

INTERAÇÃO ENTRE BICHO-MINEIRO E HÍBRIDOS DE *COFFEA ARABICA* X *COFFEA RACEMOSA*, EM CONDIÇÕES CONTROLADAS

INTERACTION BETWEEN THE COFFEE LEAF-MINER AND *COFFEA ARABICA* X *COFFEA RACEMOSA* HYBRIDS, IN CONTROLLED CONDITIONS

Sérgio Tinôco Verçosa de MAGALHÃES¹, Eraldo Rodrigues de LIMA², Raul Narciso Carvalho GUEDES², Antônio Alves PEREIRA³, Fernando França da CUNHA¹

RESUMO: A interação entre *Leucoptera coffeella* e genótipos híbridos de *Coffea arabica* x *Coffea racemosa* foi estudada com o objetivo de: determinar as variáveis mais importantes para a resistência, os genótipos mais promissores bem como o mecanismo de resistência predominante. Folhas de café, com pecíolo imerso em solução de benziladenina, foram colocadas dentro de gaiolas teladas com organza contendo adultos por 24 horas. Em seguida, diariamente com o auxílio da lupa, contou-se o número de ovos, larvas e pupas. As pupas foram transferidas para tubos fechados onde era verificada a emergência dos adultos. Através da análise de variáveis canônicas (CVA), constatou-se que tempo de vida larval e eclosão de ovos foram as variáveis que mais contribuíram para explicar as diferenças de resistência entre os genótipos de café, *C. arabica* cv. ‘Catuaí’ (UFV 2147 c 48), *C. arabica* cv. ‘Mundo Novo’ (UFV 2150 c 40), *C. racemosa* (545 c 28), e quatro de híbridos resultantes do cruzamento entre *C. racemosa* (554) e *C. arabica* ‘Catuaí’: Híbrido 1 (UFV 557-4), Híbrido 2 (UFV 557-2), Híbrido 3 (UFV 557-03) e Híbrido 4 (UFV 557-6). E que dentre os genótipos analisados, o Híbrido 1 foi o que teve melhor desempenho em relação aos demais híbridos, sendo o genótipo mais promissor para programa de melhoramento genético visando a resistência ao bicho-mineiro. Verificou-se ainda que antibiose parece ser o mecanismo de resistência predominante dessa resistência.

UNITERMOS: Café; Resistência de plantas; Bicho-mineiro, Melhoramento do café.

INTRODUÇÃO

O bicho-mineiro, *Leucoptera coffeella* (Guérin Méneville, 1842) (Lepidoptera: Lyonetiidae), é uma das principais pragas que atacam plantações de café do Brasil (PARRA, 1985; GUERREIRO FILHO; MAZZAFERA, 2000; GALLO et al., 2002), ocasionando a redução da capacidade fotossintética da planta pela destruição de suas folhas e principalmente pelo desprendimento destas (GALLO, 1988). O seu controle tem sido realizado através dos métodos biológico, cultural e químico (GALLO et al., 2002).

No Brasil, existem trabalhos de melhoramento genético que evidenciam a busca de genótipos de cafeiros com níveis de resistência ao bicho-mineiro mais elevados, utilizando genes de *Coffea racemosa* e outras espécies de cafeiros que são resistentes a esta praga (GUERREIRO FILHO et al., 1999; GUERREIRO FILHO; MAZZAFERA, 2000). Entretanto, pouco se conhece sobre a interação inseto/planta e mecanismos responsáveis pela resistência destes genótipos ao bicho – mineiro, o que poderia beneficiar muito os programas de melhoramento

para a obtenção de cafeiros resistentes (KOGAN, 1986). Desta forma, este foi realizado com o objetivo de obter mais informações sobre a interação inseto/planta e determinar qual é o mecanismo de resistência predominante em genótipos híbridos de café resultantes de cruzamento entre *C. arabica* e *C. racemosa*.

