

AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA DE CULTIVARES DE CAFÉ À RAÇA II DE *Hemileia vastatrix* Berk. et Br

Alexandre Sandri CAPUCHO¹; Laércio ZAMBOLIM¹; Eunize Maciel ZAMBOLIM¹; Eveline Teixeira CAIXETA²; Everton de Arruda FRANCHINI¹; Antônio Alves PEREIRA³

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

Resumo:

A ferrugem do cafeeiro, causada por *Hemileia vastatrix*, pode ser controlada eficientemente pela utilização de cultivares resistentes. A resistência vertical (qualitativa) é oligogênica, e é governada por poucos genes podendo segregar para suscetibilidade a raça II se controlada por poucos genes e, por isso, com resistência não durável anulada pelo surgimento de novas raças. Assim, o conhecimento da segregação para suscetibilidade à raça II torna-se importante em patossistemas em que o patógeno apresenta alta variabilidade como *H. vastatrix*. Como algumas variedades lançadas como resistentes já estão sendo atacadas pela ferrugem, este trabalho objetivou avaliar 25 cultivares de café lançados como resistentes quanto à segregação para a suscetibilidade à raça II de *H. vastatrix* coletada, identificada e mantida em cafeeiros da cultivar Catuaí IAC 144 há cerca de 20 anos. Os resultados mostraram que todas os cultivares, exceto 'Catuaí', apresentam um bom número de genes de resistência vertical à raça II de *H. vastatrix*. Assim não foi possível caracterizar a resistência horizontal das 25 cultivares a raça II, pois todas os cultivares avaliadas tiveram resistência vertical.

Palavras-chave: Cultivares resistentes, resistência vertical, resistência durável, teste de resistência.

EVALUATION OF RESISTANCE OF COFFEE CULTIVARS TO RACE II OF *Hemileia vastatrix* Berk. et Br.

Abstract:

Coffee leaf rust (*Hemileia vastatrix*) can be controlled efficiently by resistant cultivars. The vertical resistant (qualitative) is oligogenic and it is governed by few genes could segregate for susceptibility the race II if controlled by few genes and, that, with non durable resistance annulled by the appearance of new races. The knowledge of the segregation for susceptibility to the race II becomes important in patossystems in that the pathogen presents high variability as *H. vastatrix*. Some of the coffee resistant cultivars have been shown susceptibility four to six years after it is has been released in the field. Due to this reason this work evaluated 25 coffee resistant cultivars for horizontal resistance to race II of *H. vastatrix* collected, identified and maintained in Catuaí IAC 144 for 20 years. The results showed that all the cultivars had vertical resistance to race II of *H. vastatrix*.

Word-key: Resistant cultivars; vertical resistance; durable resistance, resistance test.

Introdução

A ferrugem alaranjada do cafeeiro, causada pelo fungo *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. é a principal doença de cafeeiros no mundo e, no Brasil, causa anualmente danos de 35 a 50%, dependendo das condições climáticas (Zambolim *et al.*, 1999). A utilização de variedades portadoras de resistência genética é economicamente a melhor alternativa para o controle da ferrugem, por ser de baixo custo, simples implantação, reduzir o uso de agroquímicos nas lavouras, além de ser eficiente e trazer menor dano ao meio ambiente (Zambolim *et al.*, 2003).

A disponibilização de cultivares resistentes à ferrugem tem sido um constante desafio para os melhoristas. Entretanto, estas, ao longo do tempo, podem tornar-se suscetíveis a novas raças do patógeno, que podem se desenvolver por meio de mutações genéticas (Eskes *et al.*, 1980). Cafeeiros denominados Híbrido de Timor e as progênes derivadas do cruzamento desse híbrido com outras variedades, selecionados na Ilha do Timor Português, possivelmente resultantes do cruzamento natural de *C. arabica* e *C. canephora* vêm sendo estudadas em diversas regiões cafeeiras do mundo (Várzea *et al.*, 2002). Esse germoplasma tem sido valioso para os programas de melhoramento, visando à resistência durável ao agente da ferrugem. Além da introdução CIFC 832/1 se manter resistente a todas as raças conhecidas do patógeno, até o momento, este é tetraplóide e se cruza facilmente com as cultivares de *C. arabica*, favorecendo a transferência de sua resistência (Carvalho *et al.*, 1989).

