

RAFAEL VAGO GONZALES

**ESTUDO DE ASSOCIAÇÃO GENÔMICA AMPLA DA RESISTÊNCIA DO
GERMOPLASMA AMPHILLO A *Meloidogyne paranaensis***

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

Orientadora: Eveline Teixeira Caixeta.

Coorientadores: Sônia Maria de Lima Salgado
Moisés Nascimento

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2022**

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

T

G643e
2022
Gonzales, Rafael Vago, 1992-
Estudo de associação genômica ampla da resistência do
germoplasma amphillo a *Meloidogyne paranaensis* / Rafael
Vago Gonzales. – Viçosa, MG, 2022.
1 tese eletrônica (83 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Eveline Teixeira Caixeta.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Biologia Geral e Agronomia, 2022.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2022.719>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Café - Melhoramento genético. 2. Café - Doenças e
pragas. 3. Café - Recursos do germoplasma. 4. Nematoda.
I. Caixeta, Eveline Teixeira, 1972-. II. Universidade Federal de
Viçosa. Departamento de Biologia Geral e Agronomia.
Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento.
III. Título.

CDD 22. ed. 631.52

Bibliotecário(a) responsável: Euzébio Luiz Pinto CRB-6/3317

RAFAEL VAGO GONZALES

**ESTUDO DE ASSOCIAÇÃO GENÔMICA AMPLA DA RESISTÊNCIA DO
GERMOPLASMA AMPHILLO A *Meloidogyne paranaensis***

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

APROVADA: 06 de setembro de 2022.

Assentimento:

Documento assinado digitalmente
 RAFAEL VAGO GONZALES
Data: 29/11/2022 21:12:34-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Rafael Vago Gonzales
Autor

Documento assinado digitalmente
 EVELINE TEIXEIRA CAIXETA MOURA
Data: 30/11/2022 11:26:32-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Eveline Teixeira Caixeta
Orientadora

A meu pai (in memorian) e minha mãe.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me guiar e me proteger em todos os passos de minha vida.

Aos meus pais, Jarbas Jorge Gonzales e Gisele Maria Vago Gonzales, pelos ensinamentos e pelos exemplos de conduta, caráter e amor ao próximo.

À minha irmã Roberta Vago Gonzales pelo apoio em diversos momentos da vida.

A Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realizar a pós-graduação.

Ao Laboratório de Biotecnologia do Cafeeiro, pela infraestrutura para a realização deste trabalho.

À professora Eveline Caixeta, pelos ensinamentos, incentivos e confiança.

Aos colegas de trabalho do Biocafé, pela amizade e auxílio na realização deste trabalho.

Aos colegas Danúbia Rodrigues e Edson Mário pela colaboração no presente trabalho.

Aos pesquisadores Sônia Maria de Lima Salgado, Moysés Nascimento, Antonio Carlos Baião de Oliveira, Antonio Alves Pereira e Rodrigo de Oliveira Lima pelas contribuições no presente trabalho.

Aos meus colegas de doutorado, por todos os conhecimentos adquiridos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento da Universidade Federal de Viçosa, pelo ensino de excelência.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

À Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (Epamig) pelo suporte na condução deste trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig) e ao Consórcio Pesquisa Café pelo financiamento do projeto que originou o presente trabalho.

*“Aquele que habita no abrigo do Altíssimo
e descansa à sombra do Todo-poderoso
pode dizer ao Senhor:
"Tu és o meu refúgio e a minha fortaleza,
o meu Deus, em quem confio".
Ele o livrará do laço do caçador
e do veneno mortal.
Ele o cobrirá com as suas penas,
e sob as suas asas você encontrará refúgio;
a fidelidade dele será o seu escudo protetor.
Você não temerá o pavor da noite
nem a flecha que voa de dia,
nem a peste que se move sorrateira nas trevas,
nem a praga que devasta ao meio-dia.
Mil poderão cair ao seu lado;
dez mil, à sua direita,
mas nada o atingirá.
Você simplesmente olhará,
e verá o castigo dos ímpios.
Se você fizer do Altíssimo o seu abrigo,
do Senhor o seu refúgio,
nenhum mal o atingirá,
desgraça alguma chegará à sua tenda.
Porque a seus anjos ele dará ordens
a seu respeito,
para que o protejam em todos
os seus caminhos;
com as mãos eles o segurarão,
para que você não tropece em alguma pedra.
Você pisará o leão e a cobra;
pisoteará o leão forte e a serpente.
"Porque ele me ama, eu o resgatarei;
eu o protegerei, pois conhece o meu nome.
Ele clamará a mim, e eu lhe darei resposta,
e na adversidade estarei com ele;
vou livrá-lo e cobri-lo de honra.
Vida longa eu lhe darei,
e lhe mostrarei a minha salvação."*

(Salmo 91)

RESUMO

GONZALES, Rafael Vago Gonzales, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, setembro de 2022. **Estudo de associação genômica ampla da resistência do germoplasma Amphillo a *Meloidogyne paranaensis***. Orientador: Eveline Teixeira Caixeta. Coorientadores: Sônia Maria de Lima Salgado e Moysés Nascimento.

O fitonematoide *Meloidogyne paranaensis* é uma das principais ameaças à cafeicultura. O desenvolvimento de cultivares de *Coffea arabica* resistentes a este patógeno é uma demanda urgente dos programas de melhoramento genético do cafeeiro. Progênies derivadas do germoplasma silvestre ‘Amphillo’ são consideradas potenciais fontes de resistência a *M. paranaensis*, porém, os mecanismos envolvidos nesta resistência ainda não foram elucidados. No presente trabalho, a resistência de diferentes progênies derivadas de Amphillo foi estudada e foram identificados marcadores moleculares associados a resistência. Por meio da Associação Genômica Ampla foram identificados marcadores SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) associados a genes potencialmente envolvidos no controle da resistência. Foram analisados 158 genótipos pertencentes a quatro progênies derivadas de cruzamentos entre germoplasma ‘Amphillo’ e linhagens da cultivar Catuaí Vermelho. Estes cafeeiros foram fenotipados para cinco caracteres relacionados à resistência, sendo eles as variáveis nota, número de ovos por grama de raiz, fator de reprodução e tipo de reação ao nematoide. Foram genotipados 7116 marcadores SNPs e após filtragens de qualidade foram selecionados 931 SNPs para condução do estudo de associação genômica ampla. Por meio do modelo linear misto foram identificados 12 SNPs com associações significativas com ao menos uma das variáveis avaliadas. Foram mapeados 18 genes sendo considerados aqueles nos quais os SNPs estão inseridos e os genes imediatamente mais próximos nos sentidos *upstream* e *downstream*. Os resultados obtidos fornecem subsídio para o desenvolvimento de marcadores para seleção assistida, para estudos sobre a herança genética e para elucidação de mecanismos moleculares envolvidos na resistência de *C. arabica* a *M. paranaensis*.

Palavras-chave: Fitonematóide. Arquitetura Genética. *Meloidogyne paranaensis*.

ABSTRACT

GONZALES, Rafael Vago Gonzales, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, September 2022. **Genomic-wide association study of Amphillo germplasm resistance to *Meloidogyne paranaensis***. Advisor: Eveline Teixeira Caixeta. Co-advisors: Sônia Maria de Lima Salgado and Moysés Nascimento.

