.5. Método de Avaliação

As avaliações dos tipos de reações de cada planta inoculada foram realizadas de **45** a 60 dias após a inoculação. Essas avaliações foram feitas pela escala de **tipos de reação** proposta por D'OLIVEIRA (s.d.) com algumas modificações (Quadro 2).

Os graus de reação do hospedeiro da escala de D'OLIVEIRA foram adaptados para uma escala numérica de **1** a **8**, a fim de permitir análise estatística.

QUADRO 2 - Escala de Avaliação dos Tipos de Reações Induzidas pela Ferrugem do Cafeeiro (*Hemileia vastatrix*), Segundo D'OLIVEIRA (s.d.), Modificada

Grau	Discriminação dos Tipos de Reação
1.	Imune, sem qualquer sinal de infecção.
2.	Flecks, reação de hipersensibilidade, as vezes de difícil observação macroscópica, tornando-se mais visível quando observada contra a luz.
3.	Clorose mais ou menos intensa circundando o ponto de infecção, as vezes acompanhada de pequenas necroses, esporos ausentes.
4.	Lesões cloróticas, às vezes acompanhadas de pequenas necroses com formação de pequenos Soros uredosporíferos.
5.	Pústulas uredospóricas de pequenas a médias, facilmente visíveis macroscopicamente, geralmente circundadas por áreas cloróticas.
6.	Pústulas uredospóricas de médias a grandes, geralmente, circundadas por área clorótica.
7.	Pústulas uredospóricas grandes sem hipersensibilidade, ligeira clorose nos bordos das lesões. Reação de alta suscetibilidade do hospedeiro.
8.	Reação heterogênea do hospedeiro, com pústulas uredospóricas de tamanho muito variável ou mesmo lesões cloróticas ou necróticas sem formação de uredosporos, misturadas com pústulas esporuladas. Para esse tipo de reação foi anotado o grau 8 , seguido, entre parênteses, de todos os graus de reação observados, de acordo com a ordem de predominância de cada um deles, independente de estarem ou não esporulados.

3.6. Análise dos Dados

Para determinar as freqüências de plantas segregantes para as classes fenotípicas de resistência e suscetibilidade, dentro de cada uma das populações estudadas, em relação às raças do patógeno, os graus de reação conferidos aos cafeeiros foram expressos em apenas duas categorias: resistente ou suscetível. Na categoria resistente foram incluídas as plantas que apresentassem na escala de avaliação os graus de reação 1, 2 e 3, as quais não apresentam formação de uredosporos. Na categoria suscetível incluíram-se as plantas com graus de reação caracterizados pela produção de uredosporos, independente da quantidade, representadas pelas reações com graus 4, 5, 6 e 7. As plantas com grau 8, que simboliza reações heterogêneas, foram convertidas para a categoria de resistente ou suscetível, de acordo com a reação do grau máximo registrado. Assim, uma anotação 8 (2,4,3) foi convertida na categoria suscetível (S), em razão das reações de grau 4, que se caracteriza pela formação de pequenos soros uredosporíferos em lesões cloróticas, às vezes com pequenas necroses.

Com as freqüências de plantas segregantes para as classes fenotípicas resistente e suscetível, em cada população estudada, formularam as hipóteses genéticas relativas ao número de genes envolvidos na resistência de cada um dos genitores do Híbrido de Timor usados como fontes para estudo dessa característica. Para se testar o ajuste das taxas de segregação observadas às esperadas, em cada uma das classes fenotípicas, utilizou-se o teste de qui-quadrado (χ^2) para os dados das descendências em geração F₂ e retrocruzamentos dos cafeeiros em F₁, para todas as combinações pertencentes ao mesmo genótipo do Híbrido de Timor.

Para se verificar a consistência da hipótese de segregação gênica entre os descendentes de uma mesma família genética, adotou-se o teste de heterogeneidade. Este teste decompõe o componente total do qui-quadrado, resultante da soma dos qui-quadrados individuais de cada membro de uma mesma família nas fontes de variação referentes: (i) ao desvio referente ao qui-quadrado, com base no total de plantas segregantes da família, e (ii) a heterogeneidade, que mede a concordância ou não, dos dados observados entre as diversas descendências que compõem a família de uma mesma fonte de resistência, ou seja, de um mesmo Híbrido de Timor parental (MATHER, 1957; e STRICKBERGER, 1985).

Os dados obtidos nas várias épocas de inoculação foram analisados conjuntamente, visto que as análises individuais em cada época apresentaram resultados semelhantes.

Os RC_{1.1} que apresentaram número de indivíduos abaixo da soma dos valores numéricos da razão de segregação esperada foram desconsiderados para as análises com base no teste de qui-quadrado.

4. RESULTADOS

4.1. Inoculações com a Raça II

Os dados referentes às reações dos cafeeiros das progênies dos genitores de Catuaí - UFV 2143-235 EL7, UFV 2143-236 EL7, UFV 2145-113 EL7; de Mundo Novo - UFV 2152-19 EL8, UFV 2190-100 EL8, UFV 2190-304 EL8 e UFV 2164-193 EL8; do Híbrido de Timor - UFV 377-01, UFV 427-15, UFV 440-22, UFV 442-108, UFV 445-46, UFV 446-08 e UFV 443-03; e das propagações vegetativas dos cafeeiros híbridos F₁, inoculados com a raça II de *H. vastatrix*, são apresentados no Quadro 3. Na progênie do Catuaí Amarelo UFV 2143-236 EL7 houve cinco plantas que apresentaram reações de resistência, indicando que escaparam à infecção, e na progênie Catuaí Vermelho UFV 2145-113 EL7 houve uma. Entre as progênies de Mundo Novo só uma planta da UFV 2164-193 EL8 não foi infectada pela ferrugem.

As progênies dos cafeeiros do Híbrido de Timor, UFV 427-15, UFV 442-108 e UFV 446-08 apresentaram nove, seis e uma plantas suscetíveis, respectivamente, quando inoculadas com a raça II do patógeno.

QUADRO 3 - Reações das Progenies dos Genitores Suscetíveis (P_1) e Resistentes (P_2) e Propagações Vegetativas de Cafeeiros em Geração F_1 (PVF_1) de Três Combinações de Catuaí com Híbrido de Timor (H 419, H 421 e H 430) e Quatro de Mundo Novo com Híbrido de Timor (H 447, H 464, H 469 e H 484) e Segregações Postuladas (Razão R:S) a Raça II de *Hemileia vastatrix*

Material em Estudo (Nº UFV)	Geração Estudada	Plantas			Razão R:S
		Inoculadas (Nº)	Resistentes (R)	Suscetíveis (S)	
2143-235 EL7	SnP ₁ *	115	0	115	0:1
445-46	SnP ₂	139	139	0	1:0
H 419	PVF ₁	7	7	0	1:0
2143-236 EL7	SnP ₁	120	5	115	0:1
427-15	SnP ₂	273	264	9	1:0
H 421	PVF ₁	8	8	0	1:0
2145-113 EL7	SnP ₁	140	1	139	0:1
442-108	SnP ₂	251	245	6	1:0
H430	PVF ₁	7	7	0	1:0
2152-19 EL8	SnP ₁	130	0	130	0:1
377-01	SnP ₂	248	248	0	1:0
H 447	PVF ₁	7	7	0	1:0
2190-100 EL8	SnP ₁	130	0	130	0:1
440-22	SnP ₂	176	176	0	1:0
H464	PVF ₁	5	5	0	1:0
2190-304 EL8	SnP ₁	130	0	130	0:1
446-08	SnP ₂	140	139	1	1:0
H 469	PVF ₁	5	5	0	1:0
2164-193 EL8	SnP ₁	130	1	129	0:1
443-03	SnP ₂	111	111	0	1:0
H 484	PVF ₁	6	6	0	1:0

* Seleção em geração desconhecida do genitor P_1 e P_2 .

Todas as propagações vegetativas dos cafeeiros híbridos, em geração F₁, apresentaram reações de resistência, quando inoculadas com a raça II de *H. vastratix* (Quadro 3).

São apresentados nos Quadros 4 e 5 os dados de segregações observadas para os fenótipos resistentes e suscetíveis relativos aos cafeeiros em geração F₂ e as segregações postuladas para as populações das sete combinações em estudo, em relação à raça II de *H. vastatrix*. Com exceção dos dados referentes a combinação H 421, apresentados no Quadro 4, as demais combinações, designadas de H 419, H 430, H 447, H 464, H 469 e H 484, apresentaram segregações que se ajustaram, pelo teste de qui-quadrado, as proporções de 63 genótipos resistentes para 1 genótipo suscetível. Só a população da H 447-10 apresentou valor de qui-quadrado ($\chi^2 = 5,3053$) com probabilidade significativa (P = 2,13%), indicando discrepância à razão de segregação gênica de 63:1. A combinação genética H 421, resultante do cruzamento do Catuaí UFV 2143-236 EL7 com o Híbrido de Timor UFV 427-15, foi a que apresentou maior número de plantas segregantes para a classe de suscetibilidade. As frequências de fenótipos resistentes e suscetíveis dos descendentes em F₂ dessa combinação ajustaram-se, com base nos testes de qui-quadrado, a uma taxa de segregação gênica esperada de 3R:1S, com exceção da observada para a progênie da H 421-7, que apresentou valor de qui-quadrado de 4,9402, correspondente à probabilidade de 0,0262. Esses valores indicam que houve um desvio significativo da segregação observada em relação àquela postulada para as demais descendentes da H 421.

No Quadro 6, são apresentados os resultados dos testes de heterogeneidade para os descendentes em geração F₂, das sete combinações estudadas. Só foi significativo o valor de qui-quadrado observado para a fonte de variação referente à heterogeneidade ($\chi^2 = 15,3535$ e P = 3,17%) na combinação H 421.

