

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA**

**BRUNA LOPES MARIZ**

**ANÁLISE DE PARÂMETROS GENÉTICOS E SELEÇÃO ASSISTIDA POR  
MARCADORES MOLECULARES NO MELHORAMENTO DE *Coffea arabica***

**VIÇOSA – MINAS GERAIS  
2021**

**BRUNA LOPES MARIZ**

**ANÁLISE DE PARÂMETROS GENÉTICOS E SELEÇÃO ASSISTIDA POR  
MARCADORES MOLECULARES NO MELHORAMENTO DE *Coffea arabica***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientadora: Eveline Teixeira Caixeta

Coorientadora: Dênia Pires Almeida

**VIÇOSA – MINAS GERAIS  
2021**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

M343a  
2021 Mariz, Bruna Lopes, 1994-  
Análise de parâmetros genéticos e seleção assistida por  
marcadores moleculares no melhoramento de *Coffea arabica* /  
Bruna Lopes Mariz. – Viçosa, MG, 2021.  
44 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Eveline Teixeira Caixeta.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 35-44.

1. Cafeeiro - Melhoramento genético. 2. Cafeeiro -  
Resistência a doenças e pragas - Aspectos genéticos. 3. Modelos  
multiníveis (Estatísticas). I. Universidade Federal de Viçosa.  
Departamento de Fitotecnia. Programa de Pós-Graduação em  
Genética e Melhoramento. II. Título.

CDD 22. ed. 633.732

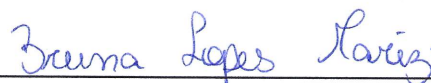
**BRUNA LOPES MARIZ**

**ANÁLISE DE PARÂMETROS GENÉTICOS E SELEÇÃO ASSISTIDA POR  
MARCADORES MOLECULARES NO MELHORAMENTO DE *Coffea arabica***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 26 de fevereiro de 2021.

Assentimento:



---

Bruna Lopes Mariz  
Autora



---

Eveline Teixeira Caixeta  
Orientadora

## AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida e todas as inspirações.

Aos meus pais Helenice e Hamilton, à vó Nadir e ao meu irmão Breno pela humildade dos muitos ensinamentos, a confiança e o imensurável amor.

À Maria Alice e Miguel pelo carinho, amor e serem meus pais do coração em Viçosa.

À Eveline Caixeta pelo incentivo ao aprendizado constante, aos desafios propostos e infinita generosidade.

À Antônio Carlos Baião, Danúbia Rodrigues, Dênia Almeida, Denise Almeida, Marco Peixoto, Moysés Nascimento e a Samila Castro por aceitarem esse desafio com entusiasmo, dedicação e muito carinho.

À toda equipe Biocafé, gratidão pelos trabalhos realizados e por todos os bons momentos.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Genética e Melhoramento pelo ensino de excelência, aos grandes profissionais atuantes na educação e formação profissional. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES pela concessão da bolsa de estudo e incentivo a pesquisa.

Ao Consórcio de Pesquisa Café (CBP&D/Café), à Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo suporte financeiro.

## RESUMO

MARIZ, Bruna Lopes, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2021. **Análise de parâmetros genéticos e seleção assistida por marcadores moleculares no melhoramento de *Coffea arabica*.** Orientadora: Eveline Teixeira Caixeta. Coorientadora: Dênia Pires Almeida.

O café arabica (*Coffea arabica*), embora muito produtivo, sofre limitações de sanidade decorrentes da ferrugem causada pelo fungo *Hemileia vastatrix*, antracnose dos frutos causada por *Colletotrichum kahawae*, e com a cercosporiose ocasionada por *Cercospora coffeicola*. Visando minimizar as perdas com essas doenças, programas de melhoramento vêm sendo desenvolvidos para obter novas cultivares resistentes e contendo outras características de interesse agrônomo. Nesses programas, a caracterização morfoagronômica e a análise molecular via Seleção Assistida por Marcadores Moleculares (SAM) são ferramentas que permitem eficiência na identificação de genótipos elite. Neste trabalho objetivou-se avaliar precocemente parâmetros genéticos via REML/BLUP em características morfoagronômicas ligadas a produção, sanidade e qualidade de bebida em população de café arabica, além de SAM, a fim de identificar genótipos elite com resistência múltipla a *H. vastatrix* e a *C. kahawae*. Os resultados mostraram que 98% da população herdou genes ligados a resistência para ferrugem e CBD dos genitores. Na maioria dos genótipos foi identificada piramidação de genes de resistência, com 41 genótipos apresentando os cinco locos estudados em homozigose dominante. As médias da progênie na fenotipagem por escala diagramática, também indicaram alta resistência a incidência de ferrugem e cercosporiose. Os parâmetros genéticos foram baixos para algumas características ligadas a produção e sanidade, entretanto estes estão subestimados pela jovialidade do cafeeiro, e ainda pela mensuração somente em duas safras. Nas análises de estrutura genética da população, poucos grupos de dissimilaridade foram formados. Entretanto, considerando a genealogia da população, constatou-se existência de variabilidade genética suficiente para ser explorada na obtenção de altas médias produtivas e de resistência. A SAM aliada a estimação de parâmetros genéticos em idade precoce dos cafeeiros, tem grandes potencialidades de aplicação para identificar resistência às principais doenças que acometem o cafeeiro, e também fornece suporte no avanço de gerações.

**Palavras-chave:** Melhoramento do cafeeiro. Resistência genética a doenças. Predição genotípica. Modelos mistos.

## ABSTRACT

MARIZ, Bruna Lopes, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2021. **Analysis of genetic parameters and molecular markers-assisted in *Coffea arabica* breeding.** Advisor: Eveline Teixeira Caixeta. Co-advisor: Dênia Pires Almeida.

Arabica coffee (*Coffea arabica*), although very productive, suffers from health limitations due to rust caused by the fungus *Hemileia vastatrix*, fruit anthracnose caused by *Colletotrichum kahawae*, and with cercosporiosis caused by *Cercospora coffeicola*. In order to minimize losses from these diseases, breeding programs have been developed to obtain new resistant cultivars and containing other characteristics of agronomic interest. In these programs, morpho-agronomic characterization and molecular analysis via Markers Assisted Selection Molecular (MAS) are tools that allow efficiency in the identification of elite genotypes. This work aimed to evaluate early genetic parameters via REML / BLUP in morpho-agronomic characteristics linked to production, health and quality of drink in Arabica coffee population, in addition SAM, in order to identify elite genotypes with multiple resistance to *H. vastatrix* and the *C. kahawae*. The results showed that 98% of the population inherited genes linked to rust resistance and CBD from their parents. In most of the genotypes, resistance gene pyramidation was identified, with 41 genotypes presenting the five loci studied in dominant homozygosis. Progeny averages in phenotyping by diagrammatic scale also indicated high resistance to the incidence of rust and cercosporiosis. The genetic parameters were low for some characteristics related to production and health, however these are underestimated by the youthfulness of the coffee tree, and also by the measurement in only two harvests. In the analysis of the genetic structure of the population, few dissimilarity groups were formed. However, considering the genealogy of the population, it was found that there is sufficient genetic variability to be explored in obtaining high productive and resistance averages. MAS, combined with the estimation of genetic parameters at an early age of coffee trees, has great potential for application to identify resistance to the main diseases that affect coffee trees, and also provides support for the advancement of generations.

**Keywords:** Coffee improvement. Genetic resistance to disease. Genotypic prediction. Mixed model.

## SUMÁRIO

1. Introdução .....	7
2. Material e Métodos .....	11
2.1. Material Genético .....	11
2.2. Seleção Assistida por Marcadores (SAM) .....	13
2.3. Análise Fenotípica .....	18
3. Resultados e discussão .....	20
3.1. Seleção Assistida por Marcadores (SAM) .....	20
3.2. Análise Fenotípica .....	23
3.3. Análise conjunta da genótipagem e fenotipagem .....	31
4. Conclusões .....	34
5. Referências .....	35



## 1. Introdução

O gênero *Coffea* possui mais de 100 espécies descritas, sendo *Coffea canephora* L. e *Coffea arabica* L. as de maior importância comercial (DAVIS et al., 2011; MEROT-L'ANTHOENE et al., 2019). Trata-se de um gênero com espécies diploides, auto incompatíveis e de fecundação cruzada, exceto *C. arabica*, que é tetraploide e possui taxa de autofecundação superior a 90% (DAVIS et al., 2011). De prestígio indiscutível, o café depois da água é a segunda bebida mais consumida no mundo, com geração de mais de 80 bilhões de dólares/ano (ICO, 2020; MISTRO et al., 2019). Com taxa de crescimento de 2% de consumo mundial ao ano, a expectativa é que em 2030 seja necessário produzir 206 milhões de sacas para atender a demanda (CECAFÉ, 2020).

O Brasil é o maior produtor e exportador mundial de café, sendo que na safra 2019/2020 estima-se que o país atingiu produção de 64.875 milhões sacas e exportou 34% desse valor (ICO, 2020; LANDAU; SILVA; MOURA, 2020). Deste total, o café arábica contribuiu com 45 milhões sacas produzidas em 1.514.349 hectares, além de representar 78% nas exportações (CECAFÉ, 2020; CONAB, 2020).

O melhoramento genético do cafeeiro no Brasil se baseou na seleção massal até 1930, a partir daí estabeleceu-se planos direcionados para seleção, visando alta produção e cultivares adaptadas a diversidade de regiões do país (CARVALHO et al., 2010). Atualmente, ênfase tem sido dada para a qualidade de bebida, adaptação a diferentes regiões e controle de doenças que acometem a cultura, principalmente o controle genético que busca genes de resistência efetivos e duráveis (MACHADO DE OLIVEIRA et al., 2016; PEREIRA et al., 2018; SETOTAW et al., 2020; VAN DER VOSSSEN; BERTRAND; CHARRIER, 2015).

As principais doenças fúngicas do cafeeiro são a ferrugem alaranjada, cujo agente causal é a *Hemileia vastarix* Berk. et Br., a antracnose dos frutos (*Coffee Berry Disease* - CBD) causada por *Colletotrichum kahawae* e a cercosporiose ocasionada por *Cercospora coffeicola*.

Instalada no Brasil desde 1970, a ferrugem está presente em todas as regiões produtoras de café, sendo 16 raças relatadas no país até o momento (I, II, III, X, XIII, XV, XVI, XVII, XXII, XXIII, XXIV, XXV, XXXIII, XXXVII, XXIX e X) (ZAMBOLIM, 2016; ZAMBOLIM; CAIXETA, 2021). Essa doença pode gerar perdas produtivas de 35 a 50%, em consequência da queda precoce das folhas e seca de ramos produtivos, o que gera déficits energéticos para desenvolvimento dos botões florais (PEREIRA et al., 2020). Os sintomas da ferrugem aparecem na face abaxial das folhas, como manchas de coloração amarela – pálida que

evoluem para amarelo alaranjada, com aspecto pulverulento que posteriormente necrosam (CUI et al., 2020; ZAMBOLIM; CAIXETA, 2018).

O *C. kahawae* é um patógeno hemibiotrófico extremamente agressivo e já dizimou muitas lavouras cafeeiras no continente africano (VIEIRA et al., 2019). As perdas de rendimento podem chegar a 80% se nenhuma medida de controle for aplicada (BATISTA et al., 2017) e 100% em áreas com muita chuva e alta altitude (ALEMU et al., 2020). Trata-se de um tipo de antracnose que pode atacar flores, frutos e folhas em todos os estágios de desenvolvimento das plantas (DINIZ et al., 2019). Até o momento, não há relatos da doença na América Latina e na Ásia. Mesmo assim, o CBD constitui um risco iminente a cafeicultura no mundo. Existe vários esforços governamentais no manejo preventivo para impedir sua instalação no Brasil e em outros países, bem como desenvolvimento de cultivares resistentes por meio de melhoramento genético preventivo (ALEMU et al., 2020; GIMASE et al., 2021; VAN DER VOSSSEN; BERTRAND; CHARRIER, 2015; VIEIRA et al., 2019).

A severidade da cercosporiose gera perdas de até 30% na produção de café, por acarretar déficits fotossintéticos que comprometem a fisiologia da planta (ZAMBOLIM, 2018). Nas folhas, os sintomas da cercosporiose são caracterizados por manchas circulares pardo-clara ou marrom-escura com centro acinzentado, envolvidas por anel amarelo na face superior (VALE et al., 2020). Nos frutos, o fungo causa maior aderência da casca ao pergaminho, e ainda manchas necróticas de coloração marrom ou arroxeadas (AZEVEDO DE PAULA et al., 2016). Em infecções avançadas há queda de folhas e ramos laterais, maturação acelerada e aumento da incidência de grãos chochos (AZEVEDO DE PAULA et al., 2019; VALE et al., 2020).

O uso de fungicidas é o método mais empregado para combater infecções fúngicas em cafeeiros, entretanto, esta prática eleva o custo de produção e acarreta riscos ambientais e aos trabalhadores (LEMMA; ABEWOY, 2021; PEREIRA et al., 2020; ZAMBOLIM, 2016). Além disso, fungicidas podem potencializar a pressão de seleção no patógeno e torna-lo resistente aos compostos químicos (DIOLA et al., 2011). O desenvolvimento e uso de cultivares resistentes tem se mostrado o método mais indicado para controle sanitário, devido a relação custo-benefício, efetividade, fácil adoção pelos produtores, além do baixo impacto ambiental (ZAMBOLIM; CAIXETA, 2021). No Registro Nacional de Cultivares estão cadastradas 133 cultivares de café arábica (BRASIL, 2020), das quais mais da metade foram lançadas como resistentes à ferrugem (CARVALHO et al., 2010).

A identificação de fontes de resistência duráveis para estas doenças fica restrita a baixa diversidade genética natural do gênero *Coffea* (SETOTAW et al., 2013, 2020; ZAMBOLIM,

2016). Algumas fontes de resistência para ferrugem são conhecidas e utilizadas nos programas de melhoramento, são elas: derivados de Híbrido de Timor, Icatu, séries BA e Seleções Indianas (ZAMBOLIM; CAIXETA, 2018). Para CBD, as principais fontes utilizadas são Rume Sudan, K7 e também derivados de Híbrido de Timor (GIMASE et al., 2021).

Derivados de Híbrido de Timor são fontes de resistência para diferentes doenças. São oriundos de cruzamento natural entre *C. arabica* e *C. canephora*, relatado pela primeira vez em 1917 na Ilha de Timor em plantações de *C. arabica* cv. Typica (PESTANA, 2010; ROMERO et al., 2014; SOUSA, 2017).

As fontes de resistência para ferrugem já foram previamente estudadas e os genes de resistência caracterizados. Até o momento são conhecidos pelo menos nove genes dominantes de resistência presentes em cafeeiros de diferentes espécies, que podem atuar em conjunto ou de forma individual (BETTENCOURT, A. J., NORONHA-WAGNER, 1971; BETTENCOURT, A.J., RODRIGUES, 1988; SILVA ET AL, 2018B). Os genes S<sub>H1</sub>, S<sub>H2</sub>, S<sub>H4</sub> e S<sub>H5</sub> foram identificados em *C. arabica*, mas já foram suplantados pelas raças existentes no campo. Os genes S<sub>H6</sub>, S<sub>H7</sub>, S<sub>H8</sub> e S<sub>H9</sub> foram detectados em *C. canephora* e o gene S<sub>H3</sub> foi identificado em *C. liberica* (DIOLA et al., 2011).

