

RAFAEL VAGO GONZALES

**DIVERSIDADE GENÉTICA E RESISTÊNCIA DE *Coffea canephora* À
FERRUGEM E À ANTRACNOSE DOS FRUTOS VERDES.**

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

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2019

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

G643d
2019
Gonzales, Rafael Vago, 1992-
Diversidade genética e resistência de *Coffea canephora* à
ferrugem e à antracnose dos frutos verdes / Rafael Vago
Gonzales. – Viçosa, MG, 2019.
ix, 44 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Laércio Zambolim.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 33-44.

1. Café - Genética. 2. Marcadores genéticos. 3. *Hemileia
vastatrix*. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de
Fitopatologia. Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia.
II. Título.

CDD 22. ed. 633.732

Ficha catalográfica

RAFAEL VAGO GONZALES

**DIVERSIDADE GENÉTICA E RESISTÊNCIA DE *Coffea canephora* À
FERRUGEM E À ANTRACNOSE DOS FRUTOS VERDES.**

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

APROVADA: __ Fevereiro de 2019

Antonio Carlos Baião de Oliveira

Eveline Teixeira Caixeta

Renato Domiciano Silva Rosado
(Co-orientador)

Prof. Laércio Zambolim
(Orientador)

Aos meus pais, Jarbas Jorge Gonzales (in memorian) e
Gisele Maria Vago Gonzales,

A minha irmã, Roberta Vago Gonzales,

Aos meus amigos e familiares,
que sempre acreditaram em mim, dedico.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me guardar mesmo quando não mereci, me dar forças quando mais precisei e por me abençoar colocando pessoas de luz nos momentos certos na minha vida.

Ao meu pai, Jarbas Jorge Gonzales, pelos ensinamentos sobre caráter, perseverança e bondade.

À minha mãe, Gisele Maria Vago Gonzales, pelas lições de generosidade, amor ao próximo e fé.

Aos meus familiares e amigos pelo apoio, confiança e amor.

Ao meu orientador Laércio Zambolim, pelos ensinamentos, conselhos, confiança, companheirismo, amizade, pelos recursos e infraestrutura disponibilizada para realização deste trabalho.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Fitopatologia, pela oportunidade de realização deste curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pela concessão da bolsa de estudo.

Ao Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (Bioagro), pela infraestrutura disponibilizada à realização do trabalho.

À doutora Eveline Teixeira Caixeta, pelos ensinamentos, pela paciência, pelos recursos e infraestrutura disponibilizada para realização deste trabalho.

À toda equipe do Laboratório de Proteção de Plantas pelo companheirismo e apoio na realização deste trabalho.

À toda equipe do Laboratório de Biotecnologia do Cafeeiro, pela amizade e companheirismo.

À Dênia Pires Almeida, pelos ensinamentos, paciência, companheirismo, amizade e fundamental apoio na realização deste trabalho.

Aos doutores Renato Domiciano Silva Rosado e Tiago Vieira Souza pelos ensinamentos sobre genética e estatística, fundamentais para interpretação e discussão deste trabalho.

Ao pesquisador Antonio Carlos Baiao de Oliveira pela ilustre presença na banca de defesa.

Ao meu amigo Sérgio Milagres pela ajuda nas coletas de material em campo.

Aos Professores do Departamento de Fitopatologia pelos ensinamentos e amizade.

A todos os funcionários do viveiro do café, em especial ao Geraldo e Mario, pelo apoio nas atividades em casa de vegetação.

Muito Obrigado!

BIOGRAFIA

RAFAEL VAGO GONZALES, filho de Jarbas Jorge Gonzales e Giseli Maria Vago Gonzales, nasceu em Colatina, Espírito Santo, em 04 de Março de 1992. Em Março de 2012, ingressou no curso superior de Agronomia no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo - Campus Santa Teresa. De Maio de 2013 à Dezembro de 2016 atuou no Laboratório de Fitopatologia e Microbiologia da mesma instituição, desenvolvendo atividades de pesquisa, ensino e extensão nas condições de voluntário, estagiário, bolsista de iniciação científica e bolsista de apoio técnico e extensão. Em Janeiro de 2017, concluiu a graduação em Agronomia, ingressando no mesmo ano no curso de pós-graduação, a nível de mestrado, em Fitopatologia pela Universidade Federal de Viçosa, submetendo-se a defesa de dissertação em 28 de Fevereiro de 2019.

SUMÁRIO

RESUMO	vi
ABSTRACT	viii
1. INTRODUÇÃO	10
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	14
2.1. Material genético e extração de DNA.....	14
2.2. Análise de diversidade genética	16
2.3. Amplificação de Marcadores ligados ao gene S _{H3}	17
2.4. Amplificação de Marcadores ligados a QTL de resistência a H. vastatrix.....	17
2.5. Amplificação de Marcadores SSR ligados ao gene Ck-1	18
2.6. Avaliação dos produtos das ampliações.....	18
2.7. Resistência de genótipos de Coffea canephora às raças II e XXXIII de H. vastatrix.....	19
2.7.1. Seleção e obtenção de material genético.....	19
2.7.2. Obtenção e Multiplicação de Isolados de H. vastatrix	20
2.7.3. Inoculação e Avaliação das Componentes de Resistência.....	21
2.7.4. Análise estatística das Componentes de Resistência.....	22
3. RESULTADOS.....	23
3.1. Análise de diversidade com base em marcadores SSR.....	23
3.2. Amplificação de Marcadores ligados ao gene S _{H3}	25
3.3. Amplificação de marcadores ligados a QTL associado à resistência a H. vastatrix.....	25
3.4. Amplificação de Marcadores SSR ligados ao gene Ck-1	25
3.5. Resistência de genótipos de Coffea canephora às raças II e XXXIII de H. vastatrix.....	26
4. DISCUSSÃO	31
4.1. Diversidade Genética	31
4.2. Genótipos portando marcadores para genes de resistência à Ferrugem-do-Cafeeiro e à CBD.....	34
4.3. Resistência de genótipos de Coffea canephora às raças II e XXXIII de H. vastatrix.....	36
5. CONCLUSÕES	41
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42

RESUMO

GONZALES, Rafael Vago, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, 28 de Fevereiro de 2019. DIVERSIDADE GENÉTICA E RESISTÊNCIA DE *Coffea canephora* À FERRUGEM E À ANTRACNOSE DOS FRUTOS VERDES. Orientador: Laércio Zambolim. Coorientador: Renato Domiciano Rosado Silva

O café Conilon (*Coffea canephora*) é o principal produto do agronegócio do Estado do Espírito Santo, onde a maior parte dos genótipos cultivados é oriunda de cruzamentos espontâneos e seleção realizada de forma empírica por produtores e viveiristas. São escassos estudos científicos sobre diversidade genética e resistência à doenças nestes materiais. O presente trabalho avaliou a diversidade genética em uma população composta por 124 genótipos de *C. canephora*, a partir da amplificação de 12 marcadores moleculares do tipo SSR, seguida de eletroforese em gel de poliacrilamida e coloração do gel em solução de nitrato de prata para avaliação dos loci polimórficos. Foi obtida a matriz de distância genética pelo método do complemento, com índice ponderado, a qual foi utilizada para análise de agrupamento pelo método UPGMA. Por meio da amplificação de marcadores SSR, SCAR e CAP, foram identificados, em uma população de 75 indivíduos, genótipos portando marcadores associados aos genes S_H3 e QTL de resistência à ferrugem e ao gene Ck-1, que confere resistência ao CBD. Também foi realizada avaliação do nível de resistência às raças II e XXXIII de *Hemileia vastatrix* em 23 genótipos, sendo feita inoculação artificial em discos foliares e avaliação dos componentes de resistência período de incubação, período latente, % de discos com sintomas, % de discos com esporulação, % de área com sintomas e produção de uredósporos. Foi utilizado delineamento inteiramente casualizado, com 3 repetições por tratamento, cada uma composta por uma caixa gerbox contendo 16 discos foliares. Os dados dos componentes de resistência foram submetidos à análise de variância à 1% de significância. Variáveis que apresentaram diferença significativa foram submetidas ao teste de agrupamento de médias univariado Scott-Knott à 5% de probabilidade. Foi também aplicada estatística multivariada aos componentes, sendo obtida a Distância Generalizada de Mahalanobis entre os pares dos genótipos avaliados e análise de agrupamento utilizando UPGMA. Foram obtidos, pela análise de diversidade, adotando-se o critério de Mojena, com ponto de corte em 0,5552, sete grupos distintos, separando indivíduos com características das variedades Conilon, Robusta e híbridos. Genótipos oriundos do programa de melhoramento do Incaper e materiais oriundos de seleção empírica realizada no Estado do Espírito Santo foram

alocados no mesmo grupo, sendo classificados dentro da variedade conilon, enquanto genótipos oriundos de outros programas de melhoramento e outros estados foram alocados em grupos diferentes. Foram identificados sete indivíduos portando marcadores associados ao gene S_{H3} , 61 portando marcadores associados à QTL de resistência à ferrugem e 44 ao gene $Ck1$. Houveram diferenças significativas entre os genótipos avaliados para todas as componentes de resistência às raças II e XXXIII de *H. vastatrix*, formando-se, através da análise multivariada, cinco classes de resistência às respectivas raças, sendo elas: Resistentes, Moderadamente Resistentes, Moderadamente Suscetíveis, Suscetíveis e Imunes. Genótipos oriundos de seleção empírica podem constituir importante fonte de germoplasma em programas de melhoramento buscando a hibridação entre as variedades Conilon e Robusta e também buscando resistência à ferrugem e ao CBD. Existe diversidade na população avaliada para o nível de resistência às raças II e XXXIII de *H. vastatrix*, podendo estes materiais ser utilizados em estratégias de manejo da ferrugem, como controle genético e multilinhas.

ABSTRACT

Conilon coffee (*Coffea canephora*) is the main agribusiness product of the state of Espírito Santo, where most of the cultivated genotypes come from spontaneous crosses and empirical selection by producers and nursery workers. There are few scientific studies on genetic diversity and resistance to diseases in these research materials. The present study evaluated the genetic diversity in a population composed of 125 genotypes of *C. canephora*, from the amplification of 12 molecular markers of the SSR type, followed by electrophoresis in polyacrylamide gel and staining of the gel in silver nitrate solution for evaluation polymorphic loci. The genetic distance matrix was obtained by the complement method, with a weighted index, which was used for cluster analysis using the UPGMA method. From the amplification of SSR, SCAR and CAP markers, were identified, in a population composed of 75 individuals, genotypes carrying the S_{H3} and $S_{H?}$ rust resistance gene and the Ck-1 gene, which confers resistance to CBD. It was also evaluated the level of resistance to *Hemileia vastatrix* races II and XXXIII in 23 genotypes, with artificial inoculation in leaf discs and evaluation of the resistance components incubation period, latent period, % of disks with symptoms, % of disks with sporulation, % of area with symptoms and production of uredospores. A completely randomized design was used, with 3 replicates per treatment, each one consisting of a gerbox containing 16 leaf discs. The data of the resistance components were submitted to analysis of variance at 1% of significance. Variables that showed a significant difference were submitted to the Scott-Knott univariate grouping test at 5% probability. Multivariate statistics were also applied to the components, obtaining the generalized distance of Mahalanobis between pairs of evaluated genotypes and clustering analysis using UPGMA. They were obtained, by the analysis of diversity adopting the Mojena criterion, with a cut-off point of 0.5552, seven distinct groups, separating individuals with characteristics of the Conilon, Robusta and hybrid varieties. Genotypes from the Incaper breeding program and materials from empirical selection carried out in the State of Espírito Santo were allocated to the same group, being classified within the conilon variety, while genotypes from other breeding programs and other states were allocated in different groups. Seven individuals bearing markers for the S_{H3} gene, 61 for the $S_{H?}$ and 44 for the Ck-1 gene were identified. There was a significant difference between the genotypes evaluated for all components of resistance to *H. vastatrix* races II and XXXIII, which through the multivariate analysis, lead to

five classes of resistance to the respective races: Resistant, Moderately Resistant, Moderately Susceptible, Susceptible and Immune. Genotypes from empirical selection may be an important source of germplasm in breeding programs by seeking hybridization between the Conilon and Robusta varieties and also resistance to rust and CBD. There is diversity in the population evaluated for the level of resistance to H. vastatrix races II and XXXIII, and these materials can be used in rust management strategies, such as genetic control and multilines.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor, exportador e segundo maior consumidor mundial de cafés (FERRÃO et al., 2017a). Dentre 124 espécies catalogadas do gênero *Coffea*, *Coffea arabica* L. e *Coffea canephora* Pierre ex Froehner apresentam maior expressão econômica, representando quase a totalidade dos cafés consumidos no mundo (DAVIS et al., 2011), sendo ambas amplamente cultivadas do Brasil.

No ano de 2018, a produção nacional de café foi estimada em 59,8 milhões de sacas beneficiadas, composta por 45,9 milhões de sacas da espécie *C. arabica* (76,8%) e 13,9 da espécie *C. canephora* (23,2%), oriundas de um parque cafeeiro de 2156,5 mil hectares. Os principais estados produtores são Minas Gerais, Espírito Santo, São Paulo, Bahia, Rondônia e Paraná. O estado do Espírito Santo produziu em 2018, 8,8 milhões de sacas beneficiadas de *C. canephora* (63,3% da produção nacional) e 4,6 da espécie *C. arabica* (10% da produção nacional). Somando as duas espécies, o estado produziu 22,37% do café nacional, ocupando o posto de segundo maior produtor, ficando atrás apenas do Estado de Minas Gerais (CONAB, 2018).

O café Conilon é a principal variedade de *C. canephora* cultivada no País (FERRÃO et al., 2015a), destacando-se pelo seu volume de produção e valor industrial. Introduzido no Brasil através do Estado do Espírito Santo no ano de 1912, esta variedade teve seu cultivo impulsionado na década de 1970. Neste cenário de crescimento e ausência de recomendações técnicas sobre seu cultivo, em 1985 iniciaram-se programas de pesquisa contínuos no país, realizados sobretudo pelo Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (Incaper), Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) Café, Embrapa Rondônia, Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), Universidade Federal de Viçosa (UFV) e Universidade Federal do Espírito Santo (Ufes), dentre outras instituições (FERRÃO et al., 2017a).

Devido à crescente demanda por cultivares produtivas adaptadas às condições de clima e solo do estado do Espírito Santo e variabilidade genética apresentada por *C. canephora* em campo, em 1986 foi iniciado programa de melhoramento desta espécie pela Empresa Capixaba de Pesquisa Agropecuária – Emcapa (atual Incaper), por meio da seleção e multiplicação vegetativa por estaquia, de plantas matrizes selecionadas em lavouras comerciais em vários municípios da região norte do Estado (ZAMBOLIM, 2009). Após avaliação dos clones obtidos, o Incaper lançou em 1993 as variedades

clonais Emcapa 8111, Emcapa 8121 e Emcapa 8131, possuindo 9, 14 e 9 clones, respectivamente. Em 1994 foi lançada a variedade Emcapa 8141 (Robustão Capixaba), com 10 clones; em 2000 foi lançada a variedade seminal Emcaper 8151 ('Robusta Tropical); em 2004, a Vitória Incaper 8142, formada por 13 clones (FERRÃO et al., 2007). Em 2013, mais três variedades clonais foram lançadas pelo Incaper: Diamante Incaper ES8112, Jequitibá Incaper ES8122 e Centenária Incaper ES8132, compostas por nove clones cada (FERRÃO et al., 2015b). Em 2017 foi lançada a variedade Marilândia ES8143, compostas por 12 clones considerados tolerantes à seca.

Todas essas variedades clonais estão registradas no Registro Nacional de Cultivares (RNC) e podem ser utilizadas por viveiristas para implantação de jardins clonais, produção e comercialização de mudas de café Conilon. Para isso, o produtor de mudas precisa inscrever o viveiro no Registro Nacional de Sementes e Mudas (Renasem) e informar quais materiais genéticos (clones) estão sendo comercializado pelo respectivo viveiro (FERRÃO et al., 2017b). Materiais genéticos que não fazem parte das respectivas variedades clonais podem ser comercializados apenas com a designação genérica de café Conilon. Nesse caso é proibida a nomeação e designação de materiais genéticos individuais para comercialização que não tenham passado pelo processo de registro no RNC.

Além do trabalho científico de melhoramento, ocorre também de forma paralela no Estado do Espírito Santo um processo contínuo de identificação, multiplicação, seleção e propagação de novos clones por parte de produtores e viveiristas. Tal processo se dá de forma empírica, com base na escolha de plantas matrizes que apresentam características fenotípicas desejáveis, especialmente produtividade, resistência ao tombamento, tolerância à seca e resistência à pragas e doenças. Muitos dos clones oriundos desse processo de seleção não estão registrados no RNC, mas são utilizados na formação de novas lavouras, em mistura ou não com clones pertencentes a variedades clonais registradas. Nessas lavouras não são realizadas análises criteriosas de suas características fenotípicas, uma vez que não existem estudos sistemáticos de produtividade e adaptabilidade em diferentes regiões, compatibilidade de cruzamentos, caracterização morfológicas específicas, bem como avaliação do nível de resistência à pragas e doenças.