QUADRO 4 - Cafeeiros com Reações de Resistência (R) e Suscetibilidade (S) em Progenies F₂ das Combinações de Catuaí com Híbrido de Timor - H 419, H 421 e H 430, Segregações Esperadas (Razão R:S) e Valores de Qui-Quadrado (χ^2) e Probabilidade (P) em Relação à Raça II de *Hemileia vastatrix*

Planta F ₁	Observado		Razão R:S	χ^2	P
	R	S			
419-1	317	4	63 : 1	0,2105	0,6463
-3	228	1	63 : 1	0,5309	0,4662
-5	291	2	63 : 1	1,4764	0,2243
-6	272	3	63 : 1	0,3992	0,5275
-7	256	4	63 : 1	0,0009	0,9761
-8	293	7	63 : 1	1,1403	0,2856
-10	325	4	63 : 1	0,2569	0,6123
421-1	252	81	3 : 1	0,0811	0,7758
-3	279	81	3 : 1	1,2000	0,2733
-4	269	90	3 : 1	0,0009	0,9757
-5	191	55	3 : 1	0,9160	0,3385
-6	157	41	3 : 1	1,9461	0,1630
-7	217	95	3 : 1	4,9402	0,0262
-8	191	82	3 : 1	3,6935	0,0546
-9	252	67	3 : 1	2,7179	0,0992
430-1	357	3	63 : 1	1,2402	0,2653
-2	268	6	63 : 1	0,7021	0,4021
-4	334	6	63 : 1	0,0911	0,7628
-5	255	5	63 : 1	0,2211	0,6382
-6	358	2	63 : 1	2,3776	0,1231
-7	338	2	63 : 1	2,0961	0,1477
-8	281	2	63 : 1	1,3460	0,2460

H 419 = UFV 2143-235 EL7 - Catuaí Amarelo x UFV 445-46 - Híbrido de Timor.

H 421 = UFV 2143-236 EL7 - Catuaí Amarelo x UFV 427-15 - Híbrido de Timor.

H 430 = UFV 2145-113 EL7 - Catuaí Vermelho x UFV 442-108 - Híbrido de Timor.

QUADRO 5 - Cafeeiros com Reações de Resistência (R) e Suscetibilidade (S) em Progênes F₂ das Combinações de Mundo Novo com Híbrido de Tímor - H 447, H 464, H 469 e H 484, Segregações Esperadas (Razão R:S) e Valores de Qui-Quadrado (χ^2) e Probabilidade (P) em Relação à Raça II de *Hemileia vastatrix*

Planta F ₂	Observado		Razão R:S	χ^2	P
	R	S			
447-1	364	6	63: 1	0,0085	0,9265
-3	271	3	63 : 1	0,3889	0,5329
-4	229	5	63 : 1	0,4984	0,4802
-5	339	5	63 : 1	0,0273	0,8689
-6	369	6	63 : 1	0,0034	0,9535
-9	314	6	63 : 1	0,2032	0,6522
-10	225	8	63 : 1	5,3053	0,0213
464-2	242	2	63 : 1	0,8735	0,3410
-4	335	5	63 : 1	0,0184	0,8921
-6	318	2	63 : 1	1,8286	0,1763
-8	260	4	63 : 1	0,0042	0,9486
-9	357	3	63 : 1	1,2480	0,2639
469-1	268	5	63 : 1	0,1268	0,7218
-3	300	5	63 : 1	0,0113	0,9154
-4	313	2	63 : 1	1,7605	0,1846
-5	244	3	63 : 1	0,1946	0,6591
-6	260	3	63 : 1	0,3045	0,5811
484-1	326	7	63 : 1	0,6330	0,4263
-2	219	1	63 : 1	1,7581	0,1849
-3	313	7	63 : 1	1,6127	0,2041
-4	227	3	63 : 1	0,0985	0,7536
-5	243	2	63 : 1	0,8882	0,3460
-7	221	3	63 : 1	0,0726	0,7876

H 447 = UFV 2152- 19 EL8 - Mundo novo x UFV 377- 1 - Híbrido de Timor.

H 464 = UFV 2190-100 EL8 - Mundo Novo x UFV 440-22 - Híbrido de Timor.

H 469 = UFV 2190-304 EL8 - Mundo novo x UFV 446-08 - Híbrido de Timor.

H 484 = UFV 2164-193 EL8 - Mundo Novo x UFV 443-03 - Híbrido de Timor.

QUADRO 6 - Teste de Heterogeneidade de Populações F₂ Descendentes dos Híbridos F₁ de H 419, H 421, H 430, H 447, H 464, H 469 e H 484 em Função da Reação a Raça II de *Hemileia vastatrix*

Combinação Híbrida	Fonte de Variação	Grau de Liberdade	χ^2	P
H 419	Heterogeneidade	6	3,6056	0,7299
	Desvio	1	1,7674	0,1847
	Total	7	5,3730	
H 421	Heterogeneidade	7	15,3535	0,0317
	Desvio	1	0,1422	0,7061
	Total	8	15,4957	
H 430	Heterogeneidade	6	5,7991	0,4461
	Desvio	1	2,1892	0,1390
	Total	7	7,9883	
H 447	Heterogeneidade	6	5,5498	0,4755
	Desvio	1	0,8851	0,3468
	Total	7	6,4349	
H 464	Heterogeneidade	4	1,3312	0,8561
	Desvio	1	2,6415	0,1041
	Total	5	3,9727	
H 469	Heterogeneidade	4	2,6857	0,6117
	Desvio	1	1,1218	0,2895
	Total	5	3,8075	
H 484	Heterogeneidade	5	4,9625	0,4205
	Desvio	1	0,1007	0,7510
	Total	6	5,0632	

As frequências de cafeeiros expressando reações de resistência e suscetibilidade à raça II de *H. vastatrix* nos retrocruzamentos dos híbridos F₁ com os respectivos genitores suscetíveis (RC_{1.1}) e resistentes (RC_{1.2}) são apresentados no Quadro 7 para as combinações H 419, H 412 e H 430 e no Quadro 8 para as combinações H 447, H 464, H 469 e H 484. Os retrocruzamentos, envolvendo os híbridos F₁ das combinações H 419, H 430, H 447, H 464, H 469 e H 484 com os respectivos genitores de Catuaí e Mundo Novo, ou seja, os RC_{1.1}, apresentaram uma razão de segregação de 7R:1S. Não se ajustaram a essa proporção de segregação as populações dos RC_{1.1} dos híbridos H 447-6 e H 484-1, apresentando valores de qui-quadrados e probabilidades de 5,5048 e 1,90% e de 4,0016 e 4,55, respectivamente. Estes valores são significativos, indicando rejeição da hipótese de segregação gênica para o caso específico dos RC_{1.1}, originados do H 447-6 e do H 484-1.

Para os RC_{1.2} a razão de segregação esperada foi de 1R:0S. Apresentaram fenótipos de suscetibilidade discrepantes do esperado os RC_{1.2} referentes aos híbridos H 447-10, H 464-6 e H 484-7.

Para os retrocruzamentos relativos aos híbridos F₁ da combinação H 421 a razão de segregação foi de 1R:1S para os RC_{1.1} e de 1R:0S para os RC_{1.2}. Observou-se para o RC_{1.2} do H 421-3 um indivíduo com fenótipo de suscetibilidade discrepante da taxa de segregação postulada.

QUADRO 7 - Cafeeiros com Reações de Resistência (R) e Suscetibilidade (S) nos Retrocruzamentos de Híbridos F₁ das Combinações H 419, H 421 e H 430 com os Genitor— Suscetíveis (RC_{1,1}) e Resistentes (RC_{1,2}), Segregações Esperadas (Razão R:S) e Valores de Qui-Quadrado (χ^2) e Probabilidades (P), Quando Inoculados com a Raça II de *Hemileia vastatrix*

Plantas F ₁	RC _{1,1}				RC _{1,2}			
	Observ.		Razão R : S	χ^2	P	Observ.		Razão R : S
	R	S				R	S	
419-1	31	3	7 : 1	0,4202	0,5169	29	0	1 : 0
-3	43	5	7 : 1	0,1905	0,6551	19	0	1 : 0
-5	19	1	7 : 1	1,0286	0,3105	21	0	1 : 0
-6	15	0	7 : 1	21,494	0,1426	9	0	1 : 0
-7	3	2	7 : 1	■	■	2	0	1 : 0
-8	8	2	7 : 1	0,5143	0,4733	20	0	1 : 0
421-3	0	1	1 : 1	■	•	3	1	1 : 0
-4	30	27	1 : 1	0,1579	0,6911	36	0	1 : 0
-6	5	5	1 : 1	0,0000	1,0000	•	•	1 : 0
-7	12	8	1 : 1	0,8000	0,3711	23	0	1 : 0
-8	9	11	1 : 1	0,2000	0,6547	3	0	1 : 0
-9	21	11	1 : 1	3,1250	0,0771	4	3	1 : 0
430-1	54	5	7 : 1	0,8763	0,3492	14	0	1 : 0
-2	15	4	7 : 1	1,2571	0,2622	10	0	1 : 0
-4	79	17	7 : 1	2,3810	0,1228	4	3	1 : 0
-5	17	0	7 : 1	2,4382	0,1184	31	0	1 : 0
-6	32	2	7 : 1	1,3613	0,2433	20	0	1 : 0
-7	55	8	7 : 1	0,0021	0,9632	2	0	1 : 0
-8	3	4	7 : 1	1,6463	0,1995	14	0	1 : 0

• Não considerado em virtude da inexistência ou do baixo número de plantas analisadas.

Os resultados dos testes de heterogeneidade para as reações fenotípicas de resistência e suscetibilidade à raça II de *H. vastatrix* nos RC_{1,1} das combinações estudadas apresentaram valores não-significativos, a 5% de probabilidade, exceto para a fonte de variação referente a desvios nas combinações H 447 e H 484, as quais apresentaram valores de qui-quadrados e probabilidades de 5,9104 e 0,0151 e de 3,8458 e 0,0499, respectivamente (Quadro 9).

As reações observadas para o RC_{1,2}, apesar do reduzido número de exemplares testados, foram todas na classe fenotípica de resistência. Esses resultados também corroboram para explicar as hipóteses de segregação gênica postuladas.