The phytonematode *Meloidogyne paranaensis* is one of the main threats to coffee production. The development of *Coffea arabica* cultivars resistant to this pathogen is an urgent demand for coffee genetic breeding programs. Progenies derived from the wild germplasm 'Amphillo' are considered potential sources of resistance to *M. paranaensis*, however, the mechanisms involved in this resistance have not yet been elucidated. In the present work, the resistance of different progenies derived from Amphillo was studied and molecular markers associated with resistance were identified. Through the Genomic-Wide Association, SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) markers associated with genes potentially involved in resistance control were identified. A total of 158 genotypes belonging to four progenies derived from crosses between 'Amphillo' germplasm and lines of the cultivar Catuaí Vermelho were analyzed. These coffee plants were phenotyped for five characters related to resistance, being the variables note, number of eggs per gram of root, reproduction factor and type of reaction to the nematode. A total of 7116 SNP markers were genotyped and, after quality filtering, 931 SNPs were selected to conduct the genome-wide association study. Through the mixed linear model, 12 SNPs with significant associations with at least one of the evaluated variables were identified. Eighteen genes were mapped, considering those in which the SNPs are inserted and the genes immediately closest in the upstream and downstream senses. The results obtained provide support for the development of markers for assisted selection, for studies on genetic inheritance and for the elucidation of molecular mechanisms involved in the resistance of *C. arabica* to *M. paranaensis*.

Keywords: Phytonematode. Genetic Architecture. *Meloidogyne paranaensis*.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	10
REFERENCIAS	12
CAPÍTULO I.....	15
Importância socioeconômica da cafeicultura.....	16
A espécie <i>Coffea arabica</i>	17
O gênero <i>Meloidogyne</i>	18
A espécie <i>Meloidogyne paranaensis</i>	19
Resistência genética do cafeeiro a <i>Meloidogyne paranaensis</i>	20
Herança da resistência a <i>Meloidogyne</i> spp.	22
Marcadores moleculares	23
Marcadores SNP	25
Estudos de associação genômica ampla.....	26
REFERÊNCIAS	27
CAPÍTULO II.....	42
INTRODUÇÃO.....	43
MATERIAIS E MÉTODOS.....	45
Material genético	45
Análise fenotípica	46
Genotipagem.....	47
Controle de qualidade dos dados genotípicos.....	47
Análise de desequilíbrio de ligação	48
Avaliação da diversidade genética e da estrutura de população	48
Análise de associação genômica ampla	48
Identificação de genes potencialmente relacionados à resistência	49
RESULTADOS	49
Análise fenotípicas.....	49
Genotipagem e controle de qualidade dos dados genotípicos	51
Análise de desequilíbrio de ligação	51
Avaliação da diversidade genética e da estrutura de população	53
Análise de associação genômica ampla	56
Identificação de genes potencialmente relacionados à resistência	59

DISCUSSÃO	64
Análise fenotípica	64
Genotipagem com marcadores SNP	66
Análise de desequilíbrio de ligação	66
Avaliação da diversidade genética e da estrutura de população	67
Análise de associação genômica ampla	68
Identificação de genes potencialmente relacionados à resistência	69
CONCLUSÃO.....	73
REFERÊNCIAS	74

INTRODUÇÃO GERAL

O café exerce importante papel no agronegócio brasileiro, com o país destacando-se no cenário internacional como maior produtor e exportador desta *commoditie* (INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION, 2022). No ano agrícola de 2021/2022 a produção nacional de café está estimada em 50,38 milhões de sacas (60 kg) de grãos beneficiados, oriunda de lavouras das espécies *Coffea arabica* L. (64,3%), com destaque para o estado de Minas Gerais, e *Coffea canephora* Pierre ex A.Froehner (35,7%), com destaque para o estado do Espírito Santo (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO, 2022).

Dentre diversos fitopatógenos que afetam a produtividade do cafeeiro, merecem destaque o fungo biotrófico *Hemileia vastatrix* Berkeley and Broome, causador da ferrugem alaranjada (ZAMBOLIM, 2016), e espécies de fitonematoides pertencentes ao gênero *Meloidogyne* (CAMPOS & SILVA, 2008), popularmente conhecidos como nematoides das galhas. Estes últimos são patógenos de solo que parasitam o sistema radicular das plantas e, devido à dificuldade de controle e a severidade dos ataques às cultivares suscetíveis, são considerados as principais ameaças à cafeicultura em diversos países (ALPIZAR et al., 2007; BERTRAND et al., 2000; HEIN; GATZWEILER, 2006). Dentre as espécies que parasitam o cafeeiro, *Meloidogyne paranaensis* é atualmente considerada a mais preocupante e uma potencial ameaça à cafeicultura brasileira em razão da severidade e danos causados nas lavouras infestadas (BARROS et al., 2014; GONÇALVES & SILVAROLLA, 2001).

Nos âmbitos econômico, social e ambiental, o controle genético, por meio da utilização de cultivares resistentes na composição de lavouras é a estratégia mais eficiente para o manejo deste fitopatógeno (ANDREAZI et al., 2015; SHIGUEOKA et al., 2016). No entanto, a maioria das cultivares comerciais de *C. arabica* disponíveis são suscetíveis a *M. paranaensis* (BERTRAND et al., 1997; DE MUNIZ et al., 2009), o que torna imperativo aos programas de melhoramento genético o desenvolvimento de cultivares resistentes. Um dos fatores limitantes para o melhoramento é a baixa diversidade genética das principais cultivares comerciais de *C. arabica* (SETOTAW et al., 2020), as quais apresentam comportamento homogêneo em campo para as principais pragas e doenças agrícolas (BERTRAND et al., 1999). Neste cenário, cresce como alternativa a busca por fontes de resistência em populações derivadas de acessos silvestres oriundos da Etiópia, centro de origem e diversidade genética da espécie. Uma vez identificadas fontes, a resistência pode ser transferida para cultivares comerciais por meio dos programas de melhoramento (ANTHONY et al., 2003; BOISSEAU et al., 2009; FATOBENE et al., 2017; HOLDERBAUM et al., 2020).

Apesar do empenho dos programas de melhoramento para o desenvolvimento de cultivares de *C. arabica* resistentes aos fitonematoides, o avanço dos trabalhos encontra limitações comuns ao melhoramento das espécies perenes, como o longo tempo e área demandados para a avaliação de um ciclo completo da cultura, bem como para a realização dos clássicos testes de resistência, principalmente no que concerne a avaliação do comportamento de diferentes fontes de germoplasma em áreas infestadas (SALGADO et al., 2011).

Nas últimas décadas, os marcadores moleculares emergiram como importante ferramenta para o melhoramento genético de plantas, permitindo a seleção indireta de características em gerações segregantes precoces (CAIXETA et al., 2006). Dentre os diferentes tipos de marcadores moleculares disponíveis, os *single nucleotide polymorphisms* (SNPs) apresentam vantagens como alta abundância, distribuição homogênea ao longo do genoma e possibilidade de automação, tornando possível a genotipagem em larga escala (GARRIDO-CARDENAS et al., 2018; HE et al., 2014; MAMMADOV et al., 2012; RESENDE et al., 2012). Uma das técnicas que têm sido utilizadas para explorar estas vantagens é Associação Genômica Ampla (*Genome Wide Association Studies* - GWAS). Diversos trabalhos têm utilizado esta técnica para identificação de associações entre marcadores moleculares e caracteres agrônômicos em diversas culturas agrícolas (ALOTAIBI et al., 2022; ALQUDAH et al., 2020; VERMA et al., 2022; ZHANG et al., 2022), incluindo o cafeeiro (GIMASE et al., 2020; SANT'ANA et al., 2018; SILVA et al., 2022a; TRAN et al., 2018). Estes estudos indicam que a técnica pode auxiliar no aumento da eficiência dos programas de melhoramento, uma vez que a identificação de marcadores associados a caracteres de interesse permite a maximização de ganhos genéticos da seleção e redução do tempo necessário para o desenvolvimento de cultivares.

