



## **XXIV Simposio Latinoamericano de caficultura**

# **Variabilidad de *Hemileia vastatrix***

**Prof. Laércio Zambolim, PhD  
Universidade Federal de Viçosa**



## **XXIV Simposio Latinoamericano de caficultura**

### **Equipe de investigadores**

Prof. Laércio Zambolim, PhD – UFV

Profa. Eveline Teixeira Caixeta, DSc. – Embrapa/UFV

Prof. Ney S. Saquiyama, DSc. – UFV

Prof. Cosme Damião Cruz, DSc. - UFV

Prof. Tiago A. de O. Mendes, PhD – UFV

Dr. Antonio Alves Pereira, DSc. – Epamig/UFV

Dr. Antonio C. Baião de Oliveira, DSc. – Embrapa/UFV

Pós- Doutores

Estudantes de maestria, doutorado e graduação



## **Razas fisiológicas de *Hemileia vastatrix* en el mundo más de 50**

**Brasil 16 razas**

**India 30 razas**

**Central – América (3 – 7)**

Más el número provablemente es muito mayor  
Causa: alta variabilidade del patogeno





## Pregunta:

*Debido a la alta variabilidad del patógeno será posible identificar razas fisiológicas de *H. vastatrix* con los diferenciadores actuales de CIFC?*

*¿Es posible que los clones diferenciadores de raza puedan distinguir razas con muchos genes de virulencia?*

# Clones diferenciadores (18) de razas de *Hemileia vastatrix*

Grupos fisiológicos	Designación (CIFC)	Genes de resistencia
β	849/1-Matari	S <sub>H</sub> ?
α	128/2 - Dilla & alghe	S <sub>H</sub> 1
*	635/2 - S. 12 Kaffa *	S <sub>H</sub> 4
E	63/1 - Bourbon	S <sub>H</sub> 5
R	1343/269 - HDT	S <sub>H</sub> 6
D	32/1 - DK 1/6	S <sub>H</sub> 2,5
G	33/1 - S 288-23	S <sub>H</sub> 3,5
M	644/18 - H. Kawisari	S <sub>H</sub> ?
3	H 419/20 - HDT	S <sub>H</sub> 5,6,9
2	H 420/2 - HDT	S <sub>H</sub> 5,8
1	H 420/10 - HDT	S <sub>H</sub> 5,6,7,9
F	369/3 - <i>C. racemosa</i>	S <sub>H</sub> ?
N	168/12 - <i>C. excelsa</i> Longkoi	S <sub>H</sub> ?
B	263/1 - <i>C. congensis</i> Uganda	S <sub>H</sub> ?
P	681/7 - <i>C. canephora</i> Uganda	S <sub>H</sub> ?
Q	1621/13 - <i>C. congensis</i> Uganda	S <sub>H</sub> ?
K	829/1 - <i>C. canephora</i>	S <sub>H</sub> ?
?	7960/15 - Catimor	S <sub>H</sub> 5,7 ou S <sub>H</sub> 5,7,9

## Razas de *Hemileia vastatrix* en Brasil

I ( $v_2, v_5$ )	XXII ( $v_5, v_6$ )
II ( $v_5$ )	XXIII ( $v_1, v_2, v_4, v_5$ )
III ( $v_1, v_5$ )	XXIV ( $v_2, v_4, v_5$ )
X ( $v_1, v_4, v_5$ )	XXV ( $v_2, v_5, v_6$ )
XIII ( $v_4, v_5$ )	XXIX ( $v_5, v_6, v_7, v_8, v_9$ )
XV ( $v_4, v_5$ )	XXX ( $v_5, v_8$ )
XVI ( $v_1, v_2, v_3, v_4, v_5$ )	XXXIII ( $v_5, v_7, v_9$ )
XVII ( $v_1, v_2, v_5$ )	XXXVII ( $v_1, v_2, v_5, v_6, v_7, v_9$ )