O Híbrido de Timor apresenta o gene S<sub>H5</sub>, oriundo de arábica, e ainda o S<sub>H6</sub>, S<sub>H7</sub>, S<sub>H8</sub> e S<sub>H9</sub>, provenientes de *C. canephora* (PESTANA et al., 2015; ROMERO et al., 2014). Estudos indicam que existe pelo menos mais dois genes de resistência ainda não caracterizados, que podem estar associados ou não aos genes S<sub>H1</sub> e S<sub>H9</sub>, e que conferem resistência a mais de 50 raças de *H. vastatrix* (VÁRZEA, V. M. P.; MARQUES, 2005). Além disso, Barka et al. (2020) e Almeida, et al. (2021) caracterizaram molecularmente dois genes S<sub>H</sub> candidatos de resistência a *H. vastatrix*, um gene *NB-ARC* e um gene *Receptor LRR Kinase (RLK)*, respectivamente.

A resistência em arábica a *C. kahawae* é governada por três genes (VAN DER VOSSSEN; WALYARO, 1980): o gene R da variedade Rume Sudan, gene T em Híbrido de Timor e um gene k encontrado em K7 e Rume Sudan. O T e os genes R são dominantes, enquanto o gene k é recessivo com resistência parcial ao CBD em um estado homozigoto (kk) (GIMASE et al., 2021; VAN DER VOSSSEN; WALYARO, 1980). Para *C. coffeicola* ainda não foram identificadas fontes de resistência até o momento.

Em programas de melhoramento do cafeeiro tem sido realizado cruzamentos intraespecíficos com objetivo de introgridir esses genes de resistência em cultivares de

interesse comercial (BRITO et al., 2010; DIOLA et al., 2011; PRAKASH et al., 2004; SETOTAW et al., 2020; SOUSA, 2017). Os cruzamentos são realizados entre doadores de genes de resistência e cultivares com caracteres agronômicos de interesse (PESTANA et al., 2015).

Para auxiliar os programas de melhoramento genético nos estudos de resistência, diferentes metodologias estatísticas e moleculares têm sido implementadas com o objetivo de aumentar a eficiência e diminuir o tempo dos programas (CUI et al., 2020). Dentre elas, destaca a Seleção Assistida por Marcadores Moleculares (SAM), que consiste em aplicar técnicas de biologia molecular para identificação de regiões no genoma, que possam contribuir com a seleção fenotípica (TRUCHETTO et al., 2017). A SAM tem sido usada no melhoramento do cafeeiro para identificação de alelos que conferem resistência múltiplas a doenças, e a várias raças de um mesmo patógeno (DIOLA et al., 2011; PESTANA et al., 2015). Essa estratégia permite ainda entender as dinâmicas de herança e a variabilidade genética das populações a serem melhoradas (SOUSA et al., 2017).

Marcadores moleculares podem ser utilizados a partir de qualquer tecido vegetal, em qualquer época do ano e estágio fenológico, garantindo assim identificação precoce dos alelos herdados dos genitores (MORAIS; MELO, 2011; TRUCHETTO et al., 2017). Além dessas vantagens, os marcadores não são influenciados pelo ambiente e tem segregação mendeliana, os quais eliminam vários aspectos dificultadores de identificação/seleção puramente fenotípica com aumento da capacidade da análise genética das plantas (CAIXETA et al., 2007; CAIXETA, 2013; GUIMARÃES et al., 2016). Dessa forma, as informações genotípicas adquiridas por meio da SAM, analisadas em conjunto com os dados de desempenho fenotípico, aumentam a quantidade de parâmetros, permitindo melhor caracterização da população em melhoramento e eficiência de seleção (ZOLET et al., 2017; MORAIS & MELO, 2011).

Além de análises moleculares, metodologias estatísticas aplicadas à fenotipagem das plantas têm sido utilizadas para aumentar a eficiência de seleção no melhoramento genético. Na fenotipagem, a predição dos efeitos aleatórios e a estimação dos efeitos fixos dependem da estimação dos componentes de variância. Os componentes podem ser obtidos por diferentes metodologias derivadas de conceitos básicos de métodos dos momentos, função de verossimilhança e funções quadráticas associadas a estruturas de matrizes de variância e covariância dos efeitos (RESENDE; SILVA; LOPES, 2012). A metodologia de Máxima Verossimilhança Restrita (REML) estima componentes de variância obtidas por máxima

verossimilhança, os quais fornece dados para fazer a Melhor Predição Linear não-viesada (BLUP), cuja função é predição de valores genéticos (ALVES, 2016; RESENDE, 2016; RESENDE et al., 1996; RESENDE; SILVA; LOPES, 2012).

O REML/BLUP permite estimar componentes de variância, parâmetros genéticos, acurácia de predição, predição de ganhos de seleção e estudo de diversidade genética. (RESENDE, 2016; RESENDE; SILVA; LOPES, 2012). Isso implica em comparar indivíduos ao longo do tempo e espaço, em modelos com rede de dados complexa de fenotipagem (RESENDE; SILVA; LOPES, 2012). Em consequência, é possível inferir sobre a interação do genótipo com o ambiente, estimar a acurácia das avaliações, identificar indivíduos promissores e fazer análises de diversidade da população (ALVES, 2016).

Programas de melhoramento estão usando cada vez mais REML/BLUP associados a marcadores moleculares, para fins de estudos envolvendo resistência em café arábica (ALKIMIM et al., 2017; DIAS et al., 2020; FEITOSA, 2017; PEREIRA et al., 2013; PETEK; SERA; FONSECA, 2008; RESENDE et al., 2001; SAAVEDRA TOBAR, 2019; SOUSA, 2017; SOUSA et al., 2019).

O presente trabalho objetivou fazer análise precoce de parâmetros genéticos via modelos mistos (REML/BLUP) em características morfoagronômicas ligadas a produção, sanidade e qualidade de bebida em população F<sub>2</sub> de café arábica, e também Seleção Assistida por Marcadores Moleculares (SAM), a fim de identificar genótipos elite com resistência múltipla a *Hemileia vastatrix* e *Colletotrichum kahawae* para avanço de geração.

## 2. Material e Métodos

### 2.1. Material Genético

Neste trabalho, foram realizados cruzamentos entre um acesso do Híbrido de Timor MG0357 e a cultivar Tupi Amarelo IAC 5162 (ainda sem registro no RNC/MAPA<sup>1</sup>). Essa cultivar é um Sarchimor de frutos amarelos, selecionada pelo IAC<sup>2</sup>, na Fazenda do grupo Família Ferrero, em Altinópolis-SP. A cultivar foi desenvolvida a partir da identificação de uma planta de frutos amarelos em uma lavoura do cultivar Tupi IAC 1669-33. Esta cultivar é originada do híbrido CIFC<sup>3</sup> H361-4, que é oriundo do cruzamento entre Villa Sarchi CIFC 971/10 e Híbrido de Timor CIFC 832/2. Possui frutos vermelhos, elevada

---

<sup>1</sup> Registro Nacional de Cultivares / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

<sup>2</sup> Instituto Agronômico de Campinas.

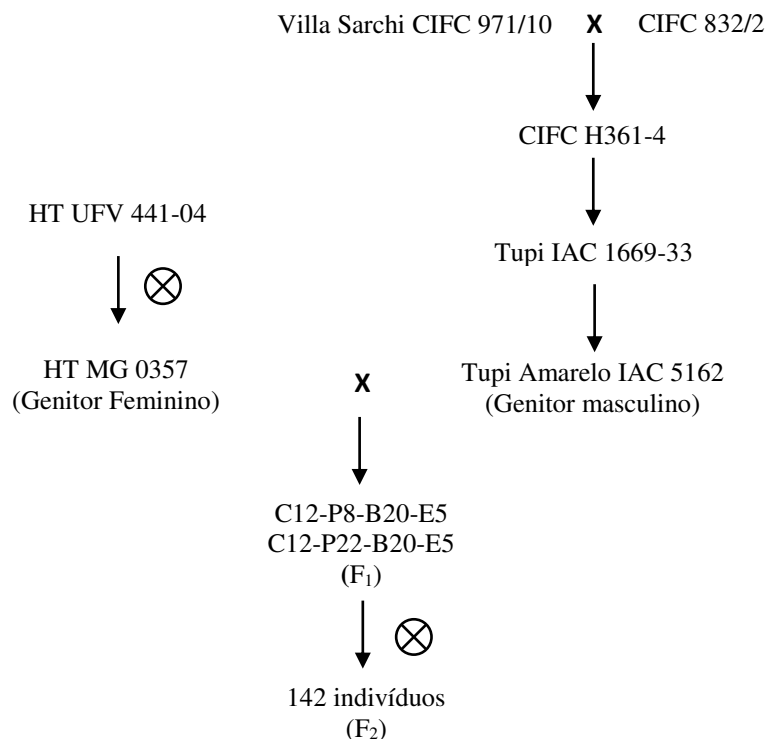
<sup>3</sup> Centro de Investigação das Ferrugens do Cafeeiro, localizado em Oeiras, Portugal.

porcentagem de grãos classificados em peneira 16 acima, qualidade de bebida semelhante a Bourbon Vermelho, maturação medianamente precoce e uniforme (FAZUOLI et al., 2008).

A cultivar Tupi Amarelo IAC 5162 é oriunda, provavelmente, de um cruzamento natural ocorrido entre uma planta de Tupi IAC 1669-33 e outra de uma cultivar de Catuaí Amarelo. A Tupi Amarelo IAC 5162 apresenta resistência a *H. Vastatrix*, porte baixo, frutos graúdos e alto potencial produtivo.

O cruzamento foi realizado com o objetivo principal de piramidar genes de resistência a *H. Vastatrix*, visando resistência mais duradoura à ferrugem, e de incorporar resistência a outras doenças de grande importância para a cafeicultura. Outro propósito do cruzamento foi aproveitar o grande potencial de qualidade superior e diferenciada do acesso de Híbrido de Timor MG0357, que foi verificado previamente em várias provas de análises sensoriais.

Os cruzamentos (Figura 1) foram realizados pela equipe técnica do programa de melhoramento genético do cafeeiro conduzido pela Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), em parceria com a Embrapa Café e a Universidade Federal de Viçosa (UFV), em outubro de 2011, no Campo Experimental de Patrocínio (CEPC/EPAMIG), em Patrocínio-MG.



**Figura 1:** Genealogia dos genitores Híbrido de Timor MG 0357 e Tupi Amarelo IAC 5162 utilizados nos cruzamentos, provenientes do programa de melhoramento genético do cafeeiro desenvolvido pela Epamig/UFV/Embrapa.

Foram feitos estudos prévios sobre o potencial genético e a capacidade de combinação do cruzamento Híbrido de Timor MG0357 x Tupi Amarelo IAC 5462 e das duas plantas F<sub>1</sub> geradas (C12-P8-B20-E5 e C12-P22-B20-E5) (CORREIA, 2016). Posteriormente, as plantas F<sub>1</sub>s foram autofecundadas para obtenção de uma população F<sub>2</sub>, composta por 142 indivíduos.

Os cafeeiros F<sub>2</sub> foram plantados em 2016, em área experimental do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa, localizada no município de Viçosa - MG (-20° 45 '37,08 "S e -42° 52' 4,08" W). O delineamento foi em blocos aumentados (4 blocos de 50 plantas) e espaçamento de 3,0 x 0,80 m. Como testemunhas utilizou as cultivares Paraíso MG H419-1 e Catuaí Vermelho IAC 144, com três plantas de cada testemunha por bloco.

A testemunha Paraíso MGH419-1 (Catuaí Amarelo IAC 30 x Híbrido de Timor UFV 445-46) foi utilizada pela alta resistência a ferrugem, porte baixo, maturação média, alta produtividade e boa qualidade de bebida. O Catuaí Vermelho IAC 144 (Caturra Amarelo x IAC 476-11 X Mundo Novo IAC 374-19) foi escolhido pelo alto cultivo no Brasil.

## 2.2. Seleção Assistida por Marcadores (SAM)

Para extração do DNA, foram coletadas amostras foliares das duas plantas F<sub>1</sub> e da população F<sub>2</sub>. As amostras foram encaminhadas para o Laboratório de Biotecnologia do Cafeeiro (BioCafé), onde foram armazenadas em freezer a -80 °C por 48 horas. Posteriormente, foram liofilizadas durante 72 horas, maceradas e armazenadas a 20 °C.

O material genético foi extraído conforme metodologia de Diniz et al. (2005). A concentração de DNA foi quantificada em Nanodrop (*NanoDrop Technologies, Wilmington, EUA*). A qualidade foi verificada por eletroforese em gel a 1 %, e visualizada após coloração com Brometo de Etídio (0,5 µg.ml<sup>-1</sup>). O DNA foi armazenado a -20 °C até uso posterior.

Para a SAM foram usados marcadores de marca específica, previamente identificados como ligados a genes que conferem resistência à ferrugem e ao CBD. Foram considerados na análise dos dados para resistência a *H. vastatrix*, o loco A sendo dos marcadores ligados ao gene S<sub>H</sub>3 (SAT244 e BA124); o loco B para os marcadores ligados ao gene/QTL do grupo de ligação 2 que confere resistência às raças I, II e ao patótipo 001 (SSR 16 e CaRHv 8); o loco C para os marcadores ligados ao gene/QTL do grupo de ligação 5 que também conferem resistência para às raças I, II e ao patótipo 001 (CaRHv9); o loco D para o gene clonado NB-ARC (CARF 005); o loco E para outro gene clonado *HdT\_LRR\_RLK* (RLK 2); e por fim o loco F para marcadores de alelos de resistência para CBD (SAT 235 e SAT 207) (Tabela 1).

**Tabela 1:** Descrição dos marcadores moleculares utilizados na SAM, que estão ligados a genes que conferem resistência a *Hemileia vastatrix* e a *Colletotrichum kahawae*.

Resistência	Loco	Gene	Marcador	Tipo	Distância (cM)	Marcação	Primers	T (°C)	Referência
<i>Hemileia vastatrix</i>	A	<i>Sh3</i>	SAT 244	SSR	0	Codominante	F: GCATGTGCTTTTGGATGTCGT R:GCATACTAAGGAATTATCTGACTGCT	52	Mahé et al. 2008; Alkimin et al. 2017
			BA-124 - 12K-f	SCAR	0	Dominante	F: TGATTTTCGCTTGTGTCGAG R: TGCAGATTGATGGCACGTTA	56	Mahé et al. 2008; Alkimin et al. 2017
	B	<i>Gene/QTL-GL2</i>	CaRHv8	SCAR	3	Dominante	F: CCTTCTAGTGTTACCGAGGA R: CTTAGCGCCATGAATAGCCA	65	Almeida, 2015; Almeida, 2019
			SSR 016	SSR	3.7	Codominante	R: CCACACAACCTCTCCTCATTC F:ACCCGAAAGAAAGAACCAAG	65	Combes et al. 2000
	C	<i>Gene/QTL-GL5</i>	CaRHv9	SCAR	2.3	Dominante	F: TGATGAAGAAGAGCGCATAGC R:GTCTAAGACCAGAATCAGATGG	65	Almeida, 2015; Almeida, 2019
D	<i>NB-ARC e LRR</i>	CARF 005	Específico	.	Dominante	F:GGACATCAACACCAACCTC R:ATCCCTACCATCCACTTCAAC	60	Alvarenga et al., 2011; Barka et al., 2020	
E	<i>HdT_LRR_RLK2</i>	RLK 2	Específico	.	Dominante	F: GCTCACAGGTCCGATTCTCTG R:TTTGGGAATAGGCCCGAAAGA	60	Almeida et al. 2021; Almeida, 2019	
<i>Colletotrichum kahawae</i>	F	<i>Ck-1</i>	SAT 235	SSR	0	Codominante	F: TCGTTCTGTCATTAATCGTCAA R: GCAAATCATGAAAATAGTTGGTG	50	Gichuru et al. 2008; Alkimin et al. 2017
			SAT 207	SSR	17.2	Codominante	F: GAAGCCGTTTCAAGCC R: CAATCTCTTTCCGATGCTCT	50	Gichuru et al. 2008; Alkimin et al. 2017

SSR: Simple sequence repeat; SCAR: Sequence Characterized Amplified Regions; CAPS: Cleaved Amplified Polymorphic Sequence; F: Primer Forward; R: Primer Reverse.