O presente trabalho teve como objetivo: (i) identificar marcadores SNPs e regiões cromossômicas com associações significativas com a resistência a *M. paranaensis*; (ii) selecionar SNPs associados à resistência para serem validados e empregados na seleção assistida por marcadores (SAM) em programas de melhoramento buscando o desenvolvimento de cultivares resistentes; (iii) identificar genes potencialmente envolvidos na resistência de *C. arabica* a *M. paranaensis*.

REFERENCIAS

- ALOTAIBI, F. S. et al. Identification of Genomic Regions Associated with Agronomical Traits of Bread Wheat Under Two Levels of Salinity Using GWAS. **Plant Molecular Biology Reporter**, p. 1–15, 2022.
- ALPIZAR, E.; ETIENNE, H.; BERTRAND, B. Intermediate resistance to *Meloidogyne exigua* root-knot nematode in *Coffea arabica*. **Crop Protection**, v. 26, n. 7, p. 903–910, 2007.
- ALQUDAH, A. M. et al. GWAS: Fast-forwarding gene identification and characterization in temperate Cereals: lessons from Barley – A review. **Journal of Advanced Research**, v. 22, p. 119–135, 2020.
- ANDREAZI, E. et al. Resistance to *Meloidogyne paranaensis* in *Coffea arabica* L. progenies. **Australian Journal of Crop Science**, v. 9, n. 12, p. 1190–1196, 2015.
- ANTHONY, F. et al. La resistencia genética de *Coffea* spp. a *Meloidogyne paranaensis*: identificación y utilización para la caficultura latinoamericana. **Manejo Integrado de Plagas y Agoecología**, n. 67, p. 5–12, 2003.
- BARROS, A. F. et al. Root-knot nematodes, a growing problem for Conilon coffee in Espírito Santo state, Brazil. **Crop Protection**, v. 55, p. 74–79, 2014.
- BERTRAND, B. et al. Comportement agronomique et résistance aux principaux déprédateurs des lignées de Sarchimor et Catimor au Costa Rica. **Plantations, Recherche, Developpement**, v. 4, n. 5, p. 312–318, 1997.
- BERTRAND, B. et al. El mejoramiento genético en América Central. In: BERTRAND, B.; RAPIDEL, B. (Eds.). **Los Desafíos de la Cafeicultura en América Central**. San José, Costa Rica: CIRAD, 1999. p. 327–367.
- BERTRAND, B. et al. Genetic study of *Coffea canephora* coffee tree resistance to *Meloidogyne incognita* nematodes in Guatemala and *Meloidogyne* sp. nematodes in El Salvador for selection of rootstock varieties in Central America. **Euphytica**, v. 113, n. 2, p. 79–86, 2000.
- BOISSEAU, M. et al. Resistance to *Meloidogyne paranaensis* in wild *Coffea arabica*. **Tropical Plant Pathology**, v. 34, n. 1, p. 38–41, 2009.
- CAIXETA, E. T. et al. Tipos de Marcadores Moleculares. In: BORÉM, A.; CAIXETA, E. T. (Eds.). **Marcadores Moleculares**. 1. ed. Viçosa: Editora UFV, 2006. p. 9–78.

CAMPOS, V. P.; SILVA, J. R. C. Management of *Meloidogyne* spp. in coffee plantations. In: SOUZA, R. M. (Ed.). . **Plant Parasitic Nematodes of coffee**. Dordrecht: Springer, 2008. p. 149–164.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - (CONAB). **Acompanhamento da Safra Brasileira, Café, Safra 2022, 3º Levantamento**. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/>>. Acesso em: 6 nov. 2022.

DE MUNIZ, M. F. S. et al. Reaction of coffee genotypes to different populations of *Meloidogyne* spp.: Detection of a naturally virulent *M. exigua* population. **Tropical Plant Pathology**, v. 34, n. 6, p. 370–378, 2009.

FATOBENE, B. J. DOS R. et al. Wild *Coffea arabica* resistant to *Meloidogyne paranaensis* and genetic parameters for resistance. **Euphytica**, v. 213, n. 8, 2017.

GARRIDO-CARDENAS, J. A.; MESA-VALLE, C.; MANZANO-AGUGLIARO, F. Trends in plant research using molecular markers. **Planta**, v. 247, n. 3, p. 543–557, 2018.

GIMASE, J. M. et al. Genome-Wide Association Study identify the genetic loci conferring resistance to Coffee Berry Disease (*Colletotrichum kahawae*) in *Coffea arabica* var. Rume Sudan. **Euphytica**, v. 216, n. 6, 2020.

GONÇALVES, W.; SILVAROLLA, M. B. Nematóides parasitos do Cafeeiro. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.). . **Tecnologias para produção de café com qualidade**. Viçosa, Brazil: Universidade Federal de Viçosa, 2001.

HE, J. et al. Genotyping-by-sequencing (GBS), An ultimate marker-assisted selection (MAS) tool to accelerate plant breeding. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, n. SEP, p. 1–8, 2014.

HEIN, L.; GATZWEILER, F. The economic value of coffee (*Coffea arabica*) genetic resources. **Ecological Economics**, v. 60, n. 1, p. 176–185, 2006.

HOLDERBAUM, M. M. et al. Arabica coffee accessions originated from Ethiopia with resistance to nematode *Meloidogyne paranaensis*. **Australian Journal of Crop Science**, v. 14, n. 8, p. 1209–1213, 2020.

INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION. **Coffee Market Report, October 2022**. Disponível em: <<https://www.ico.org/documents/cy2022-23/cmr-1022-e.pdf>>. Acesso em: 6 nov. 2022.

MAMMADOV, J. et al. SNP markers and their impact on plant breeding. **International Journal of Plant Genomics**, v. 2012, n. December, 2012.

RESENDE, M. D. V et al. **Seleção genômica ampla (GWS) via modelos mistos (REML/BLUP), inferência bayesiana (MCMC), regressão aleatória multivariada e estatística espacial**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2012.

SALGADO, S. M. DE L.; CARNEIRO, R. M. D. G.; DE PINHO, R. S. C. . **Aspectos técnicos dos nematoides parasitas do cafeeiro** Belo Horizonte: Epamig, [s.d.].

SANT'ANA, G. C. et al. Genome-wide association study reveals candidate genes influencing lipids and diterpenes contents in *Coffea arabica* L. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–12, 2018.

SETOTAW, T. A. et al. Genome Introgression of Híbrido de Timor and Its Potential to Develop High Cup Quality *C. arabica* Cultivars. **Journal of Agricultural Science**, v. 12, n. 4, p. 64–76, 2020.

SHIGUEOKA, L. H. et al. Reaction of Arabica coffee progenies derivative from Icatu to *Meloidogyne paranaensis*. **Bragantia**, v. 75, n. 2, p. 193–198, 2016.

SILVA, L. DE F. et al. Genome-wide association study of plant architecture and diseases resistance in *Coffea canephora*. **Euphytica**, v. 218, n. 7, p. 1–13, 2022.