QUADRO 8 - Cafeeiros com Reações de Resistência (R) e Suscetibilidade (S) nos Retrocruzamentos de Híbridos F₁ das Combinações H 447, H 464, H 469 e H 484 com os Genitores Suscetíveis (RC_{1.1}) e Resistentes (RC_{1.2}), Segregações esperadas (Razão R:S) e Valores de Qui-quadrados (χ^2) e Probabilidades (P), Quando Inoculados com a Raça II de *Hemileia vastatrix*

Plantas F ₁	RC _{1.1}					RC _{1.2}		
	Observ.		Razão R : S	χ^2	P	Observ.		Razão R : S
	R	S				R	S	
447-1	0	0	7 : 1	▪	•	16	0	1 : 0
-3	16	3	7 : 1	0,1854	0,6668	•	•	1 : 0
-4	12	4	7 : 1	2,2857	0,1306	3	0	1 : 0
-6	22	8	7 : 1	5,5048	0,0190	27	0	1 : 0
-9	7	1	7 : 1	0,0000	1,0000	2	0	1 : 0
-10	•	•	7 : 1			6	5	1 : 0
464-2	17	0	7 : 1	2,4320	0,1189	12	0	1 : 0
-4	3	0	7 : 1	•	▪	•	•	1 : 0
-6	17	3	7 : 1	0,1143	0,7353	11	1	1 : 0
-8	9	2	7 : 1	0,3198	0,5717	13	0	1 : 0
-9	22	1	7 : 1	1,4009	0,2366	32	0	1 : 0
469-1	22	1	7 : 1	1,5722	0,2099	8	0	1 : 0
-3	7	1	7 : 1	0,0000	1,0000	13	0	1 : 0
-4	7	0	7 : 1	0,8772	0,3490	•	•	▪
-5	5	0	7 : 1	▪		5	0	1 : 0
-6	20	1	7 : 1	1,1497	0,2836	22	0	1 : 0
484-1	44	12	7 : 1	4,0016	0,0455	20	0	1 : 0
-2	28	5	7 : 1	0,2101	0,6467	20	0	1 : 0
-3	19	5	7 : 1	1,5238	0,2170	13	0	1 : 0
-4	31	5	7 : 1	0,0635	0,8011	21	0	1 : 0
-5	27	2	7 : 1	0,8353	0,3607	3	0	1 : 0
-7	39	9	7 : 1	1,7143	0,1904	35	1	1 : 0

• Não-considerado em virtude da inexistência ou do baixo número de plantas analisadas.

QUADRO 9 - Testes de Heterogeneidade de Populações de Retrocruzamentos dos Híbridos F₁ das Combinações H 419, H 421, H 430, H 447, H 464, H 469 e H 484, com os Respetivos Genitores Suscetíveis, em Função da Reação à Raça II de *Hemileia vastatrix*

Combinação Híbrida	Fonte de Variação	Grau de Liberdade	χ^2	P
H 419	Heterogeneidade	4	2,5898	0,6286
	Desvio	1	1,7131	0,1906
	Total	5	4,3029	
H 421	Heterogeneidade	4	2,6642	0,6155
	Desvio	1	1,6187	0,2033
	Total	5	4,2829	
H 430	Heterogeneidade	6	9,7528	0,1355
	Desvio	1	0,2095	0,6471
	Total	7	9,9623	
H 447	Heterogeneidade	3	2,0654	0,5589
	Desvio	1	5,9104	0,0151
	Total	4	7,9758	
H 464	Heterogeneidade	3	3,2004	0,3617
	Desvio	1	1,0666	0,3017
	Total	4	4,2670	
H 469	Heterogeneidade	3	0,6330	0,8888
	Desvio	1	2,9661	0,0850
	Total	4	3,5991	
H 484	Heterogeneidade	5	4,5027	0,4795
	Desvio	1	3,8458	0,0499
	Total	6	8,3485	

4.2. Inoculações com a Raça XXV

Os dados referentes as reações com a raça XXV de *H. vastatrix* nas progênes dos genitores de Catuaí, Mundo Novo e Híbrido de Timor e nas propagações vegetativas dos híbridos em F₁ são apresentados no Quadro 10.

Nas descendências dos genitores de Catuaí e Mundo Novo escaparam a infecção com a raça XXV do patógeno duas plantas na descendência do Catuaí Vermelho UFV 2145-113 EL7, três na do Mundo Novo UFV 2152-19 EL8 e duas na do UFV 2190-304 EL8.

Nas descendências dos genitores resistentes foram encontradas cinco plantas suscetíveis na progênie do UFV 427-15 e uma na do UFV 442-108.

Os resultados das inoculações da raça XXV sobre as propagações vegetativas dos híbridos F₁ foram de resistência para todos os cafeeiros das combinações H 419, H 421, H 430, H 447, H 464, H 469 e H 484, conforme os dados relatados para os PVF₁ das várias combinações, no Quadro 10.

Os resultados referentes às segregações observadas nas classes fenotípicas de resistência (R) e suscetibilidade (S), para os cafeeiros em geração F₂ e as segregações postuladas (razão R:S), em relação à raça XXV, são apresentados nos Quadros 11 e 12.

Com exceção dos dados referentes à combinação H 421, todas as demais apresentaram segregações observadas na geração F₂, as quais se ajustaram às proporções de 63 genótipos resistentes para 1 genótipo suscetível, quando analisadas com auxílio do teste de qui-quadrado. Para as populações F₂ com segregações 63:1, só a descendência do híbrido H 484-1 apresentou valor de qui-quadrado significativo, a 5% de probabilidade.

QUADRO 10 - Reações das Progênes dos Genitores Suscetíveis (P₁) e Resistentes (P₂) e Propagações Vegetativas de Cafeeiros em Geração F₁ (PVF₁) de Três Combinações de Catuaí com Híbrido de Timor (H 419, H 421 e H 430) e Quatro de Mundo Novo com Híbrido de Timor (H 447, H 464, H 469 e H 484) e Segregações Esperadas (Razão R:S), Inoculadas com a Raça XXV de *Hemileia vastatrix*

Material em Estudo (Nº UFV)	Geração Estudada	Plantas			Razão R:S
		Inoculadas (Nº)	Resistentes (R)	Suscetíveis (S)	
2143-235 EL7	SnP ₁ *	134	0	134	0:1
445-46	SnP ₂	139	139	0	1:0
H 419	PVF ₁	7	7	0	1:0
2143-236 EL7	SnP ₁	120	0	120	0:1
427-15	SnP ₂	402	397	5	1:0
H 421	PVF ₁	8	8	0	1:0
2145-113 EL7	SnP ₁	130	2	128	0:1
442-108	SnP ₂	436	435	1	1:0
H430	PVF ₁	7	7	0	1:0
2152-19 EL8	SnP ₁	130	3	127	0:1
377-01	SnP ₂	410	410	0	1:0
H 447	PVF ₁	7	7	0	1:0
2190-100 EL8	SnP ₁	134	0	134	0:1
440-22	SnP ₂	331	331	0	1:0
H 464	PVF ₁	5	5	0	1:0
2190-304 EL8	SnP ₁	135	2	133	0:1
446-08	SnP ₂	155	155	0	1:0
H 469	PVF ₁	5	5	0	1:0
2164-193 EL8	SnP ₁	95	0	95	0:1
443-03	SnP ₂	248	248	0	1:0
H 484	PVF ₁	6	6	0	1:0

* Seleção em geração desconhecida do genitor P₁ e P₂.

QUADRO 11 - Cafeeiros com Reações de Resistência (R) e Suscetibilidade (S) em Progênes F₂ das Combinações de Catuaí com Híbrido de Timor - H 419, H 421 e H 430, Segregações Esperadas (Razão R:S) e Valores de Qui-Quadrado (χ^2) e Probabilidade (P) em Relação a Raça XXV de *Hemileia vastatrix*

Planta F ₁	Observado		Razão R : S	χ^2	P
	R	S			
419-1	309	3	63 : 1	0,7357	0,3910
-3	254	2	63 : 1	1,0159	0,3135
-5	340	1	63 : 1	3,5734	0,0587
-6	316	4	63 : 1	0,2032	0,6522
-7	276	4	63 : 1	0,0335	0,8548
-8	345	1	63 : 1	3,6518	0,0560
-10	327	4	63 : 1	0,2690	0,6040
421-1	236	94	3 : 1	2,1374	0,1437
-3	287	80	3 : 1	2,0064	0,1566
-4	300	69	3 : 1	7,8130	0,0052
-5	197	45	3 : 1	5,2948	0,0214
-6	160	45	3 : 1	1,0163	0,3134
-7	238	82	3 : 1	0,0667	0,7963
-8	216	45	3 : 1	8,3793	0,0004
-9	116	33	3 : 1	0,6465	0,4214
430-1	313	2	63 : 1	1,7605	0,1846
-2	210	5	63 : 1	0,8132	0,3672
-4	290	6	63 : 1	0,4119	0,5210
-5	176	2	63 : 1	0,2223	0,6373
-6	262	2	63 : 1	1,1159	0,2908
-7	305	2	63 : 1	1,6592	0,1977
-8	255	3	63 : 1	0,2674	0,6051

H 419 = UFV 2143-235 EL7 - Catuaí Amarelo x UFV 445-46 - Híbrido de Timor.

H 421 = UFV 2143-236 EL7 - Catuaí Amarelo x UFV 427-15 - Híbrido de Timor.

H 430 = UFV 2145-113 EL7 - Catuaí Vermelho x UFV 442-108 - Híbrido de Timor.

