

**RESISTÊNCIA GENÉTICA DE *EUCALYPTUS* SPP. A ENFERMIDADES COM ÊNFASE À FERRUGEM, CAUSADA POR *PUCCINIA PSIDII*** Acelino Couto Alfenas & Lúcio Mauro da Silva Guimarães. <sup>1</sup>Departamento de Fitopatologia/Bioagro, Universidade Federal de Viçosa, 36570-000 Viçosa, MG. e-mail: [aalfenas@ufv.br](mailto:aalfenas@ufv.br)

### **Monitoramento de enfermidades, programa de melhoramento genético e clonagem para a obtenção de materiais elites resistentes**

Para um controle eficaz das enfermidades que incidem na eucaliptocultura, é fundamental efetuar um monitoramento sistemático das enfermidades em viveiro e campo, incluindo plantios comerciais, testes clonais e de progênies (Figura 1). Isso permite, detectar possíveis enfermidades endêmicas ou epidêmicas ainda não observadas previamente e implementar antecipadamente medidas de controle a fim de evitar perdas de grande impacto econômico na cultura. Identificadas as principais enfermidades e avaliado o impacto econômico que estas podem causar, deve-se incluir a característica resistência genética no programa de melhoramento, além das características silviculturais e industriais. Para isso é essencial o desenvolvimento de métodos de inoculação eficientes e avaliação precisa do fenótipo, em condições controladas. Deve-se, portanto, otimizar os protocolos de inoculação e conhecer as condições ótimas para o desenvolvimento da enfermidade como a biologia do patógeno e os estádios fenológicos do hospedeiro, mais suscetíveis à infecção, para embasar a escolha dos componentes de resistência.

Apesar dos riscos inerentes dos plantios homogêneos, a clonagem é uma ferramenta valiosa para a multiplicação comercial de materiais superiores resistentes a enfermidades. Neste contexto, é fundamental a geração constante de novos clones contendo diferentes combinações gênicas, obtidas principalmente a partir de cruzamentos entre espécies contrastantes para diferentes características silviculturais e tecnológicas de interesse comercial, incluindo resistência a enfermidades (Alfenas et al., 2004).

Como os programas de melhoramento genético de espécies florestais arbóreas são de médio e longo prazo, é fundamental dispor de matrizes resistentes. Assim, para a formação da população base é recomendável a seleção dos genitores resistentes, antes

da implantação dos pomares de hibridação. Essa estratégia de avaliação e seleção de genótipos superiores e resistentes às principais enfermidades é, atualmente, a mais recomendada, porém não elimina, a avaliação dos clones selecionados e indicados para o plantio comercial. A avaliação deve ser realizada após a seleção dos clones mais promissores, antes da implantação, dos Testes Clonais Ampliados (Figura 1 e 2).