TRAN, H. T. M. et al. SNP in the *Coffea arabica* genome associated with coffee quality. **Tree Genetics and Genomes**, v. 14, n. 5, 2018.

VERMA, R. K. et al. GWAS to spot candidate genes associated with grain quality traits in diverse rice accessions of North East India. **Molecular Biology Reports**, v. 49, n. 6, p. 5365–5377, 2022.

ZAMBOLIM, L. Current status and management of coffee leaf rust in Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 41, n. 1, p. 1–8, 2016.

ZHANG, X. et al. Genetic architecture of maize yield traits dissected by QTL mapping and GWAS in maize. **Crop Journal**, v. 10, n. 2, p. 436–446, 2022.

CAPÍTULO I

O PATOSSITEMA *Meloidogyne paranaensis* vs. *Coffea arabica*

Importância socioeconômica da cafeicultura

O café é uma das principais *commodities* no mercado internacional e de fundamental importância para a balança comercial de diversos países da América Latina, África e Ásia, nos quais a cafeicultura é a principal fonte de renda de milhões de pequenos e médios agricultores (AVELINO et al., 2015; BIKILA et al., 2017; GARTNER et al., 2013). A cadeia produtiva do café também gera outros milhões de postos de trabalho relacionados direta ou indiretamente à logística de distribuição, armazenamento, processamento, comércio e às indústrias de máquinas, equipamentos e insumos agrícolas (FERREIRA JÚNIOR et al., 2016). Além da produção de bebida, uma das mais consumidas do mundo, os grãos de café também são matéria-prima nas indústrias farmacêuticas e de cosméticos (BESSADA et al., 2018; COSTA et al., 2014).

As espécies *Coffea arabica* L., popularmente conhecida como café arábica, e *Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner, popularmente conhecida como café robusta ou conilon, são responsáveis por toda produção comercial de cafés (MUNISWAMY et al., 2017; SETOTAW et al., 2013). Por apresentar maior rendimento na torrefação, o café robusta é utilizado principalmente na composição de misturas (*blends*) com *C. arabica*. De modo geral, o café robusta também apresenta maior teor de sólidos solúveis em relação ao café arábica, lhe conferindo grande importância para a indústria de cafés solúveis. Ao café arábica é tradicionalmente atribuída melhor qualidade de bebida, motivo que faz com que, historicamente, apresente valor de mercado superior ao café robusta. Por este motivo, a espécie *C. arabica* é responsável pela produção de cafés finos e de alto valor comercial, sendo comercializado puro ou em *blends* com café robusta (MCCOOK & VANDERMEER, 2015; MISTRO et al., 2004; RIBEIRO et al., 2014).

No ano agrícola 2021/2022, a produção mundial de café estimada é de 167,17 milhões de sacas (60 kg) de grãos beneficiados (INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION, 2022). O Brasil é o maior produtor, maior exportador e segundo maior consumidor mundial de cafés (ICO 2021). No ano agrícola de 2021/2022, a expectativa de produção nacional é de aproximadamente 50,38 milhões de sacas de grãos beneficiados, constituída por 64,3% por *C. arabica* e 35,7% de *C. canephora*. Destacam-se neste cenário os estados de Minas Gerais, responsável por aproximadamente 67% da produção nacional de *C. arabica*, e o estado do Espírito Santo, responsável por aproximadamente 68% da produção de *C. canephora* (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO, 2022).

A espécie Coffea arabica

O gênero *Coffea* pertence à família Rubiaceae e possui 124 espécies descritas (DAVIS et al., 2011). Dentre as espécies do gênero, *C. arabica* tem origem relativamente recente (LASHERMES et al., 1999), originada da hibridação natural entre *C. canephora* e *Coffea eugenioides* ocorrida entre 10 mil e 600 mil anos atrás no nordeste do continente africano, região da atual Etiópia. Além de centro de origem, a Etiópia é considerada o centro de diversidade genética da espécie, de modo que é comum encontrá-la na forma silvestre como planta de sub-bosque em florestas de altitude no sudoeste do país (SYLVAIN, 1955). A espécie também pode ser encontrada na forma silvestre no sudeste do Sudão (THOMAS, 1942) e no Monte Marsabit, no Kênia (ANTHONY et al., 1987; CHARRIER & BERTHAUD, 1985).

Diferentemente das demais espécies do gênero *Coffea*, que são diplóides (CHARRIER & BERTHAUD, 1985), a espécie *C. arabica* é alotetraplóide ($2n = 4x = 44$) (LASHERMES et al., 1999). A espécie apresenta comportamento meiótico semelhante às diploide, com reprodução predominantemente autógama e baixas taxas de fecundação cruzada (CARVALHO et al., 1991).

As primeiras lavouras comerciais de *C. arabica* foram implantadas no sul da península Arábica, atual Iêmen, cerca de cinco séculos atrás. Apenas por volta do ano 1700 que a espécie foi introduzida no sudeste da Ásia. No início do século XVIII, sementes de progênies de uma única planta foram coletadas na Europa e levadas para a América Latina, dando início à cafeicultura neste continente (CARVALHO, 1946; CHEVALIER & DRAGON, 1928). Estas primeiras introduções originaram a variedade hoje conhecida como Typica (CARVALHO et al., 1969). No século XIX, novas introduções oriundas da Ilha de Bourbon (HAARER, 1956) foram realizadas na América do Sul. Estas introduções deram origem a variedade Bourbon (CARVALHO et al., 1969). Foi a partir destas introduções que, por meio de mutações (KRUG; CARVALHO, 1951), hibridações (naturais ou artificiais) e seleções, as plantas de *C. arabica* cultivadas no Iêmen, já com base genética estreita (DAVIS et al., 2011), deram origem a todas as cultivares de *C. arabica* hoje cultivadas em escala comercial (ANTHONY et al., 2002; FERWERDA, 1976; WELLMAN, 1961).

Dentre as cultivares comerciais originadas das bases genéticas de Typica e Bourbon, as mais disseminadas e cultivadas em nível mundial são a Caturra, originada da mutação em material da variedade Bourbon (KRUG, 1949), Mundo Novo, originada da hibridização natural entre as variedades Typica e Bourbon (CARVALHO et al., 1969), e Catuaí, originada da hibridação entre as cultivares Caturra e Mundo Novo (BISCO & LOGAN, 1987).

Devido a homogeneidade genotípica das principais cultivares comerciais para características como susceptibilidade às doenças, na segunda metade do século XX foram implementados programas de melhoramento de *C. arabica* em diferentes países produtores, como Brasil, Colômbia, Quênia, Costa Rica e Honduras (CASTILLO & MORENO, 1981; LEROY et al., 2006; MONACO, 1977; VAN DER VOSSEN, 1985). Desde então, um dos principais objetivos destes programas é transferir características identificadas nas espécies diplóides do gênero *Coffea*, especialmente *C. canephora*, para as cultivares comerciais de *C. arabica* (CARVALHO, 1988). Dentre estas características merecem destaque a resistência à ferrugem (*Hemileia vastatrix* Berkeley And Broome), a *Coffee Berry Disease* (*Colletotrichum kahawae* sensu Hindor) e aos nematoides (*Meloidogyne* spp.).