# Como se determina razas fisiológicas de Hv?

## 1. Metodo biológico – inoculacion en las variedades diferenciadoras – CIFC.

—————> 18 variedades diferenciadoras

Designacion en el CIFC

Grupo fisiológico

Genes de resistencia

832/1 – HDT

63/1 - *Coffea arabica*

Grupo A

Grupo E

SH 6-9

SH 5

## 2. Metodo molecular (están siendo estudiados)



# Multiplicación/almacenamiento de uredosporas

## ➤ Esporulación



Dessecador con ácido sulfúrico/agua 5 °C

50% UR

Freezer - 80 C

Nitrógeno líquido - 196 C

Clones diferenciadoras de razas

Monopustular

Multiplicación uredosporas



Ampola



Almacenamiento de uredosporas en cápsulas y ampollas de gelatina





Compatible



**Gerbox**  
**Câmara humida**  
**Tela de nylon**  
**Esponja**

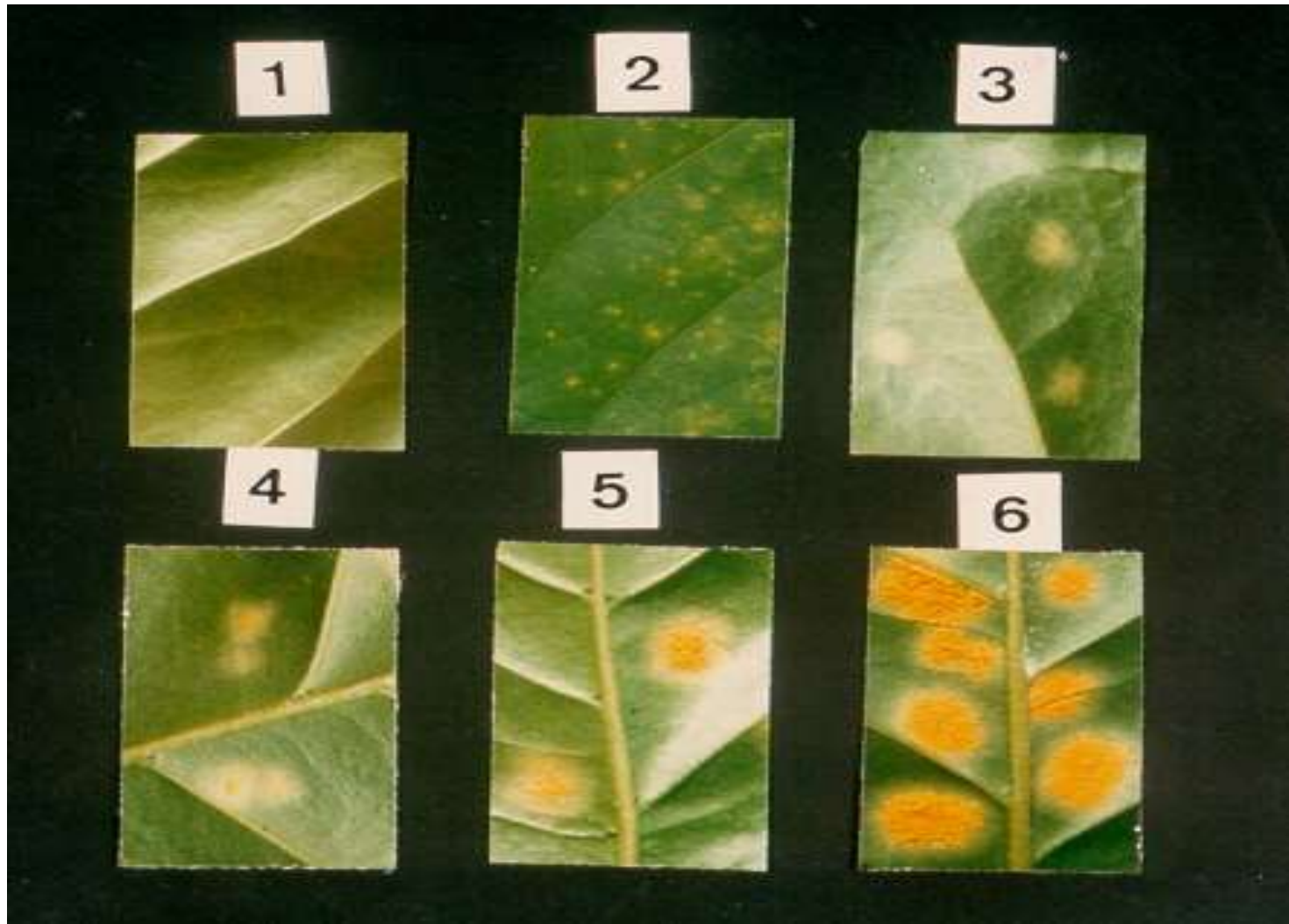


Incompatible

**Esquema de inoculación de *H. vastatrix* en discos de hojas.**

**A: inoculación con pincel; B: atomización de água destilada en la face abaxial de los discos;**  
**B C: Presencia de uredosporas despois de 22 dias após a inoculación.**