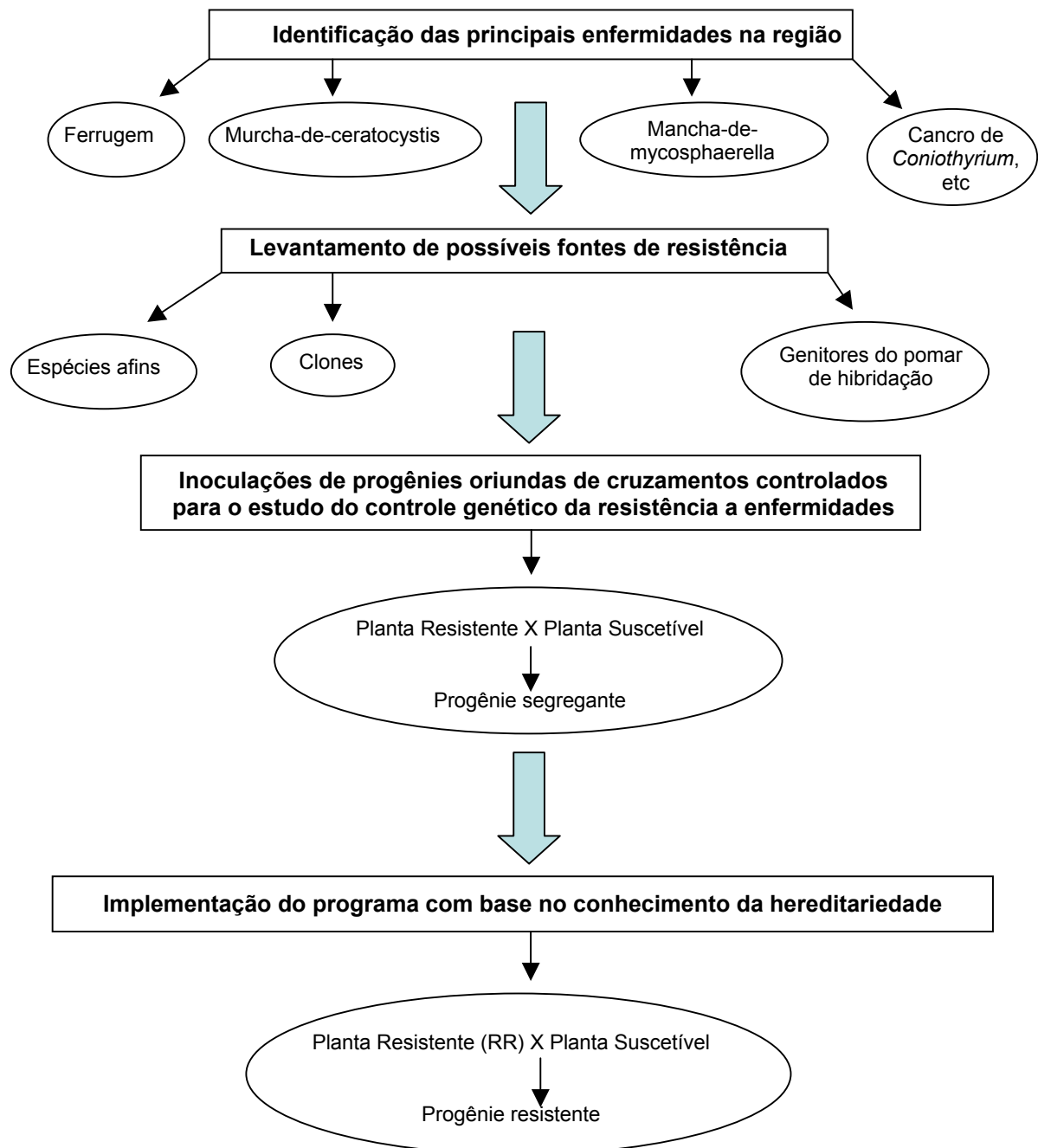


Figura 1. Fluxograma com as etapas do programa de melhoramento destinado à obtenção de materiais genéticos resistentes a enfermidades.