No Brasil, o melhoramento genético do cafeeiro arabica é conduzido de forma independente ou em parcerias entre diferentes instituições públicas, com destaque para os programas desenvolvidos pelo Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (Epamig), Universidade Federal de Viçosa (UFV), Universidade Federal de Lavras (UFLA), Instituto de Desenvolvimento Rural do Paraná (IDR-Paraná) e a Fundação de Apoio a Tecnologia Cafeeira (Fundação Procafé) (REICHMAN, 2018; SERA, 2001; ZAMBOLIM, 2016; FUNDAÇÃO DE APOIO À TECNOLOGIA CAFEEIRA, 2022). Estes programas de melhoramento lançaram diversas cultivares nas últimas décadas, atendendo a demandas como porte baixo, arquitetura de planta, adaptação a diferentes condições edafoclimáticas e resistência à mancha bacteriana, à ferrugem e à nematoides (FAZUOLI et al., 2007; GROSSI et al., 2013; SERA et al., 2007, 2010, 2017, 2020; FAZUOLI, 2017; SERA, 2001).

O gênero Meloidogyne

Os fitonematoides pertencentes ao gênero *Meloidogyne* Goeldi são conhecidos popularmente como nematoides das galhas e causam danos econômicos em diversas culturas em todas as regiões agrícolas do mundo (CAPORALINO et al., 2007; MUNIZ et al., 2008). Na cafeicultura, são considerados um dos principais problemas fitossanitários nas principais países produtores (ALPIZAR et al., 2007; BERTRAND et al., 2000; BERTRAND & ANTHONY, 2008; CAMPOS & SILVA, 2008; CARNEIRO et al., 2004; CASTRO et al., 2008; LOPEZ-LIMA et al., 2015; NOIR et al., 2003; VILLAIN et al., 2013; VILLAIN et al., 2018).

Os danos causados por *Meloidogyne* spp. ao cafeeiro variam em função da espécie do parasita, suscetibilidade da cultivar, tipo de solo, clima e nível tecnológico da lavoura (BARBOSA et al., 2004; BOISSEAU et al., 2009; CAMPOS et al., 1990). Em lavouras

constituídas por genótipos suscetíveis, a infestação pode causar prejuízos que variam desde perdas moderadas, com reduções de 10-20% na produção, até danos graves às lavouras, com perdas de até 80% dos sistema radicular do cafeeiro levando à morte das plantas (BERTRAND et al., 1997; BERTRAND & ANTHONY, 2008). A infecção é iniciada quando juvenis de segundo estágio (J2) penetram as raízes e migram intercelularmente até o cilindro vascular, onde estabelecem um ponto de alimentação e tornam-se sedentários. Após o estabelecimento, o juvenil injeta, por meio do estilete, secreções das glândulas esofagianas, induzindo a formação de células gigantes. A hipertrofia destas células leva a formação de nódulos nas raízes, conhecidos como galhas. Na parte aérea da planta é possível observar clorose, queda foliar, sintomas típicos de deficiências nutricionais, redução do crescimento e depauperamento geral, podendo causar a morte da planta (DANEEL, 2017).

Dezenove espécies de *Meloidogyne* já foram descritas infectando o cafeeiro (CARNEIRO & COFCEWICZ, 2008; HUMPHREYS-PEREIRA et al., 2014; TRINH et al., 2019), dentre as quais, as mais comumente encontradas no Brasil são *M. paranaensis*, *M. incognita*, *M. exigua*, *M. coffeicola* e *M. izarcoensis* (STEFANELO et al., 2019). As que apresentam maior relevância econômica são *M. exigua*, *M. incognita* e *M. paranaensis* (SANTOS et al., 2018a, SANTOS et al., 2018b, SANTOS et al., 2021).

A espécie Meloidogyne paranaensis

A espécie *M. paranaensis*, última do gênero *Meloidogyne* a ser descrita, foi relatada pela primeira vez no Brasil, no ano de 1996, infectando plantas de *C. arabica* em lavouras no estado do Paraná. Por mais de 20 anos antes da descrição, a espécie foi confundida com *M. incognita* (CARNEIRO et al., 1996). Atualmente é considerada a espécie mais preocupante e potencial ameaça à cafeicultura brasileira devido a suscetibilidade das principais cultivares comerciais de *C. arabica*, agressividade do patógeno e as consequentes perdas econômicas (GONÇALVES & SILVAROLLA, 2007).

A sintomatologia da infecção pela espécie *M. paranaensis* apresenta como particularidades a formação rachaduras no córtex das raízes, principalmente na raiz principal. Na parte aérea da planta é possível observar clorose, necrose e queda foliar, redução do crescimento e declínio geral da planta, frequentemente levando-as à morte (CAMPOS & SILVA, 2008; CAMPOS & VILLAIN, 2005; CARNEIRO et al., 1996).

Menos de três décadas após a descrição, a espécie está amplamente disseminada em quase todas as regiões cafeeiras do Brasil, com relatos nos estados do Paraná (CARNEIRO et al., 1996, 2004; KRZYZANOWSKI et al., 2001), São Paulo (CARNEIRO et al., 2004;

LORDELLO et al., 2001), Espírito Santo (BARROS et al., 2011b, 2014), Goiás (SILVA et al., 2009) e Minas Gerais (CASTRO et al., 2003; SALGADO et al., 2018; FERNANDES et al., 2019; TERRA et al., 2019). Neste último estado, maior produtor nacional de *C. arabica* e onde a cafeicultura desempenha importante papel econômico e social, a espécie já foi identificada nos municípios de Serra do Salitre, Patrocínio (CASTRO et al., 2003), Piumhi, Carmo da Cachoeira (CASTRO et al., 2008; SALGADO et al., 2018), Indianópolis, Araguari (FERNANDES et al., 2019), Carmo do Paranaíba, Monte Carmelo e Rio Paranaíba (TERRA et al., 2019). A espécie já foi identificada em outros países do continente americano, como Guatemala (VILLAIN et al., 2013) e México (LOPEZ-LIMA et al., 2015), também sendo relatada no Havaí (CARNEIRO et al., 2004).

Resistência genética do cafeeiro a M. paranaensis

O controle genético, por meio do emprego de cultivares resistentes, representa a alternativa mais eficaz e ecologicamente correta para o manejo de *M. paranaensis* (ALBUQUERQUE et al., 2010; ALPIZAR et al., 2007; ANDREAZI et al., 2015; ANTHONY et al., 2003; BERTRAND; ANTHONY, 2008; BOISSEAU et al., 2009; CAMPOS et al., 1990; CAPORALINO et al., 2007; DINIZ et al., 2005; NOIR et al., 2003). Uma vez que a maioria das cultivares comerciais de *C. arabica* apresentam alta suscetibilidade à *M. paranaensis* (BERTRAND et al., 1999; DE MUNIZ et al., 2009), o desenvolvimento de cultivares com alta produtividade e resistência à *M. paranaensis* é um dos objetivos dos programas de melhoramento genético da espécie (SERA et al., 2007; LIMA et al., 2015; SALGADO et al., 2014).

Um dos fatores limitantes do melhoramento de *C. arabica* é a baixa diversidade genética da espécie, atribuída à sua origem relativamente recente, sistema reprodutivo e evolução (LASHERMES et al., 1999). Outro aspecto a ser considerado é que as atuais cultivares comerciais de *C. arabica* são resultantes de um processo de seleção em bases genéticas estreitas de Typica e Bourbon a partir do século XVIII (ANTHONY et al., 2002). Estes fatores justificam o comportamento agrônomo homogêneo das principais cultivares (Caturra, Catuaí, Mundo Novo) em relação à susceptibilidade às pragas e doenças, como a ferrugem (*Hemileia vastatrix*) e aos nematoides (BERTRAND et al., 1999).