MATERIAL E MÉTODOS

Material genético: As folhas dos genótipos de café *C. arabica* cv. ‘Catuaí’ (UFV 2147 c 48), *C. arabica* cv. ‘Mundo Novo’ (UFV 2150 c 40), *C. racemosa* (545 c28), e quatro híbridos resultantes do cruzamento entre *C. racemosa* (554) e *C. arabica* ‘Catuaí’: Híbrido 1 (557-4), Híbrido 2 (557-02), Híbrido 3 (557-03) e Híbrido 4 (557-6), obtidas da área experimental do Fundão pertencente ao Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG. Todos estes genótipos se encontravam em fase de produção, com mais de 5 anos de idade.

Criação de insetos: Folhas minadas contendo larvas de

¹ Mestrando, Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal de Viçosa.

² Professor, Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal de Viçosa.

³ Pesquisador, Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – EPAMIG.

Received: 27/03/03 Accept: 13/05/03

L. coffeella foram coletadas semanalmente de plantações de cafeeiros, as quais eram colocadas em placas do tipo 'gerbox' contendo uma solução aquosa com benziladenina, na concentração de 10^{-6} M (REIS JÚNIOR et al., 2000). Quando as larvas passavam para o estágio de pupa, estas eram transferidas para tubos fechados e ai ficava até a emergência dos adultos. Em seguida, as pupas foram transferidas para gaiolas com organza (40 x 40 x 40 cm) que continham folhas de cafeeiro com o pecíolo embebido na mesma solução aquosa com benziladenina.

Avaliação da resistência: Folhas dos respectivos genótipos de cafeeiro foram coletadas na estação experimental da EPAMIG e tiveram o seu pecíolo imerso em um pequeno tubo com tampa contendo a solução de benziladenina. Em seguida estas folhas foram colocadas dentro de gaiolas contendo adultos. Após 24 horas de exposição, verifico-se a presença de seis a oito ovos por

folha, com a ajuda de uma lupa de 15 a 20 vezes, para considerar como repetição. Para cada genótipo avaliado eram usados oito repetições. Ovos, larvas e pupas eram contadas diariamente com o auxílio da lupa. As pupas eram contadas e transferidas para tubos fechados onde era verificada a emergência dos adultos. Em seguida, a partir destes dados foram determinados os parâmetros: eclosão de ovos, tempo de eclosão, tempo de vida larval, mortalidade larval, mortalidade de larva a pupa e mortalidade total (ovo a adulto).

Análise estatística: Os dados foram submetidos à análise de variáveis canônicas (CVA), utilizando-se o procedimento PROC CANDISC do SAS (SYSTEM of ANALYSIS STATISTIC INSTITUTE, 1997), para determinar os coeficientes de ponderação das variáveis e para verificar possíveis agrupamentos lineares das variáveis analisadas com os genótipos de cafeeiro, com base na significância das distâncias de Mahalanobis (D^2) entre médias.

Tabela 1. Média dos tratamentos \pm erro padrão para cada característica avaliada com as respectivas unidades.

	Tempo de Eclosão (dias)	Eclosão de ovos (%)	Tempo de Vida Larval (dias)	Mortalidade Larval (%)	Mortalidade de LarvaAdulto (%)	Mortalidade Total (%)
'Mundo Novo' (MN)	5,82 \pm 0,79	58,23 \pm 16,59	9,36 \pm 2,50	83,75 \pm 31,14	86,25 \pm 25,60	91,25 \pm 18,08
'Catuaí'	5,25 \pm 0,65	78,13 \pm 28,40	9,50 \pm 3,17	88,75 \pm 21,00	93,75 \pm 17,68	93,75 \pm 17,68
<i>Coffea racemosa</i> (Cr)	3,25 \pm 3,51	25,00 \pm 31,62	3,00 \pm 0,00	100,00 \pm 0,00	100,00 \pm 0,00	100,00 \pm 0,00
Híbrido 1 (MNxCr)	5,25 \pm 2,19	27,14 \pm 20,60	3,50 \pm 1,51	100,00 \pm 0,00	100,00 \pm 0,00	100,00 \pm 0,00
Híbrido 2 (MNxCr)	5,63 \pm 0,74	60,14 \pm 31,91	7,15 \pm 2,77	100,00 \pm 0,00	100,00 \pm 0,00	100,00 \pm 0,00
Híbrido 3 (MNxCr)	5,35 \pm 2,19	35,00 \pm 23,05	4,43 \pm 0,49	100,00 \pm 0,00	100,00 \pm 0,00	100,00 \pm 0,00
Híbrido 4 (MNxCr)	5,56 \pm 0,78	57,92 \pm 26,66	3,88 \pm 3,31	95,79 \pm 11,90	95,83 \pm 11,79	97,92 \pm 5,89