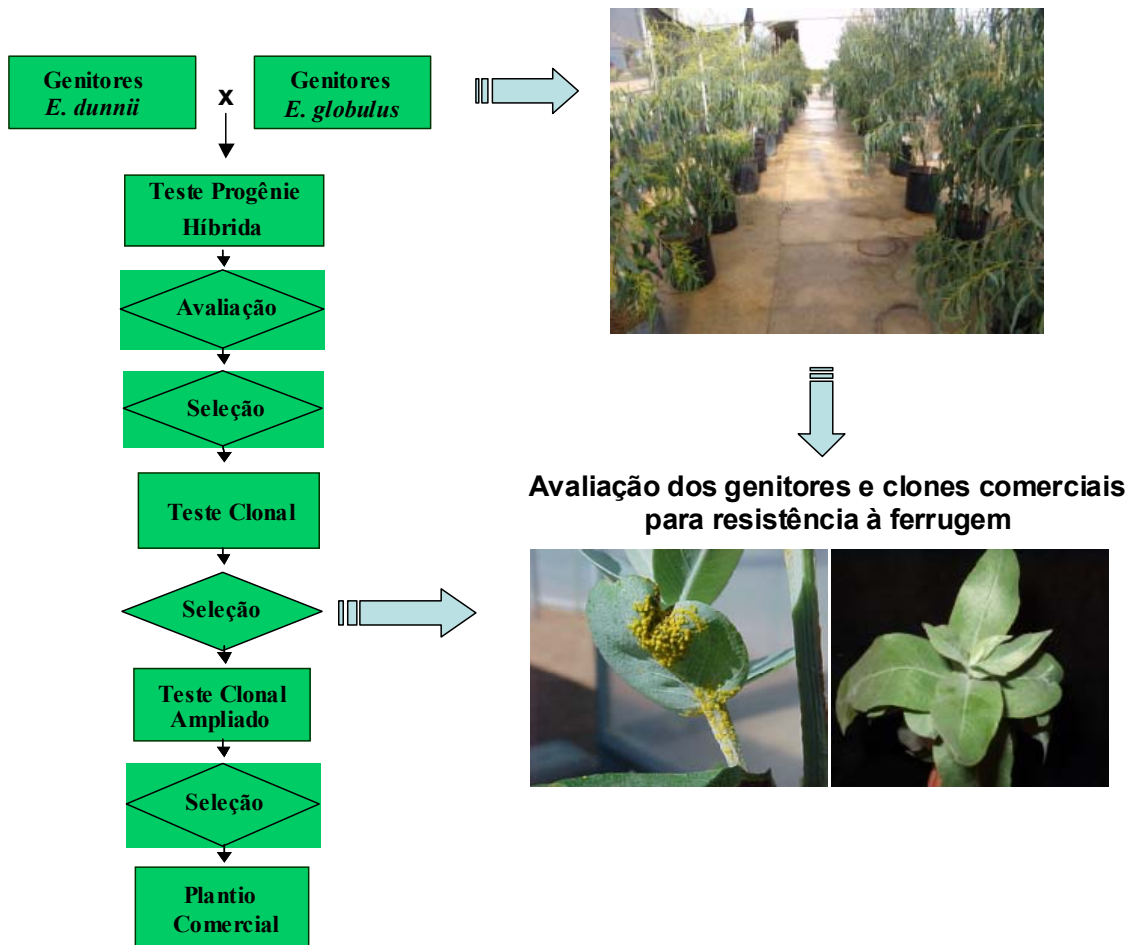


Figura 2. Exemplo das etapas de um programa de melhoramento genético baseado no cruzamento interespecífico entre *Eucalyptus dunnii* x *E. globulus* e a seleção de genitores e clones comerciais resistentes à ferrugem.

A inclusão de outras características para a seleção de genitores e clones híbridos, certamente irá provocar um estreitamento da base genética nas populações de melhoramento. Assim, a ampliação da base genética dos materiais resistentes a enfermidades pode ser feita por meio da permuta de pólen e, ou sementes entre empresas ou instituições que tenham programas de melhoramento semelhantes, quanto à resistência à ferrugem.

Tendo em vista os problemas de adaptabilidade (alta suscetibilidade à geada e à seca) do *E. globulus*, como espécie pura, em várias regiões do Uruguai, acredito que o desenvolvimento de híbridos inter-específicos constitui a alternativa mais viável para o sucesso da eucaliptocultura uruguaia com vistas à produção de madeira para celulose. Além de *E. globulus*, outras espécies como *E. benthamii*, *E. dunnii*, *E. grandis*, *E.*

*maidenii*, *E. nitens*, *E. saligna* e *E. viminalis* não podem ser negligenciadas. No caso de *E. saligna* ou *E. grandis*, pode-se empregar as progênies F<sub>1</sub> híbridas locais (de polinização aberta) para se ganhar em tempo e adaptabilidade para cruzamentos e retrocruzamentos com *E. globulus* a fim de melhorar a qualidade da madeira para celulose. Os híbridos devem ser obtidos mediante uma série de cruzamentos e retrocruzamentos para recuperar ou manter as características das plantas para qualidade de fibra, resistência a geadas e a doenças fúngicas. Estima-se que os materiais mais promissores devem conter em torno de 50 - 87,5% de genes de *E. globulus*. Avaliações das características da madeira para celulose, resistência a geada e a outras doenças bióticas devem ser feitas em cada geração de cruzamentos. Materiais elites devem ser clonados para plantio imediato. A formação de pomar “in door” em vasos e o uso de paclobutazol para induzir o florescimento precoce, como recém-começado na em algumas empresas uruguaias, é uma alternativa viável para a produção de híbridos interespecíficos. O uso de marcadores moleculares poderá auxiliar na obtenção de materiais com maior proporção de genes de uma espécie de interesse.