Devido à susceptibilidade das cultivares comerciais a *M. paranaensis*, diversos trabalhos têm buscado resistência em acessos silvestres de *C. arabica* da Etiópia, centro de origem da espécie (ANTHONY et al., 2003; BOISSEAU et al., 2009; FATOBENE et al., 2017; HOLDERBAUM et al., 2020). Estes genótipos representam alternativas como fontes de

resistência, que pode ser, por meio do melhoramento, transferida para as variedades cultivadas. Trabalhos têm identificado progênies oriundas de cruzamentos entre estes acessos silvestres e cultivares comerciais com desempenho agrônomo satisfatório combinado com resistência ou tolerância a *M. paranaensis* (CARVALHO et al., 2017; PERES et al., 2017; SALGADO et al., 2014; SANTOS et al., 2018c). Duas cultivares desenvolvidas pela Epamig denominadas MGS Guaiçara e MGS Vereda foram registradas no ano de 2021 (REGISTRO NACIONAL DE CULTIVARES, 2022). Estas cultivares são oriundas de seleção genealógica em progênies originadas de cruzamentos entre linhagens de Catuaí Vermelho e seleções Amphillo e apresentam resistência a *M. paranaensis* e alto vigor vegetativo. No entanto, apresentam suscetibilidade as demais pragas e doenças que afetam o cafeeiro. Estes acessos designados Amphillo são oriundos de sementes coletadas na Etiópia e que deram origem a mudas posteriormente introduzidas no Brasil em 1953, junto ao IAC.

Resistência a *M. paranaensis* foi identificada nas espécies *C. conguensis* e *C. canephora* (GONÇALVES et al., 1988). Uma estratégia utilizada para viabilizar o cultivo de *C. arabica* em áreas infestadas com *M. paranaensis* é a enxertia sobre porta-enxertos resistentes da espécie *C. canephora*, como Apoatã IAC 2258 e Nemaya (ANDREAZI et al., 2015; BERTRAND & ANTHONY, 2008; SERA et al., 2006). No entanto, a cultivar Apoatã pode apresentar segregação da resistência a *M. paranaensis* (SALGADO et al., 2019) e problemas de incompatibilidade enxerto/porta-enxerto com *C. arabica* (BERTRAND; ANTHONY & LASHERMES, 2001). Além disso, plantas enxertadas sobre o porta-enxerto Apoatã IAC 2258 tendem a apresentar menor vigor vegetativo (OLIVEIRA et al., 2002) e menor produtividade em áreas não infestadas quando comparadas à mesma cultivar não enxertada (DIAS et al., 2011).

Outra estratégia para o aproveitamento de *C. canephora* como fonte de resistência é a introgressão dos genes por meio de cruzamentos interespecíficos com *C. arabica* (BERTRAND & ANTHONY, 2008). Genótipos pertencentes ao germoplasma Icatu, originado da hibridação entre *C. canephora* e *C. arabica* cultivar Bourbon Vermelho, apresentam resistência a *M. paranaensis*, ocorrendo segregação da característica em suas progênies (GONÇALVES & SILVAROLLA, 2007; MATA et al., 2002; MATIELLO et al., 2010; SERA et al., 2004). Alguns trabalhos identificaram progênies originadas deste grupo com 100% de plantas resistentes (ANDREAZI et al., 2015; SHIGUEOKA et al., 2016). Um cruzamento espontâneo entre Icatu IAC 925 com uma planta de *C. arabica* não identificada, originou a cultivar IPR 106, resistente a *M. paranaensis* e *M. incognita* e adaptada ao estado do Paraná (SERA et al., 2020).

Acessos derivados de Híbrido de Timor, um híbrido interespecífico natural entre *C. arabica* e *C. canephora* (BETTENCOURT, 1973) são considerados as principais fontes de resistência a *M. exigua*, (BERTRAND et al., 1997; BERTRAND & ANTHONY; LASHERMES, 2001; GONÇALVES & PEREIRA, 1998), *M. incognita* e também tem apresentado resistência a *M. paranaensis* (GONÇALVES; SILVAROLLA, 2001; KANAYAMA et al., 2009; PERES et al., 2017; SALGADO; REZENDE; NUNES, 2014; SANTOS et al., 2018a).

Outro caso de introgressão de resistência a *M. paranaensis* em *C. arabica* por meio de cruzamentos interespecíficos é a cultivar IPR 100 (SERA et al., 2017). Esta cultivar também apresenta resistência a *M. exigua* (BARRANTES et al., 2020; REZENDE et al., 2017) a algumas populações de *M. incognita* (SERA et al., 2017) e suscetibilidade à ferrugem, tendo sido originada do cruzamento entre Catuaí com genótipo de café oriundo da série ‘BA-10’, a qual é portadora de genes de *C. liberica*, provável fonte da resistência expressa por esse acesso (ANDREAZI et al., 2015).

Apesar da existência das fontes de resistência a *M. paranaensis* acima mencionadas, poucas cultivares comerciais são conhecidas. Neste contexto, tornam-se imperativos estudos buscando o desenvolvimento de cultivares resistentes a *M. paranaensis* associadas a características como resistência a ferrugem, alta produtividade, qualidade de bebida e adaptação às condições edafoclimáticas do estado de Minas Gerais.

Herança da resistência a Meloidogyne spp.

Em nível molecular, poucos genes de resistência (R) aos nematoides das galhas foram clonados. Estes poucos genes foram identificados em tomate, batata, beterraba e soja (FULLER et al., 2008). Em *C. arabica*, a resistência genética a *M. exigua* é governada pelo gene Mex-1, o qual foi introgridido a partir espécie *C. canephora* (NOIR et al., 2003). Esse gene já foi mapeado, porém, ainda não foi clonado. Estudos demonstraram que o gene apresenta dominância incompleta, permitindo em genótipos heterozigotos a penetração do nematoide, porém, inibindo sua reprodução. Genótipos portadores do gene apresentam reação de hipersensibilidade (HR) em resposta a tentativa de infecção pelo nematoide (ALPIZAR; ETIENNE; BERTRAND, 2007; NOIR et al., 2003).

Observações histológicas no acesso ‘UFV408-28’, derivado de HDT e resistente à *M. incognita*, mostraram que de 6-8 dias após a penetração de juvenis desta espécie as células ao entorno dos nematoides exibiram respostas típicas da reação de HR, com acúmulo de compostos fenólicos e aspecto necrótico. Estas interações indicaram que possivelmente a resistência de *C.*

arabica a *M. incognita* é intermediada por um gene de efeito maior. Devido a suscetibilidade deste mesmo genótipo a *M. exigua*, possivelmente a resistência a *M. incognita* está associada a outro gene que não Mex-1 (ALBUQUERQUE et al., 2010).