O processo de identificação de plantas superiores em lavouras comerciais de produtores, introduções em populações oriundas de campos de recombinação e cruzamentos controlados é o primeiro de dez passos para obtenção de uma variedade

clonal (Ferrão et al., 2017b). Desta forma, visto o grande número de características fenotípicas desejáveis nestes clones oriundos de seleção empírica, tais genótipos podem constituir importante fonte de recursos genéticos em programas de melhoramento. No entanto, para maioria destes materiais, há ausência de estudos de diversidade genética que possam apontar potenciais genitores.

Estudos de diversidade genética no gênero *Coffea*, têm se usado três principais tipos de marcadores baseados em técnicas de PCR: RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) e SSR (Simple Sequence Repeats) (FERRÃO et al., 2013). Avaliando a eficiência destes três marcadores para esta espécie, os mesmos autores constataram que os Microssatélites (SSR) foram os mais informativos, apresentando os melhores resultados. Em estudos recentes tem utilizado também marcadores SNP (Single Nucleotide Polymorphism) (ALKIMIM et al., 2018). Mesmo levando em consideração a alta eficiência dos marcadores SNP's, os SSR's apresentam algumas vantagens como a detecção de altas taxas de polimorfismo, multialelismo, especificidade de loco, transferibilidade entre espécies e as vezes entre gêneros e custos relativamente baixos. Visto as inúmeras vantagens, diversos autores tem optado pela utilização de marcadores microssatélites SSR's na avaliação da diversidade genética em *Coffea* sp. (MISSIO et al., 2010; TERESSA et al. 2010; MISSIO et al., 2011; GELETA et al., 2012; ALEKCEVETCH et al., 2013; LEROY et al., 2014; MOTTA, 2014; SILVA et al., 2018).

Além do emprego de marcadores moleculares em análises de diversidade genética, existem também disponíveis marcadores associados à genes de resistência à doenças. A antracnose dos frutos verdes do cafeeiro, denominada em inglês de Coffee Berry Disease (CBD), causada pelo fungo hemibiotrófico *Colletotrichum kahawae* Waller & Bridger, é uma importante doença do cafeeiro, sendo quarentenária no Brasil, e apresenta grande ameaça para a cafeicultura nacional (VARZEA et al. 2002) e para a cafeicultura da América Central. Atualmente esta doença é o principal problema fitossanitário da cafeicultura em países africanos, como a Etiópia. Embora restrita à este continente, precauções devem ser tomadas para evitar sua introdução em outras áreas produtoras, uma vez que nas Américas e Ásia existem condições climáticas e de altitude favoráveis ao fungo. Dessa forma, essa doença pode vir à tornar-se endêmica, como acontecido relativamente recente com a ferrugem do cafeeiro (VAN DER VOSSEM & WALYARO, 2009; ALCKIMIN et al., 2017). Em relação à marcadores ligados à genes de resistência, Gichuro et al. (2008) identificaram oito marcadores AFLP e dois SSR

ligados ao gene Ck-1 que confere resistência à CBD. A disponibilidade destes marcadores permite a realização de trabalhos de identificação de fontes de resistência mesmo na ausência do patógeno (ALKIMIN et al., 2017).

Também existem disponíveis marcadores moleculares associados à genes de resistência à Ferrugem-do-Cafeeiro, causada pelo fungo biotrófico *Hemileia vastatrix* Berk. & Br. Esta tem sido considerada a principal doença na maioria dos países produtores de café, a qual causa redução da produtividade de lavouras devido a queda precoce de folhas e seca progressiva dos ramos, tornando-a antieconômica. Prakash et al. (2004) identificaram 21 marcadores AFLP associados ao gene S_{H3} , oriundo de introgressão da espécie *C. liberica* em *C. arabica*. Mahé et al. (2008) converteram quatro destes em marcadores SCAR (Sequence-Characterized Amplified Region), desenvolvendo também outros três marcadores SCAR utilizando cromossomo bacteriano artificial (BAC – Bacterial Artificial Chromosome) e três marcadores SSR co-segregantes ao gene S_{H3} . Marcadores moleculares ligados ao gene S_H ? foram identificados por Brito et al. (2010), Diola et al. (2011) e De Almeida et al. (in press).

Em *C. canephora* podem ser observadas tanto resistência quantitativa como qualitativa à ferrugem-do-cafeeiro (ZAMBOLIM, 2016), havendo em campo a ocorrência da doença em maior ou menor intensidade nos diferentes genótipos cultivados (ZAMBOLIM et al., 2009). O cultivo de clones e variedades resistentes constitui-se na medida mais eficaz e econômica para o manejo da doença em campo, além de minimizar impactos no ambiente pela redução do uso de produtos químicos utilizados no controle, além de apresentar baixo custo e fácil utilização. Neste contexto, torna-se também importante avaliar o nível de resistência expresso pelos principais genótipos de *C. canephora* cultivados no Espírito Santo. Várias metodologias estão disponíveis na literatura para estudos desta natureza, sendo a maioria realizada por meio da inoculação artificial em discos foliares, que reduzem o espaço gasto com mudas em casa de vegetação e facilitam a utilização de câmaras ou estufas com ambiente controlado (ESKES, 2005).

Diante desses fatos e a escassez de estudos nessa área o presente trabalho objetivou: (i) avaliar a diversidade genética em uma população composta por 125 genótipos de *C. canephora*; (ii) identificar clones portando marcadores associados ao gene S_{H3} e a QTL de resistência à ferrugem e ao gene Ck-1, que confere resistência ao CBD e (iii) avaliar o nível de resistência dos genótipos mais cultivados no Espírito Santo para as raças II e XXXIII de *H. vastatrix*.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Material genético e extração de DNA

Para compor a população avaliada nesse experimento foi feita uma seleção de genótipos de *C. canephora* amplamente utilizados na formação de lavouras no estado do Espírito Santo e sul do estado da Bahia, incluindo materiais genéticos pertencentes às variedades clonais registradas, materiais oriundos de seleção realizada de forma empírica por produtores e viveiristas e outros materiais com características agrônomicas divergentes.

Dentre os materiais selecionados estão 44 genótipos pertencentes às variedades clonais de café Conilon Vitória Incaper 8142, Diamante ES8112, Jequitibá Incaper ES8122, Centenária Incaper ES8132 e Marilândia ES8143. A coleta foi feita no jardim clonal do Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural – Incaper, Fazenda Experimental de Marilândia/ES (Tabela 1).

Tabela 1 Genótipos pertencentes às variedades clonais do Incaper.

VARIEDADES CLONAIAS				
Vitória ES8142	Diamante ES8112	Jequitibá ES8122	Centenária ES 8132	Marilândia ES8143
1V	Incaper 101	Incaper 202	Incaper 301	Incaper 403
2V	Incaper 103	Incaper 203	Incaper 302	Incaper 404
3V	Incaper 104	Incaper 204	Incaper 303	Incaper 405
4V	Incaper 105	Incaper 206	Incaper 304	Incaper 406
5V	Incaper 107	Incaper 207	Incaper 306	Incaper 407
6V	Incaper 108	Incaper 208	Incaper 308	Incaper 408
7V	Incaper 109	Incaper 209	Incaper 309	Incaper 409
8V	-	-	-	Incaper 410
9V	-	-	-	Incaper 411
10V	-	-	-	Incaper 412
11V	-	-	-	-
12V	-	-	-	-
13V	-	-	-	-

Estes materiais são amplamente utilizados por viveiristas e cooperativas agrícolas na formação de jardins clonais, onde são produzidos materiais propagativos para produção de mudas utilizadas na formação de lavouras nos estados do Espírito Santo e Bahia.

Em viveiros de produção de mudas dos estados do Espírito Santo e Bahia foram coletados outros 31 genótipos, sendo estes oriundos de seleção empírica realizada por produtores e viveiristas (Tabela 2). Estes materiais são propagados vegetativamente e

suas mudas comercializadas nestes dois estados, possuindo alta demanda para formação de novas lavouras por apresentarem características fenotípicas vantajosas.

Tabela 2 Genótipos oriundos de seleção empírica coletados no estado do Espírito Santo e extremo sul da Bahia.

Genótipos (clones)			
JC ¹	Verdão Soró ⁶	P1 ⁷	LB1 ⁷
Timbuí ²	Triunfo ⁶	P2 ⁷	SV103 ⁸
8PP ³	Delunardo ⁶	NV ⁷	SV105 ⁸
P50 ³	Café da pila ⁶	Ouro negro ⁷	CV ⁸
Pirata ⁴	S1 ⁶	Manara ⁷	2B ⁸
Bamburral ⁴	S2 ⁶	K61 ⁷	143 ⁸
Embigudo ⁵	S3 ⁶	Verdim ⁷	A1 ⁸
RC1 ⁵	Verdim do Triunfo ⁶	Jhones ⁷	

Local de coleta: ¹Itaguaçu/ES; ²Fundão/ES; ³Linhares/ES; ⁴Marilândia/ES; ⁵Rio Bananal/ES; ⁶João Neiva/ES; ⁷São Roque do Canaã/ES; ⁸Itabela/BA

Também foram incluídos ao trabalho 31 acessos pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma do Incaper (BAG) (Tabela 3) e 18 do Programa de Melhoramento realizado em consórcio entre a Universidade Federal de Viçosa (UFV), a Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (Epamig) e à Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) (Tabela 4).

Tabela 3 Acessos obtidos do Banco Ativo de Germoplasma do Incaper

Genótipo			
BRS57 ¹	Epamig-65 ²	Robusta 2/2016 ²	06 ³
Conilon 66/16 ¹	Epamig-68 ²	Robusta 3/2016 ²	AS2 ³
Conilon 67/16 ¹	Epamig-69 ²	Robusta 4/2016 ²	015 ³
IAC-55 ²	Apoatã ²	08 ³	193 ³
IAC-57 ²	LC640 ²	25 ³	BRS-1213 ³
IAC-44 ²	Laurenti ²	R22 ³	BRS-1216 ³
IAC-45 ²	Guarani ²	88 ³	199 ³
IAC-56 ²	Robusta 1/2016 ²	156 ³	

Pertencentes às variedades: ¹Conilon, ²Robusta, ³Híbrido Natural

Tabela 4 Genótipos obtidos do consorcio UFV/Epamig/Embrapa

Genótipo		
Conilon	Robusta	Híbrido (Gen. Masc x Gen. Fêmeo)
UFV3629-11	UFV3371-19	H0911-2 (UFV3367-98 x UFV3628-2)
UFV3628-16	UFV3368-58	H0921-1 (UFV3374-28 x UFV3629-11)
UFV3629-30	UFV3365-144	H0919-2 (UFV 3373-36 x UFV3629-11)
UFV3629-7	UFV3375-65	H0922-1 (UFV3373-36 x UFV3627-31)
UFV3629-29	UFV514	H0912-1 (UFV3366-139 x UFV3628-2)
UFV3627-29	UFV3630-2	H0918-1 (UFV3373-36 x UFV513)

Estes materiais são classificados como pertencentes às variedades Conilon, Robusta ou como Híbridos (Conilon x Robusta) e são utilizados como fonte de recursos genéticos em programas de melhoramento.

Foi realizada a coleta de um par de folhas jovem de cada um dos 124 genótipos selecionados e conduzidos para o Laboratório de Biotecnologia do Cafeeiro, na Universidade Federal de Viçosa, onde foi realizada a extração do DNA genômico utilizando metodologia descrita por Diniz et al. (2005). A concentração das amostras de DNA extraídas foram quantificadas utilizando o espectrofotômetro NanoDrop® 2000 e a qualidade das mesmas avaliada em gel de agarose 1%. Foi feita a padronização das amostras para concentração de 25 ng.µL⁻¹, sendo armazenadas a -20°C até o momento das análises.

2.2. Análise de diversidade genética

Para a genotipagem foi feita a triagem de primers SSR genômicos descritos na literatura (COMBES et al., 2000; BARUAH et al., 2003; BHAT et al., 2005; COULIBALY et al., 2003; MONCADA & McCOUCH, 2004; PONCET et al., 2004; LEROY et al., 2005) realizando testes preliminares para polimorfismo e qualidade dos produtos da amplificação. A partir destes testes, foram selecionados 12 primers (Tabela 5), sendo estes utilizados para amplificação de suas respectivas regiões microssatélites dos indivíduos da população em estudo utilizando metodologia proposta por Missio et al. (2010).

Tabela 5. Primers selecionados para avaliação de diversidade genética na população de *C. canephora*.

Primer	Forward primer (5'>3')	Reverse primer (5'>3')
SSR07 ¹	TGACATAGGGGGCTAAATTG	TTAATGGTGACGCTTTGATG
SSR08 ¹	CACTGGCATTAGAAA.GCACC	GGCAAAGTCAATGATGACTC
SSR13 ¹	TGGCCGTGATAATAAACAGC	ATGTGGCAATCTAAAGCCAA
SSR30 ²	ATGGGGCCAACCTGAATATG	CAGGGCATCTATCTACTTCTCT
SSR34 ²	GGAGACGCAGGTGGTAGAAG	TCGAGAAGTCTTGGGGTGTT
SSR46 ²	AATGAAGAAGAGGGTGGTG	CGAGGGTATTGTTTTCCAG
SSR50 ²	AGGTGCCTATCACCGTCCTC	AATCCGATGCCAAAAGTACG
SSR67 ²	CGTCTCGTTTCACGCTCTCT	GATCTGCATGTACTGGTGCTTC
SSR70 ³	GTAACCACCACCTCCTCTGC	TGGAGGTAACGGAAGCTCTG
SSR74 ³	TGGGGAAAAGAAGGATATAGAC	GAGGGGGGCTAAGGGAATAA
SSR77 ⁴	TCTCCTCTTCTTGCTGAGCC	AGATTCACCCTTCAAGTTTCCT
SSR81 ⁴	AGTAATGAACCTGCCGCTCTTT	TTGTCATTCTTGTGTTTTCCAT

¹Combes et al. (2000); ²Poncet et al. (2004); ³ ⁴Moncada and McCouch (2004)

Os produtos desta amplificação foram submetidos à eletroforese em gel de poliacrilamida 6%, seguida da coloração em solução de nitrato de prata e leitura dos loci polimórficos.

A partir dos dados de polimorfismo dos loci avaliados, foi obtida a matriz de distância genética entre os genótipos pelo método do complemento, com índice ponderado, e esta por sua vez submetida à análise de agrupamento pelo método das médias das distâncias, utilizando o software GENES® (CRUZ, 2013). A divisão dos genótipos em classes foi realizada utilizando o critério de Mojena (1977).

2.3. Amplificação de Marcadores ligados ao gene S_{H3}

Para identificação de genótipos portadores de marcadores associados ao gene S_{H3} de resistência à *H. vastatrix* foi realizada amplificação das amostras de DNA extraídas utilizando três marcadores SCAR (BA-48-21-f, BA-124-12K-f e SP-M16- S_{H3}) e um marcador SSR (Sat244) ligados à este gene e identificados por Mahé et al. (2008). Três genótipos contendo o gene de resistência S_{H3} (CIFC H147, CIFC H153/2 E CIFC H33/1) e dois suscetíveis (Caturra Vermelho CIFC 19/1 e Catuaí UFV 2148/57) foram incluídos na população como controles. Os genótipos CIFC H147 e CIFC H153/2 são híbridos resultantes de cruzamentos entre Seleção Indiana S.353 com S4 Agaro e entre a Seleção Indiana S.288 com Geisha, respectivamente. Essas plantas são clones diferenciadores de raças fisiológicas de *H. vastatrix* e são portadoras do gene de resistência S_{H3} , o que permite a identificação de raças do patógeno que possuam o gene de virulência v_3 .

A amplificação de marcadores em cada indivíduo foi realizada por meio de PCR (Polimerase Chain Reaction) com reação de 25 μ L contendo 50 ng de DNA genômico, 1X de tampão para Taq polimerase, 2,0 mM $MgCl_2$, 0,1 mM dNTPs, 0,4 mM de cada primer e 0,5 unidades DNA polimerase. As reações foram feitas seguindo Alkimim et al. (2017) em termociclador Veriti (AppliedBiosystems) programado para as seguintes condições: desnaturação inicial por 5 minutos à 95 °C seguida por 35 ciclos de desnaturação à 94 °C por 45 segundos, temperatura de anelamento específica para cada primer por 45 segundos, extensão à 72 °C por 45 segundos e extensão final à 72 °C por 10 minutos.