A seleção de plantas geneticamente superiores (resistentes a doenças, à geada, à deficiência hídrica, etc.) e sua multiplicação clonal (estaquia ou miniestaquia), aliada aos tratados culturais mais adequados, traz ganhos consideráveis, que podem chegar a mais de 100%. No Brasil, o controle de doenças, como cancro, ferrugem e manchas foliares do eucalipto, é feito mediante seleção e clonagem de genótipos resistentes superiores. Indubitavelmente, a clonagem de genótipos superiores de *E. globulus* e de seus híbridos é a estratégia mais indicada para o sucesso da eucaliptocultura no Uruguai. A técnica de miniestaquia (Alfenas et al 2004), sob condições controladas é a mais indicada. Naturalmente, o enraizamento de estacas em climas frios (subtropical e temperado) exige uma infra-estrutura mais sofisticada que em climas tropicais.

Além da seleção de genótipos resistentes, é essencial conhecer a base genética da resistência e a variabilidade na população do patógeno a fim de orientar os programas de melhoramento genético (transferibilidade da resistência) e prever a estabilidade da resistência. O mapeamento de regiões genômicas (QTL's) e, ou, a identificação de marcadores moleculares ligados a genes que conferem resistência poderá auxiliar a seleção precoce de materiais promissores e o entendimento dos mecanismos de resistência.

## ***Eucalyptus-Puccinia psidii* como sistema modelo**

*Puccinia psidii* é um patógeno biotrófico que infecta várias espécies da família Myrtaceae e Heteropixidaceae (Alfenas et al., 2004; Coutinho et al., 1998). A preferência do patógeno em colonizar tecidos jovens está associada às etapas de pré-penetração, sendo que em folhas completamente expandidas a germinação de urediniosporos e a formação de apressório são muito baixas e não há penetração. A resistência à penetração pode estar associada ao aumento da espessura e alteração da composição da cutícula que ocorre durante o desenvolvimento foliar (Xavier et al., 2001). Além da variação ontogenética para resistência, existe variabilidade inter e intra-específica. A existência de genótipos resistentes pertencentes a diversas espécies de *Eucalyptus* torna a resistência genética a melhor alternativa de controle da enfermidade. Uma das formas de resistência à ferrugem é determinada por um gene dominante de efeito principal denominado *Ppr-1* mapeado em uma progênie de irmãos germanos de *E. grandis* e que se encontra intimamente ligado ao marcador RAPD AT9<sub>917</sub> (Figura 3) (Junghans et al., 2003). Entretanto, em função das limitações inerentes à técnica de RAPD, o uso da informação de ligação do gene ao marcador molecular tem ficado restrito ao ‘pedigree’ utilizado para o mapeamento, limitando o compartilhamento inter-experimental de dados e a possibilidade de validação do gene, aspecto fundamental para seleção assistida por marcadores. Atualmente, encontra-se em andamento na UFV o mapeamento de um grande número de marcadores microssatélites altamente transferíveis e polimórficos, localizado próximo a *Ppr1* em uma progênie interespecífica, com a finalidade de usar um par de microssatélites ligados ao gene (Alves et al., 2007). Espera-se que o uso desses marcadores torne eficiente a seleção de plantas, contendo *Ppr1*, de outras procedências, progênies e espécies de *Eucalyptus*, o que permitiria a introgressão e seleção assistida. Além do mapeamento genético utilizando-se microssatélites, o mapeamento físico e a clonagem posicional de *Ppr-1* estão em andamento no Laboratório de Genômica (Sérgio H. Brommonschenkel, DFP/UFV). A clonagem desse gene permitirá a sua transferência para genótipos suscetíveis via transformação genética e o seqüenciamento do gene e das regiões adjacentes permitirá o desenvolvimento de marcadores robustos para seleção assistida, assim como estudos da variação alélica de *Ppr-1* por genotipagem de SNPs e também a busca de novas fontes de resistência distintas de *Ppr-1*.