Nos últimos anos vários cultivares foram colocados à disposição dos produtores, entre eles, Icatu Amarelo, Icatu Vermelho, Tupi IAC 1669 - 33, Obatã IAC 1669 - 20 (Fazuoli *et al.*, 2002), IAPAR 59, IPR 97, IPR 98, IPR 99, IPR 102, IPR 103, IPR 104, IPR 105, IPR 106, IPR 107, IPR 108 (Sera *et al.*, 2005), Oeiras MG 6851, Paraíso MG H 419-1,

Araponga MG1 e MG2, Sacramento MG1, Catiguá MG1 e MG2 e Pau-Brasil MG1 (Pereira *et al.*, 2005).

O contínuo aparecimento de novas raças fisiológicas de *H. vastatrix* tem suplantado a resistência de alguns cultivares antes consideradas resistentes, e a durabilidade da resistência das variedades atuais é difícil de ser prevista. Alguns anos após a introdução e o cultivo em larga escala, na Índia, o cultivar “Catimor” = ‘Caturra’ x “Híbrido de Timor 832/1”, começou a mostrar suscetibilidade à ferrugem. Estudos revelaram tratar-se de novas raças de ferrugem com capacidade para infectar toda a população de “Catimor” existente no CIFC - Centro de Investigações das Ferrugens do Cafeeiro (Várzea *et al.*, 2002).

O conhecimento do nível de resistência de cafeeiros à *H. vastatrix* é importante para dar suporte aos programas de melhoramento genético. Existem dois níveis de resistência preconizados na obtenção de variedades, a resistência vertical ou específica que envolve, geralmente, mecanismos cuja herança é governada por poucos genes, fáceis de manipular em programas de melhoramento; e a resistência horizontal ou não específica que é poligênica, caracterizada por apresentar um mesmo nível de proteção para todas as raças do patógeno (Van der Plank, 1963).

Segundo Robinson (1976), a resistência vertical tem poucas chances de sucesso em culturas perenes e de clima tropical. É recomendado como uma estratégia para aumentar a durabilidade da resistência vertical, combinar a resistência vertical e a horizontal nas variedades melhoradas.

O presente trabalho propõe avaliar a resistência de cultivares de café lançadas com resistência vertical e/ou horizontal a *H. vastatrix* e avaliar a estabilidade genética e pureza do isolado da raça II de *H. vastatrix* mantidas há 20 anos na UFV

Material e Métodos

As cultivares avaliadas foram: Catuaí Vermelho IAC 144 (UFV 2144) e Catuaí Vermelho IAC 15 (testemunhas suscetíveis), Tupi IAC 1669-33, Tupi Amarelo IAC 5162, Obatã IAC 1669-20, Obatã Amarelo, Bourbon Amarelo, Catigua MG1 e MG2, Araponga MG1, Pau Brasil MG1, Sacramento MG1, Oeiras MG 6851, IPR-59, IPR-98, IPR-99, IPR-100, IPR-103, IPR-104, Acauã, Catucaí Vermelho 20/15, Catucaí Amarelo 2SL, Palma II e Sabiá. Portanto, vinte e cinco variedades de cafeeiros foram testadas quanto ao nível de resistência à *H. vastatrix*.