### *Seleção assistida para o gene $S_{H3}$ – Loco A*

Existe relatos de 10 marcadores moleculares ligados ao gene  $S_{H3}$  que confere resistência a *H. vastatrix* (MAHÉ et al., 2008). Destes marcadores, foram escolhidos o SAT 244 e o BA-124-12K-f para genotipagem, por estarem completamente ligados ao gene  $S_{H3}$  (0 cM). O SAT 244 é codominante e o BA 124-12K-f é dominante, assim analisados juntos são capazes de identificar heterozigotos, homozigotos dominantes e recessivos. O uso dos dois marcadores reforça a confiabilidade dos resultados, evitando a seleção de plantas que possuem a marca, mas que perderam o alelo de resistência por recombinação.

Os acessos CIFC H147/1, CIFC H153/2 e S.288/23 foram utilizados como controles portadores do alelo de resistência, e as cultivares Caturra Vermelho CIFC 19/1 e Catuaí Amarelo IAC 64 (UFV 2148/57) como controles negativos. Os controles negativos são suscetíveis à ferrugem e, portanto, não possuem o alelo de resistência.

Na reação de amplificação dos fragmentos foi utilizado 2  $\mu$ L de DNA genômico na concentração de 25  $\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$  (50 ng), 2,5  $\mu$ L de tampão de reação de PCR 1X, 1  $\mu$ L  $\text{MgCl}_2$  (2 mM), 0,25  $\mu$ L dNTP (0,1 mM), 5  $\mu$ L de *primer forward* (0,4  $\mu$ M), 5  $\mu$ L de *primer reverse* (0,4  $\mu$ M), 0,2  $\mu$ L da enzima Taq DNA polimerase (0,5 unidades), completando o volume para 25  $\mu$ L com água ultrapura.

A reação consistiu em desnaturação a 95 °C por 5 minutos, 35 ciclos de 94 °C por 45 segundos para desnaturação, anelamento de 52 °C para SAT 244 e 56 °C para BA 124-12K-f por 45 segundos, extensão de 72 °C por 45 segundos, e extensão final a 72 °C por 10 minutos.

### *Seleção assistida para gene/QTL GL2 – Loco B*

Para análise do Loco B foram utilizados os marcadores CaRHv8 (ALMEIDA, 2015; ALMEIDA, 2019) e SSR 16 (COMBES et al., 2000) ligados aos genes/QTL presentes no Grupo de Ligação 2 (GL2) que conferem resistência as raças I e II, e ao patótipo 001 de *H. vastatrix*. O CaRHv8 é um marcador dominante que identifica somente o alelo recessivo, ou seja, a presença da marca indica ser homozigoto recessivo (bb) ou heterozigoto (Bb). O marcador SSR 16 apresenta padrão codominante, que identifica indivíduos homozigotos e heterozigotos (BB, Bb e bb).

Para controle foram utilizados os genitores Híbrido de Timor UFV 443-03 como resistente e Catuaí Amarelo IAC 64 (UFV 2148/57) como suscetível, pois estes originaram a população  $F_2$  do mapa genético onde foram identificados os genes/QTL associados a resistência as raças I, II e patótipo 001.

A reação para o CARHV 8 foi realizada com 2  $\mu\text{L}$  de DNA genômico na concentração de 25  $\text{ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$  (50 ng), 2  $\mu\text{L}$  de tampão de reação de PCR (1X), 0,8  $\mu\text{L}$   $\text{MgCl}_2$  (2 mM), 0,3  $\mu\text{L}$  dNTP (0,15 mM), 1  $\mu\text{M}$  de cada *primer*, 0,2  $\mu\text{L}$  da enzima Taq DNA polimerase (0,5 unidades), e água até o volume final de 20  $\mu\text{L}$ . Foi utilizado programa com desnaturação a 95 °C por 5 minutos, 35 ciclos de 94 °C por 30 segundos, anelamento de 65 °C por 30 segundos, extensão de 72 °C por 1 minuto, e extensão final a 72 °C por 10 minutos.

A reação para o marcador SSR 16 foi semelhante ao CARHV 8, só difere por utilizar 0,4  $\mu\text{L}$  de  $\text{MgCl}_2$  (0,6 mM). O programa de ciclagem teve fase inicial de desnaturação a 94 °C por 2 minutos; 10 ciclos de touchdown a 94 °C por 30 segundos, temperatura de anelamento decrescendo 1 °C a cada ciclo (de 66 °C até 57 °C) durante 30 segundos, e extensão a 72 °C por 30 segundos; seguidos por mais 30 ciclos de desnaturação a 94 °C, anelamento a 57 °C e extensão a 72 °C, com 30 segundos cada etapa. A extensão final foi realizada a 72 °C por 10 minutos.

#### *Seleção assistida para gene/QTL GL5 – Loco C*

Para o Loco C foi analisado o marcador CaRHv9 (ALMEIDA, 2015; ALMEIDA, 2019), ligado ao gene/QTL do grupo de ligação 5 (GL5) que também está associado a resistência das raças I e II, e ao patótipo 001 de *H. vastatrix*. Trata-se de um marcador dominante, portanto permite identificar indivíduos C\_ e cc. Foram usadas as mesmas testemunhas, concentração de reagentes e condições de amplificação que o CaRHv8, relatado no subitem acima.

#### *Seleção assistida para NB-ARC e LRR – Loco D*

O marcador utilizado no Loco D foi o CARF 005 (ALVARENGA et al., 2011 e BARKA et al., 2020). Esse marcador amplifica uma região do DNA (domínios conservados NB-ARC e LRR) que corresponde a uma ORF (*Open Reading Frame* – Janela Aberta de Leitura) parcial de *C. arabica*, a qual codifica uma proteína potencialmente envolvida na resistência do cafeeiro à ferrugem. Por ser marcador dominante, permite identificação dos genótipos D\_ e dd. Os controles utilizados foram o Híbridos de Timor CIFC 832/2 e Caturra Vermelho CIFC 19/1, como resistente e suscetível, respectivamente.

As condições de reação foram: 2  $\mu\text{L}$  de DNA genômico na concentração de 25  $\text{ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$  (50 ng), 2  $\mu\text{L}$  de tampão de reação de PCR (1X), 0,4  $\mu\text{L}$   $\text{MgCl}_2$  (2 mM), 0,3  $\mu\text{L}$  dNTP (0,15 mM), 1  $\mu\text{M}$  de cada *primer*, 0,2  $\mu\text{L}$  da enzima Taq DNA polimerase (0,5 unidades), e água

até o volume final de 20  $\mu\text{L}$ . O programa de ciclagem é de 95 °C por 5 minutos para abertura, 35 ciclos de 94 °C por 30 segundos, 60 °C por 35 segundos no anelamento, 72 °C por 1 minuto, e por fim fechamento das fitas a 72 °C por 10 minutos.

#### *Seleção assistida para HdT\_LRR\_RLK2 – Loco E*

O marcador RLK 2 trata-se de um gene candidato a *Receptor-Like Kinase (RLK)* que foi denominado de *HdT\_LRR\_RLK2* por ALMEIDA et al. (2021), e atua como receptor de membrana que ativa genes de resistência. O RLK é um marcador dominante, capaz de identificar genótipos E<sub>-</sub> e ee. Os controles usados foram o Híbrido de Timor CIFC 832/1 como resistente e Caturra Vermelho CIFC 19/1 como suscetível. Estas testemunhas foram as mesmas utilizadas na análise de expressão gênica que desenvolveu este marcador.

O marcador RLK 2 foi amplificado com as mesmas condições de reação e programa de ciclagem que o marcador CARF005, exceto pela temperatura de anelamento que ocorre a 66 °C por 30 segundos.

#### *Seleção assistida para Ck-1 – Loco F*

Os marcadores moleculares codominantes CBD-Sat235 e CBD-Sat207 foram identificados por GICHURU et al. (2008) como ligados ao gene *Ck-1*, que confere resistência ao CBD. Na análise da população com esses marcadores utilizou-se como controles portadores do gene *Ck-1* os Híbridos de Timor UFV 377-15 e UFV 440-10 e a cultivar MGS Catiguá 3. Como controles suscetíveis usou-se Caturra Vermelho CIFC 19/1 e Catuaí Amarelo IAC 64 (UFV 2148-57).

Na reação de amplificação dos fragmentos foi utilizado 2  $\mu\text{L}$  de DNA genômico na concentração de 25  $\text{ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$  (50 ng), 2,5  $\mu\text{L}$  de tampão de reação de PCR 1X, 1  $\mu\text{L}$   $\text{MgCl}_2$  (2 mM), 0,25  $\mu\text{L}$  dNTP (0,1 mM), 5  $\mu\text{L}$  de *primer forward* (0,4  $\mu\text{M}$ ), 5  $\mu\text{L}$  de *primer reverse* (0,4  $\mu\text{M}$ ), 0,2  $\mu\text{L}$  da enzima Taq DNA polimerase (0,5 unidades), completando o volume para 25  $\mu\text{L}$  com água ultrapura.

As condições de amplificação consistiram em fase de desnaturação inicial a 95 °C por 5 minutos; 35 ciclos a 94 °C por 45 segundos, com temperatura de anelamento 50 °C por 45 segundos e extensão a 72 °C por 45 segundos; e a extensão final a 72 °C por 10 minutos.

As reações de amplificações dos nove primers foram feitas em termociclador *Veriti – AppliedBiosystems*. Toda a genotipagem foi conduzida por eletroforese capilar em sequenciador *ABI 3130xl Genetic Analyzer – AppliedBiosystems*.

### 2.3. Análise Fenotípica

No estágio de maturação dos frutos foram mensuradas 12 características fenotípicas, na época das colheitas dos anos de 2018 e de 2020 relacionadas à produção, sanidade e qualidade de bebida (Tabela 2).

**Tabela 2:** Fenotipagem da população F<sub>2</sub> (Híbrido de Timor MG0357 x Tupi Amarelo IAC 5162) para características de produção, doença e qualidade de bebida, nas safras 2018/2020.

Características		Descrição fenotípica	
Produção	PRO	Produção	Estimada visualmente em litros/planta
			Notas de 1 a 10.
	VIG	Vigor vegetativo	Nota 1: Planta totalmente depauperada. Nota 10: planta considerada com vigor máximo
	ALT	Altura de planta	Em centímetros: medida no ramo ortotrópico principal, da superfície do solo ao ponto final de crescimento do ramo
	TF	Tamanho dos frutos	Avaliação de frutos maduros 1 = miúdo, 2 = pequeno, 3 = médio, 4 = grande e 5 = graúdo *
	DCA	Diâmetro de caule	Em centímetros: medido com auxílio de um paquímetro digital, na região do coleto da planta (aproximadamente 5cm da superfície do solo)
	DCO	Diâmetro de copa	Em centímetros: medido no sentido transversal à linha de plantio, medindo-se a maior projeção da "saia" do cafeeiro
	NRP	Nº de Ramos Plagiotrópicos na haste principal	Quantidade
	CRP	Comprimento de um Ramo Plagiotrópico	Em centímetros: medição no terço médio de um ramo plagiotrópico representativo da planta
Sanidade	NNR	Nº de Nós no Ramo Plagiotrópico Medido	Quantidade. Número de nós do ramo plagiotrópico respresentativo da planta medido em CRP
	FER	Severidade de ferrugem	1 = ausência de pústulas e reações de hipersensibilidade; 2 = poucas folhas com pústulas sem esporos e reações de hipersensibilidade; 3 = poucas pústulas com alta produção de esporos e pouco distribuídas; 4 = médio teor de pústulas por folha, com alta produção de esporos distribuídos na planta; 5 = alta quantidade de pústulas, produção de esporos e desfolha da planta. Obs.: Plantas com nota 1 ou 2 = Resistentes; 3 a 5 = Suscetíveis.
Qualidade	CER	Severidade de Cercosporiose	1 = Folhas sem sintomas de cercosporiose; 2 = pouca severidade de lesões de cercosporiose nas folhas 3 = media severidade de pequeno diâmetro de lesões da cercosporiose nas folhas 4 = alta severidade de grande diâmetro de lesões da cercosporiose nas folhas 5 = severidade de cercosporiose nas folhas com presença de necroses Obs.: Plantas com nota 1 ou 2 = Resistentes; 3 a 5 = Suscetíveis.
	UMT	Uniformidade de maturação dos frutos	1 = uniforme 2 = medianamente uniforme 3 = medianamente desuniforme 4 = desuniforme

A estimação dos componentes de variância e dos valores genéticos foi realizada por meio da metodologia REML/BLUP (PATTERSON & THOMPSON, 1971; HENDERSON, 1973), seguindo o modelo estatístico:

$$y = Xb + Zg + Ti + e,$$

nos quais:  $y$  representa o vetor de efeitos fenotípicos;  $b$  é o vetor de médias de testemunhas e média da população de tratamentos principais (assumidos como fixo), somados a média geral;  $g$  representa o vetor de efeitos genéticos [(assumidos como aleatórios),  $(g \sim N(0, \sigma_g^2))$ , onde  $\sigma_g^2$  é a variância genética];  $i$  é o vetor dos efeitos ambientais de blocos [(assumidos como aleatórios),  $(i \sim N(0, \sigma_i^2))$ , onde  $\sigma_i^2$  é a variância ambiental de bloco]; e  $e$  representa o vetor de erros [(aleatório),  $e \sim N(0, \sigma_e^2)$ ]. As letras maiúsculas X, Z e T representam as de incidência para  $b$ ,  $g$  e  $i$ , respectivamente.

A variância fenotípica ( $\hat{\sigma}_{fen}^2$ ), herdabilidade no sentido amplo ( $h_g^2$ ), acurácia seletiva ( $r_{\hat{g}g}$ ), coeficiente de variação genético ( $CV_g$ ) e coeficiente de variação residual ( $CV_{res}$ ), foram calculados pelas seguintes equações:

$$\hat{\sigma}_{fen}^2 = \hat{\sigma}_g^2 + \hat{\sigma}_i^2 + \hat{\sigma}_{res}^2,$$

$$h_g^2 = \frac{\hat{\sigma}_g^2}{\hat{\sigma}_{fen}^2},$$

$$r_{\hat{g}g} = \sqrt{h_g^2},$$

$$CV_g = \sqrt{\frac{\hat{\sigma}_g^2}{\mu}} * 100 \text{ e}$$

$$CV_{res} = \sqrt{\frac{\hat{\sigma}_{res}^2}{\mu}} * 100,$$

sendo  $\mu$  a média fenotípica.