2.4. Amplificação de Marcadores associados a QTL de resistência a *H. vastatrix*

Foi realizada amplificação de um marcador SCAR (CaRHv 9,) e um CAPs (CaRHv10_CAP) ligados ao loco de resistência às raças I, II e patótipo 001 de *Hemilea vastatrix*, identificados por Almeida et. al (in press). Foram incluídos à população os acessos Híbrido de Timor UFV 443-03 como controle resistente e Catuaí amarelo IAC 64 (UFV 2148-57) como controle suscetível. As amplificações foram realizadas a partir de reações com volume final ajustado para 20 µL contendo 50 ng do DNA genômico, 1X do tampão para Taq polimerase, 2,0 mM MgCl₂, 0,15 mM dNTPs, 0,1 µM de cada primer, 1,0 unidades de Taq DNA polimerase. Foram utilizados termocicladores (PTC-200 - MJ Research e Veriti - Applied Biosystems), programados para as seguintes condições: desnaturação inicial à 95 °C por 5 minutos seguida de 35 ciclos de desnaturação à 94 °C por 30 segundos, anelamento a 65 °C por 30 segundos, extensão à 72 °C por 60 segundos e extensão final à 72 °C por 10 minutos. Para o marcador CaRHv11_CAP foi utilizada a enzima de restrição RsaI (Thermos Life), seguindo a recomendação do fabricante.

2.5. Amplificação de Marcadores SSR ligados ao gene Ck-1

A identificação de indivíduos portadores de marcadores moleculares ligados ao gene Ck-1, que confere resistência à CBD, foi realizada à partir de dois marcadores SSR (CBD-Sat207 e CBD-Sat235) identificados por Gichuru et al. (2008). Foram incluídas nas análises os genótipos de Híbrido de Timor UFV 377-15, UFV 440-10 e a cultivar MGS Catiguá 3, como controle de acessos contendo o gene de resistência. Como controles suscetíveis foram utilizados as cultivares Catuaí Vermelho IAC 64 (UFV 2148/57) e Caturra Vermelho (CIFC 19/1). A amplificação destes microsatélites foi realizada a partir de reação com volume final ajustado para 25 µL contendo 50 ng do DNA genômico, 1X do tampão para Taq polimerase, 2,0 mM MgCl₂, 0,1 mM dNTPs, 0,4 µM de cada primer, 0,5 unidades de Taq DNA polimerase. As reações de amplificações dos DNAs foram realizadas em termocicladores (PTC-200 - MJ Research e Veriti - Applied Biosystems), programado para as seguintes condições: desnaturação inicial à 95 °C por 5 minutos seguida de 35 ciclos de desnaturação à 94 °C por 45 segundos, específica temperatura de anelamento para cada primer, extensão à 72 °C por 45 segundos e extensão final à 72 °C por 10 minutos. (Alkimim et al. 2017).

2.6. Avaliação dos produtos das amplificações

Os produtos das ampliações foram submetidos à eletroforese em Gel de poliacrilamida 6%. Após a eletroforese, os géis foram corados em solução de nitrato de prata, utilizando protocolo descrito por Brito et al. (2010). As avaliações de presença ou ausência de bandas correspondentes aos marcadores associados aos genes de resistência em cada genótipo da população em estudo foram realizadas por comparação com os controles suscetíveis e resistentes.

2.7. Resistência de genótipos de *Coffea canephora* às raças II e XXXIII de *H. vastatrix*

2.7.1. Seleção e obtenção de material genético

Foi realizada a coleta de mudas de 23 genótipos de *C. canephora*, sendo utilizado como critério a escolha dos materiais mais cultivados atualmente no estado do Espírito Santo e Sul da Bahia, oriundos de seleção empírica realizada por produtores e viveiristas e que não estão inscritos no Registro Nacional de Cultivares (RNC). Os materiais foram obtidos em viveiros de produção de mudas destes estados, sendo feita a coleta de 10 mudas de cada genótipo (Tabela 6).

Tabela 6. Genótipos coletados em viveiros dos estados do Espírito Santo e sul da Bahia para realização dos ensaios de fenotipagem para resistências às raças II e XXXIII de *H. vastatrix*.

Genótipo			
JC ¹	S2 ⁴	Manara ⁵	SV105 ⁶
Timbuí ²	Verdim do Triunfo ⁴	K61 ⁵	CV ⁶
8PP ³	P1 ⁵	Verdim ⁵	2B ⁶
Verdão Soró ⁴	P2 ⁵	Jhones ⁵	143 ⁶
Triunfo ⁴	NV ⁵	LB1 ⁵	A1 ⁶
Delunardo ⁴	Ouro Negro ⁵	SV103 ⁶	

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

Também foram selecionados genótipos pertencentes à variedade clonal Conilon Vitória Incaper 8142, classificados como resistentes, moderadamente resistentes, moderadamente suscetíveis e suscetíveis às raças II e XXXIII de *H. vastatrix* (CAPUCHO, 2011) (Tabela 7). Para obtenção destes materiais foi feita a coleta de ramos ortotrópicos no Jardim Clonal do Incaper da Fazenda experimental de Marilândia/ES, os quais foram levados para casa de vegetação do Laboratório de

Proteção de Plantas, em Viçosa. Os ramos foram utilizados para obtenção de mudas por meio de propagação vegetativa. Mudas de *C. arabica* pertencentes à cultivar Caturra (CIFC 19/1), suscetível à ferrugem-do-cafeeiro, foram obtidas via propagação sexuada, por meio de sementes. Estes materiais, por apresentarem nível de resistência conhecido, foram incluídos como controles neste trabalho.

Tabela 7 Genótipos utilizados como controles nos ensaios de fenotipagem para resistência às raças II e XXXIII de *H. vastatrix*

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

Capucho et al., (2011).

Estes materiais, por apresentarem nível de resistência conhecido, foram incluídos como controles neste trabalho.

As mudas obtidas via propagação vegetativa foram transplantadas para vasos de 3 L contendo substrato composto por mistura de terra de barranco, esterco bovino, calcário dolomítico, superfosfato simples e cloreto de potássio, seguindo recomendação proposta por Fonseca et al. (2007). Após o transplante, as mudas foram mantidas sob cuidados de irrigação, adubação e controle de pragas adequado para seu desenvolvimento.

2.7.2. Obtenção e Multiplicação de Isolados de *H. vastatrix*

Isolados das raças II (v5) e XXXIII (v5, v7 ou v5, v7, v9) de *H. vastatrix* foram obtidos da coleção do Laboratório de Biotecnologia do Cafeeiro (BioCafé) na Universidade Federal de Viçosa. A raça II foi a primeira a ser identificada no Brasil (CHIACHIO, 1973), sendo a mais comum no país (CABRAL et al., 2009) e também no estado do Espírito Santo (DA SILVA et al., 2000), enquanto a raça XXXIII foi identificada recentemente infectando genótipos de cafeeiro tradicionalmente considerados resistentes à ferrugem-do-cafeeiro (CAPUCHO et al., 2012).

A multiplicação dos isolados foi realizada em câmara de ambiente controlado pertencente ao Laboratório de Proteção de Plantas – Departamento de Fitopatologia, na

Universidade Federal de Viçosa. Cada isolado foi multiplicado separadamente em mudas de *C. arabica* variedade Caturra (CIFC 19/1), sendo feita inoculação espalhando uredósporos na face abaxial de folhas jovens com auxílio de um pincel, seguida da atomização de água destilada. As plantas foram então alocadas dentro de sacos plásticos transparentes, objetivando criar câmara úmida com aproximadamente 90% de umidade relativa. Nestas condições, as plantas foram incubadas por 48 horas na ausência de luz e temperatura a 22 °C. Após esse período foram removidos os sacos plásticos e fotoperíodo de 12 horas.dia⁻¹, sendo estas condições mantidas até a esporulação.

Os uredósporos produzidos foram coletados através da raspagem com cápsula de gelatina e armazenados em dessecador contendo solução de ácido sulfúrico a 36% e armazenado a 4 °C (ZAMBOLIM & CHAVEZ, 1974).

2.7.3. Inoculação e Avaliação das Componentes de Resistência

Para avaliação da resistência, nas mudas de cada um dos genótipos selecionados foram coletadas folhas jovens, porém, totalmente expandidas e apresentando aspecto ligeiramente brilhante na face adaxial, situadas no segundo ou terceiro pares de folhas de ramos plagiotrópicos das plantas. A coleta foi feita no período da manhã e as folhas armazenadas em sacos de papel umedecidos e devidamente identificados. Em seguida, as folhas foram utilizadas para confecção de discos foliares de 18 mm de diâmetro, utilizando um furador de rolhas. Estes discos foram dispostos em caixas acrílicas do tipo gerbox, com a face abaxial voltada para cima, sobre tela metálica e esponja de 0,5 cm de espessura saturada com água destilada. Foram colocados 16 discos de folha de um mesmo genótipo por gerbox. Para inoculação, foi preparada suspensão em água destilada com concentração de 2.10^6 uredósporos.ml⁻¹, acrescida de tween 80 na proporção de 0,02% para cada 200 mg.L⁻¹ de uredósporos. Antes da inoculação, a viabilidade dos uredósporos foi avaliada pelo teste de germinação em ágar-água 2%, descrito por Zambolim & Chavez (1974). Para garantir a utilização de inóculo com boa viabilidade, apenas foram utilizados lotes de uredósporos que apresentaram germinação superior a 30%. A contagem e calibração da suspensão foi realizada utilizando câmara de Neubauer. Com micropipetas adicionou-se 0,025 mL da suspensão sobre cada disco foliar, conforme metodologia proposta por Eskes, (1982). Após a inoculação, as caixas gerbox foram fechadas e mantidas em câmara de incubação por 48 horas sem iluminação e com temperatura de 22 °C. Após esse período, limpou-se cuidadosamente

a superfície abaxial dos discos utilizando algodão, de modo a evitar que fungos saprófitas ou hiperparasitas se desenvolvessem, tomando-se cuidado para não causar ferimentos, conforme recomendações propostas por CAPUCHO et al. (2005). A seguir as caixas gerbox foram levadas novamente à câmara com ambiente controlado, com fotoperíodo ajustado para 12 horas.dia⁻¹e temperatura de 22 °C. Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado com três repetições, cada uma composta por uma caixa gerbox contendo 16 discos foliares do respectivo clone.

A partir do décimo dia após a inoculação (DAI) foram realizadas observações diárias para identificação do surgimento dos sintomas e sinais da doença nos discos inoculados. Aos 40 DAI foi feita a fotodocumentação de cada repetição utilizando scanner. Avaliaram-se os seguintes componentes de resistência horizontal:

I - Período de incubação (PI) - Período de DAI até a observação de 50% da incidência final de discos com sintomas;

II - Período latente (PL) - Período de DAI até a observação de 50% da incidência final de discos com sinais;

III - Porcentagem de discos com sintomas (DS) - porcentagem final de discos apresentando sintomas da doença;

IV-Porcentagem de discos com esporulação (DE) - porcentagem final de discos apresentando esporulação;

V - Porcentagem de área com sintomas (AS) - porcentagem final de área foliar apresentando sintomas da doença;

VI - Produção de uredósporos (PU) - quantidade final de uredósporos produzidos.

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

2.7.4. Análise estatística das Componentes de Resistência

Os dados de cada componente de resistência foram submetidos à análise de variância à 1% de significância. Variáveis que apresentaram diferenças significativas foram submetidas ao teste de agrupamento de médias univariado Scott-Knott à 5% de probabilidade, agrupando os genótipos avaliados com base no comportamento em relação à cada componente de resistência.

Foram também feitas estimativas de parâmetros genéticos e ambientais de cada componente de resistência avaliado.

As médias dos componentes de resistência avaliados também foram submetidas à análise estatística multivariada, sendo obtida a Distância Generalizada de Mahalanobis entre os pares dos genótipos avaliados. A matriz de distância obtida foi utilizada para agrupar os genótipos utilizando o método UPGMA (unweighted pair-group method using arithmetic averages) no qual são utilizadas as médias aritméticas da medida de dissimilaridade, evitando assim caracterizar a dissimilaridade pelos valores mínimos ou máximos (CRUZ, 2011).

Os padrões de agrupamento obtidos foram avaliados através do Coeficiente de Correlação Cofenética (CCC), proposto por Sokal & Rohlf (1962), o qual avalia a correlação entre medidas de dissimilaridade originais e gráficas. Quanto maior o valor da correlação, menor é a distorção do agrupamento.

A partir dos dendrograma obtidos, os genótipos foram separados em cinco diferentes classes fenotípicas quanto à resistência às raças II e XXXIII de *H. vastatrix*, sendo o ponto de corte estabelecido com base nas diferenças visuais observadas na manifestação das componentes de resistência em cada genótipo. Para estas análises, foi utilizado o software GENES (CRUZ, 2013). Os grupo formados foram compostos por indivíduos considerados Resistentes (R), Moderadamente Resistentes (MR), Moderadamente Suscetíveis (MS), Suscetíveis (S) e Imunes (I).

3. RESULTADOS

3.1. Análise de diversidade com base em marcadores SSR

Com base em 12 marcadores SSR e usando o Critério de Mojena (1977) o dendrograma obtido pelo método UPGMA ficou formado por sete grupos, com ponto de corte em 0,5552 (Figura 1). Destes grupos, quatro foram compostos por apenas um indivíduo, sendo eles: Grupo 1 (Conilon6716); Grupo 2 (BRS1216); Grupo 3 (R22) e Grupo 5 (S3).

O Grupo 4 foi composto por indivíduos classificados como pertencentes à variedade Robusta por Alkimim et al. (2018) obtidos do Programa de Melhoramento Genético UFV/Epamig/Embrapa. O grupo 6 também foi composto por indivíduos

classificados como Robusta oriundos do Instituto Agronômico de Campinas (IAC) e do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) do Incaper.

O Grupo 7 foi composto por indivíduos caracterizados como pertencentes à variedade Conilon, incluindo todos os genótipos pertencentes às variedades clonais do Incaper, pelos genótipos oriundos de seleção empírica cultivados no Estado do Espírito Santo. Neste grupo também foram alocados genótipos híbridos do Programa de Melhoramento Genético da UFV/Epamig/Embrapa bem como híbridos naturais obtidos do BAG do Incaper e oriundos do estado de Rondônia.

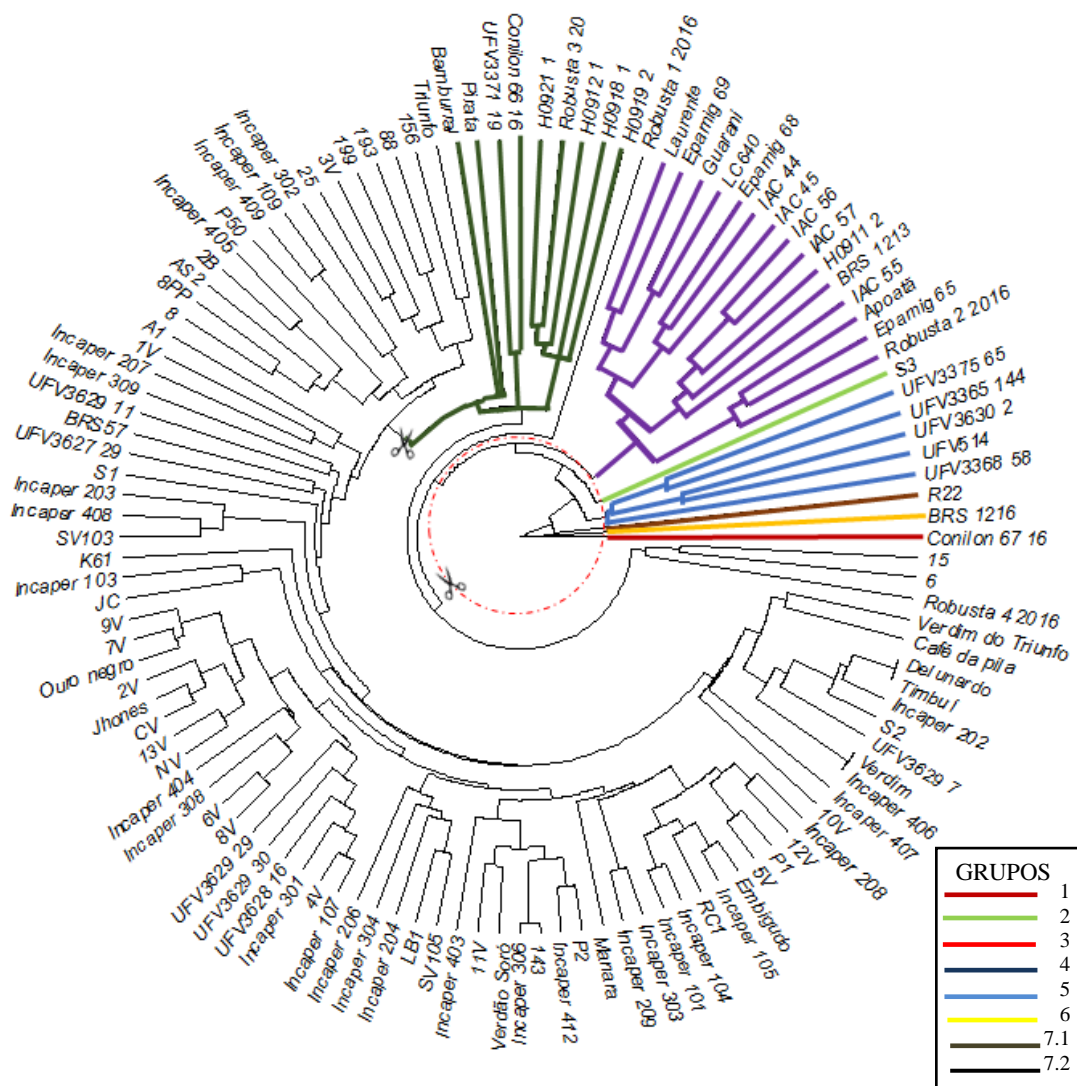


Figura 1 Análise de agrupamento da população avaliada. Os genótipos foram divididos em classes utilizando o Critério de Mojena (1977) e subclasses à partir do agrupamento de indivíduos incluídos como controles no trabalho.