Para isso, foi feito inicialmente a reativação de isolado caracterizado em 1986 por Cardoso como raça II de *H. vastatrix*, da coleção do Laboratório de Biotecnologia do Cafeeiro/UFV. Antes da montagem do ensaio, os uredosporos da raça II foram multiplicados a partir de lesão monopustular pela inoculação em folhas de mudas de *Coffea arabica* do germoplasma Catuaí. Os uredosporos foram espalhados nas folhas com um pincel de pêlo de camelo e, em seguida, as folhas foram levemente aspergidas com água destilada. As plantas foram mantidas no escuro, a 22°C e UR 90% por 48 horas, e em seguida transferidas para uma câmara de 22 °C e fotoperíodo de 12 horas. Após esporulação os uredosporos foram coletados e acondicionados em cápsulas de gelatina. As cápsulas foram colocadas dentro de um dessecador, com umidade relativa interna em torno de 50%, em geladeira (Zambolim & Chaves, 1974). Antes da inoculação, a viabilidade dos uredosporos de *H. vastatrix* foi avaliada pelo teste de germinação em meio ágar-água a 2%. Os uredosporos apresentaram cerca de 36% de germinação.

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

Folhas completamente expandidas e destacadas foram selecionadas de seis plantas de cada variedade. As folhas foram selecionadas de mudas das variedades presentes no Banco de Germoplasma da UFV, sob condições de campo. Após serem cuidadosamente lavadas em água corrente e secadas em papel de filtro, as folhas foram depositadas com a face abaxial voltada para cima sob uma tela e espuma, saturada com água, no interior de um gerbox. Após esse procedimento inocularam-se pela aplicação de 10 gotas de 5µL do inóculo (2,0 mg/mL) com auxílio de uma micropipeta. As gotas foram dispostas apenas no lado esquerdo da folha. O outro lado da folha foi utilizado como controle negativo, com o objetivo de observar possível contaminação com inóculo proveniente do campo de cultivo. Após a inoculação, os gerbox foram deixados por 48 horas à temperatura de 22±2 °C na ausência de luz. A seguir, foi feita uma limpeza cuidadosa, com auxílio de algodão, na superfície abaxial das folhas, tomando o cuidado para não causar ferimentos. Esse processo teve por finalidade retirar uredosporos germinados ou não que ficam retidos na folha, evitando contaminações por fungos hiperparasitas de *H. vastatrix*, como *Verticillium hemileiae*, que possam prejudicar as avaliações futuras. A seguir os gerbox foram transferidos para câmara com fotoperíodo de 12 horas de luz, e temperatura de 22±2 °C. As avaliações foram iniciadas com o surgimento dos sintomas da doença nas variedades suscetíveis.

Para quantificar essa resistência os seguintes componentes da resistência foram previstos a serem avaliados: 1) Período latente, definido como o tempo decorrente da inoculação até a produção de esporos. O período latente foi avaliado quando 50% das lesões formadas esporulem (Kushalappa & Eskes, 1989); 2) Os índices de esporulação foram analisados pela escala de Tamayo *et al.* (1995). Nesta escala, as notas 1, 2 e 3 correspondem à reação de resistência do cafeeiro à *H. vastatrix*, e as notas 4, 5 e 6, a reações de suscetibilidade. Nota 1: ausência de sintomas; nota 2: lesões cloróticas pequenas; nota 3: lesões cloróticas grandes; nota 4: lesões cloróticas grandes com pequena esporulação, ocupando menos de 25% da área da lesão com uredosporos; nota 5: lesões com esporulação ocupando de 25 a 50% de sua área e nota 6: lesões com esporulação ocupando mais de 50% de sua área; 3) produção de esporos, este parâmetro é o que melhor expressa o nível de resistência horizontal pois avalia a reprodução do patógeno. A produção de esporos é avaliada pela coleta de esporos e sua quantificação em Câmara de Neubauer.