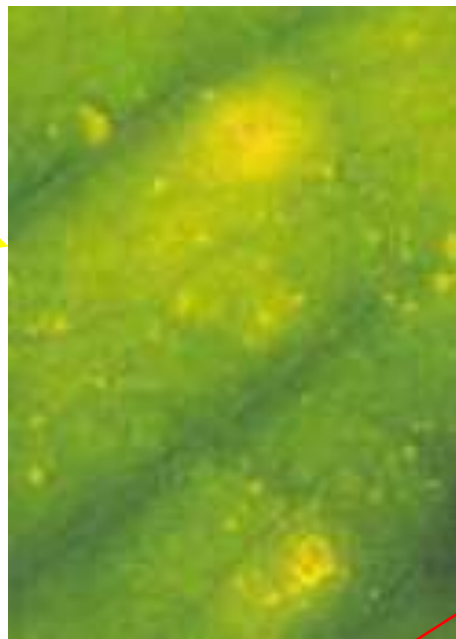
# Grados



**Grado 1, 2, 3 – ausencia de uredosporas (RV)**

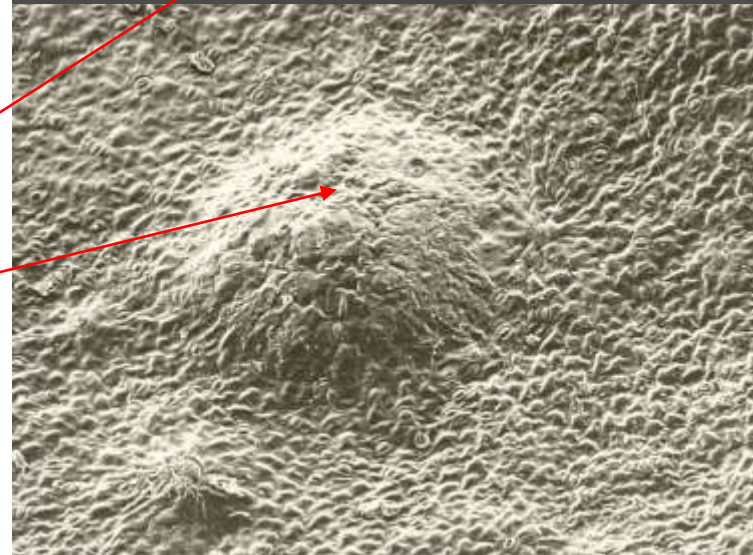
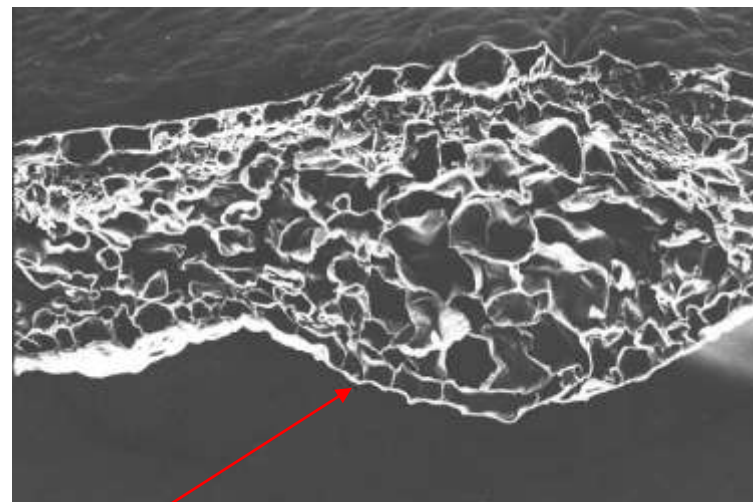
**Grado 4, 5 e 6 – presencia de uredosporas (RH)**

# Resistencia completa



Puntuaciones cloróticas con tumefacción

Reacción de hipersensibilidade (HR)



MEV - Tumefacciones

*C. arabica* S4 Agaro (S<sub>H</sub>4 S<sub>H</sub>5) - *H. vastatrix* raça II (v5)

CIFC Oeiras- Portugal



Razas de Hv son designadas en bases de la Teoria gene-a-gene (Flor, 1945, 1971)

Interacción

Cafe

SH1 - SH 9

**Genes de resistência**



Susceptibilidad



Resistência

Roya

V 1 – V 9

**Genes de virulência**



## Teoria gene-a-gene (Flor 1945, 1971)

Cafe  
 ("Agaro")  
 (S 4,5)

