

## FENOTIPAGEM E RESISTÊNCIA DE CLONES DE CAFÉ CONILON À FERRUGEM DO CAFEIEIRO\*

Rafael Vago Gonzales<sup>1</sup>, Laércio Zambolim<sup>2</sup>, Dênia P. Almeida<sup>3</sup>, Eveline T. Caixeta<sup>4</sup>, Renato D. S. Rosado<sup>5</sup>, Abraão Carlos Verdim Filho<sup>6</sup>

\*Trabalho financiado pelo Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do Café, CNPq, Fapemig.

<sup>1</sup> Estudante de doutorado, MS, Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa-MG, rafael.gonzales@ufv.br

<sup>2</sup> Professor, PhD, Bioagro-BioCafé, UFV, Viçosa-MG, zambolim@gmail.com.

<sup>3</sup> Pesquisadora, DSc, Bioagro-BioCafé, UFV, Viçosa-MG, denia\_pires@hotmail.com

<sup>4</sup> Pesquisadora, DSc, Embrapa Café, Bioagro-BioCafé, UFV, Viçosa-MG, [eveline.caixeta@embrapa.br](mailto:eveline.caixeta@embrapa.br)

<sup>6</sup> Pesquisador, DSc, Bioagro, UFV, Viçosa-MG, Viçosa-MG, rosado.rds@gmail.com

<sup>7</sup> Pesquisador, MS, Incaper, Marilândia-ES, [verdin@incaper.es.gov.br](mailto:verdin@incaper.es.gov.br)

**RESUMO:** O presente trabalho objetivou avaliar o nível de resistência às raças II e XXXIII de *Hemileia vastatrix* em 23 dos clones de café conilon mais cultivados atualmente no Espírito Santo. Foi feita inoculação artificial em discos foliares e avaliação dos componentes de resistência i) período de incubação, ii) período latente, iii) % de discos com sintomas, iv) % de discos com esporulação, v) % de área com sintomas e vi) produção de uredósporos. Foi utilizado delineamento inteiramente casualizado, com três repetições por tratamento, cada uma composta por uma caixa gerbox contendo 16 discos foliares. Os dados dos componentes de resistência foram submetidos à análise de variância à 1% de significância. Foi aplicada estatística multivariada aos componentes, sendo obtida a Distância Generalizada de Mahalanobis entre os pares dos clones avaliados e realizada análise de agrupamento utilizando UPGMA. Houveram diferenças significativas entre os clones avaliados para todas as componentes de resistência às raças II e XXXIII de *H. vastatrix*, formando-se, através da análise multivariada, cinco classes de resistência à raça II: Resistente (Verdão Soró, Triunfo, 143, S2, LB1, Verdim do Triunfo, P2, K61, Timbuí, P1, Ouro Negro, Delunardo, 3V), Moderadamente Resistente (4V, JC, SV105, Verdim, Jhones, NV, Manara, SV103), Moderadamente Suscetível (13V, CV, A1, 12V, 5V, 2B, 7V), Suscetível (Caturra) e Imune (8PP). Para a raça XXXIII também foram formadas 5 classes de resistência: Resistente (Verdim do Triunfo, CV, P1, A1, NV, Manara, SV103), Moderadamente Resistente (143, P2, Jhones, 2B, 5V, S2, 13V, 7V, LB1, K61, SV105, 12V, Verdão Soró, JC, Triunfo, Verdim), Moderadamente Suscetível (6V), Suscetível (Caturra) e Imune (Ouro Negro, Delunardo, Timbuí, 8PP). Existe diversidade no conjunto de clones avaliado para o nível de resistência às raças II e XXXIII de *H. vastatrix*, sendo que, aqueles classificados como resistentes ou imunes podem ser utilizados em estratégias de manejo da ferrugem do cafeeiro, como no controle genético, além de constituírem potencial fonte de germoplasma em programas de melhoramento buscando resistência à doença.