3.2. Amplificação de Marcadores ligados ao gene S_{H3}

Com base em informações de marcadores moleculares, foram identificados na população avaliada sete indivíduos (9,33%) portadores de marcadores ligados ao gene S_{H3} com resistência à ferrugem-do-cafeeiro (Tabela 8). Dentre os genótipos pertencentes às variedades clonais do Incaper, seis (13,63%) apresentaram a marca do gene enquanto dentre os genótipos oriundos de seleção empírica somente um (3,22%) apresentou tal marca.

Tabela 8 Genótipos portando o gene de resistência S_{H3} identificados com base em marcadores moleculares.

Genótipos			
2V ^{1,2}	10V ²	8PP ²	Incaper309 ^{1,2}
5V ^{1,3}	12V ⁴	Incaper206 ³	
SCAR ¹ BA-124-12K-f 9, ² BA-48-21OR, ³ SP-M16-SH3 e SSR ⁴ SAT244			

3.3. Amplificação de marcadores ligados a QTL associado à resistência a H. vastatrix

Foram identificados 61 genótipos (81,33%) contendo marcadores ligados ao QTL de resistência à ferrugem-do-cafeeiro (Tabela 9).

Tabela 9 Genótipos portando loco de resistência às raças I, II e patótipo 001 identificados com base em marcadores moleculares.

Genótipos				
1V ¹	Incaper 103 ¹	Incaper 306	Timbuí ^{1,2}	Ouro negro ¹
2V ^{1,2}	Incaper 104 ¹	Incaper 308 ¹	8PP ²	K61 ¹
3V ¹	Incaper 105 ^{1,2}	Incaper 309 ¹	P50 ¹	Verdim ^{1,2}
4V ¹	Incaper 108 ^{1,2}	Incaper 403 ²	Verdão Soró ^{1,2}	Jhones ¹
5V ¹	Incaper 202 ¹	Incaper 405 ¹	Triunfo ¹	LB1 ¹
6V ¹	Incaper 203 ¹	Incaper 406 ¹	Delunardo ^{1,2}	SV103 ^{1,2}
7V ¹	Incaper 204 ¹	Incaper 407 ¹	Café da pila ¹	SV105 ¹
8V ¹	Incaper 207 ^{1,2}	Incaper 408 ¹	S1 ^{1,2}	CV ¹
9V ¹	Incaper 208 ¹	Incaper 409 ^{1,2}	S2 ^{1,2}	2B ¹
10V ¹	Incaper 209 ¹	Incaper 410 ^{1,2}	V. do Triunfo ^{1,2}	
11V ¹	Incaper 301 ¹	Incaper 411 ¹	P1 ¹	
12V ¹	Incaper 302 ¹	Incaper 412 ¹	P2 ^{1,2}	
13V ¹	Incaper 304 ^{1,2}	JC ²	NV ¹	

¹CaRHvII 9 e ²CaRHvII 10

3.4. Amplificação de Marcadores SSR ligados ao gene Ck-1

Dentre os genótipos pertencentes às variedades clonais do Incaper, 38 (86,36%) apresentaram marcas para a presença deste loco. Dentre os genótipos não pertencentes à essas variedades, 23 (74,19%) apresentaram a marca para a presença do loco.

Marcadores para o gene Ck-1, que confere resistência a antracnose dos frutos verdes (CBD) foram identificados em 44 genótipos (58,66%) da população avaliada (Tabela 10). A marca que indica presença para o gene foi observada em 29 indivíduos (65,9%) pertencentes às variedades clonais do Incaper e em 15 dos indivíduos (48,38%) não pertencentes à estas variedades.

Tabela 10 Genótipos portando o gene Ck-1 de resistência a antracnose dos frutos do cafeeiro, identificados com base em marcadores moleculares.

Genótipos				
2V ²	Incaper104 ²	Incaper207 ²	Incaper408 ²	K61 ²
3V ²	Incaper106 ²	Incaper208 ²	Incaper412 ²	Verdim ¹
4V ²	Incaper107 ²	Incaper209 ²	JC ²	Jhones ¹
5V ¹⁻²	Incaper108 ²	Incaper301 ²	Triunfo ¹	LB1 ²
6V ²	Incaper109 ²	Incaper302 ²	S2 ²	SV103 ^{1,2}
9V ¹	Incaper201 ²	Incaper304 ¹	V. do Triunfo ²	2B ²
11V ¹⁻²	Incaper202 ²	Incaper308 ²	P2 ¹	143 ²
13V ²	Incaper203 ¹	Incaper401 ²	NV ¹	A1 ²
Incaper103 ¹	Incaper206 ¹	Incaper407 ²	Manara ²	

¹SAT 207 9 e ²SAT 235

3.5. Resistência de genótipos de *Coffea canephora* às raças II e XXXIII de *H. vastatrix*

Nos genótipos estudados foram observados diferentes níveis de expressão dos componentes de resistência, variando desde genótipos com intensa manifestação dos componentes à genótipos que não apresentaram quaisquer sintomas ou sinais da doença.

Pela análise de variância, foram observadas diferenças à 1% de significância entre os genótipos para todos os componentes de resistência avaliados após inoculação com as raças II e XXXIII de *H. vastatrix* (Tabela 11).

Altos valores de Herdabilidade foram observados para todas os componentes de resistência para ambas as raças com valores variando entre 96,45 e 99,90 (Tabela 12). Foram também observados altos valores de razão entre o Coeficiente de Variação Genético (CVg) e Coeficiente de Variação Ambiental (CVe).

Tabela 11. Resumo da análise de variância das componentes de resistência avaliados em discos foliares de *C. canephora* inoculados com a raça II e XXXIII de *H. vastatrix*.

FV	GL	PI	PL	DS	DE	AF	PU
Raça II							
Trat,	29,0	90,5**	166,7**	2431**	3924,6**	1664,9**	3562472537,0*
Resíduo	60,0	0,74	0,93	46,1	13,8	33,6	49590633,8
Média	-	16,0	27,2	83,9	27,7	30,4	20717,87
CV(%)	-	5,3	3,5	8,11	13,3	19,0	33,9
Raça XXXIII							
Trat,	28,0	170,0**	161,3**	4158,4**	2646,8**	1412,5**	685082205,1
Resído	58,0	0,40	0,15	16,6	12,6	7,5	3898435,0
Média	-	19,5	32,1	76,8	16,8	21,4	6438,9
CV(%)	-	3,2	1,2	5,3	21,1	12,7	30,6

Período de incubação (PI); Período latente (PL); Porcentagem de discos com sintomas (DS); Porcentagem de discos com esporulação (DE); Porcentagem de área com sintomas (AS); Produção de uredósporos (PU).

Tabela 12 Estimativas de parâmetros genéticos e fenotípicos dos componentes de resistência avaliados em discos foliares de *C. canephora* inoculados com as raças II e XXXIII de *H. vastatrix*.

Descrição	PI	PL	DS	DE	AF	PU
Raça II						
Mínimo	12,00	17,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Máximo	40,00	40,00	100,00	100,00	100,00	145000,00
CVg (%)	35,44	25,61	33,95	167,25	77,35	213,44
CVg/Cve	6,86	7,61	4,17	7,98	3,15	3,24
S ² genética	35,01	54,06	807,46	881,92	334,45	522187152,9
S ² ambiental	0,25	0,31	15,46	4,61	11,22	16530211,27
Herdabilidade	99,29	99,42	98,12	99,47	96,75	96,93
Raça XXXIII						
Mínimo	12,00	19,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Máximo	40,00	40,00	100,00	100,00	100,00	68370,00
CVg (%)	40,83	22,30	52,18	180,37	79,26	216,47
CVg/Cve	12,93	18,66	9,49	7,12	5,38	3,72
S ² genética	67,27	52,02	1501,35	640,98	216,66	53837750,38
S ² ambiental	0,13	0,05	5,56	4,21	2,50	1299478,35
Herdabilidade	99,80	99,90	99,63	99,35	98,86	97,64

Período de incubação (PI); Período latente (PL); Porcentagem de discos com sintomas (DS); Porcentagem de discos com esporulação (DE); Porcentagem de área com sintomas (AS); Produção de uredósporos (PU).

Por meio do teste de médias univariado de Scott-Knott à 1% de probabilidade foram formadas diferentes classes de genótipos, de acordo com o comportamento em relação a cada componente de resistência. Na avaliação realizada para a raça II de *H. vastatrix*, os genótipos foram agrupados em seis classes quanto ao PI, três classes quanto ao PL, cinco classes quanto ao DS, nove classes quanto à DE, seis classes quanto à AS e 6 classes quanto à PU (Tabela 13).

Tabela 13 Agrupamento das médias dos componentes de resistência genótipos estudados à raça II de *H. vastatrix* pelo teste de médias univariado de Scott-Knott

Genótipos	PI	PL	DS	DE	AS	PU
JC ³	13,00f**	19,67c	100,00a	10,41h	36,14c	3788,75f
Timbuí ²	23,00b	40,00a	45,83d	0,00i	2,63f	0,00f
8PP ¹	40,00a	40,00a	0,00f	0,00i	0,00f	0,00f
Verdão Soró ²	15,00c	40,00a	100,00a	0,00i	43,53c	0,00f
Triunfo ²	15,00c	40,00a	97,91a	0,00i	8,92f	0,00f
Delunardo ²	23,33b	40,00a	22,91e	0,00i	0,51f	0,00f
S2 ²	12,00f	40,00a	100,00a	0,00i	21,16e	0,00f
V. do Triunfo ²	22,67b	40,00a	100,00a	0,00i	17,46e	0,00f
P1 ²	22,67b	40,00a	64,58c	0,00i	9,28f	0,00f
P2 ²	21,00c	40,00a	89,58a	0,00i	13,53e	0,00f
NV ³	13,33f	19,67c	81,25b	43,75e	25,40e	10087,5f
Ouro Negro ²	14,66d	40,00a	41,67d	0,00i	7,24f	0,00f
Manara ³	12,33f	19,3333c	100,00a	16,68h	16,11e	6576,25f
K61 ²	21,66c	40,00a	85,41b	0,00i	1,47f	0,00f
Verdim ³	14,33e	23,3333b	100,00a	16,68h	33,94c	7290f
Jhones ³	12,00f	21,6667b	100,00a	29,16f	33,90c	13135,41f
LB1 ²	12,00f	40,00a	100,00a	0,00i	21,94e	0,00f
SV103 ³	16,00c	20,67c	100,00a	22,91g	17,29e	1708,75f
SV105 ³	12,00f	20,67c	100,00a	16,66h	50,46c	7150f
CV ⁴	12,67f	19,67c	97,97a	97,91a	61,93b	83583,33b
2B ⁴	12,00f	20,67c	100,00a	54,16d	48,19c	37917,50e
143 ²	13,67e	40,00a	97,91a	0,00i	16,79e	0,00f
A1 ⁴	13,67e	20,00c	100,00a	100,00a	55,87b	75000b
3V ²	21,00c	40,00a	21,17e	0,00i	1,13f	0,00f
5V ⁴	13,67e	19,00c	70,83c	66,66c	49,29c	44833,75d
6V ³	12,67f	22,33b	100,00a	16,66h	57,31b	10176,75f
7V ⁴	12,33f	20,67c	100,00a	85,41b	57,70b	41629,5d
12V ⁴	12,67f	21,00c	100,00a	68,75c	53,48b	58581,5c
13V ⁴	13,00f	18,33c	100,00a	93,83a	62,59b	84243,75b
Caturra ⁵	12,33f	20,00c	100,00a	93,75a	86,85a	135833,33a

Período de incubação (PI); Período latente (PL); Porcentagem de discos com sintomas (DS); Porcentagem de discos com esporulação (DE); Porcentagem de área com sintomas (AS); Produção de uredósporos (PU).

Para a raça XXXIII de *H. vastatrix*, o teste de médias univariado de Scott-Knott agrupou os genótipos avaliados em nove classes quanto ao PI, seis classes quanto ao PL, quatro classes em relação à DS, seis classes em relação à DE, nove classes em relação à AS e seis classes quanto à PU (Tabela 16).

Por meio da análise multivariada dos componentes de resistência, os genótipos foram separados em cinco diferentes classes quanto à resistência à raça II de *H. vastatrix*, sendo elas R (Verdão Soró, Triunfo, 143, S2, LB1, Verdim do Triunfo, P2,

K61, Timbuí, P1, Ouro Negro, Delunardo, 3V), MR (4V, JC, SV105, Verdim, Jhones, NV, Manara, SV103), MS (13V, CV, A1, 12V, 5V, 2B, 7V), S (Caturra) e I (8PP). Estes grupos foram obtidos estabelecendo o ponto de corte do dendograma em 1100% de dissimilaridade (Figura 2).

Tabela 16 Agrupamento das médias dos componentes de resistência dos genótipos estudados à raça XXXIII de *H. vastatrix* pelo teste de médias de Scott-Knott

Genótipos	PI	PL	DS	DE	AF	PU
JC	17,66e**	40,00a	64,58b	0,00f	9,31h	0,00f
Timbuí	40,00a	40,00a	0,00e	0,00f	0,00i	0,00f
8PP	40,00a	40,00a	0,00e	0,00f	0,00i	0,00f
Verdão Soró	14,33h	40,00a	45,83c	0,00f	7,48h	0,00f
Triunfo	20,00c	40,00a	62,5b	0,00f	4,52i	0,00f
Delunardo	40,00a	40,00a	0,00e	0,00f	0,00i	0,00f
S2	16,67f	40,00a	100,00a	0,00f	14,52g	0,00f
V. do	13,33i	20,67e	100,00a	22,91e	26,68f	2396,25e
P1	14,33h	22,33c	100,00a	29,16d	39,80d	7572,5e
P2	17,67e	40,00a	100,00a	0,00f	16,83g	0,00f
NV	13,33i	20,00f	100,00a	77,08b	55,22c	27082,5c
Ouro Negro	37,00a	37,00a	0,00e	0,00f	0,00i	0,00f
Manara	14,00h	21,33d	100a	68,67c	35,31e	9387,5e
K61	18,67d	40,00a	100a	0,00f	24,04f	0,00f
Verdim	20,67c	40,00a	47,91c	0,00f	3,08i	0,00f
Jhones	15,33g	40,00a	99,58a	0,00f	15,2g	0,00f
LB1	20,33c	40,00a	91,6667a	0,00f	22,61f	0,00f
SV103	15,33g	22,00c	100,00a	72,91b	35,00e	23141,25d
SV105	18,67d	40,00a	95,83a	0,00f	20,03f	0,00f
CV	17,00f	23,33b	100,00a	22,91e	23,82f	875f
2B	15,67g	40,00a	100,00a	0,00f	15,47g	0,00f
143	15,67g	40,00a	100,00a	0,00f	24,20f	0,00f
A1	15,33g	22,33c	100,00a	29,17d	33,98e	7503,75e
5V	17,00f	40,00a	97,91a	0,00f	12,25g	0,00f
6V	12,67i	19,67f	100,00a	64,58c	61,83b	44293,75b
7V	21,00c	40,00a	100,00a	0,00f	9,03h	0,00f
12V	22,66b	40,00a	22,83d	0,00f	1,78i	0,00f
13V	16,67f	40,00a	100,00a	0,00f	13,18g	0,00f
Caturra	14,67h	21,67d	100,00a	100a	97,91a	64476,67a

Período de incubação (PI); Período latente (PL); Porcentagem de discos com sintomas (DS); Porcentagem de discos com esporulação (DE); Porcentagem de área com sintomas (AS); Produção de uredósporos (PU).