Tabela 2. Eixos canônicos e coeficientes (agrupados na estrutura canônica) de características de sobrevivência de *L. coffeella* a sete genótipos de cafeeiros.

Variáveis	Eixos canônicos			
	1	2	3	4
Tempo de eclosão (Dias)	0,02	-0,94	0,62	-0,05
Tempo de vida larval (Dias)	0,82	-0,19	0,05	-0,50
Mortalidade total (%)	0,12	-0,94	-1,47	1,36
Mortalidade larval (%)	-0,18	-0,32	-0,17	0,44
Eclosão de ovos (%)	0,44	0,65	-0,06	0,89
Mortalidade de larva-pupa (%)	-0,01	1,35	2,28	-1,81
F	2,10	0,84	0,69	0,61
Graus de liberdade(num./den.)	36 / 191,59	25 / 164,95	16 / 138,11	9 / 112,10
P	0,0008	0,6914	0,8021	0,7852
Corr. Canônica ao quadrado	0,64	0,19	0,11	0,08

RESULTADOS

Na tabela 1 estão apresentadas as médias dos tratamentos (\pm erro padrão) para cada parâmetro avaliado com as respectivas unidades. Verifica-se que os parâmetros tempo de vida larval e eclosão de ovos foram os que apresentaram maior variação entre os genótipos.

As variáveis canônicas e os coeficientes de ponderação das variáveis são apresentados na tabela 2. Os maiores valores absolutos dos coeficientes mostram quais foram as variáveis que mais contribuíram para os padrões de divergência da resistência entre os diferentes genótipos analisados. Para o primeiro eixo canônico, o único significativo ($p < 0,05$), a correlação canônica ao quadrado foi de 0,64 e as variáveis tempo de vida larval e eclosão de ovos foram as que apresentaram maiores coeficientes de ponderação (0,82 e 0,44 respectivamente). Desta forma, estas variáveis foram as que contribuíram

mais pronunciadamente para explicar as diferenças na resistência entre os genótipos de café.

A figura 1 apresenta os agrupamentos lineares entre as variáveis analisadas com os genótipos de café. Os símbolos são centróides de tratamentos e representam a média das classes de variáveis canônicas. Círculos largos indicam os agrupamentos dos tratamentos sem diferença significativa entre eles (teste de F aproximado, $p < 0,05$), baseado na distância de Mahalanobis (D^2) entre médias. A correlação canônica totalizada destes dois primeiros eixos foi de 0,82, ou seja, 82,00% da variância total dos dados é explicada por estes. Nesta figura foram definidos três agrupamentos significativamente distintos e formados pelos genótipos analisados: a) *C. arabica* cv. 'Catuai', *C. arabica* cv. 'Mundo Novo' e o Híbrido 2; b) *C. racemosa*, Híbrido 1, Híbrido 3 e Híbrido 4; c) Híbrido 2, Híbrido 3 e Híbrido 4.