Correlações genéticas e fenotípicas foram calculadas entre os pares de características. Análises multivariadas foram realizadas para discriminar os genótipos em estudos de diversidade genética. Foi calculada a matriz de dissimilaridade entre as características, baseada na distância de Mahalanobis. A matriz de dissimilaridade foi utilizada para construir um dendrograma pelo método do grupo de pares não ponderados, usando médias aritméticas (UPGMA), para a delimitação de grupos de similaridade. Além disso, uma representação de

dispersão gráfica da divergência genética foi realizada pela análise de componentes principais (ACP).

Todas as análises foram realizadas no *software* R (R CORE TEAM, 2020).

### 3. Resultados e discussão

#### 3.1. Seleção Assistida por Marcadores (SAM)

Por meio de análise de eletroforese capilar, verificou-se marcadores moleculares com padrão de eletroferograma (picos) de dominância (SAT 244, SSR 016, SAT 235 e SAT 207) e codominância (BA-124 -12K-f, CARHV 8, CARHV 9, CARF 005 e RLK 2), como relatado pelos trabalhos que identificaram e validaram estas marcas em gel de poliacrilamida (ALKIMIM et al., 2017; ALMEIDA, 2015; ALMEIDA et al., 2021; ALVARENGA et al., 2011b; BARKA et al., 2020a; COMBES et al., 2000; GICHURU et al., 2008a; MAHÉ et al., 2008).

As duas plantas F<sub>1</sub>, C12-P8-B20-E5 e C12-P22-B20-E5, que derivaram a população F<sub>2</sub>, apresentaram os genótipos aaBbC\_D\_E\_Ff e aaBBC\_D\_eeFF, com base nos marcadores moleculares analisados. A ausência do gene S<sub>H3</sub> nas duas plantas F<sub>1</sub> era esperado, uma vez que a população não deriva de cruzamentos com *C. liberica*, que é a fonte deste gene (Tabela 3). Da mesma forma, nenhum cafeeiro da população F<sub>2</sub> apresentou os marcadores para esse gene. Para incorporação do loco S<sub>H3</sub> nesse programa de melhoramento será necessário cruzar indivíduos selecionados da população F<sub>2</sub>, contendo o maior número de genes de resistência nos outros locos, com fonte de resistência para S<sub>H3</sub>.

Para os marcadores do loco B, 57,04% dos indivíduos da F<sub>2</sub> apresentaram o alelo de resistência em homozigose, 33,80% de heterozigotos e apenas 9,15% de homozigotos recessivos (sem o alelo de resistência). No loco C, a presença do alelo de resistência (C-) foi identificado em 59,15% da progênie segregante. Segundo Pestana et al. (2015) e Almeida (2021), a resistência é controlada por dois genes\QTL dominantes independentes, ou seja, a presença de um dos locos em dominância garante a resistência do genótipo às raças I, II e patótipo 001. Dessa forma, em toda a população, foram observados 112 indivíduos contendo pelo menos um alelo de resistência para ferrugem em um dos locos e, portanto, são potencialmente resistentes à raça I, à raça II e ao patótipo 01 de *H. vastatrix*.

**Tabela 3:** Seleção Assistida por Marcadores Moleculares associados a resistência do cafeeiro à ferrugem nos genes  $S_{H3}$  (loco A), QTL para resistência às raças I, II e ao patótipo 001 (Loco B e C); *NB-ARC* e *LRR* (loco D); *HdT\_LRR\_RLK2* (loco E); e *Ck-1* para CBD (Loco F).

Nº	Indivíduo	Genótipos	Nº	Indivíduo	Genótipos	Nº	Indivíduo	Genótipos	Nº	Indivíduo	Genótipos
1	Paraíso MG H419-1	aaBBccddeeff	37	T22 B20 P5	aaBbccD-eeFf	73	T23 B21 P4	aaBBC-D-E-FF	109	T23 B21 P50	aaBBC-ddE-FF
2	Catuai Vermelho	aabbccdeeFf	38	T22 B20 P6	aaBBccD-eeFF	74	T23 B21 P5	aaBBC-D-E-FF	110	T23 B22 P1	aaBBC-D-E-Ff
3	T22 B19 P1 <sup>4</sup>	aaBBC-D-E-ff	39	T22 B20 P7	aaBbccD-eeff	75	T23 B21 P6	aaBBC-ddE-FF	111	T23 B22 P3	aaBBC-D-E-FF
4	T22 B19 P3	aaBBC-ddE-Ff	40	T22 B20 P8	aaBbccD-eeFf	76	T23 B21 P7	aaBbc-D-E-Ff	112	T23 B22 P4	aaBbc-D-E-FF
5	T22 B19 P4	aaBbccddeefF	41	T22 B20 P10	aaBbccddeeff	77	T23 B21 P9	aaBBC-D-E-FF	113	T23 B22 P5	aaBBC-ddE-FF
6	T22 B19 P5	aaBbccddeeff	42	T22 B20 P11	aaBbccD-eeFf	78	T23 B21 P10	aaBbc-D-E-FF	114	T23 B22 P6	aaBBC-D-E-FF
7	T22 B19 P6	aaBbC-D-eeFf	43	T22 B20 P12	aabbccddeeff	79	T23 B21 P13	aaBbc-D-E-FF	115	T23 B22 P7	aaBBC-D-E-FF
8	T22 B19 P7	aaBbc-D-eeFf	44	T22 B20 P13	aabbccD-E-Ff	80	T23 B21 P15	aaBBC-D-E-FF	116	T23 B22 P8	aaBBC-D-E-Ff
9	T22 B19 P9	aaBbc-D-eeFf	45	T22 B20 P15	aaBBccD-E-Ff	81	T23 B21 P16	aaBBC-D-E-FF	117	T23 B22 P9	aaBBC-D-E-FF
10	T22 B19 P10	aaBbc-D-eeFF	46	T22 B20 P17	aabbccD-eeff	82	T23 B21 P17	aaBBC-D-E-FF	118	T23 B22 P11	aaBbc-D-E-Ff
11	T22 B19 P11	aaBbc-D-E-FF	47	T22 B20 P18	aaBBccD-eeFf	83	T23 B21 P18	aaBBC-ddE-FF	119	T23 B22 P12	aaBbc-D-E-FF
12	T22 B19 P12	aaBbc-D-eeFF	48	T22 B20 P20	aaBBccD-E-Ff	84	T23 B21 P19	aaBBC-ddE-FF	120	T23 B22 P14	aaBBC-ddE-FF
13	T22 B19 P13	aaBBC-D-E-Ff	49	T22 B20 P21	aaBbccD-eeFf	85	T23 B21 P20	aaBBC-ddE-Ff	121	T23 B22 P15	aaBbc-ddE-FF
14	T22 B19 P15	aaBbc-D-eeFF	50	T22 B20 P25	aabbccD-E-Ff	86	T23 B21 P21	aaBBC-D_E-FF	122	T23 B22 P17	aaBBC-D-E-FF
15	T22 B19 P16	aaBbc-D-E-Ff	51	T22 B20 P26	aabbccD-eeFf	87	T23 B21 P22	aaBBC-D-E-FF	123	T23 B22 P18	aaBBC-D-E-FF
16	T22 B19 P17	aaBbc-D-eeFf	52	T22 B20 P27	aaBBccddeE-Ff	88	T23 B21 P24	aaBBC-D-E-FF	124	T23 B22 P19	aaBBC-D-E-FF
17	T22 B19 P19	aaBBC-D-eeFf	53	T22 B20 P29	aabbccddeeff	89	T23 B21 P25	aaBBC-ddE-FF	125	T23 B22 P20	aaBBC-D-E-FF
18	T22 B19 P20	aabbccdeeFf	54	T22 B20 P30	aaBbccD-eeFF	90	T23 B21 P26	aaBBC-D-E-FF	126	T23 B22 P21	aaBBC-D-E-FF
19	T22 B19 P21	aabbccD-E-Ff	55	T22 B20 P31	aaBbccD-E-Ff	91	T23 B21 P27	aaBBC-D-E-FF	127	T23 B22 P23	aaBBC-D-E-FF
20	T22 B19 P22	aaBbccD-eeFf	56	T22 B20 P32	aaBBccD-E-FF	92	T23 B21 P28	aaBBC-D-E-FF	128	T23 B22 P25	aaBBC-D-E-FF
21	T22 B19 P26	aaBBccdeeFf	57	T22 B20 P34	aabbccD-eeFf	93	T23 B21 P29	aaBBC-D-E-FF	129	T23 B22 P28	aaBBC-ddeeFF
22	T22 B19 P35	aaBbccD-E-Ff	58	T22 B20 P35	aaBBccddeeff	94	T23 B21 P30	aaBBC-D-E-FF	130	T23 B22 P30	aaBBC-D-E-FF
23	T22 B19 P36	aaBBccD-eeFf	59	T22 B20 P36	aaBbccD-E-Ff	95	T23 B21 P31	aaBBC-D-E-FF	131	T23 B22 P34	aaBbccD-E-FF
24	T22 B19 P39	aaBbccD-E-FF	60	T22 B20 P37	aaBBccdeeFf	96	T23 B21 P32	aaBBC-D-E-FF	132	T23 B22 P35	aabbC-D-E-Ff
25	T22 B19 P40	aaBbccD-E-FF	61	T22 B20 P38	aaBbccD-E-Ff	97	T23 B21 P33	aaBBC-D-E-FF	133	T23 B22 P37	aaBBC-D-E-FF
26	T22 B19 P41	aaBbccddeefF	62	T22 B20 P40	aaBBccD-E-FF	98	T23 B21 P36	aaBBC-D-E-Ff	134	T23 B22 P38	aaBBC-D-E-FF
27	T22 B19 P42	aaBbccddeefF	63	T22 B20 P42	aaBbccD-eeFf	99	T23 B21 P37	aaBBC-ddE-FF	135	T23 B22 P39	aaBBC-D-E-FF
28	T22 B19 P43	aaBbccD-E-Ff	64	T22 B20 P43	aaBbccD-E-Ff	100	T23 B21 P39	aaBbc-ddE-FF	136	T23 B22 P40	aaBBC-D-E-FF
29	T22 B19 P44	aaBBccD-eeFf	65	T22 B20 P44	aabbccD-E-Ff	101	T23 B21 P40	aaBBC-ddE-FF	137	T23 B22 P41	aaBBC-D-E-FF
30	T22 B19 P46	aaBBccdeeFF	66	T22 B20 P46	aaBbccddeeff	102	T23 B21 P41	aaBBC-ddE-FF	138	T23 B22 P42	aaBbc-D-E-FF
31	T22 B19 P47	aaBbccD-E-Ff	67	T22 B20 P48	aabbccD-E-Ff	103	T23 B21 P42	aaBBC-ddE-FF	139	T23 B22 P43	aaBBC-D-E-FF
32	T22 B19 P48	aaBBccD-E-Ff	68	T22 B20 P49	aaBbccddeE-FF	104	T23 B21 P44	aaBBC-ddE-FF	140	T23 B22 P44	aaBBC-D-E-FF
33	T22 B19 P49	aaBbccD-eeFf	69	T22 B20 P50	aaBBccD-E-FF	105	T23 B21 P45	aaBbc-ddE-FF	141	T23 B22 P45	aaBBC-D-E-FF
34	T22 B19 P50	aaBbccddeeff	70	T23 B21 P1	aaBBccD-E-FF	106	T23 B21 P46	aaBBC-ddE-FF	142	T23 B22 P46	aaBBC-D-E-FF
35	T22 B20 P3	aabbccD-eeFf	71	T23 B21 P2	aaBbccD-E-FF	107	T23 B21 P47	aaBBC-D-E-FF	143	T23 B22 P49	aaBBC-D-E-FF
36	T22 B20 P4	aaBbccddeeff	72	T23 B21 P3	aaBBccD-E-FF	108	T23 B21 P48	aaBBC-D-E-FF	144	T23 B22 P50	aaBbc-D-E-ff

<sup>4</sup> Tratamento 22, Bloco 19, Planta 1

Para os genes clonados, 106 genótipos da população F<sub>2</sub> (74,65%) apresentaram o gene NB-ARC e LRR (Loco D) e 101 genótipos (71,13%) o HdT\_LRR\_RLK2 (Loco E). Esses genes apesar de já terem sido clonados e detalhadamente caracterizados, ainda não se conhece as raças as quais eles conferem resistência (ALMEIDA et al., 2021; ALVARENGA et al., 2011a; BARKA et al., 2020b).

Com base nos marcadores SAT 235 e SAT 207 (loco F), observou-se que 80 indivíduos dos cafeeiros analisados possuem o gene *Ck-1* em homozigose (56,34%), 50 indivíduos em heterozigose (35,21%) e somente 12 plantas (8,45%) não possuem o gene de resistência para *C. kahawae*. CBD é uma doença muito agressiva com potencial de criar colapso em sistemas produtivos que tenham cultivares suscetíveis. Pesquisas em todo o mundo são realizadas para acompanhar sua migração e variações na virulência (ALEMU et al., 2020; VIEIRA et al., 2019). Mesmo sem relatos de *C. kahawae* na América do Sul (VIEIRA et al., 2019), a introgressão do gene *Ck-1* nas variedades melhoradas consiste em importante medida de controle, caso o patógeno se instale no território. Esse melhoramento preventivo somente é possível com a implementação da SAM, para caracterizar e selecionar resistência a CBD sem a presença do patógeno (GIMASE et al., 2021).

Na análise conjunta para os quatro locos de resistência à ferrugem que segregaram (B, C, D e E), 56 indivíduos apresentaram pelo menos um alelo de resistência em cada loco (B-C-D-E-), ou seja, 39,44% da F<sub>2</sub>. Em 46 plantas (32,39%), observou-se a presença do alelo de resistência em três locos. O agrupamento de todos estes genes de resistência estudados, em um mesmo indivíduo, reflete uma piramidação gênica.

No melhoramento genético para resistência a doenças, a piramidação é a melhor forma de se obter vários locos que ofereçam resistência vertical combinados, e assim consigam limitar a infecção de várias raças do patógeno de modo simultâneo (CUI et al., 2020). Essa técnica segue a premissa de que é raro uma raça conter todos os genes de virulência, o que permite que a resistência seja mais duradoura (ZAMBOLIM; CAIXETA, 2021).

A teoria de que “para cada gene dominante de resistência no hospedeiro, há um gene dominante para avirulência no patógeno” foi proposta por Flor em 1942 e até os dias atuais é aceita para explicar a resistência nas plantas. Com base nessa teoria, para que um patógeno consiga suplantir a resistência de genótipos como os identificados neste trabalho, que contêm pelo menos quatro genes de resistência, é necessário que ocorra mutação de quatro genes de avirulência do fungo.

Além da piramidação gênica, os marcadores moleculares utilizados permitiram observar homozigose e heterozigose em alguns locos estudados. A codominância dos



marcadores para os genes Gene/QTL-GL2 e *Ck-1*, identificou que 64 indivíduos (45,07%) são homocigotos dominantes para os dois genes (BBFF), e 33 homocigotos dominantes para pelo menos um deles (23,24%). Para aumentar a acurácia de seleção visando resistência a doenças, deve-se priorizar genótipos que tenham locos em homocigose. Dessa forma, esses locos já estarão fixados e não segregarão nas próximas gerações. Os indivíduos heterocigotos, se apresentarem bom desempenho agrônômico poderão ser selecionados, no entanto, marcadores moleculares devem ser novamente utilizados para evitar a perda dos alelos de resistência.