**PALAVRAS-CHAVE:** Resistência horizontal, controle genético; fenotipagem.

## PHENOTYPING AND RESISTANCE OF CONILON COFFEE CLONES TO COFFEE LEAF RUST

**ABSTRACT:** This work aimed to evaluate the level of resistance to the races II and XXXIII of *Hemileia vastatrix* in 23 of the most commonly grown coffee conilon clones in Espírito Santo. Artificial inoculation was performed on leaf discs and evaluation of resistance components i) incubation period ii) latent period iii)% of disks with symptoms iv)% of disks with sporulation, v)% of area with symptoms and vi) production of uredospores. A completely randomized design was used, with three replicates per treatment, each consisting of a gerbox containing 16 leaf discs. The data of the resistance components were submitted to analysis of variance at 1% of significance. Multivariate statistics were applied to the components, obtaining the Mahalanobis Generalized Distance between pairs of clones evaluated and performing cluster analysis using UPGMA. There were significant differences between the clones evaluated for all components of resistance to *H. vastatrix* races II and XXXIII, through the multivariate analysis, five classes of resistance to race II: Resistant (Verdão Soró, Triunfo, 143, S2 (4V, JC, SV105, Verdim, Jhones, NV, Manara, SV103), Moderately Susceptible (13V, CV, LB1, Verdim of Triunfo, P2, K61, Timbuí, P1, Ouro Preto, Delunardo, A1, 12V, 5V, 2B, 7V), Susceptible (Caturra) and Immune (8PP). For the race XXXIII were also formed 5 classes of resistance: Resistant (Verdim of Triunfo, CV, P1, A1, NV, Manara, SV103), Moderately Resistant (143, P2, Jhones, 2B, 5V, S2, LB1, K61, SV105, 12V, Verdão Soró, JC, Triunfo, Verdim), Moderately Susceptible (6V), Susceptible (Caturra) and Immune (Ouro Preto, Delunardo, Timbuí, 8PP). There is diversity in the set of clones evaluated for the level of resistance to *H. vastatrix* races II and XXXIII, and those classified as resistant or immune can be used in strategies for the management of coffee rust, such as genetic control, besides being a potential source of germplasm in breeding programs seeking resistance to the disease.

**KEY WORDS:** Horizontal resistance, genetic control; phenotyping.

## INTRODUÇÃO

O café conilon é o principal grupo varietal da espécie *Coffea canephora* cultivado no Brasil (Ferrão et al., 2015), destacando-se pelo seu volume de produção e valor industrial. O estado do Espírito Santo é o principal produtor desta espécie, tendo produzido no ano de 2018, 8,8 milhões de sacas beneficiadas de *C. canephora* (63,3% da produção nacional). A ferrugem do cafeeiro, causada pelo fungo biotrófico *Hemileia vastatrix*, tem sido considerada a principal doença na maioria dos países produtores de café, causando redução da produtividade de lavouras devido à queda precoce de folhas e seca progressiva dos ramos, tornando a lavoura antieconômica. Em *C. canephora* podem ser observadas tanto resistência quantitativa como qualitativa à ferrugem do cafeeiro (Zambolim, 2016), havendo em campo a ocorrência da doença em maior ou menor intensidade nos diferentes clones cultivados (Zambolim et al., 2009). O cultivo de clones e variedades resistentes constitui-se na medida mais eficaz e econômica para o manejo da doença em campo, além de minimizar impactos no ambiente pela redução do uso de produtos químicos utilizados no controle, além de apresentar baixo custo e fácil utilização. No entanto, para grande parte dos clones de café conilon cultivados no estado do Espírito Santo, não existem estudos sistemáticos sobre os níveis de resistência expressos às principais raças fisiológicas do patógeno. Neste contexto, torna-se importante avaliar o nível de resistência apresentado pelos principais clones de *C. canephora* cultivados no Espírito Santo.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizada a coleta de mudas de 23 clones de *C. canephora*, sendo utilizado como critério a escolha dos mais cultivados atualmente no estado do Espírito Santo, oriundos de seleções realizadas por produtores e viveiristas e que não estão inscritos no Registro Nacional de Cultivares (RNC). Os materiais foram obtidos em viveiros de produção de mudas nos estados da Bahia e Espírito Santo, sendo feita a coleta de 10 mudas de cada clone (Tabela 1).

