

# EXPRESSÃO DE CARACTERES EM SERINGUEIRA E OBTENÇÃO DE CLONES PRODUTIVOS E RESISTENTES AO MAL-DAS-FOLHAS<sup>1</sup>

AFONSO CELSO CANDEIRA VALOIS<sup>2</sup>

**RESUMO** - Em termos gerais, este trabalho apresenta metodologia de pesquisa com seringueira (*Hevea* spp.), visando a obtenção de clones produtivos e com resistência permanente ao fungo *Microcyclus ulei*. Mostra, também, aspectos relacionados com a influência de genes maiores na expressão de caracteres e suas relações com o ataque de praga e doença, bem como o nível atual de conhecimentos da interação hospedeiro x patógeno x ambiente no referente ao mal-das-folhas da seringueira.

Termos para indexação: *Hevea* spp., melhoramento genético, *Microcyclus ulei*, resistência a doenças.

## CHARACTERS EXPRESSION IN RUBBER TREE AND OBTAINMENT OF CLONES WITH PRODUCTION AND RESISTANCE TO SOUTH AMERICAN LEAF BLIGHT

**ABSTRACT** - In general terms, this report shows a research methodology with rubber tree (*Hevea* spp) for obtainment of productive clones with permanent resistance to fungi *Microcyclus ulei*. It also shows aspects in relation to major influence of genes in characters and their relations with attack of pest and disease and atual level of knowledgement of host x guest x environment interaction in relation to the rubber tree South American Leaf Blight.

Index terms: *Hevea* spp., plant improvement, *Microcyclus ulei*, disease resistance.

## INTRODUÇÃO

A seringueira pertence à família *Euphorbiaceae*. Uma planta alógama, monóica que, em condições silvestres, é encontrada dispersa na região amazônica. Pertence ao gênero *Hevea* que é constituído das seguintes espécies ou semi-espécies: *H. brasiliensis*, *H. benthamiana*, *H. pauciflora*, *H. guianensis*, *H. paludosa*, *H. spruceana*, *H. nitida*, *H. rigidifolia*, *H. microphylla*, *H. camporum* e *H. camargoana*. Destas a *H. brasiliensis* é a que tem maior importância econômica na produção de borracha, enquanto que a *H. benthamiana* e *H. pauciflora* são fontes de resistência a enfermidades. A *H. camporum* e *H. camargoana* (espécies anãs) têm importância para a redução da altura de plantas.

As seringueiras produtivas, quando estabelecidas em condições de cultivos racionais, podem ser drasticamente afetadas por enfermidades, principalmente pelo mal-das-folhas, causado pelo fungo *Microcyclus ulei*, o que não acontece em condições silvestres devido à barreira de outras espécies ao fato de ser pequena a densidade de plantas por uni-

dade de área. Esse fato deu margens ao desenvolvimento de pesquisas visando a obtenção de genótipos capazes de exteriorizar todo o seu potencial produtivo mesmo em presença de patógenos. No entanto, o programa de melhoramento genético, anteriormente desenvolvido no Brasil, levou em consideração a resistência vertical. Como consequência, poucos clones são hoje indicados para plantio em larga escala, em virtude da quebra daquela forma de resistência de plantas a doenças.

Isso levou à necessidade de reformulação do referido programa, dando ensejo a que atualmente a busca de indivíduos produtivos e/ou resistentes seja feita através dos seguintes caminhos: a) seleção de clones advindos de outros programas; b) cruzamentos interespecíficos; c) seleção de plantas em condições de viveiro; d) seleção de plantas em condições de seringais nativos; e) mutações induzidas.

De posse do material genético adequado, hoje, são indicadas as seguintes soluções para a implantação de seringais no Brasil:

- a) Solução genética: refere-se à utilização de clones altamente produtivos e/ou com certo grau de tolerância a patógenos nos plantios comerciais, nos quais os valores fenotípicos para maior economicidade tenham como base o melhoramento gratuito (genético).

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 22 de agosto de 1983.

<sup>2</sup> Eng.<sup>o</sup> Agr.<sup>o</sup> M.Sc., Dr., EMBRAPA, Edifício Venâncio 2000 - 9.<sup>o</sup> andar, Caixa Postal 04-0315, CEP 70333 - Brasília, DF.