Raza v 5 no virulencia

Raza v1, v5 no virulencia

Raza v3, v5 no virulencia

Raza v4, v5 **virulencia**

Raza v1, v2, v3, **v4**, v6, v7, v8, v9 **nv**

Raza v1, v2, v3, **v4, v5**, v6, v7, v8, v9 **vi**

## Razas de *Hemileia vastatrix* en Brasil

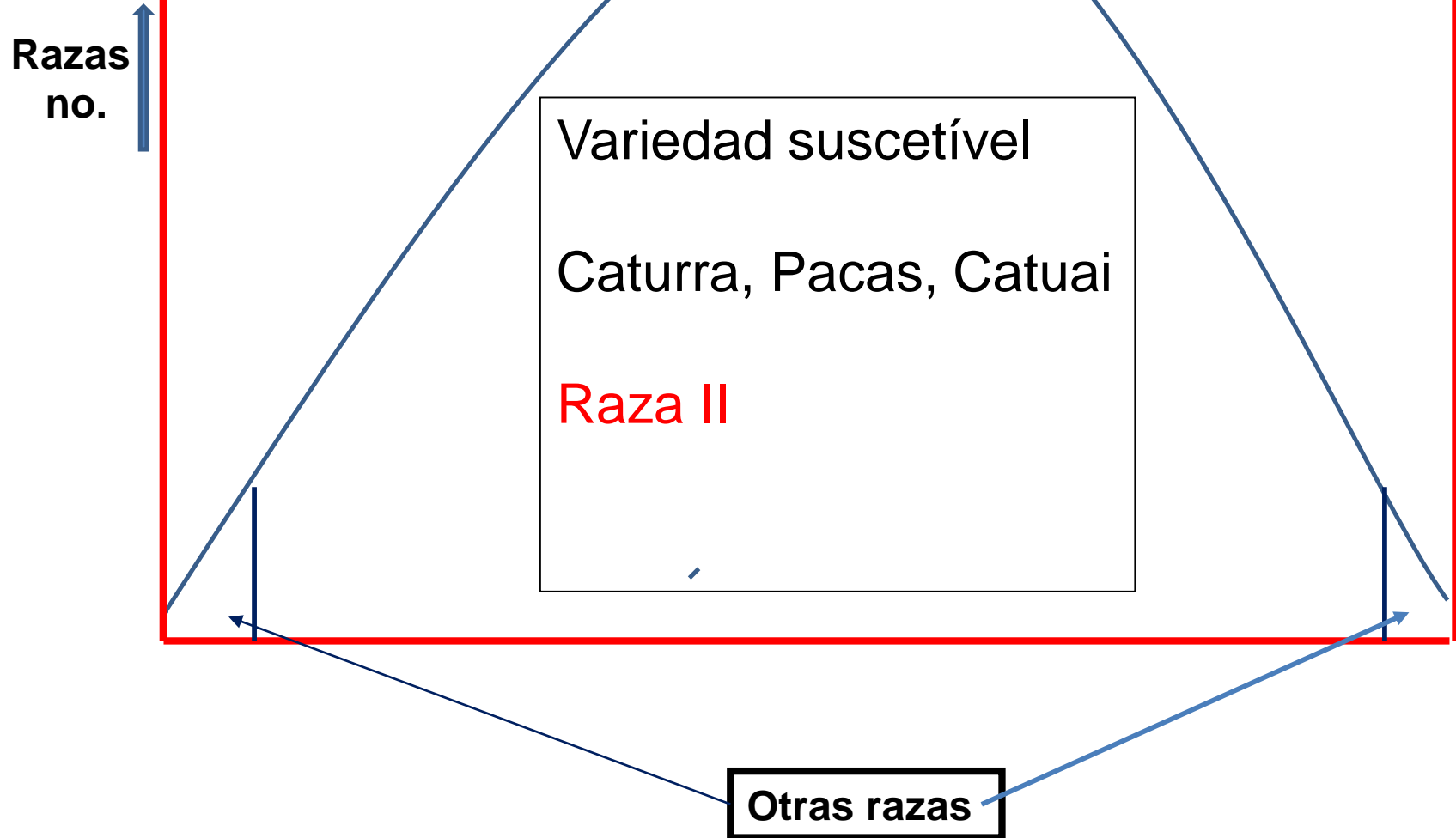
I (v <sub>2</sub> , v <sub>5</sub> )	XXII (v <sub>5</sub> , v <sub>6</sub> )
II (v <sub>5</sub> )	XXIII (v <sub>1</sub> , v <sub>2</sub> , v <sub>4</sub> , v <sub>5</sub> )
III (v <sub>1</sub> , v <sub>5</sub> )	XXIV (v <sub>2</sub> , v <sub>4</sub> , v <sub>5</sub> )
X (v <sub>1</sub> , v <sub>4</sub> , v <sub>5</sub> )	XXV (v <sub>2</sub> , v <sub>5</sub> , v <sub>6</sub> )
XIII (v <sub>4</sub> , v <sub>5</sub> )	XXIX (v <sub>5</sub> , v <sub>6</sub> , v <sub>7</sub> , v <sub>8</sub> , v <sub>9</sub> )
XV (v <sub>4</sub> , v <sub>5</sub> )	XXX (v <sub>5</sub> , v <sub>8</sub> )
XVI (v <sub>1</sub> , v <sub>2</sub> , v <sub>3</sub> , v <sub>4</sub> , v <sub>5</sub> )	XXXIII (v <sub>5</sub> , v <sub>7</sub> , v <sub>9</sub> )
XVII (v <sub>1</sub> , v <sub>2</sub> , v <sub>5</sub> )	XXXVII (v <sub>1</sub> , v <sub>2</sub> , v <sub>5</sub> , v <sub>6</sub> , v <sub>7</sub> , v <sub>9</sub> )

A medida que las variedades resistentes a la roya se extendieron en el campo en Brasil, comenzó la prevalencia de razas complejas hacia el patógeno.