Somente os indivíduos 41 e 51 foram homocigotos suscetíveis para todos os locos analisados, o que representa 1,4% da população F<sub>2</sub>. Essa suscetibilidade só pode ser derivada da F<sub>1</sub> C12-P8-B20-E5 (aaBbC\_D\_E\_Ff), que provavelmente está heterocigota para todos os locos. Observa-se que no genótipo da outra F<sub>1</sub> (C12-P22-B20-E5 - aaBBC\_D\_eeFF), não há possibilidade de segregação mendeliana dupla recessiva nos locos B e F. Esse progenitor heterocigoto contribuiu para que outros genótipos da população tivessem locos de suscetibilidade.

### 3.2. Análise Fenotípica

Todas as características avaliadas apresentaram variação genotípica, indicativo de variabilidade genética na população, exceto para PROD e NRP que foram nulas (Tabela 4). As maiores variâncias genotípicas foram estimadas para DCO (10,27), APL (6,18), CRP (5,99) e NNR (3,17).

Para os efeitos ambientais relatados nos blocos, houve variação de 0 a 2,30. As características DCO, CRP APL, DCA, NNR e CER, apresentaram p-valores inferiores a 1 tercil (p-valores < 0,33). Os p-valores devem ser considerados em conjunto com outras análises, por não dimensionarem magnitude e alcance dos efeitos (KARPEN, 2017).

Apesar de parecer contraditório as características ligadas a produtividade terem variâncias genotípicas mais expressivas que a própria produção, esse cenário é comum devido à pouca idade da população, como relata outros autores (BORGES et al., 2010; CARVALHO et al., 2019; DIAS et al., 2020; FEITOSA, 2017; OLIVEIRA et al., 2011). A idade precoce de avaliação e estimação de parâmetros é importante, mas insuficiente para manifestar expressão total do fenótipo. O tamanho reduzido das plantas mascara diferenças que são significativas entre os genótipos, levando os dados a valores de baixa variabilidade genética, evidenciadas no coeficiente de variação genotípica e na herdabilidade ampla das características (RESENDE et al., 2001).

**Tabela 4:** Componentes de variância e parâmetros genéticos estimados para características ligadas a produção (PROD: produção, VIG: vigor, ALT: altura de planta, TF: tamanho de fruto, DCA: diâmetro de caule, DCO: diâmetro de copa, NRP: número de ramos plagiotrópicos, CRP: comprimento de ramo plagiotrópico, NNR: número de nós no ramo plagiotrópico representativo), sanidade (FER: ferrugem e CER: cercosporiose) e qualidade de bebida (UMT: uniformidade de maturação dos frutos), nas colheitas 2018/2020 em 142 genótipos F<sub>2</sub> e duas testemunhas de café arábica.

Características												
	PROD	VIG	APL	TF	DCA	DCO	NRP	CRP	NNR	FER	CER	UMT
$\sigma_g^2$	0	0,19	6,18	0,07	0,31	10,27	0	5,99	3,17	0,02	0,12	0,22
$\sigma_i^2$	0,06	0,29	2,30	0,03	0,06	0	0,65	0	0	0,04	0,11	0
$\sigma_{res}^2$	1,39	0,93	14,48	0,40	0,59	16,20	7,57	7,72	2,84	0,31	0,33	0,45
$\sigma_{fen}^2$	1,92	0,98	254,42	0,16	354,42	354,19	55,46	93,24	18,23	0,09	0,14	0,25
<i>p-valor</i>	1	0,636	0,15	0,82	0,15	0	1	0	0,16	0,93	0,33	0,56
$h^2$	0	0,14	0,27	0,14	0,32	0,39	0	0,44	0,53	0,06	0,22	0,33
$r_{gg}$	0,15	0,27	0,39	0,25	0,61	0,62	0,13	0,71	0,95	0,09	0,75	0,89
$CV_g$	0	6,72	2,18	8,73	13,82	2,52	0,07	4,20	9,76	7,95	15,67	18,54
$CV_e$	61,41	14,86	3,34	20,87	19,06	3,17	6,33	4,76	9,23	31,28	25,99	26,51
$CV_g/CV_e$	0	0,45	0,65	0,42	0,72	0,80	0,01	0,88	1,06	0,25	0,60	0,70
$\mu$	1,92	6,49	114,00	3,03	4,03	127,07	43,48	58,34	18,25	1,78	2,21	2,53

$\sigma_G^2$ : variância genética;  $\sigma_i^2$ : variância ambiental;  $\sigma_{RES}^2$ : variância residual;  $h^2$ : herdabilidade no sentido amplo;  $r_{gg}$ : acurácia;  $CV_G$ : coeficiente de variação genética;  $CV_E$ : coeficiente de variação residual;  $CV_G/CV_E$ : razão entre coeficientes de variação genético e residual;  $\mu$ : média.

Nessa fase da cultura do café, existe altos investimentos energéticos para acumular reservas no desenvolvimento de partes vegetativas da planta. A relação fonte-dreno entre parte vegetativa e reprodutiva tende a estabilizar na maturidade fisiológica, e assim proporcionar melhores respostas genéticas. Belgo et al., 2020 afirmaram que a altura das plantas tende a estabilidade após o quarto ano de cultivo.

Outro fator contribuinte para os parâmetros genéticos baixos é o grau de parentesco entre os genitores, uma vez que ambos são cultivares derivadas de acessos de Híbridos de Timor (CARIAS et al., 2016; SETOTAW et al., 2020). Estudos prévios de diversidade genética, comprovam que o Híbrido de Timor MG 0357 e o Tupi Amarelo IAC 5162 fazem parte de grupos genéticos divergentes, porém com distância genética considerada moderada (CORREIA, 2016).

A maioria das herdabilidades no sentido amplo ficaram na faixa de 0,15 a 0,50, as quais são consideradas moderadas. O NNR foi a característica que teve maior herdabilidade (0,53), seguida por CRP (0,44) e DCO (0,22). Para APL e VIG, os valores de herdabilidade, comparados a outros trabalhos com café, se mostraram tanto superiores (BERGO et al., 2020; RESENDE et al., 2001), quanto inferiores (CARIAS et al., 2016; CARVALHO et al., 2019; FEITOSA, 2017; PETEK; SERA; FONSECA, 2008; SOUSA et al., 2019).

Feitosa (2017), também em avaliação precoce em cafeeiro, obteve herdabilidades nulas em duas de quatro safras para produção, e justifica que o resultado era previsto por ser uma característica quantitativa muito intrínseca a fatores ambientais de determinadas safras, além da jovialidade das plantas. Carvalho et al. (2019) afirmaram que os fatores como reduzido número de pais entre cruzamentos, progênies pequenas e baixo número de avaliações ao longo dos anos, contribuem para herdabilidades baixas, principalmente para produção.

A acurácia seletiva estimada variou de 13 a 95%, sendo esta influenciada por três principais fatores: (i) número de repetições; (ii) variância residual e (iii) proporção entre a variância residual e variância genética. Esse parâmetro mede o quanto o valor genético predito é similar ao valor genético real dos genótipos. Maiores acurácias inferem menor risco de erro a partir do uso da informação, denotando maior confiabilidade da predição e do processo de seleção. Dessa forma, baixos valores de acurácia indicam a necessidade de avaliação da característica nos mesmos genótipos e em mais safras, objetivando o aumento da acurácia seletiva para posterior seleção (acurácia superior a 0,80) e para recomendação (acurácia superior a 0,90) (RESENDE; ALVES, 2020).

Os coeficientes de variação genética tiveram valores de 0 a 18,54%, sendo que este parâmetro quantifica a magnitude da variação genética disponível na população para determinada característica, e, portanto, são desejáveis valores altos. A partir das estimativas do coeficiente de variação residual, com a maioria dos valores abaixo de 30%, pode-se inferir que estes indicam alta acurácia e precisão experimental para as características em estudo. Os maiores valores da razão entre  $CV_g/C_{ve}$  foram para as características ligadas a produtividade NNR (1,06), CRP (0,88) DCO (0,80). A proporção entre os coeficientes de variação experimental e de variação genotípica são um dos métodos utilizados para avaliar precisão e qualidade dos experimentos agrícolas.

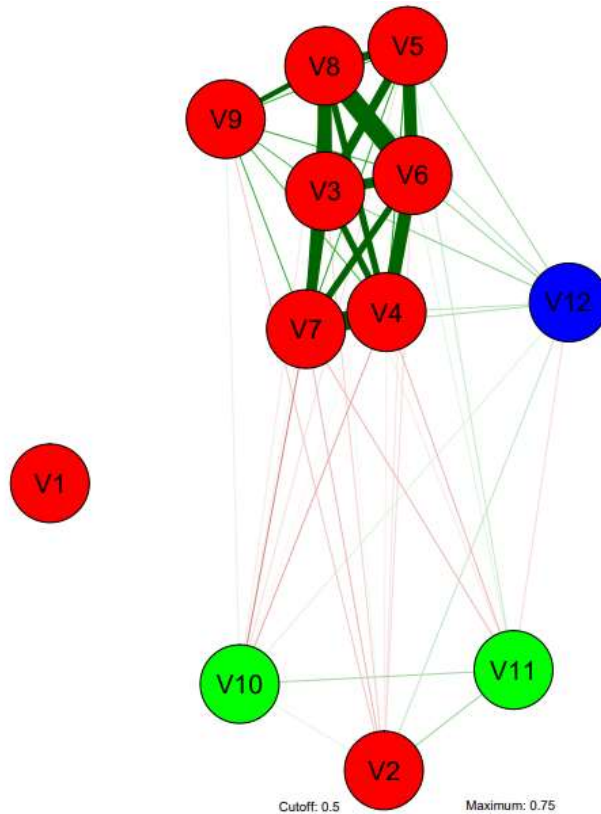
Por meio das médias fenotípicas obtidas da escala diagramática, é possível inferir que há resistência da população para severidade de FER (1,78) e para CER (2,21), que

apresentaram notas referentes a poucas lesões nas folhas. Apesar da segregação esperada em F<sub>2</sub>, a população comportar-se resistente a ferrugem é um forte indicativo que houve introgressão de genes para tal (PESTANA, 2010; SETOTAW et al., 2020; ZAMBOLIM; CAIXETA, 2018), corroborando com os dados moleculares que mostraram a piramidação de genes de resistência para ferrugem. A baixa severidade da CER pode estar relacionada a genes de resistência que ainda não foram caracterizados nestes genótipos, e ainda a boa fertilidade das plantas, que é fator decisivo para baixa incidência dessa doença (ZAMBOLIM, 2018).

As maiores correlações genéticas foram estimadas entre as características DCO/CRP (0.75), VIG/NRP (0.74), VIG/DCO (0.66) e DCA/DCO (0.64) (Figura 2). As magnitudes dos coeficientes de correlação genética podem ser classificadas em baixas de 0 a 0,33, médias de 0,33 a 0,66 e altas a partir de 0,67 (RESENDE; ALVES, 2020).

A característica APL teve correlação positiva e alta com CRP (0,67), NRP (0,62), DCO (0,62), DCA (0,60) e VIG (0,57).

Das 66 correlações entre as características, somente 17 foram negativas e de valores considerados baixos (<0.20). Todavia, dentre as maiores correlações negativas estão os pares de características VIG/CER (-0.17) e VIG/FER (-0.13), inferindo que plantas de menor vigor vegetativo tem maior incidência destas doenças. Estas correlações de sanidade podem variar de acordo com o histórico das doenças no campo produtivo, uma vez que plantas vigorosas tendem a ser mais atrativas a infecções fúngicas, e as menos vigorosas ao menor sinal do patógeno aparentam sintomas mais severos (ALMEIDA, 2019).

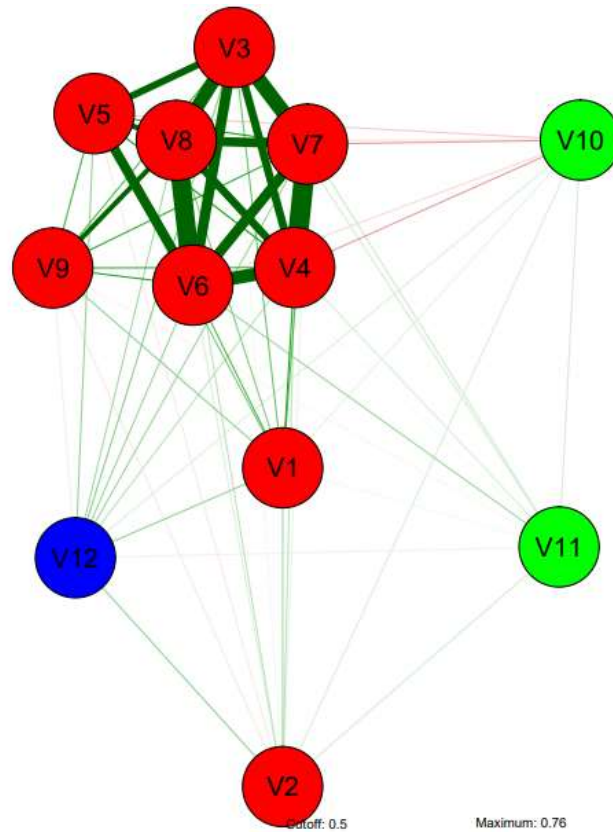


**Figura 2:** Rede de correlações genéticas de características relacionadas à produção representadas de vermelho (V1: produção, V2: tamanho de frutos, V3: altura de planta, V4: vigor, V5: diâmetro de caule, V6: diâmetro de copa, V7: número de ramos plagiotropicos, V8: comprimento de ramo plagiotropico, V9: Número de nós em ramo plagiotropico representativo), sanidade representadas de cor verde (V10: cercosporiose, V11: ferrugem) e qualidade de bebida de cor azul (V12: uniformidade de maturação dos frutos), avaliadas nas colheitas 2018/2020, em 142 genótipos F<sub>2</sub> e duas testemunhas de café arábica.

As correlações fenotípicas (Figura 3), apresentaram mais de 36% das associações acima de 0,33 (magnitude de média a alta). Esses valores podem ser utilizados para seleção de genótipos, em que determinada característica infere ganhos genéticos em outras, conforme direção e magnitude do coeficiente (CRUZ; REGAZZI; CARNEIRO, 2012a, 2012b). Correlações com valores inferiores não implicam necessariamente falta de associações entre as características, estas podem ser interpretadas como complexas, decorrente da ausência de relação linear entre as variáveis (RESENDE; ALVES, 2020).