- b) Solução genética-horticultural: que é o estabelecimento de clones altamente produtivos e suscetíveis, em áreas de ocorrência de patógenos, com utilização de enxertia de copa com clones resistentes, principalmente de *H. pauciflora*.
- c) Solução genético-controle químico: implantação de cultivos com clones altamente produtivos e suscetíveis, em áreas de ocorrência de patógenos, e controle químico das enfermidades.
- d) Solução genético-ecológica: estabelecimento de seringueiras em áreas com clima seco prolongado e condições edáficas sem impedimentos físicos, de maneira que possibilite o escape ao ataque de patógenos. Para isso, os genótipos devem ser altamente produtivos, trocar de folha na época mais seca do ano, ser resistentes à seca e também ao frio quando necessário. É a solução mais econômica.

Em face das dificuldades de conseguir, pelos métodos atuais, clones altamente produtivos e com resistência ao *M. ullei*, de preferência do tipo horizontal, faz-se mister que sejam buscadas novas ações de pesquisas no sentido de obter os materiais de plantio altamente recomendáveis no atual estágio de desenvolvimento da heveicultura nacional. Nos clones existentes, o fato de serem aqueles altamente produtivos suscetíveis ao *M. ullei* e os imunes não serem produtivos pode ser explicado pela ação do elemento potássio que é importante tanto para a produção de borracha como para a síntese de polifenóis controladores do patógeno. Assim, naqueles indivíduos produtivos não deve haver potássio suficiente para a produção de fitoalexinas sendo que o mesmo ocorre para aqueles com resistência absoluta (imunes) quanto à não-disponibilidade de potássio para a produção de borracha. O importante é que sejam obtidos clones com potássio suficiente tanto para a produção econômica de borracha como para conferir resistência permanente dos genótipos ao *M. ullei*. Com isso, será possível a utilização de indivíduos com maior estabilidade fenotípica nos diversos nichos ecológicos viáveis ao cultivo da *Hevea*, de forma econômica.

O presente trabalho tem como objetivo básico traçar uma diretriz geral de pesquisas a ser seguida

por unidades componentes do Sistema Cooperativo da Pesquisa Agropecuária, coordenado pela EMBRAPA, visando a obtenção e utilização de clones de seringueira altamente produtivos e resistentes ao *M. ullei*.

#### Expressão de caracteres em *Hevea*

Em seringueira, a grande maioria dos trabalhos desenvolvidos relacionados com a expressão de caracteres, tanto no Brasil como em países orientais, tem-se referido a caracteres poligênicos (produção de borracha, espessura de casca, diâmetro de vasos laticíferos, diâmetro do caule), em razão de estarem, talvez, mais diretamente correlacionados com o lado econômico do cultivo (Valois 1974, Tan et al. 1975, Valois et al. 1978 e 1979, Gonçalves et al. 1980 e 1982, Paiva 1980).

No entanto, alguns caracteres oligogênicos de importância econômica têm sido observados, como é o caso do tamanho de sementes (Valois & Paiva 1976), cujo caráter apresenta uma herdabilidade no sentido restrito de 92,4% (pouco influenciado pelo meio ambiente) e que é correlacionado, de maneira positiva, com o vigor de porta-enxertos, útil ao preparo de mudas para o estabelecimento do cultivo.

Outro caráter que merece destaque é o referente à posição dos folíolos que, em *H. guianensis*, são voltados para cima (Schultes 1977). Por isso, o caráter pode ser utilizado para acelerar o processo fotossintético em híbridos com outras espécies (p.e. *H. pauciflora*), úteis em programas de melhoramento genético da seringueira. Há, por exemplo, um clone, PUA 7, que possui as mesmas características desejáveis da *H. pauciflora* (imunidade ao *M. ullei*), com a vantagem de ter os folíolos voltados para cima. Esse clone é um híbrido natural oriundo das duas espécies.

Também, merece ser citado o caráter de resistência a doenças que, geralmente, é oligogênico (Fernando & Liyanage 1975); trata-se de um caráter de alta importância, visto que a ocorrência de enfermidades em seringueiras tem o principal entrave à expansão da heveicultura no País.

Ultimamente vêm ganhando importância os clones poliplóides ( $2n = 72$ ), pelo fato de apresentarem potencial para maior produção de látex, redução do período de imaturidade e resistência à seca (Lleras & Medri 1978, Valois 1979) em relação

aos clones diplóides ( $2n = 36$ ). Além do número de cromossomos, esses tetraplóides diferem em relação aos diplóides em caracteres dirigidos por genes de efeito pronunciado, como:

- a) Espessura do limbo foliar: as plantas poliplóides possuem o limbo foliar mais espesso.
- b) Coloração dos folíolos: os poliplóides possuem coloração verde mais intensa.
- c) Tamanho dos folíolos: nos poliplóides os folíolos são maiores.
- d) Tamanho dos pecíolos: nos diplóides os pecíolos são menores.