## Nuevos patótipos encontrados en la población de *Hemileia vastatrix* MG de 2014-2019.

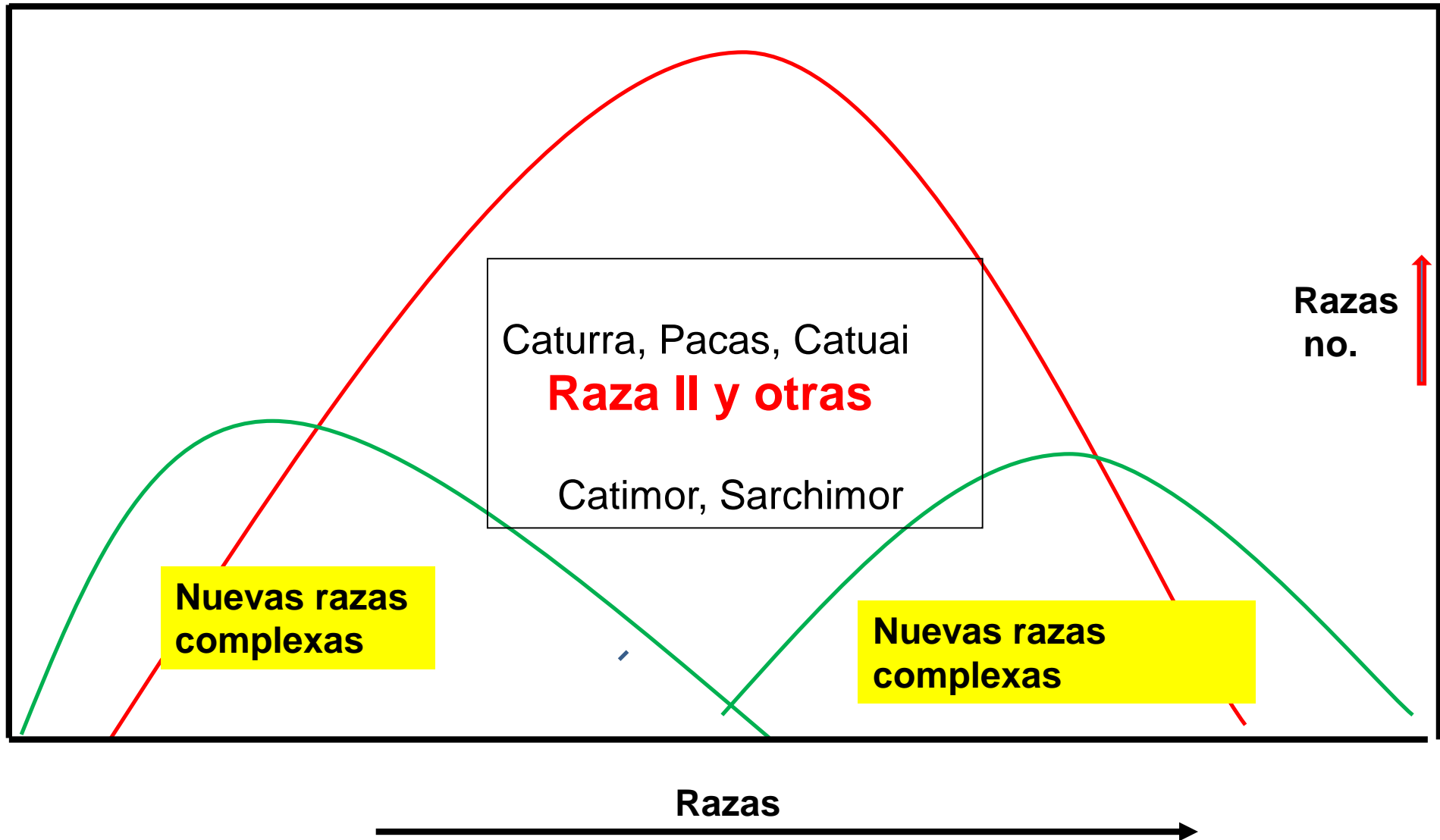
Patótipos	Genes de virulência	Genes de resistência
Hv 01	v1, v5, v6, v7, v8, v9, ?	S <sub>H</sub> 1, 5, 6, 7, 8, 9 ?
Hv 02	v1, v5, v8, ?	S <sub>H</sub> 1, 5, 8
Hv 03	v5, v6, v7, v9	S <sub>H</sub> 5, 6, 7, 9
Hv 04	v5, v6, v8	S <sub>H</sub> 5, 6, 8
Hv 05	v5, v6, ?	S <sub>H</sub> 5, 6
Hv 06	v1, v5, v6, v7, v9	S <sub>H</sub> 1, 5, 6, 7, 9
Hv 07	v1, v5, v6, v7, v8, v9	S <sub>H</sub> 1, 5, 6, 7, 8, 9
Hv 08	v1, 5, 6, ?	S <sub>H</sub> 1, 5, 6
Hv 09	v1, v5, v6	S <sub>H</sub> 1, 5, 6
Hv 10	v1, v2, v5, v6, v7, v8, v9, ?	S <sub>H</sub> 1, 2, 5, 6, 7, 8, 9 ?
Hv 11	v1, v5, v6, v8, ?	S <sub>H</sub> 1, 5, 6, 8
Hv 12	v5, v6, v7, v9, ?	S <sub>H</sub> 5, 6, 7, 9 ?
Hv 13	v1, v4, v5, ?	S <sub>H</sub> 1, 4, 5 ?
Hv 14	v1, v2, v5, v7, v8, v9, ?	S <sub>H</sub> 1, 2, 5, 7, 8, 9 ?
Hv 15	v1, v5, v6, v8, v9, ?).	S <sub>H</sub> 1, 5, 6, 8, 9 ?