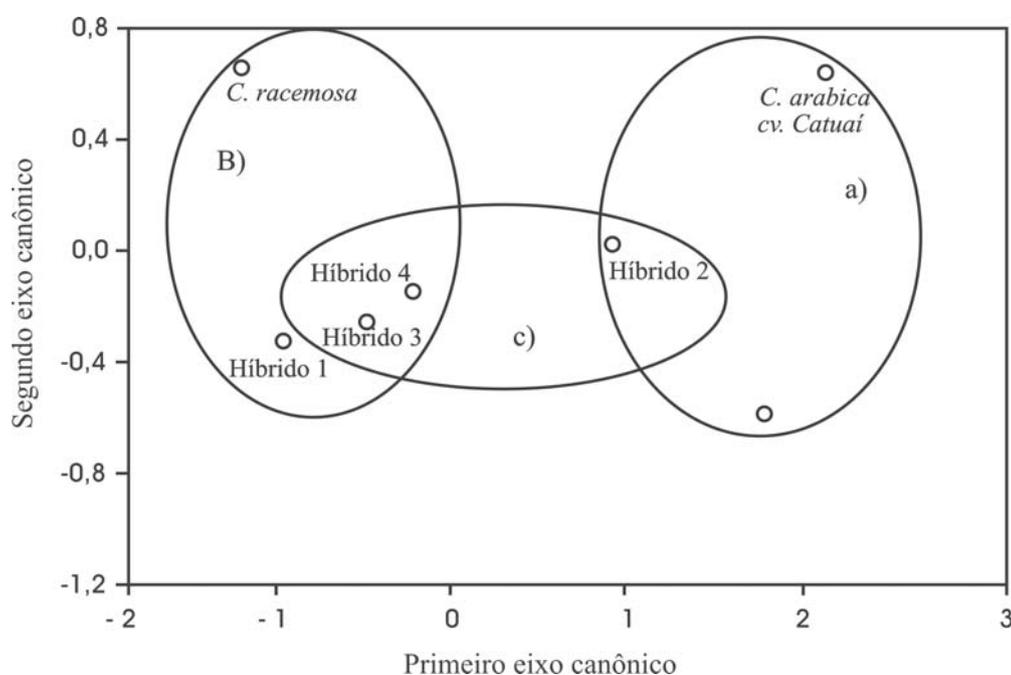


Figura 1. Diagrama de ordenação mostrando a discriminação entre genótipos de café quanto à resistência a *L. coffeella*.

Verificou-se ainda correlação positiva e significativa entre eclosão de ovos e tempo de vida larval ($r = 0,48$; $p = 0,0002$) (Figura 2). Portanto, quanto menor o tempo de vida larval proporcionada pelos genótipos de café menor será a eclosão de ovos.

DISCUSSÃO

Dentre as variáveis biológicas analisadas para determinar o efeito de genótipos de café ao bicho mineiro, o tempo de vida larval e eclosão de ovos foram as variáveis que possuem correlação positiva e que mais contribuem para explicar as diferenças na resistência entre

os genótipos de café. Isto significa que a resistência destes híbridos originados da espécie selvagem *C. racemosa* é devida a uma diminuição do tempo de vida do inseto devido a sua alta mortalidade no início de seu desenvolvimento bem como a reduzida eclosão de ovos observada nos genótipos resistente, diminuindo a viabilidade destes. Portanto, estes efeitos provocados pelos genótipos resistentes de café no bicho – mineiro caracterizam uma resistência do tipo antibiose (PAINTER, 1951).

Pelos resultados analisados verifica-se que existe uma grande variabilidade na expressão genética da resistência de genótipos de café resultantes do cruzamento entre *C. arabica* e *C. racemosa*, fato também