Outro caráter digno de citação é o que se refere à altura de plantas. Das espécies conhecidas a que tem maior desenvolvimento (em torno de 45 m de altura) é a *H. brasiliensis*, enquanto que a *H. camporum* e a *H. camargoana* são as menos desenvolvidas, chegando esta última a 2-3 m de altura. Atualmente, em instituições de pesquisa do Brasil, está sendo tentada a passagem do caráter anão da *H. camargoana* para a *H. brasiliensis* ou híbridos de *H. brasiliensis* x *H. benthamiana*. Visa a obtenção de plantas mais baixas, cujo ideótipo possa facilitar o processo de tratamentos culturais, controle fitossanitário, coleta de sementes e, o que é mais importante, concorrer para aumentar a faixa do painel de exploração da planta, tornando o processo mais econômico. Nesses cruzamentos, têm sido evidenciados tipos diferentes de segregação quando a planta anã é utilizada como pai ou mãe (Gonçalves et al. 1982). Quando funciona como receptora de grão de pólen, a descendência é menos desenvolvida, o que leva a crer que isto se deva à influência de fatores citoplasmáticos; trata-se de um campo de pesquisa a ser explorado, mesmo para o caso da resistência a doenças.

No referente à indicação de genes específicos que controlam caráter em seringueira, é citado o gene *Virescens* (Valois et al. 1978), que ocorre em descendentes de clones onde um dos paternos é o clone oriental PB 86. Os folíolos apresentam-se inicialmente com manchas amareladas passando depois a verde normal. Para os heveicultores é muito importante o conhecimento desse caráter, pois é muito parecido com deficiência mineral, mas, não implica em ministrar nutrientes à planta.

Podem ainda ser citados os seguintes caracteres

de importância e que resultam do comando de genes principais:

- a) Presença de cera na cutícula em folíolos: Este caráter tem sido observado em clones resistentes a fungos que requerem a formação do orvalho para a sua multiplicação. A presença dessa substância gordurosa, ajudada pela posição inclinada do folíolo que é brilhoso, não permite a permanência de água livre na superfície foliar, por um período requerido para a multiplicação dos patógenos.
- b) Ocorrência do pigmento do grupo dos flavonóides (antocianina) em folíolos com estágio inicial de desenvolvimento: É provável que esse pigmento torne-se atrativo à mariposa *Erinnyis ello* (principal praga da seringueira) para a postura em noites de lua cheia. Tem sido visto que a *Hevea pauciflora* é resistente a essa praga, também conhecida pelo nome de mandarová; além de possuir poucos folíolos novos (preferidos pelos estádios larvais iniciais do inseto) em relação aos já formados (estádio fonológico D), esses folíolos novos de *H. pauciflora* possuem coloração autociânica bem pálida, o que pode constituir outro mecanismo de resistência ao condicionante biológico. Também a seleção de clones que possuem folíolos com pálida coloração autociânica poderá constituir interessante passo para obtenção de mutantes que, mesmo produtivos, constituam fontes de resistência ao fungo *Microcyclus ulei* (agente causal do mal-das-folhas, principal doença da seringueira no Brasil). Neste caso, a hipótese é que se possa aumentar o período latente do patógeno no hospedeiro e reduzir a frequência da infecção e da produção de esporos, através da diminuição do período infeccioso do fungo e redução da suscetibilidade do folíolo pela mais rápida ativação gênica na planta para produção de mecanismos de resistência, como substâncias tóxicas (fitoalexinas).
- c) Variegação: Este caráter tem sido observado em seringueira. Como acontece em outras plantas, é resultado da assimetria da divisão de orgânulos citoplasmáticos (no caso clo-

roplastos) por ocasião da divisão celular. Poderá constituir fator importante para trabalhos de melhoramento genético da *Hevea*, pois tem sido vista a influência dos plastosmas (coleção de genes plastidiais) na expressão do caráter da macho-esterilidade de origem citoplasmática em outras plantas. Em decorrência do fato de ser o número de cloroplastos proporcional ao grau de ploidia, a condição variegada ainda constitui outra ampla base de pesquisa na linha do melhoramento genético. Em vista disso, primeiramente, deve haver a preocupação de saber se se trata de plantas haplóides, cuja confirmação conduzirá à obtenção de indivíduos homocigotos (não variegados), através da duplicação do número de cromossomos que poderá ser feito com o emprego da colchicina, demecolcina, ou mesmo da podofilina. As plantas homocigotas são bastante desejáveis para o estabelecimento de cultivos da seringueira em bases mais econômicas.