# ¿Cómo surgen las razas? Presion de seleccion





# ¿Cómo surgen las razas? Presion de seleccion



## Aislados de *Hemileia vastatrix* en variedades de cafe da Venezuela.

		Aislados de <i>Hemileia vastatrix</i>						
Códigos	ID	SH	12B	10B	3B	7B	8B	18B
1002	832/1	6,7,8,9,?						
1003	832/2	6,7,8,9,?						
1004	644/18	?		?	?			?
1005	635/2	4	4	4				4
1006	635/3	1,4,5	1,4,5			1,4,5		1,4,5
1007	1006/10	1,2,5	1,2,5					1,2,5
1008	1343/269	6				6	6	
1009	4106	6	6					
1010	134/4	1,4	1,4					1,4
1011	152/3	2,4,5	2,4,5	2,4,5	2,4,5	2,4,5	2,4,5	2,4,5
1012	HW17/12	1,2,4,5	1,2,4,5		1,2,4,5		1,2,4,5	1,2,4,5
1013	159/1	?		?	?	?	?	?
1014	110/5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5
1015	33/1	3,5						
1016		?						

## Aislados de *Hemileia vastatrix* en variedades de café da Venezuela.

		Aislados de <i>Hemileia vastatrix</i>						
Códigos	Clones	SH	12B	10B	3B	7B	8B	18B
1017	427/10	5,6,7,9	5,6,7,9	5,6,7,9		5,6,7,9	5,6,7,9	5,6,7,9
1018	87/1	1,5	1,5					
1019	153/2	1,3,5						
1020	128/2	1	1					1
1021	H419/20	5,6,9		5,6,9			5,6,9	
1022	H147/1	2,3,4,5						
1023	420/2	5,8		5,8				
1024		?						
1025		?		?		?	?	?
1026	7963/117	5,7,9		5,7,9	5,7,9	5,7,9	5,7,9	
1027	849/1	5	5	5	5	5	5	5
1028	263/1	?	?	?				
1029	681/7	?			?	?	?	?
1030	1621/13	?						
1031	31829/1							
1032			X	x	x	x	x	X
	<b>Patótipos</b>		1,2,4,5,6,7,9?	2,4,5,6,7,8,9,?	1,2,4,5,7,9	1,2,4,5,6,7,9	1,2,4,5,6,7,9	1,2,4,5,6,7,9
<b>Raza</b>				XXXIX				

**Clones diferenciadores de razas de *H. vastatrix* y seus respectivos genes de resistêcia y los aislados coletados em la variedad Lempira. Olancho Honduras. (Manuel Deras, 2018).**

Designación del CIFIC	Genes de resistêcia	HV 1 OH	HV 2 OH	HV 3 OH
832/1	SH 6, 7, 8, 9			
832/2	SH 6, 7, 8, 9			
17/12	SH 1, 2, 4, 5			
<b>19/1</b>	<b>SH 5</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>
<b>32/1</b>	<b>SH 2, 5</b>	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>
<b>110/5</b>	SH 4, 5	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>
<b>134/4</b>	SH 1, 4	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>
<b>152/3</b>	SH 2, 4, 5	<b>S</b>	<b>S</b>	<b>S</b>