QUADRO 12 - Cafeeiros com Reações de Resistência (R) e Suscetibilidade (S) em Progênie F₂ das Combinações de Mundo Novo com Híbrido de Timor - H 447, H 464, H 469 e H 484, Segregações Esperadas (Razão R:S) e Valores de Qui-Quadrado (χ^2) e Probabilidade (P) em Relação a Raça XXV de *Hemileia vastatrix*

Planta F ₁	Observado		Razão R : S	χ^2	P
	R	S			
447-1	270	6	63 : 1	0,6731	0,4120
-3	155	1	63 : 1	0,8633	0,3528
4	118	1	63 : 1	0,4039	0,5251
-5	265	5	63 : 1	0,1465	0,7019
-6	303	2	63 : 1	1,6341	0,2011
-9	242	2	63 : 1	0,8735	0,3500
-10	239	6	63 : 1	1,2490	0,2637
464-2	144	3	63 : 1	0,2164	0,6418
-4	311	3	63 : 1	0,7548	0,3850
-6	222	2	63 : 1	0,6531	0,4190
-8	249	3	63 : 1	0,2278	0,6332
-9	392	2	63 : 1	2,8539	0,0912
469-1	270	2	63 : 1	1,2101	0,2713
-3	323	1	63 : 1	3,3094	0,0689
4	225	1	63 : 1	1,8421	0,1747
-5	146	3	63 : 1	0,1957	0,6582
-6	259	4	63 : 1	0,0030	0,9564
484-1	368	1	63 : 1	4,0296	0,0447
-2	231	6	63 : 1	1,4523	0,2282
-3	394	4	63 : 1	0,8049	0,3696
4	187	0	63 : 1	2,9664	0,0850
-5	191	2	63 : 1	0,3499	0,5542
-7	143	3	63 : 1	0,2310	0,6308

H 447 = UFV 2152- 19 ELE - Mundo Novo x UFV 377- 1 - Híbrido de Timor.

H 464 = UFV 2190-100 ELE - Mundo Novo x UFV 440-22 - Híbrido de Timor.

H 469 = UFV 2190-304 ELE - Mundo Novo x UFV 446-08 - Híbrido de Timor.

H 484 = UFV 2184-193 EL8 - Mundo Novo x UFV 443-03- Híbrido de Timor.

Para a combinação **H 421**, as segregações observadas nas classes de **resistência** e **suscetibilidade** ajustaram-se à proporção de **3R:1S**, com exceção dos dados das populações da **H 421-4**, **H 421-5** e **H 421-8**, que apresentaram valores de qui-quadrado significativos, a **5%** de probabilidade.

Os resultados dos testes de heterogeneidade das populações **F₂** estudadas são apresentados no Quadro 13. As combinações **H 419** e **H 421** apresentaram valores de qui-quadrado calculados correspondentes & probabilidade menor que **5%**, portanto significativos. A combinação **H 419** apresentou valores significativos para a fonte de variação referente ao desvio, mesmo não tendo sido observados os valores de qui-quadrados individuais para as populações **F₂**, com probabilidades iguais ou inferiores a 5%. Para a combinação **H 421**, os valores do teste de heterogeneidade foram significativos, apresentando valores elevados de qui-quadrado tanto para a fonte de variação heterogeneidade ($\chi^2 = 16,4462$ e $P = 0,0213$) como para o desvio ($\chi^2 = 10,9141$ e $P = 0,0010$), quando calculados em relação às reações fenotípicas totais das populações da combinação **H 421**.

Estes dados estão condizentes com o esperado, porque as descendências dos híbridos **F₁**, com valores de qui-quadrado significativos, apresentaram número muito baixo de cafeeiros na classe fenotípica de **suscetibilidade**, levando a suspeitar que houve **deficiência no processo de inoculação**.

QUADRO 13- Testes de Heterogeneidade de Populações F₂ Descendentes dos Híbridos F₁ de H 419, H 421, H 430, H 447, H 464, H 469 e H 484 em Função da Reação à Raça XXV *Hemileia vastatrix*

Combinação Híbrida	Fonte de Variação	Grau de Liberdade	χ^2	P
H 419	Heterogeneidade	6	2,6478	0,8516
	Desvio	1	6,8347	0,0089
	Total	7	9,4825	
H 421	Heterogeneidade	7	16,4462	0,0213
	Desvio	1	10,9141	0,0010
	Total	8	27,3603	
H 430	Heterogeneidade	6	4,6567	0,5885
	Desvio	1	0,5938	0,4410
	Total	7	5,2505	
H 447	Heterogeneidade	6	5,6432	0,4643
	Desvio	1	0,2002	0,6545
	Total	7	5,8434	
H 464	Heterogeneidade	4	1,7345	0,7844
	Desvio	1	2,9714	0,0847
	Total	5	4,7059	
H 469	Heterogeneidade	4	2,9479	0,5665
	Desvio	1	3,6124	0,0574
	Total	5	6,5603	
H 484	Heterogeneidade	5	7,1758	0,2080
	Desvio	1	2,6583	0,1030
	Total	6	9,8341	

Para complementar as informações de segregações nas gerações F₂, foram estudadas, também, em relação à raça XXV, as reações dos cafeeiros provenientes dos retrocruzamentos dos híbridos F₁ com os respectivos genitores suscetíveis (RC_{1.1}) e resistentes (RC_{1.2}), conforme os dados apresentados nos Quadros 14 e 15. Analisando os dados das reações obtidas nos fenótipos de resistência (R) e suscetibilidade (S), com base nos valores de qui-quadrado e respectivas probabilidades, observou-se que para os RC_{1.1}, com exceção da combinação H 421, as demais combinações, de modo geral, ajustaram-se a uma segregação mendeliana clássica, na proporção de 7R:1S. Para os RC_{1.2}, obtiveram-se todas as reações na classe fenotípica de resistência. Os dados observados para as populações desses dois retrocruzamentos, RC_{1.1} e RC_{1.2}, são condizentes com a hipótese envolvendo três genes segregantes com alelos dominantes e segregação independente entre os alelos dos três locos. Constituíram-se em exceções os RC_{1.1} descendentes dos híbridos F₁ - H 447-3, H 447-6 e H 484-1, os quais apresentaram valores de qui-quadrado significativos, indicando que as segregações obtidas, para esses casos específicos, não se ajustaram à hipótese de segregação de 7:1.

No caso dos retrocruzamentos da combinação H 421 (Quadro 14), o número de cafeeiros obtidos também foi reduzido. Contudo, com base nas reações obtidas para os RC_{1.1}, os valores de qui-quadrado ajustaram-se às proporções de um genótipo resistente para um suscetível, indicando que as reações à raça XXV de *H. vastatrix*, nas populações desta combinação híbrida, são controladas por um único gene dominante. Os resultados observados para todos os RC_{1.2} da combinação H 421 foram de resistência. Nos testes de heterogeneidade para as populações do RC_{1.1} observaram-se, de acordo com os dados apresentados no Quadro 16, valores significativos para o qui-quadrado das fontes de variação por causa dos desvios quando se analisou, conjuntamente, as segregações das RC_{1.1} nas combinações H 447, H 464, H 469 e H 484.

QUADRO 14 - Cafeeiros com Reações de Resistência (R) e Suscetibilidade (S) nos Retrocruzamentos de F₁ das Combinações H 419, H 421 e H 430 com os Genitor— Suscetíveis (RC_{1.1}) e Resistentes (RC_{1.2}), Segregações Esperadas (Razão R:S) e Valores de Qui-Quadrado (χ^2) e Probabilidades (P), Quando Inoculados com a Raça XXV de *Hemileia vastatrix*

Plantas F ₁	Número de Plantas no RC _{1.1}				Número de Plantas no RC _{1.2}			
	Observado		Razão R : S	χ^2	P	Observado		Razão R : S
	R	S				R	S	
419-1	29	4	7 : 1	0,0046	0,9460	29	0	1 : 0
-3	41	7	7 : 1	0,9005	0,3427	19	0	1 : 0
-5	18	2	7 : 1	0,1143	0,7353	20	0	1 : 0
-8	4	0	7 : 1		*	16	0	1 : 0
-10	4	0	7 : 1		*	3	0	1 : 0
421-3	1	0	1 : 1		*	4	0	1 : 0
-4	28	25	1 : 1	0,1698	0,6803	42	0	1 : 0
-6	5	0	1 : 1			*		1 : 0
-7	31	25	1 : 1	0,6429	0,4227	■		1 : 0
-8	9	15	1 : 1	1,5000	0,2207	3	0	1 : 0
430-1	37	3	7 : 1	0,9143	0,3390	20	0	1 : 0
-2	27	4	7 : 1	0,0150	0,9024	18	0	1 : 0
-4	75	9	7 : 1	1,5306	0,2160	41	0	1 : 0
-5	16	1	7 : 1	0,6838	0,4083	31	0	1 : 0
-6	26	6	7 : 1	1,1429	0,2850			1 : 0
-7	53	11	7 : 1	1,2857	0,2568		•	1 : 0
-8	3	6	7 : 1	1,2987	0,2545	22	0	1 : 0

* Não considerado em virtude da inexistência ou do baixo número de plantas analisadas.

QUADRO 15 - Cafeeiros com Resistência (R) e Suscetibilidade (S) nos Retrocruzamentos de Híbridos F₁ das Combinações H 447, H 464, H 469 e H 484 com os Genitor— Suscetíveis (RC_{1.1}) e Resistentes (RC_{1.2}), Segregações Esperadas (Razão R:S) e Valores de Qui-Quadrado (χ^2) e Probabilidades (P), Quando Inoculados com a Raça XXV de *Hemileia vastatrix*

Plantas F ₁	Número de Plantas no RC _{1.1}					Número de Plantas no RC _{1.2}		
	Observado		Razão R : S	χ^2	P	Observado		Razão R : S
	R	S				R	S	
447-1	1	0	7 : 1	*	■	16	0	1 : 0
-3	13	6	7 : 1	6,2984	0,0121	*	■	1 : 0
-4	15	2	7 : 1	0,0089	0,9248	2	0	1 : 0
-6	21	8	7 : 1	6,0167	0,0142	28	0	1 : 0
-9	6	2	7 : 1	1,1429	0,2850	2	0	1 : 0
-10	■	*	7 : 1	■		11	0	1 : 0
464-2	22	0	7 : 1	3,1429	0,0763	16	0	1 : 0
-4	3	0	7 : 1	*	■	*	■	1 : 0
-6	17	0	7 : 1	2,4320	0,1189	17	0	1 : 0
-8	10	1	7 : 1	0,1189	0,7303	15	0	1 : 0
-9	27	2	7 : 1	0,8353	0,3607	32	0	1 : 0
469-1	23	1	7 : 1	1,5238	0,2170	a	0	1 : 0
-3	7	0	7 : 1	*	*	11	0	1 : 0
-4	7	0	7 : 1	*	*			1 : 0
-5	5	0	7 : 1	*	*	4	0	1 : 0
-6	21	0	7 : 1	3,0035	0,0831	21	0	1 : 0
484-1	56	2	7 : 1	4,3448	0,0371	20	0	1 : 0
-2	3	4	7 : 1	1,5873	0,2077	20	0	1 : 0
-3	26	0	7 : 1	3,7143	0,0539	13	0	1 : 0
-4	27	5	7 : 1	0,2857	0,0593	21	0	1 : 0
-5	22	2	7 : 1	0,3810	0,5371	4	0	1 : 0
-7	50	6	7 : 1	0,1633	0,6862	46	0	1 : 0

* Não considerado em virtude da inexistência ou do baixo número de plantas analisadas.