Resultados e Discussão

Na Tabela 1 encontra-se os índices de esporulação para as variedades analisadas. Esses resultados mostram que nove amostras apresentaram contaminações por inóculo do campo (Figura 1). Esta observação só foi constatada pelo fato da inoculação ser feita em apenas um dos lados da face abaxial da folha. Esse procedimento garante os resultados da inoculação, evitando falsos positivos, que em outros estudos como, a fenotipagem da herança da resistência de uma população segregante, comprometendo, por exemplo, estudos moleculares.

Outras quinze amostras necrosaram, todas iniciando pelo pedúnculo foliar, e estendendo-se por toda a folha. Foi feito isolamento indireto a partir das folhas necrosadas, mas nenhum patógeno foi detectado. Este fato está sendo associado às condições de alta umidade no interior do *gerbox*. Assim, dentre as 150 folhas inoculadas das 25 variedades, 10% necrosaram e 6% foram desconsideradas por apresentarem contaminações com inóculo do campo.

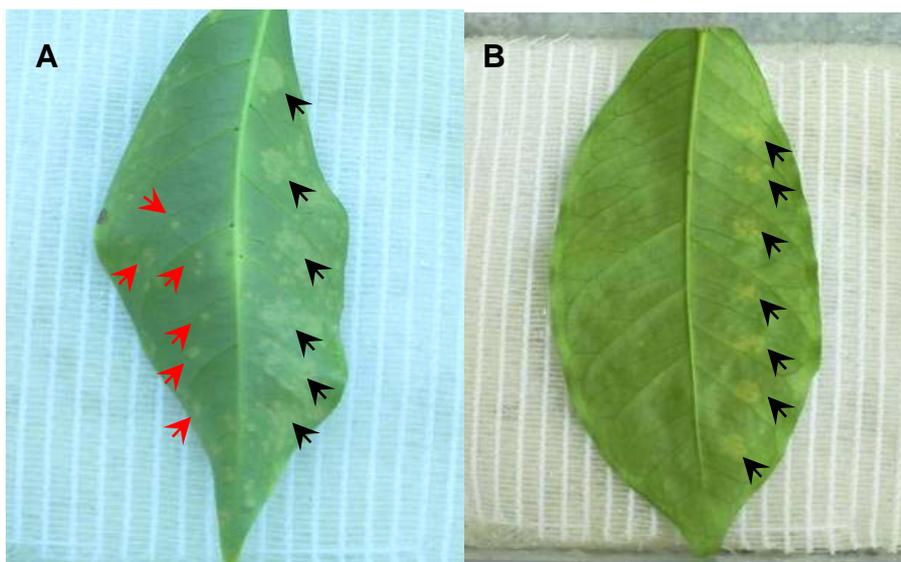


Figura 1: Representação do resultado da inoculação, com a raça II de *H. vastatrix*, no lado esquerdo da face abaxial de folhas destacadas de cultivares de cafeeiros. **Legenda:** **A**-Folha com inóculo contaminante do campo (**setas vermelhas**), **setas pretas** representam o local da inoculação; **B**-Folha em que foi aproveitado os resultados da inoculação.

Os cultivares lançados como resistentes à raça II de *H. vastatrix* mantiveram-se como tal, já que as notas da escala não foram superiores a três (Tabela 1). Entretanto a raça II empregada neste trabalho foi identificada por Cardoso (1986) e mantida em plantas de Catuaí IAC 144 (UFV 2144) desde 1986. Será que a raça II, durante esses 20 anos de manutenção em Catuaí Vermelho IAC 144, comportará de maneira idêntica a raça II coletada recentemente? Portanto há possibilidade de tais cultivares não se comportarem com resistência vertical com isolados da raça II coletadas diretamente do campo. Daí esse trabalho esta sendo repetido com isolados da raça II coletados e identificados recentemente, em 2006, na região de Viçosa.-MG. Os resultados obtidos com as inoculações realizadas nas cultivares avaliadas estão indicando que o inóculo mantém o genótipo de virulência e agressividade. Assim, esta metodologia, alternativa à convencional cara e trabalhosa e consumidora de tempo, pode ser usada em programa de melhoramento com poucos recursos e ganho de tempo e quantidade de plantas muito maiores avaliadas.