Comparada a rede de correlações genotípicas, a fenotípica apresentou padrões semelhantes de agrupamento para as 12 características morfoagronômicas. Como demonstrado, houve fortes correlações positivas entre as características produtivas ALT, VIG,

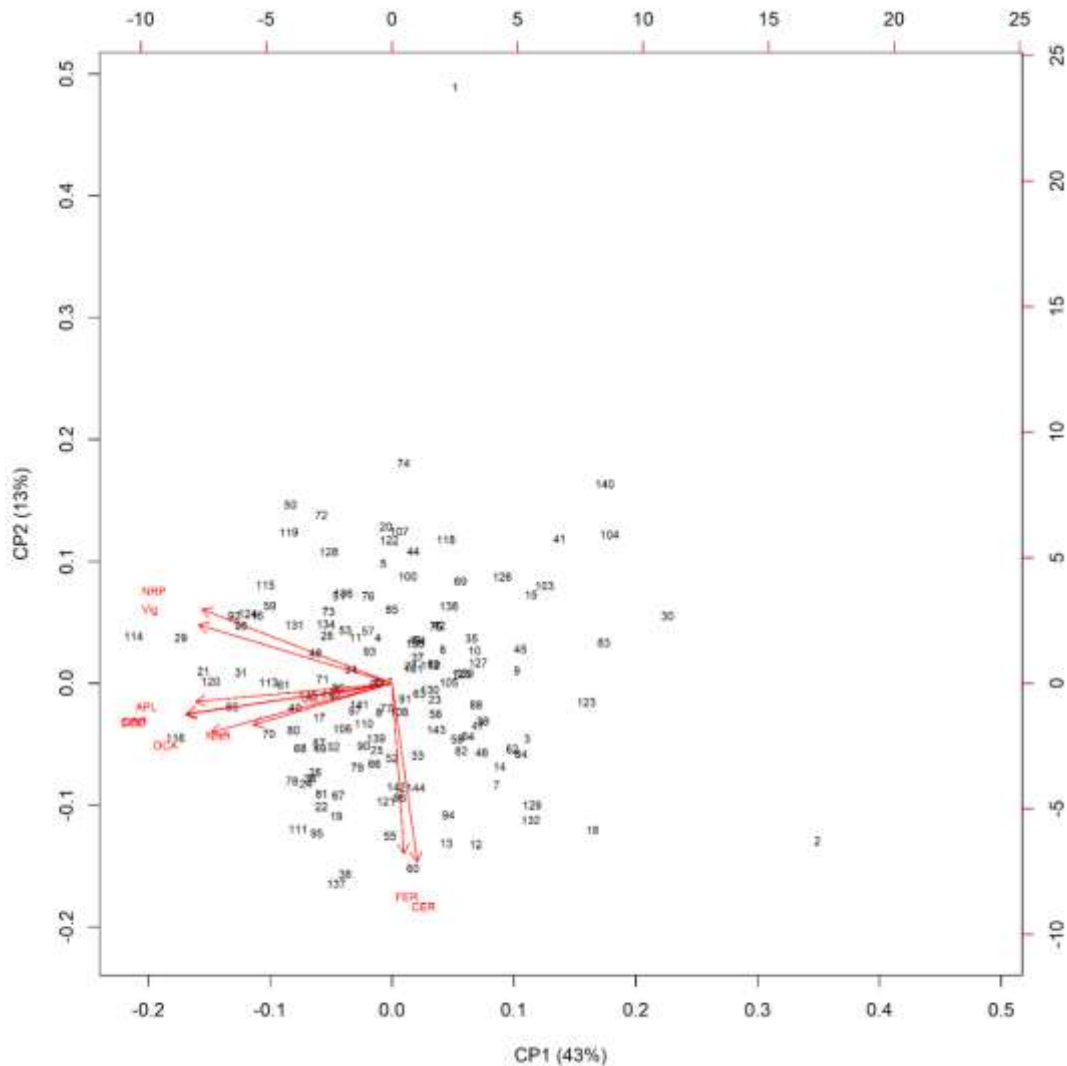
DCA, DCO, NRP, CRP, NNR e estas ficaram opostas aos grupos de sanidade e qualidade. O TF foi o parâmetro que ficou mais afastado dos demais, com muitas interações fracas e negativas.



**Figura 3:** Rede de correlações fenotípicas de características relacionadas à produção representadas de vermelho (V1: produção, V2: tamanho de frutos, V3: altura de planta, V4: vigor, V5: diâmetro de caule, V6: diâmetro de copa, V7: número de ramos plagiotrópicos, V8: comprimento de ramo plagiotropico, V9: Número de nós em ramo plagiotropico representativo), sanidade representadas de cor verde (V10: cercosporiose, V11: ferrugem) e qualidade de bebida de cor azul (V12: uniformidade de maturação dos frutos) avaliadas nas colheitas 2018/2020, em 142 genótipos F<sub>2</sub> e duas testemunhas de café arábica.

A análise de componentes principais indicou que o primeiro componente explicou 43% da variabilidade dos dados e o segundo componente explicou 13% (Figura 4). Apesar dos contrastes das características dispostas nos eixos das componentes de variância, os genótipos ficaram bem agrupados.

Esse resultado demonstra que a  $F_2$  segrega para todas as características de modo semelhantes. O padrão comportamental de semelhança, também pode ser evidenciado quando se compara a população com a dispersão das testemunhas, representados no gráfico como 1 e 2.



**Figura 4:** Gráfico de dispersão baseado na análise de componentes principais (CP1: primeiro componente principal e CP2: segundo componente principal) das características relacionadas produção (PRO), tamanho de frutos (TF), altura de planta (APL), vigor (VIG), diâmetro de caule (DCA), diâmetro de copa (DCO), número de ramos plagiotrópicos (NRP), comprimento de ramo plagiotropico (CRP), número de nós em ramo plagiotropico representativo (NNR), cercosporiose (CER), ferrugem (FER) e uniformidade de maturação dos frutos (UMT), avaliadas nas colheitas 2018/2020 em 142 genótipos  $F_2$  e duas testemunhas de café arábica.

No gráfico de componentes principais, as características VIG e NRP são correlacionados positivamente entre si, o que demonstra que plantas com alto vigor tendem a ter maior número de ramos plagiotrópicos. Também há correlação positiva entre incidência de FER e CER, que por outro lado é contrária a todas as outras características avaliadas quando se observa somente o componente de variância 1.

A APL foi a variável mais próxima de 0 do componente principal 2, o que aparenta estar oposta a VIG e NNR. Entretanto, essa alusão é somente uma distorção gráfica, uma vez que existe alta correção fenotípica e genotípica entre elas (acima de 0,57) (Figuras 2 e 3).

A altura é uma das características mais importantes a se selecionar, pois esta influencia diretamente o espaçamento de plantio e o manejo da lavoura. Em relação a colheita manual, o porte reduzido dispensa o uso de escadas e artifícios para chegar aos ramos mais altos. Reduzir a altura das plantas também é vantajoso para que maior quantidade de fotoassimilados sejam usados na formação dos frutos, e menor porção seja destinada a arquitetura foliar (CARVALHO et al., 2010).

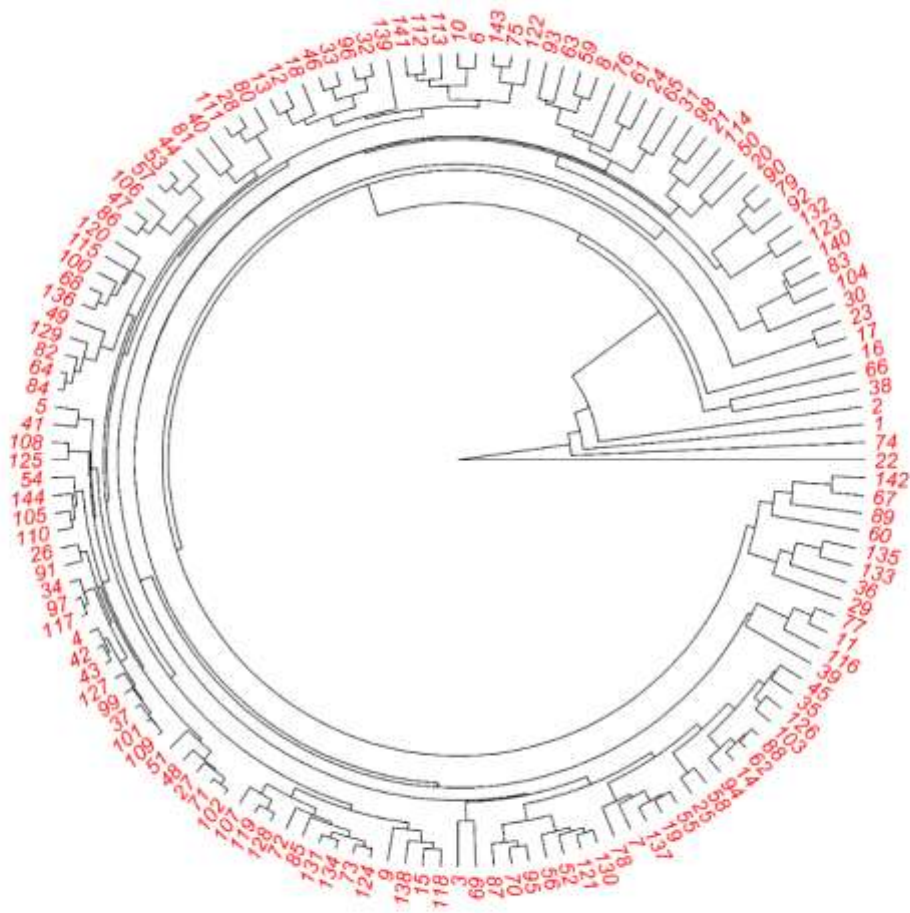
O coeficiente de correlação cofenética entre os valores da matriz de dissimilaridade e os correspondentes da matriz cofenética foi de 0,89, indicando boa acurácia na representação gráfica das distâncias no dendrograma (Figura 5).

As maiores distâncias genéticas foram observadas nos genótipos 22, 74, 1 e 2 em relação aos demais da população, sendo que o 22 não se agrupou a nenhum outro genótipo. No segundo grupo formado está o genótipo 74, ligado a um cluster com os indivíduos 1 e 2 que são as testemunhas Paraíso MG H419-1 e Catuaí Vermelho IAC 144, respectivamente. Os genótipos com os menores valores na matriz de distâncias genéticas foram o 76, 40, 67, 31, 50, 45, 83, 132.

A formação de poucos grupos está relacionada a ambos genitores serem derivados de acessos de Híbridos de Timor, e também a jovialidade da população que ainda não expressa totalmente variância genética, como evidenciado anteriormente. Além disso, naturalmente a base genética estreita do gênero *Coffea*, contribui para agrupamentos com pouca divergência (SETOTAW et al., 2013; ZAMBOLIM, 2016).

O estudo de diversidade genética deve ponderar essas peculiaridades, e ser empregado na identificação de genótipos com maiores efeitos heteróticos possíveis (CRUZ; FERREIRA; PESSONI, 2020).





**Figura 5:** Dendrograma obtido pela técnica UPGMA com base na matriz de dissimilaridade da população composta por 142 genótipos F<sub>2</sub> e duas testemunhas de café arábica segregante, nas colheitas 2018/2020.

### 3.3. Análise conjunta da genotipagem e fenotipagem

Na população F<sub>2</sub> foram identificados 41 indivíduos que apresentam os locos B e F em homozigose dominante, e os locos C, D e E com pelo menos um alelo de resistência (BBC\_D\_E\_FF) (Tabela 5).

**Tabela 5:** Médias fenotípicas dos cafeeiros da população F<sub>2</sub> que possuem genes de resistência a ferrugem e CBD nos cinco locos avaliados (genótipo BBC\_D\_E\_FF).

Nº	Indivíduo	PRO	VIG	APL	TF	DCA	DCO	NRP	CRP	NNR	FER	CER	UMT
73	T23 B21 P4	3,25	7,75	114,5	2,5	4,07	145,00	46,00	64,00	18,00	1,5	2,00	3,00
74	T23 B21 P5	1,8	8,00	134,5	3,00	3,6	60,00	48,00	60,00	17,00	1,00	2,00	3,00
77	T23 B21 P9	0,15	6,75	109,5	2,5	4,33	140,00	42,00	65,5	13,5	2,00	2,00	2,00
80	T23 B21 P15	1,75	7,25	115,5	3,00	4,11	157,5	47,00	69,00	24,5	1,5	2,5	3,00
81	T23 B21 P16	2,5	7,00	110,00	3,00	4,16	141,00	50,00	70,00	23,5	2,00	2,5	2,5
82	T23 B21 P17	1,55	6,00	107,5	3,00	3,325	114,5	46,00	53,5	17,00	2,00	2,5	2,00
86	T23 B21 P21	2,00	7,00	128,5	2,5	4,28	132,5	52,00	55,00	20,00	2,00	2,00	2,5
87	T23 B21 P22	2,05	7,00	102,5	3,00	4,97	148,5	45,00	67,00	21,00	2,00	2,00	3,00
88	T23 B21 P24	1,8	6,00	89,00	3,00	3,985	111,5	39,00	52,00	16,5	2,00	2,00	3,00
90	T23 B21 P26	2,75	7,25	108,00	3,00	4,705	134,5	37,00	60,00	22,5	2,00	2,00	2,5
91	T23 B21 P27	1,65	6,75	105,00	3,00	4,475	126,5	44,00	53,00	17,00	2,00	2,00	2,5
92	T23 B21 P28	3,1	8,00	119,00	3,5	5,795	160,00	41,00	74,5	22,00	1,5	1,5	3,00
93	T23 B21 P29	2,4	6,75	116,5	3,00	4,41	141,5	39,00	57,00	16,5	1,5	2,00	3,5
94	T23 B21 P30	1,25	6,00	101,00	2,5	4,43	124,00	36,00	51,00	17,00	2,00	2,5	3,00
95	T23 B21 P31	3,00	7,25	112,00	3,00	5,175	142,00	42,00	66,00	23,00	2,00	2,5	2,5
96	T23 B21 P32	1,8	6,75	127,5	3,00	3,94	123,5	38,00	59,5	17,00	2,00	2,5	2,5
97	T23 B21 P33	1,75	7,25	107,5	3,00	4,175	147,00	44,00	60,5	20,00	2,00	2,00	2,5
107	T23 B21 P47	0,1	7,00	110,5	3,00	4,045	117,5	43,00	58,00	19,5	1,5	1,5	2,00
108	T23 B21 P48	2,1	7,00	93,5	3,00	3,54	134,5	40,00	66,00	21,5	2,00	2,00	2,5
111	T23 B22 P3	3,00	7,25	119,5	3,00	4,345	150,00	43,00	66,5	26,5	2,00	2,5	3,00
114	T23 B22 P6	5,5	8,5	147,00	2,5	5,08	170,00	61,00	79,5	26,00	2,00	1,5	2,5
115	T23 B22 P7	2,75	8,25	133,00	2,5	3,96	139,00	55,00	71,00	22,5	1,5	2,00	2,00
117	T23 B22 P9	0,75	7,25	106,00	3,00	3,98	136,00	45,00	56,00	18,00	2,00	2,00	2,5
122	T23 B22 P17	2,8	7,00	118,5	2,5	4,325	125,00	40,00	53,5	18,00	1,00	2,00	2,5
123	T23 B22 P18	0,1	5,00	91,00	3,00	3,39	97,00	28,00	46,00	9,5	2,00	2,00	2,5
124	T23 B22 P19	0,1	8,00	130,00	3,00	4,585	152,00	53,00	70,5	19,5	1,5	2,00	3,00
125	T23 B22 P20	2,05	7,00	93,5	3,00	3,285	120,5	38,00	56,5	17,00	2,00	2,00	2,00
126	T23 B22 P21	1,8	6,00	97,5	3,00	3,775	106,5	42,00	44,00	11,5	1,5	2,00	2,5
127	T23 B22 P23	0,3	6,5	100,00	3,00	3,065	109,00	42,00	49,00	19,5	2,00	2,00	2,00
128	T23 B22 P25	4,05	7,5	109,5	3,00	4,255	141,00	43,00	68,5	20,5	1,5	1,5	2,5
130	T23 B22 P30	1,3	6,75	104,00	3,00	4,45	120,00	41,00	51,00	17,00	1,5	2,5	2,00
133	T23 B22 P37	0,1	6,00	101,00	3,00	3,8	125,5	39,00	61,5	17,00	1,5	2,00	4,00
134	T23 B22 P38	1,85	7,25	117,5	3,00	4,145	143,5	47,00	61,5	22,5	1,5	2,00	2,5
135	T23 B22 P39	0,1	7,25	116,5	3,00	4,31	142,00	51,00	64,00	18,5	1,5	2,5	4,00
136	T23 B22 P40	2,05	7,25	115,00	3,00	3,99	138,5	50,00	65,00	18,00	1,5	2,00	2,00
137	T23 B22 P41	1,00	7,00	117,00	3,00	4,67	136,00	44,00	68,00	18,00	2,00	3,00	3,00
109	T23 B22 P43	1,00	7,25	114,5	3,00	3,985	136,5	33,00	65,5	22,5	1,5	2,5	2,00
140	T23 B22 P44	0,1	6,00	78,00	3,00	2,6	100,00	30,00	40,00	11,00	1,00	2,00	2,00
141	T23 B22 P45	1,25	6,75	129,5	3,00	4,015	123,5	45,00	63,00	21,5	1,5	2,5	2,00
142	T23 B22 P46	1,25	4,25	116,5	3,00	4,26	137,5	39,00	70,00	19,5	1,5	2,5	3,00
143	T23 B22 P49	0,6	6,25	108,5	3,00	4,49	121,5	34,00	55,5	16,00	1,5	2,5	2,5

PROD: produção; VIG: vigor; ALT: altura de planta; TF: tamanho de fruto; DCA: diâmetro de caule; DCO: diâmetro de copa; NRP: número de ramos plagiotrópicos; CRP: comprimento de ramo plagiotrópico; NNR: número de nós no ramo plagiotrópico representativo; FER: ferrugem; CER: cercosporiose; UMT: uniformidade de maturação dos frutos.