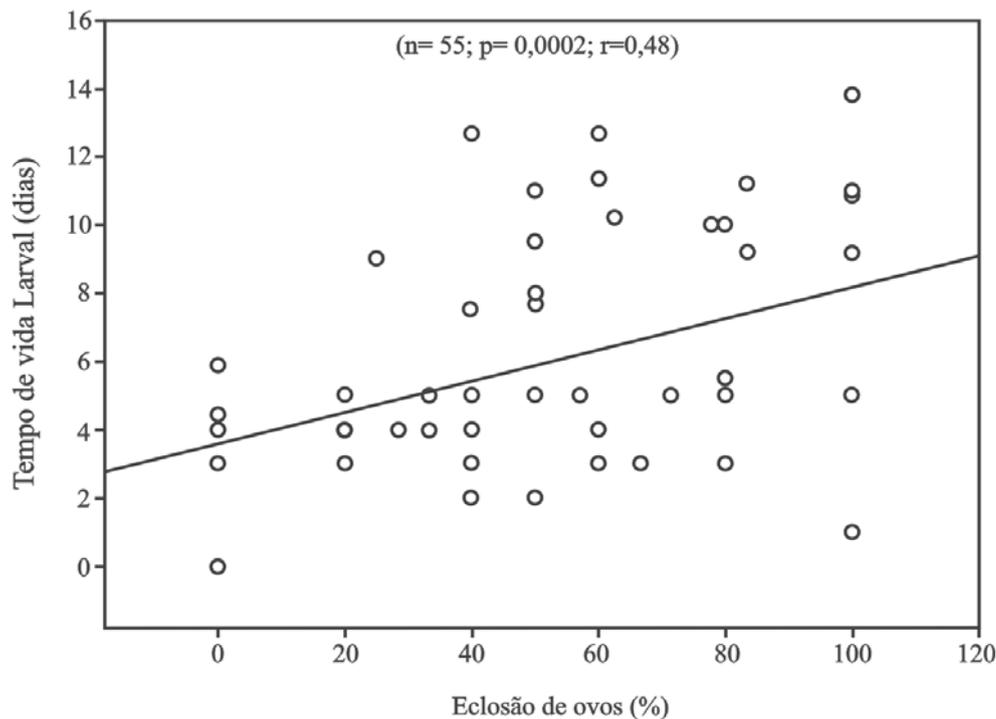


Figura 2. Gráfico de dispersão entre a variável eclosão de larvas (%) e tempo de vida larval (dias).

observado por Guerreiro Filho e Mazzafera (2000). No presente trabalho foram observados três agrupamentos entre os genótipos analisados, evidenciando a existência de diferenças entre os mecanismos de defesa destes genótipos. Estes mecanismos são multidimensionais, sendo as defesas química parte significativa de uma complexa estratégia que permite a coexistência entre plantas e herbívoros (KOGAN, 1986).

No presente trabalho o híbrido 1 teve desempenho excepcional e muito próximo do genótipo *C. racemosa*, considerado como padrão de resistência, em relação aos demais híbridos. Os híbridos 2, 3 e 4 tiveram um desempenho intermediário entre *C. racemosa* e as variedades de *C. arabica*, conforme os agrupamentos formados da figura 1. Desta forma o híbrido 1 é o genótipo mais promissor para o programa de melhoramento genético visando a resistência ao bicho – mineiro.

Dentre as possíveis defesas químicas destes híbridos a *L. coffeella* destaca-se a cafeína, o principal alcalóide dos cafeeiros. Foi verificado que quando um par de folhas de diversas espécies de cafeeiros sofre ataque por esta praga, ocorre um aumento na concentração de cafeína em relação a folha não atacada (GUERREIRO FILHO; MAZZAFERA, 2000). Cafeína tem sido relatada como inseticida em larvas de *Manduca sexta* devido à inibição que provoca na atividade da fosfodiesterase (NATHANSON, 1984). Atua também como quimioesterilizante em *Callosobruchus chinensis* (MAZZAFERRA et al., 1996) bem como inibe a oviposição em *Xyleborus fornicatus* (HEWAVITHARANAGE et al., 1999).

Entretanto, Guerreiro Filho e Mazzafera (2000) contestam esta atividade inseticida da cafeína no bicho – mineiro, em virtude destes não verificarem correlação significativa entre a redução do dano foliar causado pelo bicho mineiro em diversas espécies do gênero *Coffea* e o conteúdo de cafeína nos tecidos, concluindo que *L. coffeella* possui tolerância aos efeitos potencialmente tóxicos da cafeína.