**Tabela 1** Clones coletados em viveiros dos estados do Espírito Santo e sul da Bahia para realização dos ensaios de fenotipagem para resistências às raças II e XXXIII de *H. vastatrix*.

Clones			
JC <sup>1</sup>	S2 <sup>4</sup>	Manara <sup>5</sup>	SV105 <sup>6</sup>
Timbui <sup>2</sup>	Verdim do Triunfo <sup>4</sup>	K61 <sup>5</sup>	CV <sup>6</sup>
8PP <sup>3</sup>	P1 <sup>5</sup>	Verdim <sup>5</sup>	2B <sup>6</sup>
Verdão Soró <sup>4</sup>	P2 <sup>5</sup>	Jhones <sup>5</sup>	143 <sup>6</sup>
Triunfo <sup>4</sup>	NV <sup>5</sup>	LB1 <sup>5</sup>	A1 <sup>6</sup>
Delunardo <sup>4</sup>	Ouro Negro <sup>5</sup>	SV103 <sup>6</sup>	

Local de coleta dos clones: <sup>1</sup>Itaguaçu/ES, <sup>2</sup>Fundão/ES, <sup>3</sup>Linhares/ES, <sup>4</sup>João Neiva, <sup>5</sup>São Roque do Canaã/ES, <sup>6</sup>Itabela/BA

Também foram selecionados clones pertencentes à variedade clonal Conilon Vitória Incaper 8142, classificados como resistentes, moderadamente resistentes, moderadamente suscetíveis e suscetíveis às raças II e XXXIII de *H. vastatrix* (CAPUCHO, 2011) (Tabela 2). Mudanças de *C. arabica* pertencentes à cultivar Caturra (CIFC 19/1), suscetível à ferrugem do cafeeiro, foram obtidas via propagação sexuada, por meio de sementes. Estes materiais, por apresentarem nível de resistência conhecido, foram incluídos como controles neste trabalho.

**Tabela 2** Clones utilizados como controles nos ensaios de fenotipagem para resistência às raças II e XXXIII de *H. vastatrix*

Clone	Resistência à <i>H. vastatrix</i> raça II	Resistência à <i>H. vastatrix</i> raça XXXIII
3V*	Resistente	Resistente
4V	Resistente	Moderadamente Resistente
5V	Moderadamente Resistente	Resistente
6V	Suscetível	Suscetível
7V	Suscetível	Moderadamente Suscetível
12V	Moderadamente Suscetível	Resistente
13V	Suscetível	Resistente
Caturra	Suscetível	Suscetível

Clones pertencentes à variedade clonal Vitória Incaper 8142.