QUADRO 16 - Testes de Heterogeneidade de Populações de Retrocruzamentos dos Híbridos F₁ das Combinações H 419, H 421, H 430, H 447, H 464, H 469 e H 484 com os Respectivos Genitores Suscetíveis, em Função da Reação à Raça XXV de *Hemileia vastatrix*

Combinação Híbrida	Fonte de Variação	Grau de Liberdade	χ^2	P
H 419	Heterogeneidade	2	0,2966	0,8622
	Desvio	1	0,0127	0,9102
	Total	3	0,3093	
H 421	Heterogeneidade	2	2,2450	0,3255
	Desvio	1	0,6767	0,4107
	Total	3	2,3217	
H 430	Heterogeneidade	6	6,6072	0,3587
	Desvio	1	0,2637	0,6076
	Total	7	6,8709	
H 447	Heterogeneidade	3	3,6165	0,3060
	Desvio	1	9,8504	0,0017
	Total	4	13,4669	
H 464	Heterogeneidade	3	1,0544	0,7881
	Desvio	1	5,4747	0,0193
	Total	4	6,5291	
H 469	Heterogeneidade	1	0,1847	0,6674
	Desvio	1	4,3426	0,0372
	Total	2	4,5273	
H 484	Heterogeneidade	5	4,8015	0,4406
	Desvio	1	5,6749	0,0172
	Total	6	10,4763	

5. DISCUSSÃO

As progênies de Catuaí e Mundo Novo, usadas como genitores femininos (P₁) na obtenção das combinações genéticas estudadas, apresentaram reações de suscetibilidade quando inoculadas com as raças II e XXV de *H. vastatrix*. Isso indicou que o fator S_H5 e outros possíveis genes controlando a resistência a *H. vastatrix* nos cafeeiros dessas variedades não conferiram, nem mesmo interferiram, na segregação para resistência específica às duas raças do patógeno utilizadas neste trabalho, como era de se esperar.

As descendências dos cafeeiros do Híbrido de Timor (CIFC 1343-136, CIFC 2235 e CIFC 2570) usadas como genitores masculinos (P₂) apresentaram reação de resistência em relação às raças II e XXV de *H. vastatrix*. A resistência observada foi conferida pela presença de alelos distintos do S_H5, visto que ambas as raças usadas nas inoculações possuem, na sua constituição genotípica, o alelo v5 para a virulência.

Nas progenies das introduções UFV 427-15, UFV 442-108 e UFV 446-08, as plantas que apresentaram reação de suscetibilidade à raça II

e, ou, XXV, à primeira vista, levaram à suposição que os cafeeiros genitores seriam heterozigotos para o alelo ou alelos responsáveis pela resistência. Essa suposição foi descartada diante das segregações gênicas observadas para as populações F₂ e retrocruzamentos que envolveram os referidos cafeeiros. A suscetibilidade desses cafeeiros segregantes poderia também ser decorrente da ausência de alelos dominantes responsáveis pela resistência, em virtude das anormalidades na meiose dos gametas envolvidos na formação desses indivíduos suscetíveis, conforme discutido por **ESKES e LEVY (1987)**. Outra possibilidade seria que essas plantas segregantes fossem originadas de sementes de fecundação cruzada, portanto, híbridas. Finalmente, outra possibilidade seria a existência de alguma variabilidade nas populações das raças do patógeno utilizadas para inoculações.

Os fenótipos de resistência para todos os híbridos F₁, observados nas inoculações das plantas originadas por propagações vegetativas dos mesmos, sugerem que a resistência nos genitores do Híbrido de Timor, e seus derivados, seja conferida por genes com interação alélica de completa dominância, tanto para a raça II como para a XXV de *H. vastatrix*. Esses resultados são concordantes com outros obtidos anteriormente, quando os mesmos cafeeiros, no estágio de três e quatro pares de folhas definitivas, foram inoculados com mistura de uredosporos coletados no campo (Pereira, A.A., dados não-publicados).

A taxa de segregação gênica, observada em relação às classes de resistência e suscetibilidade, nas populações em geração F₂ das combinações H 419, H 430, H 447, H 464, H 469 e H 484 foi de 63 genótipos resistentes (R), para 1 genótipo suscetível (S) e para a combinação H 421 de 3R:1S, em relação a ambas as raças de *H. vastatrix* utilizadas. Considerando as duas classes fenotípicas

mencionadas, a razão da segregação **gênica** de 63R:1S indicou, nas combinações que a apresentaram, que as reações à ferrugem **são** governadas por três genes segregantes com ação de **dominância** entre **os** alelos de um mesmo loco e segregação independente entre **os** locos. O **fenótipo** de resistência à ferrugem será conferido pela presença de apenas um alelo dominante, independente da presença ou **ausência** dos **alelos** dominantes, conferindo resistência **nos** outros dois locos. Apenas um alelo dominante para a reação A ferrugem, no **genótipo** do indivíduo, foi suficiente para que ele se comportasse, fenotipicamente, como resistente quando foi inoculado, tanto com a raça II quanto com a XXV. A reação de **suscetibilidade** observada para todas as populações F₂ das combinações genéticas, com segregação de 63R:1S, só foi manifestada por aqueles **genótipos** homozigotos recessivos para todos **os** alelos nos três locos que controlam a reação à ferrugem do cafeeiro. **No caso** da combinação H 421, a **suscetibilidade** manifestou-se **nos** cafeeiros com **os** alelos em homozigose recessiva no loco responsável pelo controle genético da reação a *H. vastatrix*.

Os resultados dos testes de **heterogeneidade** aplicados **As** populações F₂ comprovaram a consistência das hipóteses de segregação **gênica** formuladas para a maioria dos casos estudados.

Considerando as origens dos cafeeiros do Híbrido de Timor estudados, verificou-se que a introdução CIFC 1343/136 apresenta uma constituição **genotípica** para a **resistência** distinta da CIFC 2235 e CIFC 2570. **Os** parentais originados das introduções CIFC 2235 (UFV 377-01) e CIFC 2570 (UFV 440-22, 442-108, 443-03, 445-46 e 446-08), aparentemente, apresentaram uniformidade **genotípica** em relação aos **alelos** que controlam as reações às duas **raças** de *H. vastatrix* utilizadas. Analisando **as reações** **fenotípicas** de resistência e **suscetibilidade** nos

retrocruzamentos dos híbridos **F₁** com os respectivos genitores suscetíveis (**RC_{1.1}**), verificou-se que os resultados encontrados, de modo geral, suportam as hipóteses de segregação gênica postuladas para as populações estudadas, tanto para a raça II como para a XXV de *H. vastatrix*. Para as populações dos **RC_{1.1}** das combinações **H 419, H 430, H 447, H 464, H 469 e H 484**, na maioria dos casos, as segregações observadas ajustaram-se, com base no teste de qui-quadrado, à proporção de sete genótipos portadores de resistência para um suscetível, para ambas as raças estudadas do patógeno. Essa razão de **7R:1S** corresponde a uma segregação mendeliana clássica, obtida quando se realiza cruzamentos testes, ou seja, no caso específico quando cafeeiros homozigotos recessivos para os alelos em três locos são cruzados com cafeeiros portadores dos mesmos alelos em heterozigose, com dominância e segregação independente entre os locos. Este caso pode ser, tipicamente, representado pelos cafeeiros dos **RC_{1.1}** em relação à reação às duas raças do agente da ferrugem do cafeeiro, aqui analisadas.

Para a combinação **H 421**, os dados obtidos, tanto para a raça II como para a raça XXV, ajustaram-se, de modo geral, à razão de segregação de um genótipo resistente para um suscetível. Da mesma forma como foi discutido para as outras combinações estudadas, esta razão de segregação é esperada quando um indivíduo com os alelos em heterozigose para um único loco segregante é cruzado com outro indivíduo homozigoto recessivo para a característica considerada, ou seja, para o caso específico deste estudo, um indivíduo fenotipicamente suscetível à ferrugem.

Os valores de qui-quadrado nos testes de heterogeneidade das populações **RC_{1.1}** comprovaram, com as ressalvas aos casos

discrepantes, a consistência das hipóteses de segregação gênica formuladas para explicar a herança dos alelos responsáveis pelas reações As raças II e XXV de *H. vastatrix* nos genitores das combinações híbridas e seus derivados analisados.

As reações de resistência em todos os cafeeiros dos RC_{1,2} comprovaram as hipóteses de segregação gênica formuladas e a dominância dos fatores responsáveis pela herança da resistência nos genitores de Híbrido de Timor estudados em relação A raça II e XXV do patógeno. Os RC_{1,2} referentes aos híbridos F₁ H 447-10, H 464-6 e H 484-7 apresentaram alguns cafeeiros suscetíveis, quando inoculados com a raça II de *H. vastatrix*, fato não-explicado pela hipótese genética formulada. A ocorrência desses cafeeiros com fenótipos suscetíveis leva a suspeitar que sejam resultantes de gametas com anormalidades meióticas na formação, ou até mesmo a uma variabilidade genética do germoplasma.