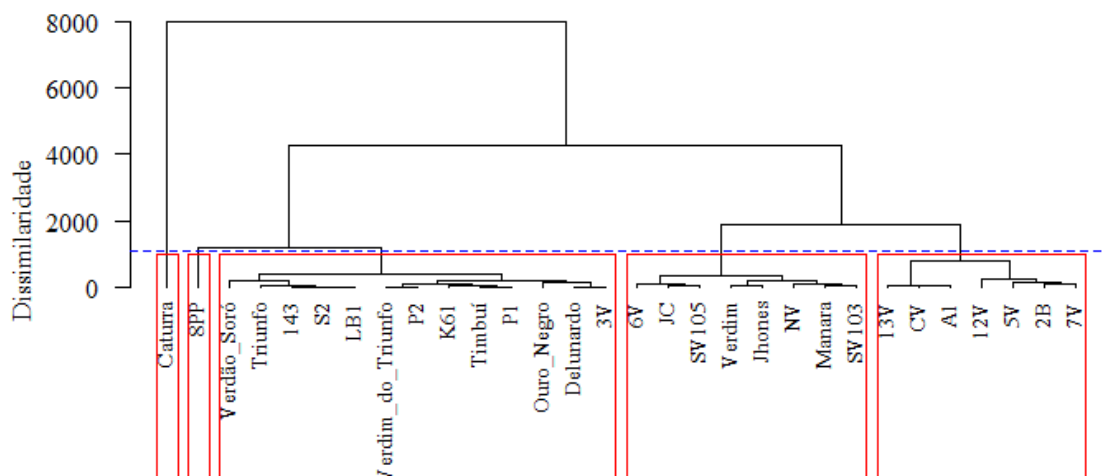


Figura 1 Dendrograma obtido pelo método hierárquico UPGMA aplicado a matriz de dissimilaridade da distância generalizada de Mahalanobis, dividindo os genótipos avaliados em diferentes classes de resistência à raça II de *H. vastatrix*.

Na análise multivariada das componentes de resistência à raça XXXIII de *H. vastatrix* foram também formadas cinco classes distintas, sendo elas R (Verdim do Triunfo, CV, P1, A1, NV, Manara, SV103), MR (143, P2, Jhones, 2B, 5V, S2, 13V, 7V, LB1, K61, SV105, 12V, Verdão Soró, JC, Triunfo, Verdim), MS (6V), S (Caturra) e I (Ouro Negro, Delunardo, Timbuí, 8PP). Estes grupos foram obtidos estabelecendo o ponto de corte do dendrograma em 280% de dissimilaridade (Figura 3).

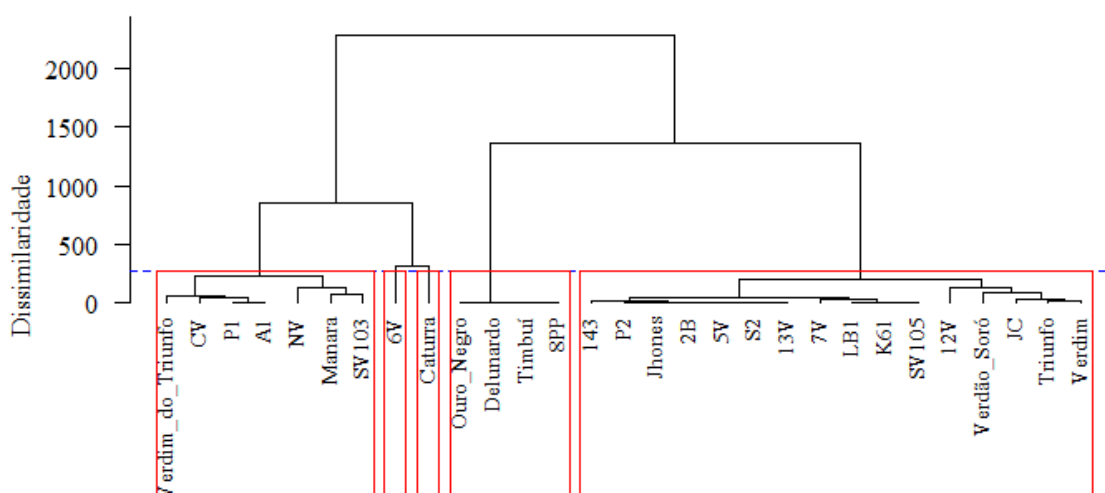


Figura 2 Dendrograma obtido pelo método hierárquico UPGMA aplicado a matriz de dissimilaridade da distância generalizada de Mahalanobis, dividindo os genótipos

avaliados em diferentes classes de resistência à raça XXXIII de *H. vastatrix*

4. DISCUSSÃO

4.1. Diversidade Genética

A utilização de 12 marcadores microssatélites (SSR) permitiu dividir a população clonal de *C. canephora* em sete grupos com base na dissimilaridade genética. Os grupos 1, 2, 3 e 5 foram formados apenas por um indivíduo cada, sendo eles Conilon 6716, BRS1216, R22 e S3, respectivamente. O genótipo do Conilon 6716 faz parte do programa de melhoramento genético desenvolvido pelo Incaper, sendo atualmente avaliado em condição de campo e, caso sejam observadas características fenotípicas vantajosas e estáveis ao longo das avaliações, pode vir a fazer parte de novas variedades clonais.

Os genótipos BRS1216 e R22, coletados do BAG do Instituto Capixaba de Pesquisa e Extensão Rural (Incaper) são originados de hibridações naturais entre as variedades Robusta x Conilon do programa de melhoramento genético da Embrapa Rondônia. Materiais pertencentes a este programa são oriundos da identificação, seleção, clonagem e seleção de genótipos nas principais regiões produtoras de Rondônia, nos municípios de Cacoal, Rolim de Moura e Ji-Paraná (FERRÃO et al., 2017b).

O genótipo S3 é oriundo de seleção empírica, realizada em campo por produtores e viveiristas, tendo sido coletado no município de João Neiva no estado do Espírito Santo. O genótipo apresenta em campo características intermediárias entre as variedades Robusta e Conilon, podendo ser um híbrido entre estes grupos varietais.

Indivíduos selecionados do Programa de melhoramento UFV/Epamig/Embrapa como controles para a variedade Robusta foram agrupados no grupo 4. Tais materiais foram introduzidos neste banco ativo de germoplasma através da Epamig, sendo trazidos do Centro Agronômico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), na Costa Rica (ALKIMIM et al., 2018).

O grupo 6 foi constituído por outros genótipos classificados dentro da variedade Robusta, sendo estes obtidos do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) do Incaper. Estes genótipos têm diferentes origens, sendo em sua maioria oriundos do programa de melhoramento genético do Instituto Agronômico de Campinas (IAC). Neste grupo

também foram incluídos dois acessos considerados híbridos dos grupos varietais, BRS 1213 originado do BAG do Incaper e o H0911, do BAG da Epamig.

A formação dos grupos 1, 2, 3, 4, 5 e 6 pode ser explicada devido a distinta origem desses genótipos. Outros autores também já observaram divergência genética em populações *C. canephora* cultivada no Brasil, observando a separação de populações oriundas de diferentes programas de melhoramento. Souza et al., (2013), utilizando 20 microssatélites, avaliaram a divergência genética em 130 genótipos da espécie *C. canephora*. Estes autores encontraram alto nível de polimorfismo na população avaliada, com a formação de dois grupos, um formado por indivíduos oriundos do IAC e UFV, e outro subdividido em dois sub-grupos, separando genótipos do Incaper e Embrapa Rondônia.

Não foi possível, através dos marcadores, coeficiente de dissimilaridade e método de agrupamento utilizados separar genótipos com características fenotípicas de Conilon de parte dos genótipos híbridos ou com características intermediárias entre conilon e robusta. Desta forma, os materiais incluídos neste trabalho como controles para a variedade conilon e híbridos (Conilon x Robusta) foram alocados no grupo 7, em conjunto com todos os genótipos pertencentes às variedades clonais do Incaper, por materiais oriundos de seleção empírica no Estado do Espírito Santo e híbridos naturais oriundos do programa de melhoramento genético da Embrapa Rondônia.

Genótipos inseridos neste trabalho como controles para a variedade Conilon e híbridos foram obtidos do BAG do Programa de Melhoramento da UFV/Epamig/Embrapa. Os genótipos híbridos são oriundos de cruzamentos entre genitores masculinos Conilon, também oriundos do BAG do Incaper, com genitores femininos Robusta (Tabela 4), oriundos do CATIE (ALKIMIM et al., 2018).

Verifica-se assim, através da análise do dendograma, menor divergência genética entre estes genótipos, uma vez que são originários, ou tem o genitor masculino originário de uma mesma região geográfica, neste caso, o estado do Espírito Santo.

O agrupamento dos genótipos oriundos de seleção empírica neste grupo, em conjunto com às variedades clonais do Incaper, confirma a proximidade genética destes com a variedade Conilon. Neste contexto é válido lembrar que, o programa de melhoramento genético do Incaper explora a variabilidade genética da espécie *C. canephora*, sendo uma das estratégias empregadas a identificação e seleção de indivíduos com características fenotípicas superiores em populações naturais segregantes em lavouras do estado do Espírito Santo (FERRÃO et al., 2017b). Desta

forma, genótipos de *C. canephora* pertencentes às variedades clonais do Incaper e genótipos oriundos de seleção empírica realizada por produtores e viveiristas são originários de uma mesma população, justificando a maior proximidade entre estes materiais em relação aos de outros programas de melhoramento.

Em trabalhos envolvendo marcadores moleculares, já foi demonstrado que genótipos de *C. canephora* da variedade Conilon são próximos, geneticamente, do subgrupo SG1, proposto por MONTAGNON et al., (1992) e (CUBRY et al., 2008; LAMBOT et al., 2009; ALEKCEVETCH et al. 2013). Tais materiais tiveram origem de populações do Gabão e do sul do Congo (FERRÃO et al., 2017b). Genótipos que apresentam características típicas da variedade Robusta são classificados no subgrupo SG2, os quais são originários de países da África Central, como República Democrática do Congo, República Centro-Africana e Camarões (MONTAGNON et al., 1992). Materiais pertencentes ao subgrupo SG2 apresentam características parecidas com materiais do grupo Guineano, que é constituído por materiais originários de países do Oeste da África, como Guiné, Libéria e Costa do Marfim (BERTHAUD, 1986; FERRÃO et al., 2017b). Estudos sugerem que, a separação da espécie nestes grupos, está fortemente relacionada a eventos históricos de isolamento geográfico e glaciação ocorridos há 18 mil anos e também ao processo de melhoramento ocorrido, através da atividade humana. Na natureza, os grupos Congolês e Guineano são separados por uma faixa de terras áridas de 300 km de largura, entre blocos de floresta do centro e do oeste africano, conhecida como intervalo de Dahomey (MAURIN et al, 2007; GOMES et al, 2009), o que favorece o isolamento geográfico entre as duas variedades.

Apesar do maior número de acessos de conilon estar disponível no BAG do Incaper, o BAG do IAC materiais genéticos de outros grupos (FERRÃO et al., 2017b). Avaliando a diversidade genética em 48 clones parentais de *C. canephora* do BAG do Incaper e 266 descendentes de polinização aberta desta população, Alekcevetch (2013) encontrou considerável variabilidade, com maior parte dos indivíduos apresentando proximidade genética com acessos representantes do grupo SG1, havendo também genótipos com maior proximidade com os grupos SG2 e Guineano.

Em trabalho realizado por Vicentini (2013) foram avaliadas características morfoagronômicas de 100 progênies conduzidas sob estratégia de seleção recorrente do programa de melhoramento do Incaper, observou dissimilaridade entre os genótipos com potencial para uso em hibridações. No entanto, o referido autor relata que a dissimilaridade entre estes materiais apresentou discreto distanciamento. Resultados

similares foram obtidos por Carias et al. (2016). Estes autores avaliaram 70 progênies, também conduzidas sobre estratégia de seleção recorrente no Incaper, obtendo baixa variância genotípica para maior parte das características morfoagronômicas avaliadas. Segundo tais autores, estes resultados indicam a necessidade de introdução de novos materiais em ciclos subsequentes de seleção recorrente com objetivo de aumentar a variabilidade genética na população em estudo.

Considerando a divergência genética observada entre genótipos de *C. canephora* coletados oriundos do Espírito Santo (var. Conilon) em relação à materiais oriundos de programas de melhoramento do IAC e Embrapa Rondônia (var. Robusta), a utilização destes materiais como genitores, em programas de hibridação entre as duas variedades, pode ser uma estratégia para obtenção de cultivares que reúnam as características agronômicas desejáveis de cada variedade. Neste contexto, é importante salientar que genótipos pertencentes às variedades Conilon e Robusta apresentam características fenotípicas complementares. Genótipos da variedade Conilon, em geral, apresentam maior tolerância à seca, maior produtividade e maior facilidade de cultivo devido seu menor tamanho, enquanto genótipos da variedade Robusta tendem a apresentar maior resistência à nematoides e à ferrugem e melhor qualidade de bebida.

Várias instituições brasileiras têm se empenhado na conservação, caracterização e ampliação da variabilidade genética da espécie *C. canephora*, com destaque para o BAG o qual reúne materiais genéticos coletados no estado e oriundos de cruzamentos e seleções do programa de melhoramento. A manutenção de reserva gênica da espécie é um trabalho essencial para programas de melhoramento, objetivando a obtenção de novas cultivares através de cruzamentos intra e interespecíficos (FERRÃO et al., 2017b). Apesar do polimorfismo observado neste e em outros trabalhos, a inserção de novas fontes de germoplasma de outras regiões do mundo é também importante para aumentar a diversidade genética em Bancos de germoplasma (SOUZA et al., 2013).

4.2. Genótipos portando marcadores para genes de resistência à Ferrugem-do-Cafeeiro e à CBD

Por meio da amplificação de marcadores SCAR (BA-48-21°-f, BA-124-12K-f, SP-M16-S_{H3}) e SSR (SAT244) foram identificados sete genótipos contendo marcadores ligados ao gene de resistência S_{H3}. No entanto, em nenhum dos genótipos foi observada a presença dos quatro marcadores. Fato semelhante foi observado em trabalho realizado por Alkimin et al. (2017), tendo estes autores atribuído esse fato à provável ocorrência

de recombinação. A recombinação (ocorrência de crossing-over durante a meiose) entre o marcador e o loco de interesse pode afetar a eficiência da utilização de marcadores moleculares (Rubio et al. 2014). Os marcadores que apareceram com maior frequência foram SAT244 e BA-124-12K-f. Segundo Mahé et al. (2008), estes marcadores estão à uma distância de 0 cM do gene S_{H3} , o que reduz a possibilidade de recombinação entre gene e marcador. Segundo os mesmos autores, as distâncias entre o gene S_{H3} e os marcadores SP-M16- S_{H3} e BA-48-21°-f são respectivamente 1.8 e 0.6 cM. Segundo Alkimim et al. (2017) apesar destas distâncias serem pequenas, recombinações podem ocorrer entre o marcador e o locus de interesse. Estes resultados reforçam a importância da proximidade entre os marcadores moleculares e o gene de interesse para reduzir possíveis erros na identificação de genótipos portando tais genes (KIGUONGO et al., 2014; RUBIO et al., 2014; BALACHIRANJEEVI et al., 2015).

Quanto a resistência à ferrugem-do-cafeeiro, foi atribuída a espécie *C. canephora* os seguintes genes S_{H6} , S_{H7} , S_{H8} e S_{H9} (BETTENCOURT & RODRIGUES, 1988). Entretanto, em trabalhos recentes foram identificados outros genes (S_{H10} , S_{H11} , S_{H12}) envolvidos na resistência a ferrugem (GELETA, 2017; SILVA, 2017). Uma vez que o gene S_{H3} é atribuído à espécie diploide *C. liberica*, uma possível justificativa para sua identificação em genótipos de *C. canephora* poderia ser a introgressão por meio de cruzamentos com esta espécie. Em *C. arabica* o gene foi inserido à partir de introgressão, sendo identificado em acessos indianos provenientes de cruzamentos naturais entre *C. arabica* e *C. liberica* (PRAKASH, 2004). Entretanto, não existem na literatura informações sobre cruzamentos, naturais ou artificiais, entre *C. canephora* e *C. liberica*. Desta forma, estes resultados obtidos à partir da utilização dos marcadores moleculares para o gene S_{H3} justificam a realização de novos trabalhos que busquem elucidar a presença e origem deste gene em *C. canephora*, visto que, se confirmada a presença deste gene, estes genótipos podem constituir fonte de recurso genético em programas de melhoramento da espécie, visando resistência à ferrugem-do-cafeeiro. A presença dos marcadores CaRHv9 e CAP_CaRHv10 ligados ao loco de resistência a raças I, II e patótipo 001 foi observada em 61 dos genótipos avaliados. De forma semelhante aos marcadores ligados ao gene S_{H3} , houveram indivíduos que apresentaram apenas um dos marcadores. Enquanto 56 indivíduos apresentaram o marcador CaRHv9, o marcador CAP_CaRHv10 foi observado em 20 indivíduos.

Também foram identificados 44 indivíduos contendo marcadores para o gene Ck-1, que confere resistência a antracnose dos frutos verdes do cafeeiro (CBD). Dentre

estes, 34 indivíduos apresentaram o marcador SAT235, enquanto o marcador SAT207 foi observado em 13 indivíduos. A maior frequência na identificação do marcador SAT235 pode ser explicada pelo fato deste co-segregar com o gene Ck-1, enquanto o marcador SAT207 está localizado à uma distância de 17.2 cM deste gene (GICHURU et al., 2008), podendo ocorrer recombinação (ALKIMIM et al., 2017). Apesar de *Colletotrichum kahawae* não estar presente no Brasil, a identificação destes genótipos apresentando o gene de resistência, pode ser uma importante estratégia no melhoramento preventivo, auxiliando na seleção de recursos genéticos (GICHURU et al., 2008; KIGUONGO et al., 2014).