**Genes de virulência: HV 1 OH; HV 2 OH; HV 3 OH: SH 1, 2, 4, 5,**



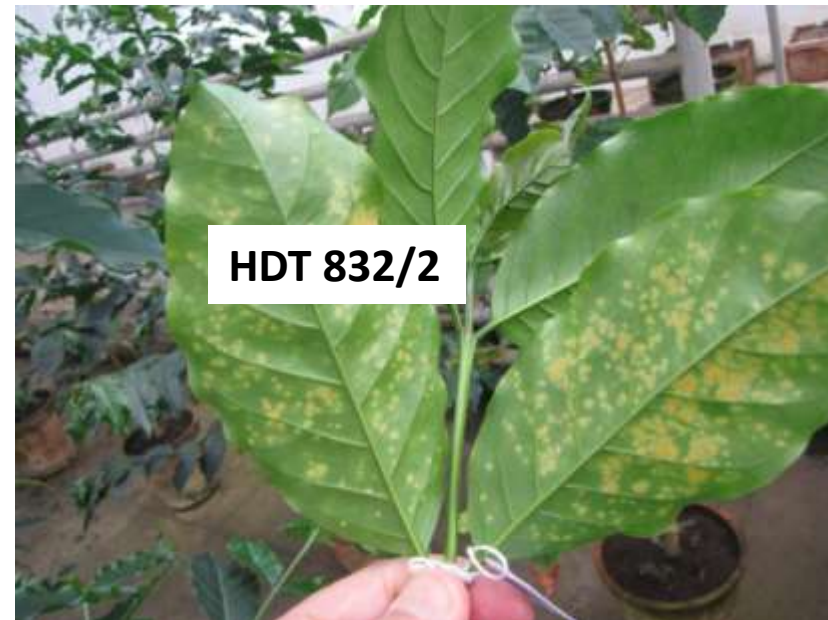
**Clones diferenciadores de razas de *H. vastatrix* y seus respectivos fatores de resistência; aislados coletados em la variedad Lempira. Olancho Honduras.** (Manuel Deras, 2018).

Designación del CIFC	Genes de resistencia	HV 1 OH	HV 2 OH	HV 3 OH
<b>419/20</b>	SH 5, 6, 9			S
<b>420/2</b>	SH 5, 8		<b>S</b>	
<b>420/10</b>	SH 5, 6, 7, 9	S	S	S
<b>635/2</b>	SH 4		S	
<b>7963/117</b>	SH 5, 7	S	S	S
<b>Genes de virulencia deduzidos</b>	<b>PATOTIPOS</b>	<b>v1, 2, 4, 5, 6, 7, 9</b>	<b>v1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9</b>	<b>v1, 2, 4, 5, 6, 7, 9</b>

¿Cuál es la evidencia de la aparición de aislados complejos de Hv ('razas o patotipo')?

Los aislados procedentes de la India han sido patógenos en HDT 832/1 y HDT 832/2

CIFC 3302 (v1,2,4,5,6,7,8,9,?) – **HDT 832/1** CIFC 3305 (v1, 2, 3, 4,5,6,7,8,9, ?) – **HDT 832/2**



(Várzea, 2016, CIFC, Oeiras, Portugal)

# Nuevos genes de resistencia propuestos en clones diferenciadores del CIFIC

21

Clones Diferenciadores	Genes (SH 1 – 9)	Genes de resistencia propuesto
Dilla & Algehe 128/2	SH 1	SH 1, 10, F
Hibrido de Timor 1343/269	SH 6	SH 6, 10, A
Hibrido Kawisari 644/18	SH ?	SH 10
H 419/20	SH 5,6,9	SH 5,6,9,10, C
H 420/10	SH 5,7,9	SH 5,7,9, 10,B
Catimor 829/1 – 7963/117	SH 5,7 or 5,7,9	SH 5,7, D or 5,7,9, D
Hibrido de Timor 832/1	SH 6,7,8,9	SH 6,7,8,9, 10, ?
Geisha 87/1	SH 1,5	SH 1,5, E
Hibrido de Timor 832/2	SH 6,7,8,9	SH 6,7,8,9, 10, ?

DUGASSA (2017) encontró un gen de resistencia llamado SH 10 que codifica una proteína NB-LRR que está presente en los diferentes clones 832/1, 1343/269, 420/10, 128/2, 419/20, 644/18 , 832/2.

**Fue posible inferir que seis nuevos genes de resistencia pueden estar presentes en algunos clones diferenciales (A, B, C, D, E, F) aún no descritos.**

**Probablemente hay más ...**



# Atencion

En otro trabajo de investigación de un estudiante de doctorado, los genes SH11, SH12 fueron clonados para resistencia a la roya: SH10, SH11, SH12 ... en Coffea canephora.

Otros genes como SH13, SH14, SH15 etc. son los próximos a ser clonados

**Genes SH6 a SH9 fueron inferidos**

**Pero SH10, SH 11, SH12 fueran clonados y tenemos la marca molecular.**

# Designación molecular de las poblaciones de *Hemileia vastatrix* en el campo.

## Interacción

SH1 - SH 10  
SH11,12,13...

**Genes de resistência**



Susceptibilidad



Resistencia

V 1 – V 10  
V11,12,13,...