Os genes duplos dominantes para *H. vastatrix* podem ter grande contribuição para que as notas fenotípicas, via escala diagramática, indicassem alta resistência com indivíduos sem sintomas da doença (nota 1) e outros com poucas folhas com lesões sem esporos (tipo “flecks”), que receberam nota 2. Ainda que não exista relatos de marcadores desenvolvidos para *C. coffeicola*, foi possível observar que estes genótipos com genes duplos dominantes, foram menos atacados (ou acometidos) pela cercosporiose (Notas de 1 a 2,5), o que pode ser um indício de certa resistência a essa doença.

De modo geral, todos os genótipos com múltiplos genes de resistência tiveram médias altas de desempenho agrônômico, considerando as características relacionadas a produção. As maiores médias produtivas foram dos indivíduos 114 e 128, com 5,5 e 4,05 litros por planta, respectivamente. Esses cafeeiros tiveram produção três vezes superior se comparados a média geral da população de 1,92 litros por planta (Tabela 4).

Os 41 genótipos com piramidação de genes de resistência, estão no mesmo agrupamento de diversidade, exceto o genótipo 74 que é o único representante do primeiro grupo formado no dendrograma (Figura 4). Esta situação é favorável para realizar cruzamentos entre genótipos de distintos grupos e avanço de geração nos genótipos de grupos similares, uma vez que todos estes indivíduos tiveram médias fenotípicas elevadas mesmo em idade precoce.

O melhoramento genético do cafeeiro se baseia na seleção simultânea de várias características, como demonstra este estudo (CRUZ; REGAZZI; CARNEIRO, 2012; VAN DER VOSSEN; BERTRAND; CHARRIER, 2015). É imprescindível que as cultivares além de resistentes a ferrugem, cercosporiose e ao CBD, sejam produtivas, vigorosas, com arquitetura de planta que facilite a colheita, e ainda que a qualidade de bebida satisfaça as exigências do mercado consumidor

#### 4. Conclusões

O cruzamento do Híbrido de Timor MG0357 com Tupi Amarelo IAC 5162, foi estrategicamente articulado para ser promissor em produção e piramidar alelos de resistência a *Hemileia vastatrix* e *Colletotrichum kahawae*, o que foi comprovado neste estudo.

A Seleção Assistida por Marcadores Moleculares (SAM) permitiu analisar a população para os genes  $S_H3$ ; gene/QTL para raças I, II e patótipo 005; gene *NB-ARC*; gene receptor *HdT\_LRR\_RLK* e ainda o gene *Ck-1*, comprovando assim que 98% da população têm algum destes genes de resistência.

Nos genes Gene/QTL-GL2 e *Ck-1* em que foram utilizados primers codominantes, observou que a maior porção genotípica era de homozigotos dominantes resistentes, sendo que 45% da população tinha ambos os genes nessa condição de dupla homozigose.

As estimativas dos parâmetros genéticos obtidos, revelam potencial de variabilidade genética a ser explorada para várias características da população, inclusive resistência a ferrugem e cercosporiose. As ótimas médias de resistência observada no campo, via escala diagramática, é um reflexo das altas taxas de locos contendo alelos de resistência identificados na genotipagem.

A produção apresentar valores considerados baixos para todos os parâmetros genéticos não é um motivo de preocupação, devido essa característica estar subestimada pela análise em idade precoce do cafeeiro e mensurada somente em duas colheitas. As baixas correlações em caracteres de sanidade e qualidade de bebida com os parâmetros de produção estão também atreladas a pouca idade da  $F_2$ .

No estudo de diversidade genética houve formação de poucos grupos de dissimilaridade, entretanto os resultados obtidos na SAM e nos parâmetros genéticos demonstram potencial de médias melhoradas altas nas próximas safras para as características fenotípicas avaliadas.

Identificou-se 41 genótipos com piramidação de cinco genes de resistência para ferrugem e CBD, sendo que estes apresentaram desempenho agrônômico satisfatório para características ligadas á produtividade.

Com base nos resultados fenotípicos e genotípicos obtidos é promissor implementar a SAM em idade precoce do cafeeiro para identificar resistência a *H. vastatrix* e *C. kahawawae*. Entretanto, é indispensável que os dados de campo continuem sendo avaliados nas próximas safras, a fim de acompanhar o desempenho produtivo da população, monitorar a efetividade dos alelos de resistência e futuramente selecionar genótipos para avanço de geração.

## 5. Referências

- Alemu, K., Adugna, G., Lemessa, F., & Muleta, D. (2020). Variation among colletotrichum isolates associated with coffee berry disease in Ethiopia. *Cogent Biology*, 6(1), 1740537. <https://doi.org/10.1080/23312025.2020.1740537>
- Alkimim, E. R., Caixeta, E. T., Sousa, T. V., Pereira, A. A., de Oliveira, A. C. B., Zambolim, L., & Sakiyama, N. S. (2017). Marker-assisted selection provides arabica coffee with genes from other Coffea species targeting on multiple resistance to rust and coffee berry disease. *Molecular Breeding*, 37(1), 6. <https://doi.org/10.1007/s11032-016-0609-1>
- Almeida, D. P. de. (2015). *Desenvolvimento e utilização de marcadores moleculares para seleção de cafeeiros resistentes à ferrugem*. Universidade Federal de Viçosa.
- Almeida, D. P. de. (2019). *Clonagem e caracterização de um novo gene putativo de resistênica do cafeeiro a Hemileia vastatrix e aplicação na seleção assistida*. Universidade Federal de Viçosa.
- Almeida, D. P. de, Castro, I. S. L., Mendes, T. A. de O., Alves, D. R., Barka, G. D., Barreiros, P. R. R. M., Zambolim, L., Sakiyama, N. S., & Caixeta, E. T. (2021). Receptor-like kinase (Rlk) as a candidate gene conferring resistance to *Hemileia vastatrix* in coffee. *Scientia Agricola*, 78(6), 1–9. <https://doi.org/10.1590/1678-992x-2020-0023>
- Alvarenga, S. M., Caixeta, E. T., Hufnagel, B., Thiebaut, F., Maciel-Zambolim, E., Zambolim, L., & Sakiyama, N. S. (2011). Molecular markers from coffee genome expressed sequences potentially involved in resistance to rust. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, 46(8), 890–898. <https://doi.org/10.1590/s0100-204x2011000800015>
- Alves, R. S. (2016). *BLUP via modelos de normas de reação na avaliação da interação genótipos x ambientes em plantas*. Universidade Federal de Viçosa.
- Azevedo de Paula, Paulo V. A., Pozza, E. A., Santos, L. A., Chaves, E., Maciel, M. P., & Paula, J. C. A. (2016). Diagrammatic Scales for Assessing Brown Eye Spot (*Cercospora coffeicola*) in Red and Yellow Coffee Cherries. *Journal of Phytopathology*, 164(10), 791–800. <https://doi.org/10.1111/jph.12499>
- Azevedo de Paula, Paulo Victor Augusto, Pozza, E. A., Alves, E., Moreira, S. I., Paula, J. C. A., & Santos, L. A. (2019). Infection process of *Cercospora coffeicola* in immature coffee fruits. *Coffee Science*, 14(1), 127–130.

- Barka, G. D., Caixeta, E. T., Ferreira, S. S., & Zambolim, L. (2020). In silico guided structural and functional analysis of genes with potential involvement in resistance to coffee leaf rust: A functional marker based approach. *Plos One*, *15*(7), e0222747. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222747>
- Batista, D., Silva, D. N., Vieira, A., Cabral, A., Pires, A. S., Loureiro, A., Guerra-Guimarães, L., Pereira, A. P., Azinheira, H., Talhinhos, P., Silva, M. do C., & Várzea, V. (2017). Legitimacy and implications of reducing *Colletotrichum kahawae* to subspecies in plant Pathology. *Frontiers in Plant Science*, *7*, 2051. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.02051>
- Bergo, C. L., Miqueloni, D. P., Lunz, A. M. P., & de Assis, G. M. L. (2020). Estimation of genetic parameters and selection of *Coffea canephora* progenies evaluated in Brazilian Western Amazon. *Coffee Science*, *15*(1), 1–10. <https://doi.org/10.25186/V15I1.1663>
- Borges, V., Soares, A. A., Reis, M. S., Resende, M. D. V., Cornélio, V. M. O., Leite, N. A., & Vieira, A. R. (2010). Genotypic performance of lines of the upland rice using mixed model. *Bragantia*, *69*(4), 833–842. <https://doi.org/10.1590/s0006-87052010000400008>
- Brasil. (2020). *Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*. [http://sistemas.agricultura.gov.br/snpc/cultivarweb/cultivares\\_registradas.php](http://sistemas.agricultura.gov.br/snpc/cultivarweb/cultivares_registradas.php)
- Brito, G. G. de, Caixeta, E. T., Gallina, A. P., Zambolim, E. M., Zambolim, L., Diola, V., & Loureiro, M. E. (2010). Inheritance of coffee leaf rust resistance and identification of AFLP markers linked to the resistance gene. *Euphytica*, *173*(2), 255–264. <https://doi.org/10.1007/s10681-010-0119-x>
- Caixeta, E. T. (2013). Marcadores Moleculares. In A. Borém & R. Fritsche-Neto (Eds.), *Biotechnologia aplicada ao melhoramento de plantas* (1st ed., pp. 31–68). Suprema.
- Caixeta, E. T., Carvalho, C. H. S. de., Zambolim, E. M., Pererira, L. F. P., & SAKIYAMA, N. S. (2007). Biotechnologia aplicada ao desenvolvimento de cultivares de café. In C. H. S. Carvalho (Ed.), *Cultivares de café* (1st ed., pp. 83–95). Embrapa.
- Carias, C. M. de O. M., Gravina, G. do A., Ferrão, M. A. G., da Fonseca, A. F. A., Ferrão, R. G., Vivas, M., & Viana, A. P. (2016). Predição de ganhos genéticos via modelos mistos em progênies de café conilon. *Coffee Science*, *11*(1), 39–45.
- Carvalho, G. R., Ferreira, A. D., Carvalho, A. M., Botelho, C. E., Paiva, R. F. de; & Rezende, J. C. de. (2010). Desempenho das variedades de café arábica nas diferentes regiões do

- estado de Minas Gerais: Produtividade, qualidade, resistência a doenças e estiagem. In: Z. Laercio, E. Caixeta, & E. M. Zambolim (Eds.), *Estratégias para produção de café com qualidade e sustentabilidade* (1st ed., pp. 85–127). 2010.
- Carvalho, H. F., Silva, F. L. da, Resende, M. D. V. De, & Bhering, L. L. (2019). Selection and genetic parameters for interpopulation hybrids between kouilou and robusta coffee. *Bragantia*, 78(1), 52–59. <https://doi.org/10.1590/1678-4499.2018124>
- Cecafé (2020). *Relatório de exportações - Cecafé*. <https://www.cecafe.com.br/publicacoes/relatorio-de-exportacoes/>
- Combes, M. C., Andrzejewski, S., Anthony, F., Bertrand, B., Rovelli, P., Graziosi, G., & Lashermes, P. (2000). Characterization of microsatellite loci in *Coffea arabica* and related coffee species. *Molecular Ecology*, 9(8), 1178–1180. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2000.00954-5.x>
- Conab, C. N. de A. (2020). *Série Histórica de produção de café arábica no Brasil*. <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/serie-historica-das-safras>
- Correia, A. M. (2016). *Diversidade genética e análise dialélica de progenitores no melhoramento genético de Coffea arabica*. Universidade Federal de Viçosa.
- Cruz, Cosme Damião, Regazzi, A. J., & Carneiro, P. C. S. (2012a). Relação entre caracteres. In: Cosme Damião; Cruz, A. J. Regazzi, & P. C. S. Carneiro (Eds.), *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético* (4th ed., pp. 179–209). UFV.
- Cruz, Cosme Damião, Ferreira, F. M., & Pessoni, L. A. (2020). *Biometria aplicada ao estudo da diversidade genética* (Cosme Damião Cruz, F. M. Ferreira, & L. A. Pessoni (eds.); 2nd ed.). UFV.
- Cruz, Cosme Damião, Regazzi, A. J., & Carneiro, P. C. S. (2012b). Ganhos por seleção. In Cosme Damião Cruz, A. J. Regazzi, & P. C. S. Carneiro (Eds.), *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético* (4th ed., pp. 210–235). UFV.
- Cui, L., Hanika, K., Visser, R. G. F., & Bai, Y. (2020). Improving pathogen resistance by exploiting plant susceptibility genes in coffee (*Coffea* spp.). *Agronomy*, 10(12), 1928. <https://doi.org/10.3390/agronomy10121928>
- Davis, A. P., Tosh, J., Ruch, N., & Fay, M. F. (2011). Growing coffee: *Psilanthus* (Rubiaceae) subsumed on the basis of molecular and morphological data; implications