4.3. Resistência de genótipos de *Coffea canephora* às raças II e XXXIII de *H. vastatrix*

No Brasil, 15 raças fisiológicas de *H. vastatrix* foram relatadas até o presente momento (ZAMBOLIM, 2016; ZAMBOLIM & BRENES, 2018). A raça II foi escolhida para as avaliações de resistência por ser a de maior prevalência no país e no estado do Espírito Santo (SILVA, 2000; ZAMBOLIM et al., 2005), enquanto a raça XXXIII foi escolhida por ser considerada uma raça complexa, tendo sido identificada infectando genótipos considerados resistentes, sendo portanto considerada como risco para o desenvolvimento de resistência durável em campo (NASCIMENTO et al., 2010; CAPUCHO et al., 2012).

Foram observadas na população avaliada expressões de suscetibilidade/resistência variando desde genótipos apresentando curtos PI e PL; com altos valores de DS, DE, AF e NE até genótipos que não apresentaram quaisquer sintomas para as raças inoculadas (ímmunes). Através do teste de médias univariado de Scott-Knott foram verificadas diferenças nos comportamentos dos genótipos em relação a todas as componentes de resistência avaliadas para as duas raças II e XXXIII.

Diversos componentes podem ser eficientes em estimar resistência horizontal. Os componentes de resistência avaliados neste trabalho já foram utilizadas em diversos trabalhos (ESKES, 1982; ESKES, 1983a; ESKES, 1983b; ESKES & COSTA, 1983; BETTENCOURT & RODRIGUEZ, 1988; LEGUIZAMÓN-CAYCEDO et al., 1998; PEDROSA et al., 2004; ANGELOTTI et al., 2008). Na maioria destes trabalhos, os componentes avaliadas foram analisadas individualmente. Neste trabalho, a utilização da análise multivariada dos componentes de resistência, buscou tratar de forma global o comportamento dos genótipos avaliados, em relação à resistência às raças avaliadas.

Apesar da componente Período Infeccioso (período de esporulação das lesões) apresentar certo papel na epidemiologia da doença, os primeiros esporos são muito mais importantes do que os produzidos posteriormente. Desta forma, o Período Latente (PL), que é caracterizado pelo tempo desde a inoculação até a produção dos primeiros esporos é uma componente de resistência altamente importante para patógenos policíclicos. Longos PL são importantes para a resistência horizontal (VALE et al, 2001). Eskes (2005) inclui a produção de esporos como uma das principais componentes de resistência a serem avaliadas em discos foliares, sendo importante para explicar a variação da incidência da doença em genótipos de café Conilon em campo. Os componentes período de incubação (PI), porcentagem de discos com sintomas (PDCS) e porcentagem de discos esporulados (PDE) também foram utilizados em trabalhos anteriores de avaliação de resistência horizontal à ferrugem em *C. canephora* (ESKES, 1982; 1983a; 1983b; ESKES & COSTA, 1983). ESKES (1982) obteve maiores correlações entre dados obtidos em campo e avaliações em discos foliares à partir da componente porcentagem de discos esporulados. Em trabalho realizado por Neto (2011), avaliando o nível de resistência de híbridos de *C. canephora* às raças II e XXXIII de *H. vastatrix*, a componente de resistência % de discos esporulados foi a que apresentou maiores valores de correlação absoluta com os níveis de resistência determinados por análise multivariada de componentes principais. Em trabalhos avaliando a resistência de genótipos da variedade Conilon Vitoria 8142 à raça II de *H. vastatrix* também foi possível dividir os genótipos nas classes Resistente, Moderadamente Resistente, Moderadamente Suscetível e Suscetível através da análise conjunta de componentes de resistência para análise de componentes principais (CAPUCHO et al., 2011; ROSADO et al., 2011).

Dentre os parâmetros genéticos avaliados, a herdabilidade é uma estimativa que expressa a relação entre a variância genética e fenotípica. Este parâmetro indica a proporção da variabilidade observada no fenótipo atribuída ao genótipo (SANTOS et al., 2018; BORÉM & MIRANDA, 2013). Além do alto efeito do genótipo sobre o fenótipo, os altos valores de herdabilidade apresentados pela população também podem estar relacionados ao curto período de manifestação dos caracteres avaliados, todos inferiores a 40 dias. Segundo Borém & Miranda (2013) uma teoria atribuída à herdabilidade é que características desenvolvidas em períodos de tempo mais curtos são menos sujeitas ao ambiente, apresentando maiores valores para este parâmetro que outras que se desenvolvem em períodos mais longos. As condições experimentais do

trabalho, conduzido em ambiente controlado, também podem ter exercido efeito neste parâmetro, reduzindo a o peso da variação ambiental na variação fenotípica total (OLIVEIRA et al., 2016). Estes resultados indicam que, em programas de melhoramento, por meio de seleção simples, seria possível obter ganhos genéticos significativos, uma vez que o ambiente apresenta pouca influência sobre determinada característica (FALCONER, 1981). Também foram obtidos altos valores de razão CVg/CVe. Quando os valores para este parâmetro são iguais ou superiores à uma unidade é identificada situação favorável à seleção, uma vez que a diferença entre os indivíduos para determinada característica é resultante principalmente da variação genética (VENCOVSKY, 1987; YOKOMIZO & FARIAS NETO, 2003).

O Coeficiente de Correlação Cofenética (CCC) observados nos dendograma obtidos para resistência às raças II e XXXIII de *H. vastatrix* foram de 0,88 e 0,89, respectivamente. Valores de CCC acima de 0,8 são suficientes para adequação do método de agrupamento, enquanto valores abaixo de 0,7 indicam inadequação do método (SOKAL & ROHLF, 1962; ROHLF 1970). Desta forma, observa-se que o método de agrupamento adotado apresentou baixa distorção gráfica em relação aos valores de dissimilaridade obtidos pela estatística multivariada.

Um problema comum em análises de agrupamento é a ausência de definição do número adequado de grupos a serem formados, uma vez que não há um critério padrão que auxilie nesta tomada de decisão, sendo a escolha feita de forma subjetiva em muitos estudos (LIBERATO et al., 1995; CRUZ et al., 2011). Inicialmente, tentou-se utilizar o critério estatístico de Mojena (1977), com $k=1,25$, para estabelecer o ponto de corte dos dendogramas. No entanto, a partir deste critério, não houve separação eficiente dos genótipos com base no comportamento em relação às componentes de resistência avaliadas. Entretanto aceita-se a definição do número de grupos com base em conhecimentos prévios do pesquisador sobre seus dados, pela conveniência e por razões práticas com base nos objetivos do estudo (BARROSO & ARTES, 2003; CRUZ et al., 2011). Desta forma, o ponto de corte de cada dendograma foi adotado, com base nas observações das características observadas, nas avaliações dos componentes em cada genótipo, auxiliadas pela análise univariada dos dados. Foi possível assim dividir os genótipos nos dendogramas plotados para resistência às raças II e XXXIII em cinco grupos, sendo um grupo dos genótipos imunes e quatro grupos com diferentes níveis de resistência horizontal. Genótipos que não apresentaram quaisquer manifestações de sintomas ou sinais de infecção foram classificados como imunidade completa e absoluta

(Van der Plank, 1975) às respectivas raças inoculadas. Apenas um genótipo, (3,33% da população avaliada) foi imune à raça II, enquanto quatro indivíduos se mostraram imunes à raça XXXIII, representando 15,38% dos genótipos avaliados para esta raça.

Nos genótipos classificados como R, apesar da reprodução dos sintomas da infecção, o patógeno não foi capaz de completar seu ciclo, não sendo observada a produção de uredósporos. Para a raça II de *H. vastatrix*, 43,33 % dos genótipos foram classificados neste grupo, enquanto para raça XXXIII esse valor foi consideravelmente menor, de 24,13%. A menor proporção de genótipos resistentes à raça XXXIII pode ser justificada por essa ser considerada uma raça com genes de virulência complexos (v5 e v7 ou v5, v7 e v9), enquanto a raça II é portadora apenas do gene v5 (ZAMBOLIM et al., 2005; ZAMBOLIM 2016). Na classe dos indivíduos considerados MR os genótipos, apesar de apresentarem esporulação, tiveram a componente de resistência PU muito inferior a genótipos agrupados como S e MS. Estes materiais também apresentaram PI mais curtos e AF maior do que genótipos agrupados como Resistentes, compondo 26,66 e 55,17% dos genótipos avaliados com as raças II e XXXIII de *H. vastatrix*, respectivamente. Os genótipos agrupados dentro da classe Moderadamente Suscetível apresentaram altos valores de DE, AF e PU, sendo estes valores superiores aos observados nas classes anteriores, agrupando 23,33% dos genótipos avaliados com a raça II e 3,45% com a raça XXXIII.

A variedade de *C. arabica* Caturra compôs a classe Suscetível nas avaliações com as duas raças. Este genótipo apresentou maior suscetibilidade à *H. vastatrix* nos componentes avaliados, sobretudo para as componentes AF e PU. A resistência de plantas à doenças pode ser classificada em duas categorias, sendo elas resistência horizontal e resistência vertical (Van Der Plank 1963).

A espécie *C. canephora* é caracterizada por apresentar indivíduos expressando resistência vertical ou resistência horizontal à ferrugem-do-cafeeiro, podendo ser observados genótipos totalmente resistentes assim como altamente suscetíveis (RODRIGUEZ-JUNIOR et al., 1976; ESKES, 1983a, ESKES, 1983b, ESKES, 2005; NETO, 2011; CAPUCHO, 2011). Apesar de alguns clones de *C. canephora* apresentarem resistência vertical às raças de *H. vastatrix* prevalescentes no Espírito Santo, avaliações em campo têm apresentado grande variabilidade de níveis de resistência horizontal entre tais matérias, tendo-se notado que alguns dos genótipos mais produtivos se mostram mais suscetíveis à doença em algumas regiões e épocas do ano (TATAGIBA et al., 2001; ANDRADE et al., 2003).

A resistência dos clones pertencentes a variedade clonal Vitória ES8142 às raças I, II e XXXIII de *H. vastatrix* foi avaliada por Capucho et al., (2011) em inoculações em mudas. Foram inclusos neste trabalho genótipos classificados por este autor como R, MR, MS, S às raças II e XXXIII. Alguns destes genótipos foram no presente trabalho classificados em grupos diferentes dos propostos por Capucho (2011). Para resistência à raça II, o clone 4V, anteriormente classificado como R, neste trabalho foi classificado como MR; o clone 5V, anteriormente classificado como MR, foi classificado MS e os clones 7V e 13, anteriormente classificados como S, foram classificados como MS.

Para resistência à raça XXXIII, o clones 5V, anteriormente classificado como R foi classificado como MR, o clone 7V, de MS, foi classificado como MR; e os clones 12V e 13V, anteriormente classificados como R foram aqui classificados como MR. A resistência horizontal é fortemente influenciada por condições ambientais (VALE et al., 2001), e em condições de câmara de incubação, são proporcionadas condições ótimas para o desenvolvimento do patógeno, favorecendo seu desenvolvimento em tecidos suscetíveis.

Os genótipos 8PP, Verdim do Triunfo, Timbuí, P1, Ouro Negro e Delunardo se mostraram imunes ou com alto nível de resistência horizontal para as duas raças avaliadas. Dentre estes materiais, os genótipos Timbuí, Delunardo e Verdim Triunfo possuem os dois locos avaliados para o gene de resistência $S_H^?$, confirmados pelos marcadores CaRHv9 e CaRHv10. Os genótipos P1, Ouro Negro possuem o loco de resistência para o marcador CaRHv9, enquanto o 8PP possui para o marcador CaRHv10. Este ultimo genótipo também apresentou o marcador BA-48-21OR para o gene de resistência S_H^3 . O genótipo Verdim Triunfo também possui a marcador SAT235 para o gene de resistência a CBD. Desta forma, tais materiais apresentam potencial para serem empregados na formação de novas lavouras em campo, podendo reduzir a ocorrência de epidemias, a utilização de fungicidas e os danos ambientais provocados por estes agroquímicos. Tais materiais também podem ser importante fonte de recursos genéticos em programas de melhoramento genético da espécie *C. canephora* buscando resistência à ferrugem-do-cafeeiro.

Em lavouras *C. canephora* cultivar Conilon, o plantio é realizado em linhas, sendo cada linha composta por um clone diferente do outro, visando atuar como fornecedor de pólen uma vez que plantas de *C. canephora* são autoestéreis. Usualmente, os produtores de conilon fazem opção para plantio de clones, com alta produtividade, mas que nem sempre são resistentes a ferrugem. No presente trabalho encontrou-se

clones imunes, R, MR, MS e S. A estratégia de se empregar clones resistentes e imunes a ferrugem é altamente recomendada uma vez que não haveria necessidade de atomização. Entretanto, tal estratégia nem sempre é empregada em campo, pois os produtores levam em consideração outras características dos clones como produtividade, ciclo, tombamento das hastes, qualidade da bebida entre outras.

5. CONCLUSÕES

Os genótipos avaliados foram agrupados em sete grupos quanto à diversidade genética, sendo divididos em grupos compostos por materiais das variedades Conilon, Robusta e híbridos;

Genótipos pertencentes às variedades clonais do Incaper e genótipos oriundos de seleção empírica no Estado do Espírito Santo foram alocados dentro de uma mesma classe quanto à diversidade genética, sendo esta classe composta por genótipos com características e tradicionalmente classificados dentro da variedade Conilon;

Existem, dentro da população avaliada, genótipos portando marcadores associados ao gene S_H3 e à QTL de resistência à ferrugem e ao gene Ck-1, de resistência ao CBD;

Entre os genótipos de *C. canephora* oriundos de seleção empírica mais cultivados no Estado do Espírito Santo, são observados diferentes níveis de resistência horizontal às raças II e XXXIII de *H. vastatrix*, podendo ser empregados em estratégias de manejo da ferrugem;

Existem dentro da população avaliada genótipos que podem consistir em importantes fontes de recursos genéticos para programas de melhoramento visando hibridação entre variedades (Conilon x Robusta), buscando a obtenção de novos clones e variedades clonais reunindo as características agronômicas desejáveis de cada variedade, bem como para programas que visem a obtenção de genótipos com resistência à ferrugem e ao CBD;

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO **Acompanhamento da Safra Brasileira - Café**. Setembro de 2018. Brasília: [s.n.].

ALEKCEVETCH, J. C. CARNEIRO, F. D. A.; RÊGO, E. C. S.; GUERRA, A. F.; BARTHOLO, G. F.; FERRÃO, M. A. G.; FONSECA, A. F. A. D.; MARRACCINI, P.; ANDRADE, A. C. Study of Genetic Diversity of *Coffea canephora* Population Using Ssr Molecular Markers. In: VIII Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil. p. 1–5, 2013.

ALKIMIM, E. R. CAIXETA, E. T.; SOUSA, T. V.; PEREIRA, A. A. D. O.; BAIAO, A. C.; ZAMBOLIM, L.; SAKIYAMA, N. S. Marker-assisted selection provides arabica coffee with genes from other *Coffea* species targeting on multiple resistance to rust and coffee berry disease. **Molecular Breeding**, v. 37, n. 1, 2017. doi: [10.1007/s11032-016-0609-1](https://doi.org/10.1007/s11032-016-0609-1)

ALKIMIM, E. R.; CAIXETA, E. T.; SOUSA, T. V.; DA SILVA, F. L.; SAKIYAMA, N. S.; ZAMBOLIM, L. High-throughput targeted genotyping using next-generation sequencing applied in *Coffea canephora* breeding. **Euphytica**, v. 214, n. 3, p. 50, 2018. doi: [10.1007/s10681-018-2126-2](https://doi.org/10.1007/s10681-018-2126-2)

ANGELOTTI, F.; SCAPIN, C. R.; TESSMANN, D. J.; VIDA, J. B.; VIEIRA, R. A.; DE SOUTO, E. R. Resistência de genótipos de videira à ferrugem. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, n. 9, p. 1129–1134, 2008. doi: [10.1590/S0100-204X2008000900005](https://doi.org/10.1590/S0100-204X2008000900005)

BALACHIRANJEEVI, C.; BHASKAR, N. S.; ABHILASH, V.; AKANKSHA, S.; VIRAKTAMATH, B. C.; MADHAV, M. S.; HARIPRASAD, A. S.; LAHA, G. S.; PRASAD, M. S.; BALACHANDRAN, S. M.; NEERAJA, C. N.; SATENDRA KUMAR, M.; SENGUTTUVEL, P.; KEMPARAJU, K. B.; BHADANA, V. P.; RAM, T.; HARIKA, G.; MAHADEVA SWAMY, H. K.; HAJIRA, S. K.; YUGANDER, A.; PRANATHI, K.; ANILA, M.; REKHA, G.; KOUSIK, M. B. V. N.; DILIP KUMAR, T.; SWAPNIL, R. K.; GIRI, A. SUNDARAM, R. M. Marker-assisted introgression of bacterial blight and blast resistance into DRR17B, an elite, fine-grain type maintainer

line of rice. **Molecular Breeding**, v. 35, n. 7, p. 151, 8 jul. 2015. doi: [10.1007/s11032-015-0348-8](https://doi.org/10.1007/s11032-015-0348-8)

BARROSO, L. P.; ARTES, R. **Análise Multivariada**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2003.