Além da cafeína existem outros compostos presentes nos cafeeiros capazes de provocar a redução no tempo de vida e na eclosão de ovos: estes podem ser os precursores da cafeína: (guaninosina monofosfato, adenosina monofosfato, xantossina, 7-metilxantossina, 7-metilxantina, teobromina, paraxantina, 3-metilxantina e teofilina), bem como os produtos do metabolismo da cafeína: (teofilina, 3-metilxantina, xantina, ácido úrico, alantoina, ácido alantóico e amônia (NH₃)), além de ácidos fenólicos (ácido cafeoil 5-*O*-quínico) e substâncias com característica de flavonóides e terpenos (PERES, 1990; AERTS; BAUMANN, 1994; ASHIHARA; CROZIER, 1999). Dentre os ácidos fenólicos, ácido cafeico, *p*-cumárico, ferúlico, *o*-cumárico, 3,4 dimetoxicinâmico, 3,4,5 trimetoxicinâmico e 4-metoxicinâmico, trigonelina, têm sido relatadas e estão presentes em grãos de cafeeiros (ANDRADE et al., 1997; SALDANA et al., 1997; MARTÍN et al., 1998). Todas estas substâncias podem potencialmente estar associadas à resistência ao bicho – mineiro em genótipos de cafeeiro, o que está sendo objeto de investigação, buscando agilizar o desenvolvimento de variedade de cafeeiro resistente ao bicho – mineiro.

CONCLUSÃO

Dentro dos propósitos do presente trabalho pode-se concluir que:

a) o tempo de vida larval e eclosão de ovos foram as variáveis que mais contribuíram para explicar as diferenças de resistência entre os genótipos de café.

b) Dentre os genótipos analisados o híbrido 1 (Racemose 04), originado do cruzamento entre *C. arabica*

e *C. racemosa*, foi o que teve melhor desempenho em relação aos demais híbridos, sendo o genótipo mais promissor para o programa de melhoramento genético

AGRADECIMENTO

Ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq) pelo apoio financeiro concedido durante a realização deste trabalho.

ABSTRACT: The interaction between hybrid genotypes of *Coffea arabica* x *Coffea racemosa* and *Leucoptera coffeella* was studied aiming to determine the main plant resistance traits, the most promising resistant genotypes and the prevailing resistance mechanism. Coffee leaves with the stem immersed in benzyladenine solution were placed for 24 h in cloth-covered cages containing adults. The number of eggs, larvae and pupae were daily assessed afterwards. The pupae were transferred to sealed tubes where adult emergence was evaluated. Through canonical variables analysis (CVA), larval time and egg eclosion were recognized as the main contributors to explain the differences between the following coffee genotype: *C. arabica* ‘Catuaí’ (UFV 2147 c 48), *C. arabica* ‘Mundo Novo’ (UFV 2150 c 40), *C. racemosa* (545 c 28), and four of the hybrid resulted from the crossing between *C. racemosa* (554) x *C. arabica* ‘Catuaí’; (Hybrid 1 (557-4), Hybrid 2 (557-2), Hybrid 3 (557-3) and Hybrid 4 (557-6)). Among the assessed genotypes, the Hybrid 1 showed the best results and was the most promising genotype for breeding program aiming the development of coffee leafminer resistant varieties. Antibiosis seems to be the predominant resistance mechanism against the coffee leafminer among coffee genotypes.