- for the size, morphology, distribution and evolutionary history of *Coffea*. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 167(4), 357–377. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2011.01177.x>
- Dias, R. E. B. A., Dias, R. A. A., Botelho, C. E., Abrahão, J. C. de R., Rezende, T. T., & Carvalho, G. R. (2020). Genetic determination of characteristics related to semi-mechanized coffee harvests. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 20(1), 2020. <https://doi.org/10.1590/1984-70332020v20n1n16>
- Diniz, I., Azinheira, H., Figueiredo, A., Gichuru, E., Oliveira, H., Guerra-Guimarães, L., & Silva, M. C. (2019). Fungal penetration associated with recognition, signaling and defence-related genes and peroxidase activity during the resistance response of coffee to *Colletotrichum kahawae*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 105, 119–127. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2017.12.005>
- Diniz, L. E. C., Sakiyama, N. S., Lashermes, P., Caixeta, E. T., Oliveira, A. C. B., Loureiro, M. E., Pereira, A. A., & Zambolim, L. (2005). Analysis of AFLP markers associated to the Mex-1 resistance locus in Icatu progenies. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 5, 387–393.
- Diola, V., Brito, G. G. de, Caixeta, E. T., Zambolim, E. M., Sakiyama, N. S., & Loureiro, M. E. (2011). High-density genetic mapping for coffee leaf rust resistance. *Tree Genetics & Genomes*, 7, 1199–1208. <https://doi.org/10.1007/s11295-011-0406-2>
- Fazuoli, L. C., Carvalho, C. H. S. de, Carvalho, G. R., Filho, O. G., Pereira, A. A., Almeida, S. R. de, Mariello, J. B., Bartholo, G. F., Sera, T., Moura, W. de M., Mendes, A. N. G., Fonseca, A. F. A. da, Ferrão, M. A. G., Ferrão, R. Ga., Nacif, A. de P., & Silvarolla, M. B. (2008). Cultivares de café arábica. In C. H. S. de Carvalho (Ed.), *Cultivares de café* (1st ed., Vol. 1, pp. 125–198). Embrapa.
- Feitosa, F. de M. (2017). *Parâmetros genéticos e seleção de genótipos de café arabica com base em REML/BLUP e marcadores moleculares*. Universidade Federal de Viçosa.
- Flor, H. H. (1942). Inheritance of pathogenicity of *Melampsora lini*. *Phytopathology*, 32, 653–667.
- Gichuru, E. K., Agwanda, C. O., Combes, M. C., Mutitu, E. W., Ngugi, E. C. K., Bertrand, B., & Lashermes, P. (2008). Identification of molecular markers linked to a gene



- conferring resistance to coffee berry disease (*Colletotrichum kahawae*) in *Coffea arabica*. *Plant Pathology*, 57(6), 1117–1124. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2008.01846.x>
- Gimase, M. J., Thagana, W. M., Omondi, C. O., Cheserek, J. J., Gichimu, B. M., Gichuru, E. K., Ziyomo, C., & Sneller, C. H. (2021). Genome-Wide Association Study identify the genetic loci conferring resistance to Coffee Berry Disease (*Colletotrichum kahawae*) in *Coffea arabica* var. Rume Sudan. *Springer*, 216:86, 85–87. <https://doi.org/10.1007/s10681-020-02621-x>
- Guimarães, C. T., Schuster, I., Magalhães, J. V. de, & Souza Junior, C. L. de S. (2016). Marcadores moleculares no melhoramento de Plantas. In A. Borém & E. T. Caixeta (Eds.), *Marcadores moleculares* (2nd ed., pp. 129–177). UFV.
- ICO. (2020). *Consumption and production*. [http://www.ico.org/trade\\_statistics.asp?section=Statistics](http://www.ico.org/trade_statistics.asp?section=Statistics)
- Karpen, S. C. (2017). P Value Problems. *American Journal of Pharmaceutical Education*. <https://doi.org/10.5688/ajpe6570>
- Landau, E. C., Silva, G. A. da, & Moura, L. (2020). Evolução da produção de café (*Coffea arabica* e *Coffea canephora*, Rubiaceae). In E. C. Landau, G. A. da Silva, L. Moura, A. Hirsch, & D. P. Guimarães (Eds.), *Dinâmica da produção agropecuária e da paisagem natural no Brasil nas últimas décadas: Produtos de Origem Vegetal* (1st ed., pp. 557–622). Embrapa. <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/1122548>
- Lemma, D. T., & Abewoy, D. (2021). Review on integrated pest management of Coffee Berry Disease and Coffe Berry Borer. *International Journal of Plant Breeding and Crop Science*, 8(1), 1001–1008.
- Machado De Oliveira, C., Carias, M., Do Amaral Gravina, G., Amélia, M., Ferrão, G., Almeida Da Fonseca, A. F., Ferrão, R. G., Vivas, M., & Pio Viana, A. (2016). Predição de ganhos genéticos via modelos mistos em Progênes de café conilon Prediction of genetic gains by mixed models in conilon coffee Progenies. *Coff Ee Science*, 11, 39–45.
- Mahé, L., Combes, M. C., Várzea, V. M. P., Guilhaumon, C., & Lashermes, P. (2008). Development of sequence characterized DNA markers linked to leaf rust (*Hemileia vastatrix*) resistance in coffee (*Coffea arabica* L.). *Molecular Breeding*, 21(1), 105–113.

<https://doi.org/10.1007/s11032-007-9112-z>

- Mendes, A. N. G., Carvalho, G. R., Botelho, C. E., Fazuoli, L. C., & Silvarolla, M. B. (2008). Cultivares de importância histórica ou para a pesquisa. In C. H. S. de Carvalho (Ed.), *Cultivares de Café* (1st ed., pp. 219–226).
- Merot-L'anthoene, V., Tournebize, R., Darracq, O., Rattina, V., Lepelley, M., Bellanger, L., Tranchant-Dubreuil, C., Coulée, M., Pégard, M., Metairon, S., Fournier, C., Stoffelen, P., Janssens, S. B., Kiwuka, C., Musoli, P., Sumirat, U., Legnaté, H., Kambale, J., Ferreira da Costa Neto, J., ... Poncet, V. (2019). Development and evaluation of a genome-wide Coffee 8.5K SNP array and its application for high-density genetic mapping and for investigating the origin of *Coffea arabica* L. *Plant Biotechnology Journal*, *17*(7), 1418–1430. <https://doi.org/10.1111/pbi.13066>
- Mistro, J. C., Resende, M. D. V. de, Fazuoli, L. C., & Vencovsky, R. (2019). Effective population size and genetic gain expected in a population of *Coffea canephora*. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, *19*(1), 1–17. <https://doi.org/10.1590/1984-70332019v19n1a01>
- Morais, T. P. de, & Melo, B. de. (2011). Biotecnologia aplicada ao melhoramento genético do cafeeiro. *Ciencia Rural*, *41*(5), 753–760. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782011005000056>
- Oliveira, A. C. B., Pereira, A. A., da Silva, Felipe Lopes Rezende, J. C., Botelho, C. E., & Carvalho, G. R. (2011). Prediction of genetic gains from selection in Arabica coffee progenies. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, *11*(2), 106–113. <https://doi.org/10.1590/s1984-70332011000200002>
- Pereira, D. R., Nadaleti, D. H., Rodrigues, E. C., Silva, A. D., Malta, M. R., Carvalho, S. P., & Carvalho, G. R. (2020). Genetic and chemical control of coffee rust (*Hemileia vastatrix* Berk et Br.): impacts on coffee (*Coffea arabica* L.) quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *1*, 1–10. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10914>
- Pereira, F. A. C., Carvalho, S. P., Rezende, T. T., Oliveira, L. L., & Maia, D. R. B. (2018). Selection of *Coffea arabica* L. Hybrids using mixed models with different structures of variance-covariance matrices. *Coffee Science*, *13*(3), 304–311. <https://doi.org/10.25186/cs.v13i3.1444>

- Pereira, T. B., Carvalho, J. P. F., Botelho, C. E., Resende, M. D. V. de, Rezende, J. C. de, & Mendes, A. N. G. (2013). Eficiência da seleção de progênies de café F4 pela metodologia de modelos mistos (REML/BLUP). *Bragantia*, 72(3), 230–236. <https://doi.org/10.1590/brag.2013.031>
- Pestana, K. N. (2010). *Caracterização fenotípica e molecular da resistênica do cafeeiro Híbrido de Timor a Hemileia vastatrix*. Universidade Federal de Viçosa.
- Pestana, K. N., Capucho, A. S., Caixeta, E. T., de Almeida, D. P., Zambolim, E. M., Cruz, C. D., Zambolim, L., Pereira, A. A., de Oliveira, A. C. B., & Sakiyama, N. S. (2015). Inheritance study and linkage mapping of resistance loci to *Hemileia vastatrix* in Híbrido de Timor UFV 443-03. *Tree Genetics and Genomes*, 11(4), 1–13. <https://doi.org/10.1007/s11295-015-0903-9>
- Petek, M. R., Sera, T., & Fonseca, I. C. de B. (2008). Predição de valores genéticos aditivos na seleção visando obter cultivares de café mais resistentes à ferrugem. *Bragantia*, 67(1), 133–140. <https://doi.org/10.1590/s0006-87052008000100016>
- Prakash, N. S., Marques, D. V., Varzea, V. M. P., Silva, M. C., Combes, M. C., & Lashermes, P. (2004). Introgression molecular analysis of a leaf rust resistance gene from *Coffea liberica* into *C. arabica* L. *Theoretical and Applied Genetics*, 109(6), 1311–1317. <https://doi.org/10.1007/s00122-004-1748-z>
- R Core Team. (2018). R: A Language and environment for Statistical Computing. *R Foundation for Statistical Computing*, 16. <https://doi.org/10.1016/j.dendro.2008.01.002>
- Resende, Marcos Deon Vilela de. (2016). Software Selegen-REML/BLUP: A useful tool for plant breeding. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 16(4), 330–339. <https://doi.org/10.1590/1984-70332016v16n4a49>
- Resende, Marcos Deon Vilela de, Furlani-Júnior, E., Moraes, M. L. T. de, & Fazuoli, L. C. (2001). Estimation of genetic parameters and prediction of genotypic values in coffee breeding by the REML/BLUP method. *Bragantia*, 60(3), 185–193. <https://doi.org/10.1590/s0006-87052001000300005>
- Resende, Marcos Deon Vilela de, Prates, D. F., Jesus, A. de, & Yamada, C. K. (1996). Melhor predição linear não viciada (BLUP) de valores genéticos no melhoramento de pinus. *Boletim de Pesquisa Florestal*, 32/33, 3–22.

- Resende, Marcos Doen Vilela de, Silva, F. F., & Lopes, P. S. (2012). Fundamentos estatísticos da seleção genética. In Marcos Doen Vilela de Resende, F. F. Silva, & P. S. Lopes (Eds.), *Seleção Genômica Ampla (GWS) via Modelos Mistos (REML/BLUP), Inferência Bayesiana (MCMC), Regressão Aleatória Multivariada (RRM) e Estatística espacial* (1st ed., pp. 7–79). UFV.
- Resende, Marcos Deon Vilela, & Alves, R. S. (2020). Linear, generalized, hierarchical, Bayesian and random regression mixed models in genetics/genomics in plant breeding. *Functional Plant Breeding Journal*, 2, 1–31.
- Romero, G., Vásquez, L. M., Lashermes, P., & Herrera, J. C. (2014). Identification of a major QTL for adult plant resistance to coffee leaf rust (*Hemileia vastatrix*) in the natural Timor hybrid (*Coffea arabica* x *C. canephora*). *Plant Breeding*, 133(1), 121–129. <https://doi.org/10.1111/pbr.12127>
- Saavedra Tobar, L. M. (2019). *Piramidação de alelos de resistência á patógenos em cafeeiros arábica utilizando seleção recorrente assistida por marcadores moleculares*. Universidade Federal de Viçosa.
- Setotaw, T. A., Caixeta, E. T., Pereira, A. A., de Oliveira, A. C. B., Cruz, C. D., Zambolim, E. M., Zambolim, L., & Sakiyama, N. S. (2013). Coefficient of Parentage in *Coffea arabica* L. Cultivars Grown in Brazil. *Crop Science*, 53(4), 1237–1247. <https://doi.org/10.2135/cropsci2012.09.0541>
- Setotaw, T. A., Caixeta, E. T., Zambolim, E. M., Sousa, T. V., Pereira, A. A., Baião, A. C., Cruz, C. D., Zambolim, L., & Sakiyama, N. S. (2020). Genome Introgression of Híbrido de Timor and Its Potential to Develop High Cup Quality *C. arabica* Cultivars. *Journal of Agricultural Science*, 12(4), 64. <https://doi.org/10.5539/jas.v12n4p64>
- Sousa, Tiago Vieira, Cixeta, E. T., Alkimim, E. R., Oliveira, A. C. B. de, Pereira, A. A., Zambolim, L., & Sakiyama, N. S. (2017). Molecular markers useful to discriminate *Coffea arabica* cultivars with high genetic similarity. *Euphytica*, 213, 1–15. <https://doi.org/10.1007/s10681-017-1865-9>
- Sousa, Tiago Vieira. (2017). *Diversidade genética, ganhos com seleção e seleção genômica amplan na espécie Coffea arabica*. Universidade Federal de Viçosa.
- Sousa, Tiago Vieira, Caixeta, E. T., Alkimim, E. R., Oliveira, A. C. B., Pereira, A. A.,

- Sakiyama, N. S., Zambolim, L., & Resende, M. D. V. (2019). Early selection enabled by the implementation of genomic selection in *Coffea arabica* breeding. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1934. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01934>
- Truchetto, C., Turchetto-Zolet, A. C., Passaia, G., & Zanella, C. M. Z. (2017). Marcadores genéticos baseados em DNA. In A. C. Turchetto-Zolet, C. Truchetto, C. M. Z. Zanella, & G. Passaia (Eds.), *Marcadores Moleculares na Era Genômica: Metodologias e Aplicações* (1st ed., Vol. 1, pp. 12–20). Sociedade Brasileira de Genética.
- Vale, P. A. S., de Resende, M. L. V., dos Santos Botelho, D. M., de Andrade, C. C. L., Alves, E., Ogoshi, C., da Silva Costa Guimarães, S., & Pfenning, L. H. (2020). Epitypification of *Cercospora coffeicola* and its involvement with two different symptoms on coffee leaves in Brazil. *European Journal of Plant Pathology*, 159(2), 399–408. <https://doi.org/10.1007/s10658-020-02170-y>
- Van Der Vossen, H. A. M., & Walyaro, D. J. (1980). Breeding for resistance to coffee berry disease in *Coffea arabica* L. II. Inheritance of the resistance. *Euphytica*, 29(3), 777–791. <https://doi.org/10.1007/BF00023225>
- Van der Vossen, H., Bertrand, B., & Charrier, A. (2015). Next generation variety development for sustainable production of arabica coffee (*Coffea arabica* L.): a review. *Euphytica*, 204(2), 243–256. <https://doi.org/10.1007/s10681-015-1398-z>
- Várzea, V. M. P., & Marques, D. V. P. (2005). Population variability of *Hemileia vastatrix* vs. *Coffee Durable Resistance*. In E. M. . V. ZAMBOLIM, L.; ZAMBOLIM & V.M.P. (Eds.), *Durable resistance to coffee leaf rust*. (1st ed., pp. 53–74). UFV.
- Vieira, A., Diniz, I., Loureiro, A., Pereira, A. P., Silva, M. C., Várzea, V., & Batista, D. (2019). Aggressiveness profiling of the coffee pathogen *Colletotrichum kahawae*. *Plant Pathology*, 68(2), 358–368. <https://doi.org/10.1111/ppa.12950>
- Zambolim, L. (2016). Current status and management of coffee leaf rust in Brazil. *Tropical Plant Pathology*, 41(1), 1–8. <https://doi.org/10.1007/s40858-016-0065-9>
- Zambolim, L. (2018). Mancha de olho pardo. In L. Zambolim & B. M. Brenes (Eds.), *Doenças do café no Brasil – Enfermedades del café en Central – América* (1st ed., pp. 65–75). UFV.
- Zambolim, L., & Caixeta, E. T. (2018). Ferrugem. In L. Zambolim & B. M. Brenes (Eds.),

*Doenças do café no Brasil – Enfermedades del café en Central – América* (1st ed., pp. 17–48). UFV.

Zambolim, L., & Caixeta, E. T. (2021). An overview of physiological specialization of coffee leaf rust - new designation of pathotypes. *International Journal of Current Research*, 13(01), 1556<sup>i</sup>4–15575. <https://doi.org/10.24941/ijcr.40600.01.2021>

---