Folhas jovens e completamente expandidas foram obtidas das mudas e a partir destas foram confeccionados discos foliares de 18 mm de diâmetro, utilizando um furador de rolhas. Estes discos foram dispostos em caixas acrílicas do tipo gerbox, com a face abaxial voltada para cima, sobre tela metálica e esponja de 0,5 cm de espessura saturada com água destilada. Foram colocados 16 discos de folha de um mesmo clone por gerbox. Para inoculação, foram preparadas suspensões de uredósporos das raças fisiológicas II e XXXIII, na concentração de  $2.10^6$  uredósporos. $ml^{-1}$ , acrescidas de tween 80 na proporção de 0,02% para cada 200  $mg.L^{-1}$  de uredósporos. Antes da inoculação, a viabilidade do inóculo foi avaliada pelo teste de germinação em ágar-água 2%, descrito por Zambolim & Chaves (1974), sendo utilizados apenas lotes de esporos com viabilidade superior à 30%. Com micropipetas adicionaram-se 0,025 mL da suspensão sobre cada disco foliar, conforme metodologia proposta por Eskes (1982). Após a inoculação, as caixas gerbox foram fechadas e mantidas em câmara de incubação por 48 horas sem iluminação e com temperatura de 22 °C. Após esse período, foi feita limpeza da superfície abaxial dos discos utilizando algodão, de modo a evitar que fungos saprófitas ou hiperparasitas se desenvolvessem, tomando-se cuidado para não causar ferimentos, conforme recomendações propostas por Capucho et al. (2005). Na sequência, as caixas gerbox foram levadas novamente à câmara com ambiente controlado, com fotoperíodo ajustado para 12 horas.dia-1e temperatura de 22 °C. Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado com três repetições, cada uma composta por uma caixa gerbox contendo 16 discos foliares do respectivo clone. A partir do décimo dia após a inoculação (DAI) foram realizadas observações diárias para identificação do surgimento dos sintomas e sinais da doença nos discos inoculados. Aos 40 DAI foi feita a fotodocumentação de cada repetição utilizando scanner. Avaliaram-se os seguintes componentes de resistência horizontal:

**I - Período de incubação (PI)** - Período de DAI até a observação de 50% da incidência final de discos com sintomas;  
**II - Período latente (PL)** - Período de DAI até a observação de 50% da incidência final de discos com sinais;  
**III - Porcentagem de discos com sintomas (DS)** - porcentagem final de discos apresentando sintomas da doença;  
**IV-Porcentagem de discos com esporulação (DE)** - porcentagem final de discos apresentando esporulação;  
**V - Porcentagem de área com sintomas (AS)** - porcentagem final de área foliar apresentando sintomas da doença;  
**VI - Produção de uredósporos (PU)** - quantidade final de uredósporos produzidos.

O componente de resistência AS foi avaliado utilizando o software QUANT® (VALE et al., 2003). Para avaliação do componente PU foi feita a coleta dos uredósporos produzidos em cada repetição dos tratamentos com cápsulas de gelatina, e aferição do número de uredósporos com auxílio de uma câmara de Neubauer.

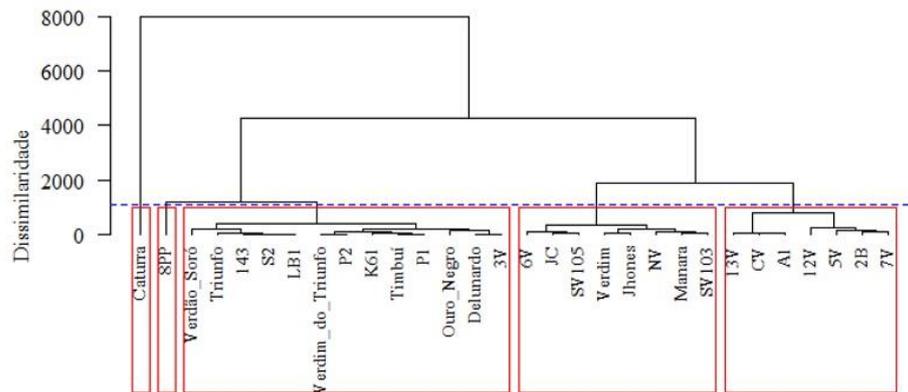
Os dados de cada componente de resistência foram submetidos à análise de variância à 1% de significância. As médias dos componentes de resistência que apresentaram diferença significativa foram submetidas à análise estatística multivariada, sendo obtida a Distância Generalizada de Mahalanobis entre os pares dos clones. A matriz de distância obtida foi utilizada para agrupar os clones pelo método UPGMA (*unweirhted pair-group method using arithmetic averages*).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