Com relação As reações discrepantes às proporções mendelianas esperadas para as populações F₂ e nos retrocruzamentos RC_{1,1} e RC_{1,2}, serão apresentadas algumas considerações. Apresentaram valores de qui-quadrado calculados significativos para as populações F₂ do H 421-7 e do H 447-10, quando inoculadas com a raça II do patógeno. Para o caso da população F₂ do cafeeiro H 421-7, o valor do qui-quadrado calculado foi de 4,9402, correspondente a uma probabilidade de 0,0262, portanto, significativo, indicando a rejeição da hipótese de que os dados segregaram na proporção de 3:1. Não foi possível definir a razão do número excessivo de segregantes com fenótipos suscetíveis em relação à proporção esperada.

O teste de heterogeneidade para as populações F₂ pertencentes A combinação H 421, em relação A raça II de *H. vastatrix*, apresentou

valores significativos para a fonte de variação heterogeneidade ($\chi^2 = 15,3535$ e $P = 0,0317$), indicando falta de consistência para hipótese de segregação postulada para as populações F₂ da combinação H 421. Com referência à combinação H 447, apesar da ligeira discrepância nas freqüências de segregação para os fenótipos resistentes e suscetíveis na descendência do cafeeiro H 447-10, o teste de heterogeneidade, relativo a análise combinada das reações de todas as populações F₂ dessa combinação, ainda apresentou valores não-significativos. Isso reflete que a magnitude dos valores discrepantes se deve ao acaso, quando analisados em termos dos totais das populações F₂ da combinação H 447.

Quando as populações F₂ foram inoculadas com a raça XXV, observaram-se três valores discrepantes para a combinação H 421 e um para a H 484. Em ambas as combinações, a rejeição das hipóteses de segregação, com base no teste de qui-quadrado, deu-se em conseqüência do reduzido número de indivíduos com fenótipos suscetíveis. Tal fato leva a suspeitar que houve escape a inoculação.

Com base nos testes de heterogeneidade, observou-se entre as populações F₂, com segregação de 63:1, que apesar da discrepância da segregação da população do H 484-1, o teste de heterogeneidade não foi significativo. Possivelmente, ocorreu o mesmo discutido anteriormente para o caso da combinação H 447 em relação à raça II. Caso oposto ocorreu com a combinação H 419 que, apesar de apresentar valores de qui-quadrado individuais caracterizados como não-significativos, o valor para a fonte de variação relativo a desvios foi significativo. Isto, possivelmente, ocorreu em conseqüência do baixo número de indivíduos segregantes na classe fenotípica de suscetibilidade para os descendentes F₂ dos híbridos H 419-5 e H 419-8.

Para o caso da H 421, as descendências F₂ dos cafeeiros H 421-4, H 421-5 e H 421-8 apresentaram valores de qui-quadrado significativos, indicando que as segregações observadas não se ajustaram à razão de 3:1, então, teoricamente, a hipótese da herança monofatorial para resistência à ferrugem nos descendentes daqueles cafeeiros deve ser descartada.

Para os RC_{1.1}, quando inoculados com a raça II do patógeno, verificou-se que as segregações observadas para os cruzamentos dos cafeeiros H 447-6 e H 484-1 com os seus respectivos genitores suscetíveis não se ajustaram à razão de segregação 7:1 proposta para essas populações. Houve um número excessivo de segregantes com fenótipos de suscetibilidade, cujas causas foram desconhecidas. Os testes de heterogeneidade mostraram coerência com os dados observados, apresentando valores significativos para a fonte de variação referente ao desvio. Quando essas populações do RC_{1.1} foram inoculadas com a raça XXV, ocorreram valores significativos para os RC_{1.1} dos cafeeiros H 447-3, H 447-4, H 4476 e H 484-1. Possivelmente com exceção do H 484-1, a significância dos valores dos qui-quadrados deram-se em consequência do reduzido número de indivíduos testados. No caso do H 484-1, o número de segregantes com fenótipos suscetíveis foi muito baixo, provavelmente por causa do problema de escape a inoculação.

Os resultados do teste de heterogeneidade foram condizentes, apresentando valores significativos para as fontes de variação em virtude do desvio nas combinações H 447 e H 484. Além dessas, houve valores significativos, também, para a fonte de variação relativa ao desvio na combinação H 464, apesar de os valores do qui-quadrado individual terem sido não-significativos. Provavelmente isso tenha ocorrido em

conseqüência da **inexistência** ou do baixo número de **segregantes** com **fenótipos** suscetíveis. O tamanho inadequado das populações, como ocorrido neste trabalho, pode constituir numa fonte de erro experimental sistemático.

Conforme **já** mencionado, **os** resultados obtidos no presente trabalho sugerem **o** envolvimento de um gene dominante segregante conferindo as reações a ferrugem no Híbrido de Timor UFV 427-15 (CIFC 13431136) e três genes nas combinações derivadas das outras seleções do Híbrido de Timor. **A** análise dos resultados, **a** luz da teoria de Flor, sugere que as reações de resistência a ferrugem nos **genitores** de Híbrido de Timor UFV 377-01, 440-22, 442-108, 445-46, 446-08 e 443-03 e seus derivados **são** conferidas por **alelos** diferentes do SH5 e do SH6 e no UFV 427-15 a resistência observada não deve ser conferida pelo SH5, nem mesmo pelo SH6, considerando as duas raças como tal, porque, caso contrário, as populações em F₂, derivadas dessa fonte de resistência, seriam completamente suscetíveis quando fossem inoculadas tanto pela raça II como pela raça XXV **do** patógeno. **No** entanto, **o** alelo SH5 deve fazer **parte** da constituição genética dos cafeeiros testados. Segundo **o** conceito gene-a-gene para **o** complexo **Coffea spp. - H. vastatrix**, seu efeito foi anulado pelo alelo de virulência v5, presente em ambas as raças usadas nas inoculações.

Considerando a **interação** patógeno-hospedeiro, pelos resultados obtidos neste trabalho, **não** se verificaram diferenças no comportamento dos vários **genótipos** dos hospedeiros em relação aos **genótipos** de virulência das duas raças do **patógeno**. **As** taxas de **segregação** gênica foram idênticas para todas as **combinações** hospedeiras estudadas em **relação** tanto **A** raça II, que **possui** **o** alelo de virulência v5, quanto **A** raça XXV, com **os** **alelos** de virulência v2, v5 e v6. Essa semelhança de

comportamento das combinações híbridas estudadas, em relação as raças do patógeno utilizadas para as inoculações, leva a suspeitar que as duas raças usadas para este trabalho sejam idênticas. Diante desse fato, suspeita-se que a raça XXV possa ter perdido o fator SH6 e mesmo o SH2, em consequência da manutenção da cultura UFV Hem. 334B por longo período sobre cafeeiros de Catuaí, portadores apenas do alelo de resistência SH5. Van der PLANK (1963) relata que genes desnecessários para virulência tendem a desaparecer da população do patógeno. A cultura UFV Hem. 334B caracterizada como raça XXV ou XXXI (CARDOSO, 1986) não sendo exatamente identificada de qual raça se tratava por não se dispor, na ocasião, do clone diferenciador CIFC 419/20. Em recente inoculação da cultura UFV Hem. 334B sobre o referido clone, obteve-se reação de resistência, classificando, portanto, aquela cultura como raça XXV, conforme designada neste trabalho. A comprovação da possível perda dos alelos de virulência nesta e em outras culturas está sendo investigada para esclarecer o fenômeno.

Essa evidência, de perda de alelos de virulência do patógeno, leva a sugerir que a manutenção das culturas de *H. vastatrix* seja feita, continuamente, sobre os clones diferenciadores que apresentam reação de suscetibilidade à raça do patógeno que está sendo mantida. Sempre que possível, a manutenção de uma raça complexa deve ser multiplicada sobre clones com todos os alelos de resistência correspondentes aos respectivos alelos de virulência da raça e preservada em temperaturas criogênicas de armazenamento, como o nitrogênio líquido.

Nenhuma consideração foi feita com relação ao fator de virulência v2, presente na raça XXV (BETTENCOURT e RODRIGUES JR., 1988) porque não é esperado encontrar o correspondente fator de resistência SH2 na descendência do Híbrido de Timor, nem do Mundo Novo ou do Catuaí.

Considerando que as raças utilizadas nas inoculações tenham sido a II, portadora do alelo de virulência v5, e a raça XXV, portadora dos alelos de virulência v2, v5 e v6, é possível verificar que os alelos SH5 e SH6 não foram os responsáveis pela reação de resistência nas populações estudadas. Essa afirmação é aceitável pelo fato de que, quando se inoculou as populações F2 com a raça II, portadora apenas do v5, observou-se uma segregação de 3R:1S para os descendentes da combinação H 421 e de 63R:1S para os descendentes das demais. Quando as mesmas populações foram inoculadas com a raça XXV, portadora dos alelos v2, v5 e v6, as taxas de segregação foram as mesmas. Considerando que o alelo v5 está presente nas duas raças e que o v6 está associado ao v5 e v2 na raça XXV, era de se esperar taxas de segregação genética diferentes quando as mesmas populações fossem inoculadas com raças de constituições genéticas de virulência distintas. Como essa diferença não aconteceu, permite-se afirmar, com base nos resultados obtidos, que o SH6 não estaria presente, o que só seria válido se a raça utilizada para as inoculações fosse a XXV (v2, 5, 6), efetivamente.