#### Metodologia de obtenção de novos clones

Como foi visto anteriormente, as nuances da coloração antociânica em folíolos no estágio B poderão constituir excelente marcador genético para a seleção de clones altamente produtivos e resistentes ao fungo *M. ulei*, o que, aliás, não tem sido observado na prática. Assim, será traçado um programa visando a obtenção desses genótipos portadores de bons valores fenotípicos.

Para a elaboração do estudo há necessidade de que sejam levados em consideração os seguintes conhecimentos básicos disponíveis:

- a) O mal-das-folhas causado pelo *M. ulei* é uma doença de juro composto de equação  $X = X_0 \cdot e^{rt}$ . A melhor maneira de combater é através da redução da frequência de infecção e do número de esporos, além do aumento do período latente do fungo na planta, reduzindo, assim, o período infeccioso que é o limitante. Trata-se de doença de folha capaz de conduzir a planta ao perecimento.
- b) Os folíolos novos, nos primeiros quinze dias de emissão, é que são suscetíveis ao fungo, principalmente à sua forma imperfeita (*Fusicladium macrosporum*). Este fato está associado à presença da coloração antociânica

de maneira bem pronunciada. Os folíolos tornam-se resistentes quando passam ao verde normal.

- c) A coloração antociânica acentuada libera um composto denominado cianida (Lieberei 1981). A maior ou menor quantidade desse composto conduz à maior ou menor suscetibilidade do hospedeiro ao patógeno. Também, em clones resistentes, foi encontrado o polifenol Kaempferol Glucorannosídeo (Figari 1965) que é uma fitoalexina do grupo dos flavonóides.
- d) A regulação da expressão gênica para antocianina é feita por gene mutador (não aparece a coloração antociânica) ou por gene expressor no qual aparece o fenômeno da expressividade do caráter através da manifestação em diferentes graus.
- e) Na seringueira é comum observar essas nuances da expressão do caráter de coloração em folíolos jovens; sempre os indivíduos são menos suscetíveis naqueles fenótipos menos pronunciados. Neste caso, a variação da atividade gênica deve ser mais rápida para chegar à coloração verde, diminuindo, assim, o período infeccioso do patógeno, devido à menor quantidade de cianida disponível.
- f) Embora a seringueira seja planta perene cuja floração inicia entre 3 e 5 anos de idade, é possível reduzir esse período para 1 a 1,5 ano. Para isso, a planta deve passar por tratamentos adequados, como anelamento com 2 cm de largura a 20 cm do solo ou da união do enxerto, pulverização com fitorreguladores, como o Ethephon a 1.000 ppm ou mesmo a cumarina na mesma concentração (Carvalho 1980). Esta metodologia é capaz de reduzir o tempo para a obtenção de clones de seringueira que atualmente leva cerca de 28 anos, compreendendo o período entre os trabalhos iniciais de polinização até a indicação para o plantio comercial em larga escala. De posse desses conhecimentos básicos, o próximo passo é saber quantos genes estão envolvidos na expressão do caráter de efeito mais ou menos pronunciado, e se este é dominante ou recessivo. Em seguida obter os clones com características desejáveis de produção

de borracha e resistência ao *M. ulei* de maneira permanente. Assim, conseguem-se os seguintes resultados:

1. Seleção de mutantes, inclusive para produção de borracha, que ocorrem naturalmente nos viveiros no referente à coloração antociânica pá-lida dos folíolos no estágio B. Os mutantes poderão ainda ser induzidos através de mutagênicos químicos ou mesmo por irradiação de hastes ou sementes. No caso de hastes, é interessante partir já de clones sabidamente produtivos. Também poderão ser utilizados em cruzamentos clones de *H. pauciflora*, que são imunes à doença, de baixíssima produção, com folíolos no estágio B com coloração pouco pronunciada.

2. Cruzamento com indivíduos produtivos e possuidores de folíolos com coloração antociânica acentuada.

3. Autofecundação dos indivíduos F<sub>1</sub> advindos do cruzamento indicado no item anterior.

4. Análise da segregação. Se aparecer a segregação 3:1, por exemplo, trata-se de caráter monogênico.

5. Continuação da seleção nas segregações seguintes visando melhorar a estabilidade, uniformidade, produção e outros bons caracteres agrônômicos.

6. Inoculações artificiais de suspensão de esporos de patógenos para assegurar se realmente referem-se a indivíduos resistentes e, neste caso, quais os componentes que estão envolvidos através da quantificação de parâmetros epidemiológicos (período latente, período infeccioso, taxas de infecção).

7. Realizações de cruzamentos adicionais entre plantas irmãs de uma mesma família e, também, autofecundações.

8. Análise das segregações quanto à manifestação fenotípica acentuada e típica, facilitando, assim, a identificação e seleção.