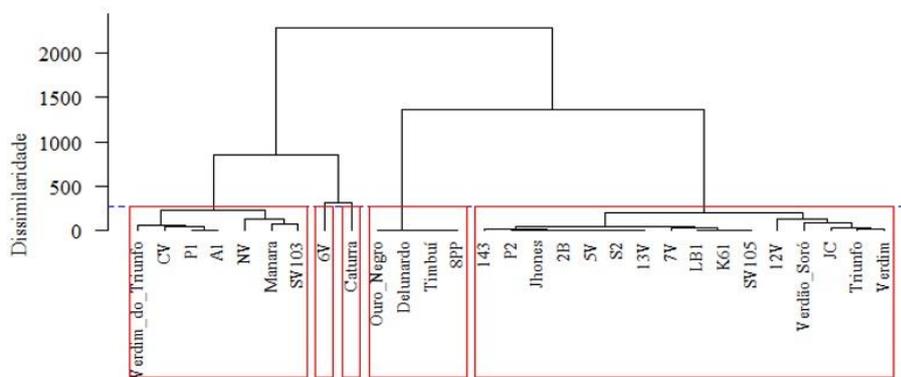
Pela análise de variância, foram observadas diferenças à 1% de significância entre os genótipos para todos os componentes de resistência avaliados após inoculação com as raças II e XXXIII de *H. vastatrix*. Foram encontrados no conjunto de clones avaliados expressões de suscetibilidade/resistência variando desde clones apresentado curtos PI e PL; com altos valores de DS, DE, AF e NE até clones que não apresentaram quaisquer sintomas para as raças inoculadas (imunes). A espécie *C. canephora* é caracterizada por apresentar indivíduos expressando resistência vertical ou resistência horizontal à ferrugem do cafeeiro, podendo ser observados genótipos totalmente resistentes assim como altamente suscetíveis (Eskes, 2005; Neto, 2011; Capucho, 2011).

Por meio da análise multivariada dos componentes de resistência, os clones foram separados em cinco diferentes classes quanto à resistência à raça II de *H. vastatrix*, sendo elas Resistente (Verdão Soró, Triunfo, 143, S2, LB1, Verdim do Triunfo, P2, K61, Timbuí, P1, Ouro Negro, Delunardo, 3V), Moderadamente Resistente (4V, JC, SV105, Verdim, Jhones, NV, Manara, SV103), Moderadamente Suscetível (13V, CV, A1, 12V, 5V, 2B, 7V), Suscetível (Caturra) e Imune (8PP). Estes grupos foram obtidos estabelecendo o ponto de corte do dendrograma em 1100% de dissimilaridade (Figura 1).

Na análise multivariada das componentes de resistência à raça XXXIII de *H. vastatrix* também foram formadas cinco classes distintas, sendo elas Resistente (Verdim do Triunfo, CV, P1, A1, NV, Manara, SV103), Moderadamente Resistente (143, P2, Jhones, 2B, 5V, S2, 13V, 7V, LB1, K61, SV105, 12V, Verdão Soró, JC, Triunfo, Verdim), Moderadamente Suscetível (6V), Suscetível (Caturra) e Imune (Ouro Negro, Delunardo, Timbuí, 8PP). Estes grupos foram obtidos estabelecendo o ponto de corte do dendrograma em 280% de dissimilaridade (Figura 2).



**Figura 1** Dendrograma obtido pelo método hierárquico UPGMA aplicado a matriz de dissimilaridade da distância generalizada de Mahalanobis, dividindo os clones avaliados em diferentes classes de resistência à raça II de *H. vastatrix*.



**Figura 2** Dendrograma obtido pelo método hierárquico UPGMA aplicado a matriz de dissimilaridade da distância generalizada de Mahalanobis, dividindo os clones avaliados em diferentes classes de resistência à raça XXXIII de *H. vastatrix*.