A resistência pós-penetração à ferrugem está associada ao desencadeamento da resposta de hipersensibilidade, uma vez que, em materiais resistentes, visualiza-se a necrose das células localizadas no sítio de penetração do patógeno (Xavier et al., 2001). Postula-se que *Ppr-1*, a exemplo do que ocorre com outros genes de resistência, codifique para uma proteína que reconheça direta ou indiretamente o patógeno desencadeando o processo de defesa. Além da proteína que ativa o mecanismo de defesa, proteínas envolvidas na transdução de sinais e proteínas que atuam diretamente sobre o patógeno (resposta de defesa propriamente dita) também são fundamentais para a resistência. A importância do produto de outros genes de efeito menor (“minor genes”) na resistência é evidente pela variação na extensão da colonização do patógeno em plantas que expressam *Ppr-1*.

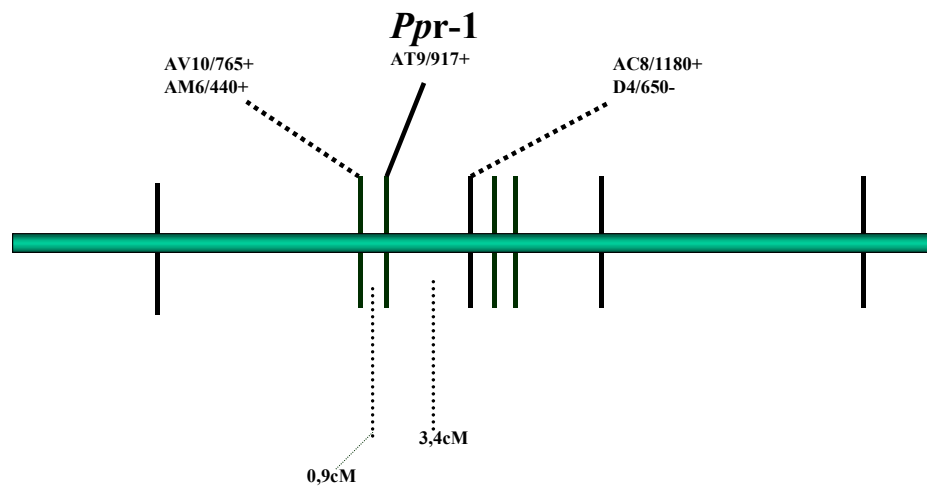


Figura 3. Mapa de ligação contendo o gene *Ppr-1* e quatro marcadores em acoplamento (Junghans et al. 2003).

## Referência Bibliográfica

- Alfenas, A.C., Zauza, E.A.V., Mafia, R.G., Assis, T.F. Clonagem e enfermidades do eucalipto. Editora UFV. Universidade Federal de Viçosa. 2004. 442p.
- Alves, A. A.; Alfenas, A. C.; Lau, D.; Guimaraes, L. M. S.; Brommonschenkel, S. H.; Cruz, C. D.; Grattapaglia, D. Genetic mapping of a major effect QTL for rust (*Puccinia psidii*) resistance in an interspecific cross of *Eucalyptus* spp. In: 53º Congresso Brasileiro de Genética, 2007, Águas de Lindóia. Anais do 53º Congresso Brasileiro de Genética, 2007.
- Coutinho, T.A., Wingfield, M.J., Alfenas, A.C., Crous, P.W. *Eucalyptus* rust: a disease with the potential for serious international implications. Plant Dis 82:819–925, 1998.
- Junghans, D.T., Alfenas, A.C., Brommonschenkel, S.H., Oda, S. Mello, E.J.; Grattapaglia, D. Resistance to rust (*Puccinia psidii* Winter) in *Eucalyptus*: mode of inheritance and mapping of a major effect locus with RAPD markers. Theoretical applied genetics, 108:175-180, 2003.
- Xavier, A.A., Alfenas, A.C., Matsuoka, K., Graça, R.N. Variabilidade fisiológica de isolados de *Puccinia psidii* em diferentes hospedeiros. Fitopatol Bras 26:443 (Suplemento), 2001.