Em *C. canephora* estudos histológicos detectaram reações de hipersensibilidade a *M. paranaensis* em genótipo resistente (LIMA et al., 2015) . A resistência do germoplasma Amphillo a *M. paranaensis* foi investigada por Alves et al. (2019). Por meio de observações histológicas, estes autores detectaram penetração de J2 nas raízes do genótipo resistente Amphillo “16-6-1” em menores taxas e quantidade quando comparadas ao genótipo suscetível Catuai Vermelho IAC 144. Os juvenis que conseguem penetrar os tecidos do hospedeiro resistente migram para o cilindro vascular e estabelecem sítio de alimentação, incitando a formação de células gigantes de modo similar ao observado no genótipo suscetível nos estádios iniciais da infecção. No entanto, em estádios mais tardios é observado grande número de células gigantes vazias nos tecidos do genótipo resistente, o que deve ser atribuído à degeneração do sítio de alimentação. Desde o início da penetração dos J2 até estádios avançados de infecção foi observada forte autofluorescência em tecidos do genótipo resistente corados com azul de Toluidina, indicando o acúmulo de compostos relacionados a respostas de defesa e necrose celular. Os resultados obtidos por estes autores sugerem que a resistência a *M. paranaensis* observada no germoplasma de Amphillo está associada à mecanismos pré-infecção, como a presença de toxinas e antagonistas químicos, bem como mecanismo pós-infecção, possivelmente associada à produto de genes R que induzem a reação de HR na presença do patógeno.

Em estudo de metabolômica, foi observada maior concentração de sacarose aos 8 e 14 dias após a inoculação com *M. paranaensis* em folhas do genótipo resistente Amphillo ‘16-6-1’ em relação ao genótipo suscetível Catuai Vermelho IAC 144. Estes resultados sugerem que a sacarose pode ter papel na resistência do germoplasma de Amphillo a *M. paranaensis* (ALVES, 2020).

Marcadores moleculares

Marcadores moleculares são uma classe de marcadores genéticos constituída pelas variações presentes nas sequencias de nucleotídeos de diferentes indivíduos de uma espécie (BARMAN & KUNDU, 2019). Essas variações são originadas por meio de inserções, deleções, duplicações, translocações e substituições no DNA genômico, nem sempre afetando a atividade dos genes (NADEEM et al., 2018). Geralmente, estes marcadores não constituem o gene de interesse em si, mas estão a ele ligados e atuam como sinais ou indicadores (RABIEI, 2007).

Estes marcadores apresentam vantagens sobre marcadores morfológicos e bioquímicos uma vez que não são afetados pelo ambiente, estágio de desenvolvimento, tecido da planta, pleiotropia e epistasia (ADHIKARI et al., 2017).

Tradicionalmente, os marcadores moleculares eram classificados em dois grupos quanto ao método de detecção: baseados em hibridização ou baseados em PCR (*Polimerase Chain Reaction*). O advento do primeiro grupo foi possibilitado pela descoberta das enzimas de restrição na década de 1970 (LINN & ARBER, 1968; MESELSON & YUAN, 1968), que permitiram o desenvolvimento de marcadores RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) (GRODZICKER et al., 1974). A descoberta da técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) na década de 1980 (MULLIS; FALOONA, 1987) possibilitou a multiplicação exponencial *in vitro* de amostras de DNA. Desde então, vários tipos de marcadores baseados na técnica de PCR foram desenvolvidos, sendo os mais conhecidos os Microsatélites (LITT & LUTY, 1989; TAUTZ, 1989; WEBER & MAY, 1989), STS (*Sequence Tagged Sites*) (OLSON et al., 1989); RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) (WELSH & MCCLELLAND, 1990; WILLIAMS et al., 1990), SCAR (*Sequence Characterized Amplified Regions*) (PARAN; MICHELMORE, 1993) AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) (VOS et al., 1995).

Com os avanços obtidos nas duas últimas décadas nas tecnologias de sequenciamento de DNA, como o Sequenciamento de Nova Geração (*Next Generation Sequencing*) (SHENDURE & JI, 2008) e Genotipagem por Sequenciamento (*Genotyping by sequencing*) (ELSHIRE et al., 2011) surgiu um terceiro grupo de marcadores moleculares. Este grupo é constituído pelos marcadores baseados no sequenciamento do DNA (AHMAD et al., 2017; BEISSINGER et al., 2013; HE et al., 2014). O principal tipo de marcador de deste grupo são os marcadores SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*) (WANG et al., 1998).

Desde a descoberta na década de 1970, os marcadores moleculares se tornaram importantes ferramentas para estudos genéticos e para o melhoramento genético de plantas (GARRIDO-CARDENAS et al., 2018), proporcionando aumento da produtividade de importantes culturas agrícolas. Dentre as diversas aplicações dos marcadores moleculares em programas de melhoramento e estudos genéticos podemos destacar os estudos de filogenia, diversidade genética, conservação e manutenção de bancos de germoplasma, testes de paternidade, construção de mapas de ligação, mapeamentos comparativos, mapeamentos de QTL (*Quantitative Loci Trait*), mapeamento gênico, mapeamento de associação, certificação de cruzamentos, seleção de genitores, seleção recorrente, predição de híbridos, seleção assistida por marcadores (SAM), introgressão de características, estudos de associação genômica ampla

(GWAS), seleção genômica ampla (GWS) e proteção de cultivares (ADHIKARI et al., 2017; AHMAD; ANJUM, 2018; BARMAN; KUNDU, 2019; NADEEM et al., 2018).

Marcadores SNP

Marcadores SNPs são posições de um único par de bases no DNA genômico onde são detectadas sequências alternativas entre os indivíduos normais de uma população. Essas variações são originadas por meio de substituições dos nucleotídeos, as quais podem ser transições ou transversões (BROOKES, 1999). Estes marcadores são as fontes mais abundantes de variações nos genomas de plantas e animais, permitindo a avaliação de um grande número de loci. Outras importantes características são distribuição homogênea ao longo do genoma, bialismo, codominância, baixas taxas de mutação adicional, alta herdabilidade e transferibilidade entre indivíduos e espécies (AGARWAL et al., 2008; GARRIDO-CARDENAS et al., 2018; RESENDE et al., 2014; XU & CROUCH, 2008). Essas vantagens fazem com que os SNPs sejam considerados o “tipo ideal” de marcador molecular (BARMAN & KUNDU, 2019).

Diferentes metodologias têm sido empregadas para a genotipagem de SNPs (NADEEM et al., 2018). Dentre as principais estão as técnicas baseadas em hibridização de alelo específico, extensão com primers, ligação do alelo com oligonucleotídeos específicos e clivagem invasiva (SOBRINO et al., 2005). Avanços recentes na biologia molecular como as tecnologias de NGS, NGS baseada em chips, GBS e PCR de alelos específicos têm tornado os SNPs o tipo de marcador molecular mais atrativo para genotipagem (AGARWAL et al., 2008), sendo considerados a unidade moderna para avaliação de variações genéticas (BUSH & MOORE, 2012).

A frequência dos marcadores SNPs é dada em geral como a frequência do alelo alternativo (*minor allele frequency* - MAF) (BUSH & MOORE, 2012). A maior parte deles têm impactos mínimos nos sistemas biológicos e estão localizados em regiões não codantes do genoma. Quando ocorrem dentro de regiões codantes, as alterações podem ser não sinônimas, com mudanças na sequência de aminoácidos, podendo provocar alterações fenotípicas (AGARWAL et al., 2008), ou sinônimas, quando não há alterações na sequência de aminoácidos. Em ambas as situações, pode haver associação entre SNPs e variações fenotípicas governadas pelo gene no qual estão inseridos o que flanqueiam (ADHIKARI et al., 2017). Estes marcadores têm se tornado poderosa ferramenta nos estudos genéticos e no melhoramento de plantas (MAMMADOV et al., 2012). Devido as associações entre SNPs e fenótipos, estes marcadores constituem potenciais ferramentas para seleção assistida, construção de mapas

genéticos de alta densidade (BAI et al., 2018), isolamento de genes marcadores usando clonagem posicional (ADHIKARI et al., 2017), na seleção genômica ampla (*Genome Wide Selection* - GWS) (RESENDE et al., 2014) e estudos de associação genômica ampla (*Genome-Wide Association Studies* – GWAS) (ATWELL et al., 2010).