BARUAH, A.; NAIK, V.; HENDRE, P. S.; RAJKUMAR, R.; RAJENDRAKUMAR, P.; AGGARWAL, R. K. Isolation and characterization of nine microsatellite markers from *Coffea arabica* L., showing wide cross-species amplifications. **Molecular Ecology Notes**, v. 3, p. 647–650, 2003. doi: [10.1046/j.1471-8286.2003.00544.x](https://doi.org/10.1046/j.1471-8286.2003.00544.x)

BERTHAUD, J. **Les ressources génétiques pour l'amélioration des caféiers Africains diploïdes**. Paris: INSTITUT FRANÇAIS DE RECHERCHE SCIENTIFIQUE POUR LE DÉVELOPPEMENT EN COOPÉRATION, 1986.

BETTENCOURT, A. J.; CARVALHO, A. Melhoramento visando a resistência do cafeeiro à ferrugem. **Bragantia**, v. 27, n. 1, p. 35–68, jan. 1968. doi: [10.1590/S0006-87051968000100004](https://doi.org/10.1590/S0006-87051968000100004)

BETTENCOURT, A. J.; RODRIGUES, C. J. Principles and practice of coffee breeding for resistance to rust and other diseases. **Agronomy**, v. 4, n. 2, p. 199–234, 1988.

BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. Herdabilidade. In: BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. (Eds.). **Melhoramento de Plantas**. 6. ed. Viçosa: Editora UFV, 2013. p. 98–130.

BHAT, P. R.; KRISHNAKUMAR, V.; HENDRE, P. S.; RAJENDRAKUMAR, P.; VARSHNEY, R. K.; AGGARWAL, R. K. Identification and characterization of expressed sequence tags-derived simple sequence repeats markers from robusta coffee variety “C x R” (an interspecific hybrid of *Coffea canephora* x *Coffea congensis*). **Molecular Ecology Notes**, v. 5, n. 1, p. 80–83, 2005. doi: [10.1111/j.1471-8286.2004.00839.x](https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00839.x)

CABRAL, P. G. C.; ZAMBOLIM, E. M.; ZAMBOLIM, L.; LELIS, T. P.; CAPUCHO, A. S.; CAIXETA, E. T. Identification of a new race of *Hemileia vastatrix* in Brazil. **Australasian Plant Disease Notes**, v. 4, p. 129–130, 2009. doi: [10.1071/DN09052](https://doi.org/10.1071/DN09052)

CADENA-GOMEZ, G. Searching for expression of durable resistance to the coffee leaf rust disease in conilon (*Coffea canephora*) germplasm in the late 70's. In:

ZAMBOLIM, L.; ZAMBOLIM, E. M.; VARZEA, V. M. P. (Eds.). . **Durable Resistance to Coffe Leaf Rust**. 1. ed. Viçosa: Suprema Gráfica e Editora, 2005. p. 117–136.

CAPUCHO, A. S. ; ZAMBOLIM, L. ; ROSADO, A.W.C. ; FERRÃO, R.G. ; FERRÃO, M.A.G. ; FONSECA, A.F.A. ; ZAMBOLIM, E. M. ; CAIXETA, E. T. . Resistência do Conilon Vitória Incaper 8142 à raça I de *Hemileia vastatrix*. In: VII Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, 2011, Araxá-MG. Anais do VII Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, 2011.

CAPUCHO, A. S.; ZAMBOLIM, E. M.; FREITAS, R. L.; HADDAD, F.; CAIXETA, E. T.; ZAMBOLIM, L. Identification of race XXXIII of *Hemileia vastatrix* on *Coffea arabica* Catimor derivatives in Brazil. **Australasian Plant Disease Notes**, v. 7, n. 1, p. 189–191, 2012. doi: [10.1007/s13314-012-0081-7](https://doi.org/10.1007/s13314-012-0081-7)

CAPUCHO, A. S.; RUFINO, R.J. N.; ZAMBOLIM, E. M.; CAIXETA, E. T.; OLIVEIRA, A. C. B.; ALMEIDA, R. F.; BRITO, G. G.; ZAMBOLIM, L. **Método de inoculação de *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. em folhas destacadas de cafeeiro**. SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL. **Anais...**Londrina: EMBRAPA CAFÉ, 2005

CARIAS, C. M. D. O.; GRAVINA, G. D. A.; FERRÃO, M. A. G.; FONSECA, A. F. D. A.; FERRÃO, R. G.; VIVAS, M.; VIANA, A. P. Predição de ganhos genéticos via modelos mistos em progênies de café conilon. **Coffe Science**, v. 11, n. 1, p. 39–45, 2016.

CHIACHIO, F. P. B. **Identificação de raças fisiológicas de *Hemileia vastatrix* Berk. et Br., em materiais provenientes dos estados da Bahia e Espírito Santo**. [s.l.] Universidade Federal de Viçosa, 1973.

COMBES, M. C. Andrzejewski, S.; Anthony, F.; Bertrand, B.; Rovelli, P.; Graziosi, G.; Lashermes, P. Characterization of microsatellite loci in *Coffea arabica* and related coffee species. **Molecular Ecology**, v. 8, n. 2, p. 335–346, 2000. doi: [10.1046/j.1365-294x.2000.00954-5.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-294x.2000.00954-5.x)

COULIBALY, I.; Revol, B.; Noirot, M.; Poncet, V.; Lorieux, M.; Carasco-Lacombe, C.

Minier, J.; Dufour, M. Hamon, P. AFLP and SSR polymorphism in a *Coffea* interspecific backcross progeny [(*C. heterocalyx* x *C. canephora*) x *C. canephora*]. **Theor Appl Genet**, v. 107, p. 1148–1155, 2003. doi: [10.1007/s00122-003-1355-4](https://doi.org/10.1007/s00122-003-1355-4)

CRUZ, C. D. GENES - Software para análise de dados em estatística experimental e em genética quantitativa. **Acta Scientiarum - Agronomy**, v. 35, n. 3, p. 271–276, 2013. doi: [10.4025/actasciagron.v35i3.21251](https://doi.org/10.4025/actasciagron.v35i3.21251)

CRUZ, C. D.; FERREIRA, F. M.; PESSONI, L. A. Diversidade Genética Baseada em Informações Fenotípicas. In: CRUZ, C. D.; FERREIRA, F. M.; PESSONI, L. A. (Eds.). **Biometria aplicada ao estudo da diversidade genética**. 1. ed. Visconde do Rio Branco: Suprema Gráfica e Editora, 2011. p. 29–2018.

CUBRY, P.; MUSOLI, P.; LEGNATÉ, H.; POT, D.; BELLIS, F. D.; PONCET, V.; ANTHONY, F.; DUFOUR, M.; LEROY, T. Structuration de la diversité génétique et analyse des patrons de déséquilibre de liaison de l'espèce *Coffea canephora* Pierre ex. Froehner. 9 dez. 2008.

DA SILVA, D. G. **Levantamento de raças fisiológicas de *Hemileia vastatrix* e resistência de clones de *Coffea canephora* var. Conillon à Ferrugem**. [s.l.] Universidade Federal de Viçosa, 2000.

DAVIS, A. P.; TOSH, J.; RUCH, N.; MICHAEL F. F. 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**, v. 167, n. 4, p. 357–377. doi: [10.1111/j.1095-8339.2011.01177.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2011.01177.x)

DE ALMEIDA D.P.; FERREIRA, K. M.; DE OLIVEIRA A. C. B.; DE FREITAS, K. N. P.; BARREIROS, P. R. R. M.; ROSADO, R. D. S.; ZAMBOLIM, L.; CRUZ, C. D.; CAIXETA; E. T. (in press). **Molecular markers associated with resistance loci for three races of *Hemileia vastatrix* and *Colletotrichum kahawae* in coffee**, *Crop Breeding and Applied Biotechnology*. (Prevision Screen – abril/2019)

DE BRITO, G. G.; CAIXETA, E. T.; GALLINA, A. P.; ZAMBOLIM, E. M.; ZAMBOLIM, L.; DIOLA, V.; LOUREIRO, M. E. Inheritance of coffee leaf rust

resistance and identification of AFLP markers linked to the resistance gene. **Euphytica**, v. 173, n. 2, p. 255–264, 2010. doi: [10.1007/s10681-010-0119-x](https://doi.org/10.1007/s10681-010-0119-x)

DINIZ, L. E. C.; SAKIYAMA, N. S.; LASHERMES, P.; CAIXETA, E. T.; OLIVEIRA, A. C. B.; ZAMBOLIM, E. M.; LOUREIRO, M. E.; PEREIRA, A.; ZAMBOLIM, L. Analysis of AFLP markers associated to the Mex-1 resistance locus in Icatu progenies. **Biotechnology**, n. May, p. 387–393, 2005. doi: [10.12702/1984-7033.v05n04a03](https://doi.org/10.12702/1984-7033.v05n04a03)

DIOLA, V.; DE BRITO, G. G.; CAIXETA, E. T.; ZAMBOLIM, E. M.; SAKIYAMA, N. S.; LOUREIRO, M. E. High-density genetic mapping for coffee leaf rust resistance. **Tree Genetics and Genomes**, v. 7, n. 6, p. 1199–1208, 2011. doi: [10.1007/s11295-011-0406-2](https://doi.org/10.1007/s11295-011-0406-2)

ESKES, A. B. The use of leaf disk inoculations in assessing resistance to coffee leaf rust (*Hemileia vastatrix*). **Netherlands Journal of Plant Pathology**, v. 88, n. 4, p. 127–141, 1982. doi: [10.1007/BF01977270](https://doi.org/10.1007/BF01977270)

ESKES, A. B. Qualitative and quantitative variation in pathogenicity of races of coffee leaf rust (*Hemileia vastatrix*) detected in the State of São Paulo, Brazil. **Netherlands Journal of Plant Pathology**, v. 89, n. 1–2, p. 31–45, 1983a. doi: [10.1007/BF01974442](https://doi.org/10.1007/BF01974442)

ESKES, A. B. Characterization of incomplete resistance to *Hemileia vastatrix* in *Coffea canephora* cv. Kouillou. **Euphytica**, v. 32, n. 2, p. 639–648, jun. 1983b. doi: [10.1007/BF00021477](https://doi.org/10.1007/BF00021477)

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

ESKES, A. B.; DA COSTA, W. M. Characterization of incomplete resistance to *Hemileia vastatrix* in the icatu coffee population. **Euphytica**, v. 32, n. 2, p. 649–657, jun. 1983. doi: [10.1007/BF00021478](https://doi.org/10.1007/BF00021478)

FALCONER, D. S. Introdução à genética quantitativa. Viçosa, MG: UFV, 1987. 279 p.

FERRÃO, R. G.; FERRÃO, M. A. G.; FONCECA, A. F.A.; VOLPI, P.; ‘ Diamante Es 8112 ’, ‘ Es 8122 – Jequitibá ’ E ‘ Centenária Es 8132 ’: Novas Cultivares Clonais De Café Conilon Com Qualidade De Bebida Para O ‘ Diamante Es 8112 ’, ‘ Es 8122 – Jequitibá ’ and ‘ Centenária Es 8132 ’: New. IX Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil. Anais...Curitiba: 2015

FERRÃO, R. G.; FONSECA, A. F. A.; FERRÃO, M. A. G.; DE MUNER, L. H. Coffea canephora. In: FERRÃO, R. G.; FONSECA, A. F. A.; FERRÃO, M. A. G.; DE MUNER, L. H. (Eds.). . Café Conilon. 2. ed. Vitória: Incaper, 2017a. p. 37–54.

FERRÃO, R. G.; FERRÃO, M. A. G.; FONSECA, A. F. A.; VOLPI, P. S.; VERDIN-FILHO, A. C.; TÓFFANO, J. L.; TRAGINO, P. H.; BRAGANÇA, S. M. Cultivares de Café Conilon. In: FERRÃO, R. G.; FONSECA, A. F. A.; FERRÃO, M. A. G.; DE MUNER, L. H. (Eds.). . Café Conilon. 2. ed. Vitória: INCAPER, 2017b. p. 219–242.

FERRÃO, R. G.; FONCECA, A. F. A. D.; FERRÃO, M. A. G.; BRAGANÇA, S. M.; VERDIN FILHO, A. C.; VOLPI, P. S. Cultivares de café conilon. In: FERRÃO, R. G. ; FONCECA, A. F. A. D.; BRAGANÇA, S. M.; FERRÃO, M. A. G.; DE MUNER, L. H. (Eds.). . Café Conilon. 1. ed. Vitória: INCAPER, 2007. p. 205–225.

FERRÃO, L. F. V. CAIXETA, E. T.; SOUZA, F. D. F.; ZAMBOLIM, E. M.; CRUZ, C. D.; ZAMBOLIM, L.; SAKIYAMA, N. S. Comparative study of different molecular markers for classifying and establishing genetic relationships in Coffea canephora. *Plant Systematics and Evolution*, v. 299, n. 1, p. 225–238, 2013. doi: [10.1007/s00606-012-0717-2](https://doi.org/10.1007/s00606-012-0717-2)

FERRÃO, L. F. V.; CAIXETA, E. T.; PENNA, G.; ZAMBOLIM, E. M.; CRUZ, C. D.; ZAMBOLIM, L.; FERRÃO, M. A. G.; SAKIYAMA, N. S. New EST–SSR markers of Coffea arabica: transferability and application to studies of molecular characterization and genetic mapping. *Molecular Breeding*, v. 35, n. 1, 2015b. doi: [10.1007/s11032-015-0247-z](https://doi.org/10.1007/s11032-015-0247-z)

FINCKH, M. R.; GACEK, E. S.; GOYEAU, H. L. C.; MERZ, U.; MUNDT, C. C.; MUNK, L.; NADZIAK, J.; NEWTON, A.C.; DE VALLAVIEILLE-POPE, C.; WOLFE, M. S. Cereal variety and species mixtures in practice, with emphasis on

disease resistance. **Agronomie**, v. 20, n. 7, p. 813–837, 1 nov. 2000. doi: [10.1051/agro:2000177](https://doi.org/10.1051/agro:2000177)

FONSECA, A. F. A.; FERRÃO, R. G.; FERRÃO, M. A. G.; VERDIN-FILHO, A. C.; VOLPI, P. S.; Bittencourt, M. L. C. Jardins Clonais, Produção de Sementes e Mudanças. In: FERRÃO, R. G. .; FONCECA, A. F. A. D.; BRAGANÇA, S. M.; FERRÃO, M. A. G.; DE MUNER, L. H. (Eds.). . Café Conilon. 1. ed. Vitória: INCAPER, 2007. p. 229–258.

GELETA, M.; Herrera, I.; Monzn, A.; Bryngelsson, T. Genetic diversity of arabica coffee (*Coffea arabica* L.) in Nicaragua as estimated by simple sequence repeat markers. **The Scientific World Journal**, v. 2012, 2012. doi: [10.1100/2012/939820](https://doi.org/10.1100/2012/939820)

GICHURU, E. K.; AGWANDA, C. O.; COMBES, M. C.; MUTITU, E. W.; NGUGI, E. C. K.; BERTRAND, B.; LASHERMES, P. Identification of molecular markers linked to a gene conferring resistance to coffee berry disease (*Colletotrichum kahawae*) in *Coffea arabica*. **Plant Pathology**, v. 57, n. 6, p. 1117–1124, 2008. doi: [0.1111/j.1365-3059.2008.01846.x](https://doi.org/0.1111/j.1365-3059.2008.01846.x)

GOMEZ, C.; DUSSERT, S.; HAMON, P.; HAMON, S.; KOCHKO, A. D.; PONCET, V. Current genetic differentiation of *Coffea canephora* pierre ex a. Froehn in the guineo-Congolian african zone: Cumulative impact of ancient climatic changes and recent human activities. **BMC Evolutionary Biology**, v. 9, n. 1, p. 1–19, 2009. doi: [10.1186/1471-2148-9-167](https://doi.org/10.1186/1471-2148-9-167)

HERRERA P., J. C.; Alvarado. A. G.; Cortina, G. H. A.; Combes, M. C.; Romero G. G.; Lashermes, P. Genetic analysis of partial resistance to coffee leaf rust (*Hemileia vastatrix* Berk & Br.) introgressed into the cultivated *Coffea arabica* L. from the diploid *C. canephora* species. **Euphytica**, v. 167, n. 1, p. 57–67, 2009. doi: [10.1007/s10681-008-9860-9](https://doi.org/10.1007/s10681-008-9860-9)

KIGUONGO, A. P. K.; Omondi, C. O.; Gichuru, E. K.; Kasili, C. O. Analysis of simple sequence repeat markers linked to coffee berry disease resistance genes in a segregating population of arabica coffee (*Coffea arabica* L.). **Int. J. Biotechnol. Food Sci.**, v. 2, n. December, p. 156–166, 2014.