Conclusão

A raça II de *H. vastatrix* coletada, identificada e mantida em Catuaí Vermelho IAC 144 (UFV 2144) há cerca de 20 anos mantém as suas características genéticas de virulência e agressividade. A metodologia de folhas destacadas diretamente de campo das cultivares resistentes à ferrugem pode ser uma metodologia alternativa a ser usada nos programas de melhoramento para resistência à ferrugem.

Tabela 1: Resultado dos índices de esporulação das variedades de cafeeiro inoculadas com a raça II de *H. vastatrix*. (N: amostra que necrosou. C: amostra que apresentou contaminações por inóculo do campo).

Variedade	Planta	Nota	Variedade	Planta	Nota	Variedade	Planta	Nota
Catuai 2144	1	6	IPR 98	1	2	Catuai Vermelho IAC 144	1	5
	2	6		2	2		2	6
	3	5		3	2		3	5
	4	5		4	N		4	5
	5	5		5	2		5	6
	6	6		6	1		6	5
Tupi	1	3	Catigua MG2	1	1	Obatã	1	2
	2	3		2	2		2	2
	3	2		3	1		3	1
	4	1		4	2		4	2
	5	3		5	N		5	2
	6	N		6	2		6	1
IPR 104	1	2	IPR 100	1	3	Catuai Vermelho IAC 15	1	5
	2	3		2	3		2	6
	3	3		3	3		3	N
	4	3		4	3		4	N
	5	N		5	2		5	6
	6	3		6	2		6	5
Obatã Amarelo	1	C	Pau Brasil	1	3	Sabiá	1	C
	2	C		2	3		2	N
	3	3		3	3		3	3
	4	3		4	3		4	3
	5	C		5	3		5	3
	6	C		6	C		6	N
IPR 99	1	1	Palma II	1	2	Oeiras	1	N
	2	2		2	2		2	N
	3	2		3	2		3	3
	4	1		4	3		4	3
	5	3		5	2		5	3
	6	3		6	1		6	1
Catigua MG1	1	1	IPR 103	1	2	Acauã	1	1
	2	2		2	N		2	2
	3	3		3	3		3	2
	4	3		4	3		4	2
	5	2		5	3		5	3
	6	2		6	3		6	1
Tupi Amarelo	1	3	Sacramento	1	N	IAPAR 59	1	1
	2	3		2	3		2	2
	3	1		3	3		3	1
	4	3		4	3		4	C
	5	3		5	2		5	1
	6	2		6	2		6	2
Araponga MG1	1	N	Bourbon Amarelo	1	N	Catucaí Amarelo 24/137	1	3
	2	3		2	6		2	2
	3	3		3	1		3	3
	4	C		4	5		4	3
	5	3		5	6		5	3
	6	3		6	3		6	3
Catucaí Vermelho 20/15	1	3						
	2	C						
	3	3						
	4	3						
	5	3						
	6	N						