UNITERMS: *Coffee*, Plant resistance, Coffee leafminer *Leucoptera coffeella*, Coffee breeding.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AERTS, R. J.; BAUMANN, T. W. Distribution and utilization of chlorogenic acid in *coffea* seedlings. **J. Exp. Bot.**, Zürich, v. 45, n. 273, p. 497-503, Abr. 1994.
- ANDRADE, P. B.; LEITÃO, R.; SEABRA, R. M.; OLIVEIRA, M. B. & FERREIRA, M.A. Development of an hplc/diode array detector method for simultaneous determination of seven hydroxy cinnamic acids in green coffee. **J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.**, New York, v. 20, n. 13, p. 2031-2039, Oct. 1997.
- ASHIHARA, H.; CROZIER, A. Biosynthesis and metabolism of caffeine and related purine alkaloids in plants. **Adv. Bot. Res.**, New York, v. 30, n. 1, p. 117-205, Dez. 1999.
- GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVERA NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BAPTISTA, G. C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D. **Manual de entomologia agrícola**. São Paulo: Editora Agronômica “Ceres” Ltda, 1988. 649 p.
- GALLO, D. (in memoriam); NAKANO, O.; SILVERA NETO, S.; BAPTISTA, G. C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920 p.
- GUERREIRO FILHO, O.; SILVAROLLA, M. B.; ESKES, A. B. Expression and mode of inheritance of resistance in coffee to leaf miner *Perileucoptera coffeella*. **Euphyt.**, Dordrecht, v. 105, n. 1, p. 7-15, June 1999.
- GUERREIRO FILHO, O.; MAZZAFERA, P. Caffeine does not protect against the leaf miner *Perileucoptera coffeella*. **J. Chem. Ecol.**, New York, v. 26, n. 6, p. 1447-1464, June 2000.

- HEWAVITHARANAGE, P.; KARUNARATNE, S.; KUMAR, N. S. Effect of caffeine on shot hole borer beetle (*Xyleborus fornicatus*) of tea (*Camellia sinensis*). **Phytochem.**, Kidlington, v. 51, n. 1, p. 35-41, May 1999.
- KOGAN, M. Natural chemicals in plants resistance to insects. **Iowa St. J. Res.**, Iowa, v. 60, n. 4, p. 501-527, May 1986.
- MAZZAFERA, P.; YAMAOKA-YANO, D. M.; VITÓRIA, A. P. Para que serve a cafeína em plantas? **R. Bras. Fisiol. Veg.**, Londrina, v. 8, n. 1, p. 67-74, Jan./Abr. 1996.
- MARTÍN, M. J.; PABLOS, F.; GONZÁLEZ, A. G. Discrimination between arabica and robusta green coffee varieties according to their chemical composition. **Talan.**, New York, v. 46, n. 6, p. 1259-1264, Aug. 1998.
- NATHANSON, J. A. Caffeine and related methylxanthines: possible naturally occurring pesticides. **Scien.**, Washington, v. 226, n. 4671, p. 184-187, Oct. 1984.
- PAINTER, Reginald H. **Insect resistance in crop plants**. New York: Macmillan, 1951. 520 p.
- PARRA, J. R. P. Biologia comparada de *Perileuoptera coffeella* (Guérin Méneville, 1842) (Lepidoptera: Lyonetiidae) visando ao seu zoneamento ecológico no Estado de São Paulo. **Rev. Bras. Entomol.**, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 45-75, Jan. 1985.
- PERES, V. **Cromatografia de fase gasosa e espectrometria de massa para a análise de metabólicos secundários de folhas de cafeiro**. 1990. 81 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Curso de Pós-Graduação em Agroquímica, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1990.
- REIS JUNIOR., R.; LIMA, E. R.; VILELA, E. F.; BARROS, R. S. Method for maintenance of coffee leaves *in vitro* for mass rearing of *Leucoptera coffeellum* (Guérin-Méneville)(Lepidoptera: Lyonetiidae). **An. Soc. Entomol. Brasil**, Londrina, v. 29, n. 4, p. 849-854, dez. 2000.
- SALDANA, M. D. A.; MAZZAFERA, P.; MOHAMED, R. S. Extração dos alcalóides: cafeína e trigonelina dos grãos de café com C supercrítico. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 17, n. 4, p. 371-376, Dez. 1997.
- STATISTIC ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **User's guide. Version 6.12**. Cary, 1997. 1128 p.