LAMBOT, C.; CROUZILLAT, D.; FONSECA, A. F. A.; LELOUP, V.; HAIDUC, A.; BROUN, P.; PETIARD, V.; FERRÃO, M. A. G.; FERRÃO, R. G.; Evaluation of Conilons for genetic diversity, up quality and biochemical composition. 22nd International Conference on Coffee Science, ASIC 2008, Campinas, SP, Brazil, 14-19 September, 2008, p. 1537–1544, 2009.

LEGUIZAMÓN-CAYCEDO, J.; OROZCO-GALLEGO, L.; GÓMEZ-GÓMEZ, L. Períodos de incubacion (PI) y latencia (PL) de la Roya del cafeto en la zona cafetera central de Colombia. [s.l: s.n.].

LEROY, T.; MARRACCINI, P.; DUFOUR, M.; MONTAGNON, C.; LASHERMES, P.; SABAU, X.; FERREIRA, L. P.; JOURDAN, I.; POT, D.; ANDRADE, A. C.; GLASZMANN, J. C.; VIEIRA, L. G.E.; PIFFANELLI, P. Construction and characterization of a *Coffea canephora* BAC library to study the organization of sucrose biosynthesis genes. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 111, n. 6, p. 1032–1041, 2005. doi: [10.1007/s00122-005-0018-z](https://doi.org/10.1007/s00122-005-0018-z)

LEROY, T.; DE BELLIS, F.; LEGNATE, H.; MUSOLI, P.; KALONJI, A.; LOOR-SOLÓRZANO, R. G. CUBRY, P. Developing core collections to optimize the management and the exploitation of diversity of the coffee *Coffea canephora*. **Genetica**, v. 142, n. 3, p. 185–199, 2014. doi: [10.1007/s10709-014-9766-5](https://doi.org/10.1007/s10709-014-9766-5)

LEUNG, H.; ZHU, Y.; REVILLA-MOLINA, I.; FAN, J. X.; CHEN, H.; PANGGA, I.; CRUZ, C. V.; MEW, T. W. Using Genetic Diversity to Achieve Sustainable Rice Disease Management. **Plant Disease**, v. 87, n. 10, p. 1156–1169, out. 2003. doi: [10.1094/PDIS.2003.87.10.1156](https://doi.org/10.1094/PDIS.2003.87.10.1156)

LIBERATO, J. R.; CRUZ, C.D.; VALE, F.X.R.; ZAMBOLIM, L. Técnicas estatísticas de análise multivariada aplicada à fitopatologia. I. Análise de componentes principais, análise canônica e "cluster análise". **Rev. Anual Patol. Plantas-RAPP**, v. 3, p. 227–310, 1995.

MAHÉ, L.; COMBES, M. C.; VÁRZEA, V. M. P.; GUILHAUMON, C.; LASHERMES, P. Development of sequence characterized DNA markers linked to leaf rust (*Hemileia vastatrix*) resistance in coffee (*Coffea arabica* L.). **Molecular Breeding**, v. 21, n. 1, p. 105–113, 2008. doi: [10.1007/s11032-007-9112-z](https://doi.org/10.1007/s11032-007-9112-z)

MAURIN, O.; DAVIS, A. P.; CHESTER, M.; MVUNGI, E. F.; JAUFEEERALLY-FAKIM, Y.; FAY, M. F. Towards a Phylogeny for Coffea (Rubiaceae): Identifying Well-supported Lineages Based on Nuclear and Plastid DNA Sequences. **Annals of Botany**, v. 100, n. 7, p. 1565–1583, 19 set. 2007. doi: [10.1093/aob/mcm257](https://doi.org/10.1093/aob/mcm257)

MCDONALD, B. A.; LINDE, C. Pathogen Population Genetics, e Voluntary Potential, and Durable Resistance. **Annual Review of Phytopathology**, v. 40, n. 1, p. 349–379, set. 2002. doi: [10.1146/annurev.phyto.40.120501.101443](https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.40.120501.101443)

MISSIO, R. F.; CAIXETA, E.T.; ZAMBOLIM, E.M.; ZAMBOLIM, L.; CRUZ, C.D.; SAKIYAMA, N.S.; Polymorphic information content of SSR markers for Coffea spp. **Cropp Breeding and Applied Biotechnology**, v. 10, n. 1, p. 89–94, 2010. doi: [10.12702/1984-7033.v10n01a12](https://doi.org/10.12702/1984-7033.v10n01a12)

MISSIO, R. F.; CAIXETA, E. T.; ZAMBOLIM, E. M.; PENA, G. F.; ZAMBOLIM, L.; DIAS, L. A.S.; SAKIYAMA, N. S. Genetic characterization of an elite coffee germplasm assessed by SSR and EST-SSR markers. **Genetics and Molecular Research**, v. 10, n. 4, p. 2366–2381, 2011. doi: [10.4238/2011.October.6.2](https://doi.org/10.4238/2011.October.6.2)

MOJENA, R. Hierarchical grouping methods anda stopping rules: An evaluation. **The Computer Journal**, v. 20, n. 2, p. 359–363, 1977. doi: [10.1093/comjnl/20.4.359](https://doi.org/10.1093/comjnl/20.4.359)

MONCADA, P.; MCCOUCH, S. Simple sequence repeat diversity in diploid and tetraploid Coffea species. **Genome**, v. 47, n. 3, p. 501–509, 2004. doi: [10.1139/g03-129](https://doi.org/10.1139/g03-129)

MONTAGNON, C.; LEROY, T.; YAPO, A. B. Diversité génotypique et phénotypique de quelques groupes de caféiers (Coffea canephora Pierre) em collection. **Cofé Cacao Thé**, v. 36, p. 187–198, 1992.

MOTTA, L. B.; SOARES, T. C. B.; FERRÃO, M. A. G.; CAIXETA, E. T.; LORENZONI, R. M.; NETO, J. D. D. S. Molecular characterization of arabica and conilon coffee plants genotypes by SSR and ISSR markers. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 57, n. 5, p. 728–735, 2014. doi:[10.1590/S15168913201402071](https://doi.org/10.1590/S15168913201402071)

NASCIMENTO, N. P.; ZAMBOLIM, E.M.; HADDAD, F.; ZAMBOLIM, L.;CAIXETA, E.T. Identificação de clones de cafeeiro para caracterização de raças

fisiológicas de *Hemileia vastatrix*. Proceedings of the Simposio de Integração Acadêmica, Universidade Federal de Viçosa. Anais...Viçosa: 2010

NGUGI, H. K.; KING, S. B.; HOLT, J.; JULIAN, A. M. Simultaneous Temporal Progress of Sorghum Anthracnose and Leaf Blight in Crop Mixtures with Disparate Patterns. **Phytopathology**, v. 91, n. 8, p. 720–729, ago. 2001. doi: [10.1094/PHYTO.2001.91.8.720](https://doi.org/10.1094/PHYTO.2001.91.8.720)

NORONHA-WAGNER, M.; BETTENCOURT, A. J. Genetic Study of the Resistance of *Coffea* spp. to Leaf Rust: I. Identification and Behavior of Four Factors Conditioning Disease Reaction in *Coffea arabica* to Twelve Physiologic Races of *Hemileia vastatrix*. **Canadian Journal of Botany**, v. 45, n. 11, p. 2021–2031, nov. 1967. doi: [10.1139/b67-220](https://doi.org/10.1139/b67-220)

PARLEVLIET, J. E. Selecting components of partial resistance. In: STALKER, H. T.; MURPHY, J. P. (Eds.). . Plant Breeding in the 1990's. Wallingford: CAB, Intern, 1992. p. 281–302.

PEDROSA, R. A.; MAFFIA, L.A.; MIZUBUTI, E. S. G.; BROMMONSCHENKEL, S. H. Componentes de resistência em cebola a *Colletotrichum gloeosporioides*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n. 6, p. 606–613, dez. 2004. doi: [10.1590/S0100-41582004000600002](https://doi.org/10.1590/S0100-41582004000600002)

PONCET, V.; HAMON, P.; MINIER, J.; CARASCO, C.; HAMON, S.; NOIROT, M.; SSR cross-amplification and variation within coffee trees (*Coffea* spp.). **Genome**, v. 47, n. 6, p. 1071–1081, 2004. doi:[10.1139/G04-064](https://doi.org/10.1139/G04-064)

PRAKASH, N. S.; MARQUES, D. V.; VARZEA, V. M. P.; SILVA, M. C.; COMBES, M. C.; LASHERMES, P. Introgression molecular analysis of a leaf rust resistance gene from *Coffea liberica* into *C. arabica* L. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 109, n. 6, p. 1311–1317, 2004. doi: [10.1007/s00122-004-1748-z](https://doi.org/10.1007/s00122-004-1748-z)

RODRIGUES-JUNIOR, C. J.; BETTENCOURT, A. J.; RIJO, L. Razas del patogeno y resistencia a la roya del café. San Salvador: IICA, Zona Norte, 1976.

ROHLF, F. J. Adaptive Hierarchical Clustering Schemes. **Systematic Biology**, v. 19, n. 1, p. 58–82, 1 mar. 1970. doi: [10.1093/sysbio/19.1.58](https://doi.org/10.1093/sysbio/19.1.58)

ROMERO, G. G.; ALVARADO, G. A.; CORTINA, H. G.; LIGARRETO, G. M.; GALEANO, N. F.; HERRERA, P. J. C. Partial resistance to leaf rust (*Hemileia vastatrix*) in coffee (*Coffea arabica* L.): Genetic analysis and molecular characterization of putative candidate genes. **Molecular Breeding**, v. 25, n. 4, p. 685–697, 2010. doi: [10.1007/s11032-009-9368-6](https://doi.org/10.1007/s11032-009-9368-6)

ROSADO, A.W.C. ; ZAMBOLIM, L. ; CAPUCHO, A. S. ; FERRÃO, R.G. ; FERRÃO, M.A.G. ; FONSECA, A.F.A. ; ZAMBOLIM, E. M. ; CAIXETA, E. T. . Resistência do Conilon Vitória Incaper 8142 à raça II de *Hemileia vastatrix*. In: VII Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, 2011, Araxá-MG. Anais do VII Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, 2011

RUBIO, M.; RUIZ, D.; EGEA, J.; MARTÍNEZ-GÓMEZ, P.; DICENTA, F. Opportunities of marker-assisted selection for Plum pox virus resistance in apricot breeding programs. **Tree Genetics & Genomes**, v. 10, n. 3, p. 513–525, 12 jun. 2014. doi: [10.1007/s11295-014-0700-x](https://doi.org/10.1007/s11295-014-0700-x)

SANTOS, E. R.; SPEHAR, C. R.; CAPONE, A.; PEREIRA, P. R. Estimativa De Parâmetros De Variação Genética Em Progenies F2 De Soja E Genitores Com Presença E Ausência De Lipoxigenases. **Nucleus**, v. 15, n. 1, p. 61–70, 2018. doi: [10.3738/1982.2278.2169](https://doi.org/10.3738/1982.2278.2169)

SILVA, R. A.; ZAMBOLIM, L.; CASTRO, I. S. L.; RODRIGUES, H. S.; CRUZ, C. D.; CAIXETA, E. T. The Híbrido de Timor germplasm: identification of molecular diversity and resistance sources to coffee berry disease and leaf rust. **Euphytica**, v. 214, n. 9, p. 153, 7 set. 2018. doi: [10.1007/s10681-018-2231-2\(0123456789\(\).,-volIV\(0123456789\(\).,-volIV\)](https://doi.org/10.1007/s10681-018-2231-2(0123456789().,-volIV(0123456789().,-volIV))

SOKAL, R. R.; ROHLF, F. J. The Comparison of Dendrograms by Objective Methods. **Taxon**, v. 11, n. 2, p. 33, fev. 1962. doi: [10.2307/1217208](https://doi.org/10.2307/1217208)

SOUZA, F. D. F.; CAIXETA, E. T.; FERRÃO, L. F. V.; PENA, G. F.; SAKIYAMA, N. S.; ZAMBOLIM, E. M.; ZAMBOLIM, L.; CRUZ, C. D. Molecular diversity in *Coffea canephora* germplasm conserved and cultivated in Brazil. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**. v. 13, n. p. 221-227, 2013 doi: [10.1590/S1984-70332013000400001](https://doi.org/10.1590/S1984-70332013000400001)

TERESSA, A.; CROUZILLAT, D.; PETIARD, V.; BROUHAN, P. Genetic diversity of Arabica coffee (*Coffea arabica* L .) collections. ASIC 23rd International Conference on Coffee Science, v. 1, n. 1, p. 63–79, 2010. doi: [10.4172/2329-8863.S1-003](https://doi.org/10.4172/2329-8863.S1-003)

VALE, F. X. R. DO; PARLEVLIET, J. E.; ZAMBOLIM, L. Concepts in plant disease resistance. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, n. 3, p. 577–589, set. 2001. doi: [10.1590/S0100-41582001000300001](https://doi.org/10.1590/S0100-41582001000300001)

VAN DER PLANK, J. E. **Plant disease: epidemic and control**. New York, London: [s.n.].

VAN DER PLANK, J. E. **Principles of plant infection**. New York: Academic Press, 1975.

VAN DER VOSSEN, H. A. M.; WALYARO, D. J. Additional evidence for oligogenic inheritance of durable host resistance to coffee berry disease (*Colletotrichum kaha wae*) in arabica coffee (*Coffea arabica* L.). **Euphytica**, v. 165, n. 1, p. 105–111, 2009. doi: [10.1007/s10681-008-9769-3](https://doi.org/10.1007/s10681-008-9769-3)

VARZEA, V. M. P.; MARQUES, D. V. Population Variability of *Hemileia vastatrix* VS. Coffee Durable Resistance. In: ZAMBOLIM, L.; ZAMBOLIM, E. M.; VARZEA, V. M. P. (Eds.). . **Durable Resistance to Coffe Leaf Rust**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2005. p. 53–74.

VARZEA, V. M. P.; SILVA, M. C.; RODRIGUES-JUNIOR, C. J. Resistência do Cafeeiro à Antracnose-dos-frutos-verdes. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.). . **O estado da arte de tecnologias na produção de café**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2002. p. 321–368.

VENCOVSKY, R. Herança quantitativa. In: PATERNIANI, E.; VIEGAS, G.P. **Melhoramento e produção do milho**. 2. ed. Campinas: Fundação Cargill. p. 137-214., 1987.

VENTURA, J. A.; SANTANA, E. N.; MARTINS, M. V. V. Diagnóstico e Manejo das Doenças do Cafeeiro Conilon. In: FERRÃO, R. G. et al. (Eds.). . **Café Conilon**. 1. ed. Vitória: INCAPER, 2007. p. 451–497.

VENTURA, J. A.; COSTA, H.; LIMA, I. D. M. Manejo das Doenças do Cafeeiro

Conilon. In: FERRÃO, R. G. et al. (Eds.). . **Café Conilon**. 2. ed. Vitória: INCAPER, 2017. p. 435–480.

VICENTINI, V. B. ANÁLISES BIOMÉTRICAS EM FAMÍLIAS DE MEIOS-IRMÃOS DE CAFÉ CONILON ORIUNDAS DE SELEÇÃO RECORRENTE. [s.l.] Universidade Federal de Viçosa, 2013.

YOKOMIZO, G. K. I.; NETO, J. T. D. F. Caracterização fenotípica e genotípica de progênies de pupunheira para palmito. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v. 38, n. 1, p. 67-72, jan. 2003 doi: [10.1590/S0100-204X2003000100009](https://doi.org/10.1590/S0100-204X2003000100009)

ZAMBOLIM, L.; ZAMBOLIM, E. M.; VALE, F. X. R.; PEREIRA, A. A., SAKIYAMA, N. S.; CAIXETA, E. T. Physiological races of *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. in Brazil - Physiological variability, current situation and future prospects. In: ZAMBOLIM, L.; ZAMBOLIM, E. M.; VARZEA, V. M. P. (Eds.). . **Durable Resistance to Coffe Leaf Rust**. 1. ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2005. p. 75–98.

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

ZAMBOLIM, L. Current status and management of coffee leaf rust in Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 41, n. 1, p. 1–8, 2016. doi: [10.1007/s40858-016-0065-9](https://doi.org/10.1007/s40858-016-0065-9)

ZAMBOLIM, L.; BRENES, B. M. **Doenças do Café no Brasil - Enfermedades del café en Central-America**. 1. ed. Viçosa: Editora UFV, 2018.

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

ZHU, Y. CHEN, H.; FAN, J.; WANG, Y.; LI, Y.; CHEN, J.; FAN, J. X.; YANG, S.; HU, L.; LEUNG, H.; MEW, T.W.; TENG, P. S.; WANG, Z.; MUNDT, C. C. Genetic diversity and disease control in rice. **Nature**, v. 406, n. 6797, p. 718–722, 17 ago. 2000. doi: [10.1038/35021046](https://doi.org/10.1038/35021046)