9. Verificação da dominância ou recessividade do caráter através de testes recomendados como o qui-quadrado (X<sup>2</sup>).

10. Passagem do caráter para clones altamente produtivos e suscetíveis ao patógeno, através do método do retrocruzamento, utilizando o esquema da passagem do caráter dominante ou recessivo, conforme o caso.

Para elaboração de alguns dos passos assinalados foi consultado o trabalho de Bandel (1980).

## CONCLUSÃO

Diante do acervo de conhecimentos disponíveis sobre aspectos da seringueira e seu cultivo, do fungo *Microcyclus ulei*, da interação hospedeiro x patógeno x ambiente, da metodologia de pesquisa, é possível a obtenção de clones de *Hevea* altamente produtivos e com resistência permanente ao mal-das-folhas, com o auxílio do marcador genético da fraca intensidade da coloração antociânica dos novos folíolos.

## REFERÊNCIAS

- BANDEL, G. Estudo de genes maiores em milho. Relat. Ci. Depart. Genét. ESALQ, Piracicaba, (14):11-9, 1980.
- CARVALHO, C.J.R. Indução de floração precoce em clones de *Hevea brasiliensis* e híbridos de *Hevea brasiliensis* x *Hevea benthamiana*. Pesq. agropec. bras., Brasília, 15(4):405-11, 1980.
- FERNANDO, D.M. & LIYANAGE, A.S. *Hevea* breeding for leaf and panel disease resistance in Sri Lanka. s.n.t. Trabalho apresentado na International Rubber Conference. Kuala Lumpur, 1975. p.1-11.
- FIGARI, A. Substâncias fenólicas tóxicas al hongo *Dothidella ulei* en hojas de clones de *Hevea brasiliensis*. Turrialba. Costa Rica, 15(2):103-10, 1965.
- GONÇALVES, P.S.; FERNANDO, D.M. & ROSSETTI, A.G. Interspecific crosses in the genus *Hevea*. A preliminary progeny test of SALB resistant dwarf hybrids. Pesq. agropec. bras., Brasília, 17(5):775-81, 1982.
- GONÇALVES, P.S.; VASCONCELLOS, M.E.C.; VALOIS, A.C.C. & SILVA, E.B. Herdabilidade, correlações genéticas e fenotípicas de algumas características de clones jovens de seringueira. Pesq. agropec. bras., Brasília, 15(2):129-36, 1980.
- LIEBEREI, R. Influência da cianida na ocorrência do mal-das-folhas da seringueira (*Hevea* spp). Manaus, EMBRAPA-CNPDS, 1981. 17p.
- LLERAS, E. & MEDRI, M.E. Comparação anatômica entre folhas diplóides e poliplóides do híbrido *Hevea brasiliensis* x *Hevea benthamiana* (IAN 717). Acta amaz., Manaus, 8(4):565-75, 1978.
- PAIVA, J.R. Estimativas de parâmetros genéticos em seringueira (*Hevea* spp.) e perspectivas de melhoramento. Piracicaba, ESALQ/USP, 1980. 92p. Tese Mestrado.
- SCHULTES, R.E. Wild *Hevea*: an untapped source of germplasm. Rubb. Res. Inst. Sri Lanka, Sri Lanka, 54(1):227-57, 1977.

- TAN, H; MUKHERJEE, T.K. & SUBRAMANIAN, S. Estimates of genetic parameters of certain characters in *Hevea brasiliensis*. *Theor. Appl. Genet.*, Berlin, 46:180-90, 1975.
- VALOIS, A.C.C. Competição de clones de seringueira e predição de parâmetros genéticos. *B. téc. Inst. Pesq. Agropec. Amaz. Ocid.*, Manaus, 4:1-9, 1974.
- VALOIS, A.C.C. Melhoramento genético da seringueira. Belém, Faculdade de Ciências Agrárias do Pará, 1979. 27p. (Publicação Didática).
- VALOIS, A.C.C. & PAIVA, J.R. Herdabilidade do tamanho de sementes de seringueira (*Hevea* spp). *Sementes*, Brasília, 2(2):3-7, 1976.
- VALOIS, A.C.C.; PINHEIRO, E.; CONCEIÇÃO, H.E. O. & SILVA, M.N.C. Competição de porta-enxertos de seringueira (*Hevea* spp.) e estimativas de parâmetros genéticos. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, 13(2): 49-54, 1978.
- VALOIS, A.C.C.; VASCONCELLOS, M.E.C.; PINHEIRO, E. & SILVA, E.B. Emprego do índice de seleção em seringueira. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, 14(4): 351-7, 1979.