No caso de perda de alelos de virulência, o comportamento da cultura UFV Hem. 3348 assemelhar-se-ia ao da raça II utilizada e, assim, um dos alelos responsáveis pela resistência nas populações hospedeiras poderia ser o próprio SH6. Nesse caso, a provável constituição genética do genitor UFV 427-15 (CIFC 13431136) seria, possivelmente, aquela do diferenciador CIFC 1343/269. Ao passo que os genitores descendentes das introduções CIFC 2235 e CIFC 2570 teriam genótipos para resistência a *H. vastatrix* mais próximos do clone diferenciador CIFC 832/1, com pelo menos quatro alelos controlando a reação ao agente da ferrugem do cafeeiro. O SH5 deve estar presente, mas seu efeito na

interação patógeno-hospedeiro foi anulado pelo alelo de virulência v5, presente em ambas as culturas utilizadas. A presença do SH6 era esperada, uma vez que ele sempre esteve presente nas análises genéticas feitas para os vários descendentes do Híbrido de Timor. BETENCOURT et alii (1980) relatam que o SH6 é o fator que confere resistência ao Híbrido de Timor CIFC 1343/269 (Grupo R) e sua resistência pode ser anulada por várias raças e, dentre elas, pela raça XXXII que possui, isoladamente, o alelo de virulência v6 (BETTENCOURT e RODRIGUES JR. 1988). BETTENCOURT (1984) relata que a análise genética do clone CIFC 832/1, com base nas expressões de resistência específica em relação às raças XXII, XXIX, XXX e XXXI, dá a indicação que a resistência naquele clone é condicionada por cinco fatores simples e dominantes - SH5, SH6, SH7, SH8 e SH9, associados a um ou mais fatores ainda não-identificados. O mesmo autor menciona, ainda, que em cafeeiros derivados do CIFC 832/2 e CCC 48-1574 (CIFC 1343), com base nos registros das reações Aquelas raças, alguns dos alelos referidos também são encontrados naquelas plantas. BETTENCOURT e RODRIGUES JR. (1988) generalizam essas informações relatando que a população de Híbrido de Timor derivada de *C. arabica* x *C. canephora* possui cinco alelos dominantes SH5, SH6, SH7, SH8 e SH9, condicionando isoladamente ou associados, espectro de resistência para as raças que caracterizam os grupos R, 1, 2 e 3. Relatam, ainda, que o efeito desses genes são anulados totalmente ou parcialmente pelas raças *H. vastatrix* com diferentes combinações dos genes de virulência v5, v6, v7, v8 e v9. Considerando a origem comum das populações estudadas neste trabalho Aquelas analisadas no CIFC, por BETTENCOURT e RODRIGUES JR, (1988) e na Colômbia por CASTILLO-ZAPATA e MORENO-RUIZ (1988), esperar-se-ia que, para a

seleções do Híbrido de Timor e seus derivados, a resistência específica **as** várias raças do **patógeno** fosse controlada pelos mesmos **alelos** dominantes referidos.

Com base nos dados apresentados, seria possível prever e propor as constituições genéticas dos **genitores** utilizados para a obtenção das sete combinações híbridas estudadas. Contudo, essas não serão propostas em razão de **não** se dispor das raças fisiológicas do **patógeno**, com toda variabilidade necessária para caracterizar todos **os** grupos fisiológicos de resistência derivados do Híbrido de Timor aqui estudados. Essa variabilidade do **patógeno** seria indispensável para orientar a **previsão** dos novos **genótipos**, segundo **o** **direcionamento** que vem sendo adotado neste estudo, pelo Centro de **Investigação** das Ferrugens do Cafeeiro, em Oeiras, Portugal. Utilizando-se outras raças do **patógeno**, com **alelos** de virulência adequados para **interagir** com **os** **alelos** de resistência presentes nas descendências do Híbrido de Timor, seria esperado identificar aqueles cafeeiros portadores dos **alelos** SH7, SH8, SH9 e outros que, isolados ou em associação, controlariam a reação ao agente da ferrugem alaranjada do cafeeiro.

6. RESUMO E CONCLUSÕES

Estudou-se a herança da resistência às raças fisiológicas II e XXV de *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. em sete combinações resultantes de hibridações do Híbrido de Timor com cafeeiros dos cultivares Catuaí e Mundo Novo. Foram inoculados os cafeeiros das descendências dos genitores P₁ e P₂, dos híbridos em geração F₁, as progênes em geração F₂ e os retrocruzamentos dos híbridos F₁ com os genitores suscetíveis (RC_{1,1}) e resistentes (RC_{1,2}). Para cada combinação, foram estudadas as gerações F₂ de cinco a oito cafeeiros híbridos F₁.

As avaliações foram realizadas entre 45 e 60 dias após a inoculação, classificando as reações dos cafeeiros, para fins deste estudo, nas classes fenotípicas de resistência e suscetibilidade. Na classe de resistência, foram incluídos os cafeeiros que apresentaram reações sem formação de uredosporos do patógeno. Na classe de suscetibilidade foram incluídos aqueles que apresentaram reações com formação de uredosporos.

Os resultados foram analisados com auxílio dos testes de proporções genéticas e de heterogeneidade com base no qui-quadrado. O primeiro teste foi aplicado às freqüências de plantas observadas nas classes fenotípicas de resistência e suscetibilidade, dentro de cada uma das populações **F₂**, **RC_{1.1}** e **RC_{1.2}**. Para o teste de heterogeneidade consideraram-se as freqüências totais de plantas dentro das mesmas classes fenotípicas, considerando o conjunto de descendentes pertencentes a uma mesma família.

As segregações genéticas observadas nas populações **F₂** das combinações designadas de **H 419**, **H 430**, **H 447**, **H 464**, **H 469** e **H 484**, quando inoculadas tanto com a raça fisiológica II quanto com a raça XXV de *H. vastatrix*, ajustaram-se a uma proporção de **63** genótipos resistentes (**R**) para **1** genótipo suscetível (**S**). Esta razão de segregação gênica de **63R:1S** indica que as reações a ferrugem são controladas por **três locos**, com alelos dominantes para a resistência e segregação independente. Para as populações **F₂** da combinação **H 421**, também para ambas as raças utilizadas, a proporção de segregação foi **3R:1S**, indicando que a reação à ferrugem é controlada por um único gene, com o alelo dominante expressando fenotipicamente a reação de resistência do hospedeiro.

Para os retrocruzamentos envolvendo os cafeeiros **F₁** das combinações **H 419**, **H 430**, **H 447**, **H 464**, **H 469** e **H 484**, a proporção de segregação nos **RC_{1.1}** foi de **7R:1S** e nos **RC_{1.2}** de **1R:0S**, ou seja, todos os genótipos analisados foram resistentes. As segregações observadas, nos **RC_{1.1}** e **RC_{1.2}**, dessas seis combinações, confirmaram o envolvimento de **três alelos** dominantes para a resistência, com segregação independente entre os locos. Para a combinação **H 421** obteve-se para o **RC_{1.1}** uma proporção de **1R:1S** e para os **RC_{1.2}**,

todos os genótipos testados foram resistentes. Esses dados, também, confirmaram que a resistência é controlada por um único gene dominante, nas populações descendentes da combinação H 421.

Os resultados dos testes de heterogeneidade, de modo geral, comprovaram a consistência das hipóteses de segregação postuladas para todas as combinações estudadas.

Considerando os fatores de virulência v5 para a raça II e v2, v5 e v6 para a XXV, pelos resultados obtidos, conclui-se que, para as combinações com segregação de 63R:1S, a resistência está sendo conferida por alelos distintos do S_H5 e do S_H6. Na combinação H 421 com segregação de 3R:1S, a reação A ferrugem mostrou ser controlada por um único loco com interação de dominância completa. Neste caso, a resistência está sendo conferida por um alelo diferente do S_H5 ou do S_H6. O fator S_H5 deve estar presente nos genótipos dos cafeeiros estudados, mas o seu efeito gênico está sendo anulado pelo alelo de virulência v5, presente nas duas raças utilizadas para as inoculações das populações estudadas.

No presente trabalho, não ficou evidenciada a interação hospedeiro-parasita entre as várias populações do hospedeiro analisadas em relação As raças II e XXV do patógeno. As proporções de segregação gênica observadas foram semelhantes tanto para a raça II, portadora do genótipo de virulência v5, como para a raça XXV, portadora dos alelos de virulência v2,5,6. Essa semelhança de segregação observada para as duas raças e a presença do alelo S_H6 nas descendências do Híbrido de Timor, confirmada em vários trabalhos, permitiu considerar que a raça designada como XXV, neste trabalho, provavelmente, perdeu seus alelos para virulência, comportando-se então de maneira idêntica à raça II.

A genética da resistência as raças II e XXV de *H. vastatrix*, para as introduções CIFC 2235 (UFV 377-01) e CIFC 2570 (UFV 440-22, 442-108, 443-03, 445-46 e 46-08), é distinta daquela apresentada pela introdução CIFC 1343/136 (UFV 427-15).

A reação As raças II e XXV de *H. vastatrix*, nos descendentes das introduções UFV 377-10, UFV 440-22, UFV 442-108, UFV 443-03, UFV 445-46 e UFV 446-08, é conferida por três genes de segregação independente e com dominância alélica completa. Na descendência da UFV 427-15, essa característica é controlada por um único gene com dominância alélica completa.

Diante dos resultados obtidos neste e em outros trabalhos, ficou destacado o elevado nível de resistência a *H. vastatrix* nas populações derivadas do Híbrido de Timor. Essa e outras características de interesse, aliadas A alta capacidade produtiva observada, em condições de campo, para as populações derivadas do Híbrido de Timor, ressaltam o potencial desse híbrido, para o melhoramento genético do cafeeiro, visando a obtenção de cultivares resistentes a ferrugem.