Em lavouras *C. canephora* cultivar Conilon, o plantio é realizado em linhas, sendo cada linha composta por um clone diferente do outro, visando atuar como fornecedor de pólen uma vez que plantas de *C. canephora* são autoestéreis. Usualmente, os produtores de conilon fazem opção para plantio de clones com alta produtividade, mas que nem sempre são resistentes a ferrugem. No presente trabalho, encontrou-se clones imunes, resistentes, moderadamente resistentes, moderadamente suscetíveis e suscetíveis. A estratégia de se empregar clones resistentes e imunes a ferrugem é altamente recomendada, uma vez que reduz a taxa de progresso da doença e a demanda pelas aplicações de defensivos químicos. Entretanto, tal estratégia nem sempre é empregada em campo, pois os produtores levam em consideração outras características dos clones como produtividade, ciclo, tombamento das hastes, qualidade da bebida entre outras.

## CONCLUSÕES

- 1 - Entre os clones de *C. canephora* avaliados neste trabalho foram observados diferentes níveis de resistência horizontal às raças II e XXXIII de *H. vastatrix*, podendo estes serem empregados em estratégias de manejo da ferrugem;
- 2 - Estes clones podem constituir importantes fontes de recursos genéticos para programas de melhoramento visando a obtenção de clones com resistência à ferrugem.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CAPUCHO, A. S.; RUFINO, R.J. N.; ZAMBOLIM, E. M.; CAIXETA, E. T.; OLIVEIRA, A. C. B.; ALMEIDA, R. F.; BRITO, G. G.; ZAMBOLIM, L. **Método de inoculação de *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. em folhas destacadas de cafeeiro**. SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL. Anais...Londrina: EMBRAPA CAFÉ, 2005
- CAPUCHO, A. S.; ZAMBOLIM, L.; ROSADO, A.W.C.; FERRÃO, R.G.; FERRÃO, M.A.G.; FONSECA, A.F.A.; ZAMBOLIM, E. M.; CAIXETA, E. T. Resistência do Conilon Vitória Incaper 8142 à raça I de *Hemileia vastatrix*. In: VII Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, 2011, Araxá-MG. Anais do VII Simpósio de Pesquisa dos Cafés do

Brasil, 2011.

ESKES, A. B. The use of leaf disk inoculations in assessing resistance to coffee leaf rust (*Hemileia vastatrix*). **Netherlands Journal of Plant Pathology**, v. 88, n. 4, p. 127–141, 1982

ESKES, A. B. Phenotypic expression of resistance to Coffe Leaf Rust and its possible relationship whit durability. In: ZAMBOLIM, L.; ZAMBOLIM, E. M.; VÁRZEA, V. M. P. (Eds.). *Durable Resistance to Coffe Leaf Rust*. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2005. p. 305–332

FERRÃO, L. F. V. CAIXETA, E. T.; SOUZA, F. D. F.; ZAMBOLIM, E. M.; CRUZ, C. D.; ZAMBOLIM, L.; SAKIYAMA, N. S. Comparative study of different molecular markers for classifying and establishing genetic relationships in *Coffea canephora*. *Plant Systematics and Evolution*, v. 299, n. 1, p. 225–238, 2013.

NETO, P. N. S. Resistência de híbridos de *Coffea canephora* Pierre ex Froehner às raças II e XXXIII de *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. 2011.

VALE, F. X. R.; FERNANDES FILHO, E. I.; LIBERATO, J. R. QUANT. A software for plant disease severity assessment. In: **8th international congress of plant pathology**. New Zealand: Christchurch, 2003. p. 105

ZAMBOLIM, L.; CHAVEZ, G. M. Efeito de baixas temperaturas e do binomio temperatura-umidade relativa sobre a viabilidade dos uredosporos de *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. e *Uromyces phaseoli typica* arth. **Experientiae**, v. 17, n. 7, p. 151–184, 1974.

ZAMBOLIM, L.; SOBREIRA, D. G.; SOUZA, A. F. D. S.; COSTA, H. Manejo integrado das doenças do conilon (*Coffea canephora*). In: ZAMBOLIM, L. (Ed.). **Tecnologias para produção do Café Conilon**. Viçosa: Editora UFV, 2009. p. 1–46.

ZAMBOLIM, L. Current status and management of coffee leaf rust in Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 41, n. 1, p. 1–8, 2016.