Referências Bibliográficas

- CAPUCHO, A.S., RUFINO, R., ZAMBOLIM, E.M., CAIXETA, E.T. & ZAMBOLIM, L. Método de inoculação de *Hemileia vastatrix* em folhas destacadas de cafeeiro. In: IV Simpósio de Pesquisas dos Cafés do Brasil, Londrina-PR (Resumos). 2005.
- CARDOSO, R.M.L. Novas racas fisiológicas de *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. no Brasil, métodos de identificação, e detecção de grupos fisiológicos em cafeeiros derivados do híbrido de Timor. Magister Scientiae. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 111p. 1986.
- CARVALHO, A.; FAZUOLI, L.C.; COSTA, W.M. Melhoramento do cafeeiro: XLI. Produtividade do Híbrido Timor, de seus derivados e outras fontes de resistência a *Hemileia vastatrix*. Bragantia, Campinas, v.48, n.1, p.73-86, 1989.
- ESKES, A. B. Ocorrência de um isolado da raça v3v5 de *Hemileia vastatrix* pouco virulento em condições de laboratório. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEIEIRAS, 8., Campos do Jordão, 1980. Resumos. Rio de Janeiro, IBC, 1980, p.81-82.
- FAZUOLI, L.C.; MEDINA FILHO, H.P.; GONÇALVES, W.; GUERREIRO; FILHO, O.; SILVAROLLA, M.B. Melhoramento do cafeeiro: variedades tipo arábica obtidas no Instituto Agrônômico de Campinas. pp.163-215 In: ZAMBOLIM, L. (Ed.) O estado da arte de tecnologias na produção de café. Viçosa-MG: Universidade Federal de Viçosa. 2002.
- KUSHALAPPA, A.C. & ESKES, A.B. Coffee rust: epidemiology, resistance, and management. CRC Press. 345p. 1989.
- PEREIRA, A.A., SAKIYAMA, N.S., ZAMBOLIM, L., MOURA, W.M., ZAMBOLIM, E.M. & CAIXETA, E.T. Identification and use of sources of durable resistance to coffee leaf rust in the UFV/EPAMIG breeding program. pp.215-232 In: ZAMBOLIM, L., ZAMBOLIM, E.M. & VARZEA, V.M.P. (Eds.) Durable resistance to coffee leaf rust. Viçosa-MG: Universidade Federal de Viçosa. 2005.
- ROBINSON, R.A. Plant pathosystems. Berlin: Springer Verlag, Heidelberg, New York. 1976.
- SERA, T.; SERA, G.H.; ITO, D.S.; DOI, D.S. Coffee breeding for durable resistance to leaf rust disease at Instituto Agrônômico do Paraná. pp.187-214 In: ZAMBOLIM, L.; ZAMBOLIM, E.M.; VARZEA, V.M.P. (Eds.) Durable resistance to coffee leaf rust. Viçosa-MG: Universidade Federal de Viçosa. 2005.
- TAMAYO, P. J.; VALE, F. X. R.; ZAMBOLIM, L.; CHAVES, G. M.; PEREIRA, A. A. Resistência do Catimor à ferrugem e virulência de raças fisiológicas de *Hemileia vastatrix* Berk & Br. Fitopatologia Brasileira, Brasília, v. 20, n. 4, p. 572-576, 1995.
- VAN DER PLANK, J.E. Plant Disease: Epidemics and Control. New York: Academic Press, 349p. 1963.
- VÁRZEA, V.M.P.; RODRIGUES JR., C.J.R.; SILVA, M.C.M.L.; GOUVEIA, M.; MARQUES, D.V.; GUIMARÃES, L.G.; RIBEIRO, A. Resistência do cafeeiro a *Hemileia vastatrix*. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.). O estado da arte de tecnologias na produção de café. Viçosa: Editora UFV, 2002. Cap. 8, p.297-320.
- ZAMBOLIM, L. & CHAVES, G.M. Efeito de baixas temperaturas e do binômio temperatura-umidade relativa sobre a viabilidade dos uredosporos de *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. e *Uromyces phaseolityca* Arth. Experientiae 151-184. 1974.
- ZAMBOLIM, L., VALE, F.X.R., PEREIRA, A.A. & CHAVES, G.M. Manejo integrado das doenças do cafeeiro. pp.134-215 In: ZAMBOLIM, L. (Ed.) Produção de café com qualidade. Viçosa-MG: Universidade Federal de Viçosa. 1999.
- ZAMBOLIM, L., VALE, F.X.R. & ZAMBOLIM, E.M. Produção Integrada do Cafeeiro: Manejo de Doenças. pp.443-508 In: ZAMBOLIM, L. (Ed.) Produção Integrada de Café. Viçosa-MG: Universidade Federal de Viçosa. 2003.