**Genes de virulência**



**Por lo tanto, las pérdidas de la resistencia de las progenies derivadas del HDT (832/1, 832/2, 1343/269, 2570) están asociadas con el surgimiento de nuevas razas complejas en las variedades resistentes.**

**Causa: presión de selección en el campo.**

¿CUÁL ES NUESTRO PROPÓSITO EN EL FUTURO PROXIMO CON RESPECTO A LA IDENTIFICACIÓN DE LAS RAZAS DE HEMILEIA VASTATRIX?

En nuestro laboratorio ya se está estudiando marcadores moleculares para la separación de poblaciones de *Hemileia vastatrix*.

Los resultados muestran que es posible separar las poblaciones del patógeno de diferentes regiones de los países.



## ¿CUÁL ES EL GRAN PROPÓSITO DE NUESTRO TRABAJO EN UN FUTURO PROXIMO EN RELACIÓN A LA RESISTENCIA?

**Lo grande objetivo es encontrar BIOMARKERS que se utilizarán en los campos de café, para identificar los genes de RESISTENCIA de la planta mediante anticuerpos.**

Los genes SH10, SH11, SH12 codifican proteínas que producen anticuerpos, que en contacto con las proteínas de las hojas de las plantas, en placas ELISA, se verificará si el resultado es positivo o negativo por cambio de color.

## Conclusion

1. Durante más de 150 años, la roya de café es una amenaza continua para el cultivo de café en el mundo.
2. Las variedades diferenciadoras son el único método para distinguir las razas del patógeno.
3. Pero para las razas complejas, las variedades clonales no pueden distinguirlas.
4. Pero sin el conocimiento de las 'razas' o patotipos presentes en el campo, será muy difícil obtener una RESISTENCIA DURADERA A LA HOYA DE CAFÉ.

# Conclusion

5. Por lo tanto, necesitamos conocer las bases genéticas de los clones diferenciales de las razas, para desarrollar técnicas moleculares para dilucidar la interacción entre *H. vastatrix* - *Coffea* sp.
6. Se está investigando el método molecular en la Universidad Federal de Viçosa/Embrapa y creemos que en el futuro cercano será o puede ser la solución.
7. As variedades que estão sendo plantadas hoje no mundo veio de quatro linhas de híbrido de Timor (832/1, 832/2, 1343/269, 2570).
8. Tenemos en la universidad fuentes de resistencia al HV en híbridos de Timor que deberían emplearse en programas de mejoramiento.

1. Pregunta: ¿Las variedades que usan los cafeteros hoy en día son genéticamente puras?
2. Es urgente identificar las variedades de café centroamericanas con marcas moleculares.
3. Formación de banco de variedades superiores con marca molecular.
4. Utilice exclusivamente semillas de bancos acreditados por órganos gubernamentales, ya que tienen un alto grado de pureza genética.
5. La agencia gubernamental o del sector privado que producirá las semillas debe adoptar tecnología para la autofecundación.

## Mensagens claves

6. El muestreo debe hacerse en el nivel de finca para la toma de decisiones de control químico.

7. En una gira esta semana en la región de Esquipulas vimos fincas cafeteras donde los productores desconocen el origen de las semillas.

Sin embargo, en estas fincas había plantas con resistencia vertical y horizontal.

Se recomienda obtener las ramas ortotrópicas de estas plantas para multiplicarlas y analizarlas con las razas *H. vastatrix*.

8. Existe una necesidad urgente de establecer pruebas de variedades en cada país, en diferentes regiones, para evaluar la productividad, la adaptabilidad, sequía, la resistencia vertical y horizontal, tolerancia y la calidad de taza.

## Mensagens claves

9. Como existe una interacción genotipo x ambiente, probablemente el comportamiento de las variedades será diferente en cada región.

10. Después de 4 a 5 años de pruebas de variedades regionales, será posible identificar aquellas que tienen resistencia y tolerancia horizontales.

11. En Brasil hemos seleccionado variedades con alta resistencia horizontal y tolerancia en pruebas de campo.

12. Como se pierde la resistencia vertical con 3 a 5 años, la demanda por la resistencia horizontal y tolerancia se ha convertido en una alta prioridad.



## **TOLERANCIA**

**La capacidad de la planta para soportar el desarrollo de patógenos sin reducir significativamente la productividad y / o calidad del producto.**

Schafer, J.F. Tolerance to plant disease. A. R.of Phytopathology 8:235-252. 1970.

## **RESISTENCIA VERTICAL O COMPLETA**

**La variedad de plantas es inmune a ciertas razas del patógeno que otras.**  
Van der Plank, (1964).

## **RESISTENCIA HORIZONTAL O INCOMPLETA**

**La variedad de plantas es más o menos resistente a todas las razas del patógeno.** Van der Plank, (1964).





**Muchas gracias**

**Zambolim@ufv.br**