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

- BETTENCOURT, A.J. Melhoramento genético do cafeeiro. Transfêrência de fatores de resistência à *Hemileia vastatrix* Berk et Br. para as principais cultivares de *Coffea arabica* L. Lisboa, Centro de Investigação das Ferrugens do Cafeeiro (CIFC/IICT), 1981. 93p.
- BETTENCOURT, A.J. Características agronômicas de seleções derivadas de cruzamentos entre Híbrido de Timor e as variedades Caturra, Villa Sarchi e Catuaí. In: SIMPÓSIO SOBRE FERRUGENS DO CAFEEIRO, Oeiras, 1983. **Simpósio ...**Oeiras, Centro de Investigação das Ferrugens do Cafeeiro, 1984. p. 352-373.
- BETTENCOURT, A.J. & CARVALHO, A. Melhoramento visando a resistência do cafeeiro à ferrugem. *Bragantia*, **27**(24):35-68, 1968.
- BETTENCOURT, A.J. & NORONHA-WAGNER, M. Genetic factors conditioning resistance of *Coffea arabica* L. to *Hemileia vastatrix* Berk et Br. *Agronomia Lusitana*, **31**:285-92, 1971.
- 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, 1988. p.199-235. v. 4: Agronomy.

- BETTENCOURT, A.J.; NORONHA-WAGNER, M.; LOPES J. Factor genético que condiciona a resistência do clone 1343/269 (Híbrido de Timor) a *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. *Broteria Genética*, **1**(76):53-8, 1980.
- CARDOSO, R.M.L. Novas Raças de *Hemileia vastatrix* Berk et Br. no Brasil. Métodos de **identificação** e **detecção** de grupos fisiológicos em cafeeiros derivados do Híbrido de **Timor**. Viçosa, MG, UFV, 1986. 111p. (Tese M. S.)
- CARNEIRO, M.F.N.; BETTENCOURT, A.J.; FERNANDES, D.T. Estudo da Adaptação as condições da Estação Regional de Uige, Angola, de seleções de *Coffea arabica* L. e de híbridos tetraplóides de *C. arabica* x *Coffea* ssp. portadores de diferentes fatores de resistência a ferrugem-alaranjada, *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. *Garcia de Oita Ser. Est. Agron.*, **5**(1-2):25-30. 1978.
- CARVALHO, A. Principles and practice of coffee plant breeding for productivity and quality factors: *Coffea arabica* In: CLARKE, R.J. & MACRAE, R. (eds) *Coffee*, London, Elsevier, 1988. 334p. v. 4: Agronomy.
- CARVALHO, A. & MONACO, L.C. Melhoramento do cafeeiro visando resistência à ferrugem alaranjada. *Ciência e Cultura*, **23**(2):141-6, 1971.
- CARVALHO, A.; MEDINA FILHO, A.P.; FAZUOLI, L.C.; COSTA, W.M. da. Número de locos e ação gênica de fatores para porte baixo em *Coffea arabica* L. *Bragantia*, **43**(2):425-42, 1984.
- CASTILLO-ZAPATA, J. & MORENO-RUIZ, G. La Variedad Colombia: Selección de un cultivar compuesto resistente a la roya del cafeto. Caldas, Federacion Nacional de Cafeteros de Colombia, CENICAFÉ, 1988. 171p.
- CHAVES, G.M. Melhoramentos dos cafeeiros visando a obtenção de cultivares resistentes a *Hemileia vastratrix* Berk et Br. *Revista Ceres*, **23**(128):321-32, 1976.
-

CHAVES, G.M.; CRUZ FILHO, J.; CARVALHO, M.G.; MATSUOKA, K.; COELHO, D.J.; SHIMOYA, C. A ferrugem do cafeeiro (*Hemileia vastratrix* Berk et Br.). Revisão de literatura com observações e comentários sobre a enfermidade no Brasil. **Seiva**, Viçosa, MG, v. 30, 1970. 75p. Edição Especial.

CHAVES, G.M.; BETENCOURT, A.J.; ZAMBOLIM, L; CRUZ FILHO, J.D.A. Comportamento de progênies F₃ de híbrido Catimor recebidos do Centro de Investigações das Ferrugens do Cafeeiro pela Universidade Federal de Viçosa. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIRAS, 4, Caxambú, MG. 1976. **Resumos...** Rio de Janeiro, MIC/IBC, 1976, p.220-4.

D'OLIVEIRA, B. As ferrugens do cafeeiro. Oeiras, Junta de Investigações do Ultramar, Centro de Investigações das Ferrugens do Cafeeiro, s.d. 61p. Separata da Revista do Café Português **1(4):5-13; 2(5):5-12; 2(6):5-13; 2(7):9-17; 2(8):5-22; 4(16):5-15; 1954-1957.** (Separata nº 3).

ECHEVERRI, R.J.H. Evaluacion regional de 16 genotipos sobresalientes en el Banco de germoplasma de CATIE por su resistència a la roya del cafeto (*Hemileia vastatrix* Berk et Br.). In: CONGRESSO LATINOAMERICANO DE TECNOLOGIA CAFEIRA 1, Campinas, 1987. **Resumos...** Rio de Janeiro, MIC/IBC, 1987. p.301-4.

ESKES A.B.; LEVY, F.A. Análise Genética, a nível Diplóide, da Resistência encontrada no Café Icatú a *Hemileia vastatrix*. Primeiros resultados. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEÍNAS, 14, Campinas, 1987. **Resumos...** Rio de Janeiro, MIC/IBC, 1987. p.97-99.

ESKES, A.B.; HOOGSTRATEN, J.G.J.; TOMA-BRAGHINI, M.; CARVALHO, A. Race-specificity and inheritance of incomplete resistance to coffee leaf rust in Some Icatu coffee progenies and derivatives of Híbrido de Timor. **Euphytica**, **47:11-19**, 1990.

KUKHANG, T.D.; MAWARDI & ESKES, A.B. Studies on the inheritance of the S_H3 resistance factor to coffee leaf rust. In: INTERNATIONAL SCIENTIFIC COLLOQUIUM ON COFFEE, 15, Montpellier, 1983. **15th International...** Montpellier, s. ed., 1993. AA 7.

- KUSHALAPPA, A.C. & ESKES A.B. Advances in coffee rust research. Annual Review Phytopathology, **27**:50-31, 1989.
- MATHER, K. The measurement of linkage in heredity. New York, John Wiley & Sons, 1957. 149p.
- MAWARDI, S. & HULUPI, R. Progress on Breeding for resistance of Arabica Coffee to leaf rust (*Hemileia vastatrix* B. et Br.) in Indonesia. In: INTERNATIONAL SCIENTIFIC COLLOQUIUM ON COFFEE, 15, Montpellier, 1993. **15th** International...Montpellier, s. ed., 1993. AA. 11.
- MEDINA-FILHO, H.P.; CARVALHO, A.; SONDAHL, M.R.; FAZUOLI, L.C.; COSTA, W.M. Coffee breeding and related evolutionary aspects In: JANICK, J. (ed.) Plant breeding reviews, Westport, AVI, 1984. v.2. p.157-193.
- MONACO, L.C. Consequence of the introduction of coffee leaf rust in Brazil. Annals of New York Academic of Science, **287**:57-71, 1977.
- MONACO, L.C.; CARVALHO, A.; FAZUOLI, L.C. Melhoramento do cafeeiro. Germoplasma do café Icatú e seu potencial no melhoramento. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS 2, Poços de Caldas, 1974. Resumos...Rio de Janeiro, IBC, 1974. p.103.
- MORENO-RUIZ, G. Etude du Polymorphisme de L'hibride de Timor - en vue de L'amélioration du cafeeier arabica: **variabilité enzymatique et agronomique dans les populations d'origine; resistance incomplete à *Hemileia vastatrix*. dans les croisements avec *Coffea arabica***. Montpellier, Ecole Nationale Supérieure Agronomique de, 1989. 153p. (Thèse Docteur-Ingénieur)
- NARASIMHASWAMY, R.L. Arabica Selection S. 795. Its origin and performance. A study. Indian **Coffee**, **24**:197-204, 1960.

- NORONHA-WAGNER M. & BETTENCOURT, A.J. Genetic study of the resistance of *Coffea* sp to leaf rust 1. Identification and behavior of four factors conditioning disease reaction in *Coffea arabica* to twelve physiologic races of *Hemileia vastatrix*. Canadian Journal of Botany, **45**:2021-31, 1967.
- RODRIGUES JR., C.J. Coffee rust and resistance. In: FULTON, R.H. (ed) Coffee rust in the Americas. St. Paul: American Phytopathological Society, 1984. p.41-58.
- RODRIGUES JR., C.J.; VARZEA, V.M.P.; GODINHO, I.L. PALMA, S.; RATO, R.C. New physiologic races of *Hemileia vastatrix*. In: INTERNATIONAL SCIENTIFIC COLLOQUIUM ON COFFEE, 15, Montpellier, 1983, 15th International... Montpellier, s. ed., 1993. A 19.
- SERA, T.; ANDRACIOLI FILHO, A.; CARDOSO, R.M.L.; DIAS M.C.L.L.; GUERREIRO, A.; SILVA, E. da. IAPAR 59 - Cultivar de Café para, plantio adensado. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE CAFE ADENSADO, Londrina, 1994. Resumos... Londrina, IAPAR, 1994. p.38.
- SREENIVASAN, M.S.; RAM, A.S.; PRAKASH, N.S. Tetraploid interspecific hybrids of coffee and Breeding for rust resistance in India. In: INTERNATIONAL SCIENTIFIC COLLOQUIUM ON COFFEE, 15, Montpellier, 1983. 15th International..., Montpellier, s. ed., 1993. A 8.
- STRICKBERGER, M.W. Genetics 3. ed. New York, The MacMillan Company, 1985. 842p.
- Van der PLANK, J.E. Plant diseases: Epidemics and control. New York, Academic Press, 1963. 334p.
- Van der VOSSSEN, H.A.M. & OWUOR, J.B.O. A programme of interspecific hybridization between arabica and robusta coffee in Kenya. Kenya *Coffea*, **46**:131-36, 1981.
- WELLMAN, F.L. The rust *Hemileia vastatrix* now formally established on coffee in Brazil. Plant Disease Report, **54**:539-41, 1970.
- ZAMBOLIM, L. & CHAVES, G.M. Efeito de baixas temperaturas e do binômio temperatura-umidade relativa sobre a variabilidade dos uredosporos de *Hemileia vastatrix* Berk et Br. e *Uromyces phaseoli typica* Arth. *Experientiae*, **17**(7):151-184, 1974.