Estudos de associação genômica ampla

A compreensão da herança de diversas características agronômicas nas plantas cultivadas é de grande importância para o melhoramento vegetal. Um dos principais métodos utilizados para a investigação da arquitetura dos caracteres são os mapeamentos de QTL (*Quantitative Trait Loci*), que são baseados na segregação entre marcadores e caracteres de interesse em populações oriundas de parentais contrastantes (ALQUDAH et al., 2020). Nas últimas décadas, a técnica GWAS teve grande evolução, impulsionada pelo potencial na investigação das causas genéticas de doenças humanas e na farmacologia (BUSH & MOORE, 2012; HIRSCHHORN & DALY, 2005). No melhoramento genético vegetal a técnica tem sido utilizada para calcular as associações genótipo x fenótipo a partir de populações constituídas por indivíduos não relacionados e geneticamente diversos, tendo como principais objetivos a identificação de fatores envolvidos na herança e determinação da arquitetura genética do caractere. A técnica tem permitido identificar alelos envolvidos na herança de diversas características, os quais não seriam identificáveis por meio de estudos em populações de mapeamento de QTL (ALQUDAH et al., 2020).

A técnica é baseada no desequilíbrio de ligação (*Linkage-Disequilibrium* - LD) entre marcadores moleculares e genes. Para determinado marcador ser útil, deve corresponder a um alelo causal ou estar altamente correlacionado com alelos do gene causal, ou seja, em alto LD (JORDE, 2000; KRUGLYAK, 1999). A aplicação é dividida em três etapas básicas: (i) fenotipagem da população para a característica de interesse; (ii) genotipagem da população usando marcadores moleculares; (iii) detecção de associação entre alelos e o caractere de interesse aplicando o modelo adequado à população. Nesta última etapa é verificada a significância do efeito do marcador em cada característica estudada, havendo diversas abordagens estatísticas disponíveis para estas análises (ALQUDAH et al., 2020).

Diversos estudos de GWAS têm permitido a identificação de marcadores associados a resistência a fitonematoides (DABABAT et al., 2021; KUMAR et al., 2021; VUONG et al., 2015; ZHANG et al., 2017a), incluindo espécies do gênero *Meloidogyne* (ALEKCEVETCH et al., 2021; DIMKPA et al., 2016; HADA et al., 2020; PASSIANOTTO et al., 2017). A identificação da associação destes marcadores com o caractere os torna uma valiosa ferramenta

na seleção assistida por marcadores (*marker-assisted selection* - MAS), permitindo maior eficiência dos programas de melhoramento para obtenção de variedades resistentes (DIMKPA et al., 2016; ZHANG et al., 2017a).

REFERÊNCIAS

ADHIKARI, S. et al. Application of molecular markers in plant genome analysis: a review. **Nucleus (India)**, v. 60, n. 3, p. 283–297, 2017.

AGARWAL, M.; NEETA, S.; HARISH, P. Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences. **Plant Cell Rep**, v. 27, p. 617–631, 2008.

AHMAD, F. et al. Molecular Markers and Marker Assisted Plant Breeding: Current Status and their Applications in Agricultural Development. **Development**, v. 11, p. 35–50, 2017.

AHMAD, R.; ANJUM, M. A. Applications of Molecular Markers to Assess Genetic Diversity in Vegetable and Ornamental Crops – A Review. **Journal of Horticultural Science & Technology**, v. 1, n. 1, p. 1–7, 2018.

ALBUQUERQUE, E. V. S. et al. Resistance to *Meloidogyne incognita* expresses a hypersensitive-like response in *Coffea arabica*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 127, n. 3, p. 365–373, 2010.

ALEKCEVETCH, J. C. et al. Genome-wide association study for resistance to the *Meloidogyne javanica* causing root-knot nematode in soybean. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 134, p. 777–792, 2021.

ALPIZAR, E.; ETIENNE, H.; BERTRAND, B. Intermediate resistance to *Meloidogyne exigua* root-knot nematode in *Coffea arabica*. **Crop Protection**, v. 26, n. 7, p. 903–910, 2007.

ALQUDAH, A. M. et al. GWAS: Fast-forwarding gene identification and characterization in temperate Cereals: lessons from Barley – A review. **Journal of Advanced Research**, v. 22, p. 119–135, 2020.

ALVES, P. S. et al. Early and late responses characterise the resistance derived from Ethiopian wild germplasm “Amphillo” of *Coffea arabica* to *Meloidogyne paranaensis*. **Nematology**, v. 21, p. 793–804, 2019.

ALVES, P. S. **Characterization of the resistance derived from wild germoplasm Amphillo of *Coffea arabica* to *Meloidogyne paranaensis* and study of the enzymatic target of**

fluopyram in *Meloidogyne* spp . [s.l.] Universidade Federal de Lavras, 2020.

ANDREAZI, E. et al. Resistance to *Meloidogyne paranaensis* in *Coffea arabica* L. progenies. **Australian Journal of Crop Science**, v. 9, n. 12, p. 1190–1196, 2015.

ANTHONY, F. et al. Collecting wild *Coffea* species in Kenya and Tanzania. **Plant Genet Resources News**, v. 69, p. 22–29, 1987.

ANTHONY, F. et al. The origin of cultivated *Coffea arabica* L. varieties revealed by AFLP and SSR markers. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 104, n. 5, p. 894–900, 2002.

ANTHONY, F. et al. La resistencia genética de *Coffea* spp . a *Meloidogyne paranaensis*: identificación y utilización para la caficultura latinoamericana. **Manejo Integrado de Plagas y Agoecología**, n. 67, p. 5–12, 2003.

ARITA, L. Y.; DA SILVA, S. A.; MACHADO, A. C. Z. Efficacy of chemical and biological nematicides in the management of *Meloidogyne paranaensis* in *Coffea arabica*. **Crop Protection**, v. 131, n. July 2019, p. 105099, 2020.

ATWELL, S. et al. Genome-wide association study of 107 phenotypes in *Arabidopsis thaliana* inbred lines. **Nature**, v. 465, n. 7298, p. 627–631, 2010.

AVELINO, J. . et al. The coffee rust crises in Colombia and Central America (2008–2013): impacts, plausible causes and proposed solutions. **Food Security**, v. 7, n. 2, p. 303–321, 2015.

BAI, B. et al. Developing genome-wide SNPs and constructing an ultrahigh-density linkage map in oil palm. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–7, 2018.

BARBOSA, D. H. S. G. et al. Field Estimates of Coffee Yield Losses and Damage *Threshold* by *Meloidogyne exigua*. **Nematologia Brasileira**, v. 28, n. 1, p. 49–54, 2004.

BARMAN, M.; KUNDU, S. Molecular Markers and a New Vista in Plant Breeding: A Review. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, v. 8, n. 12, p. 1921–1929, 2019.

BARRANTES, M. R. et al. *Coffea arabica* cultivars with resistance to nematode “*Meloidogyne exigua*” originated from Costa Rica. **Australian Journal of Crop Science**, v. 14, n. 1, p. 1–6, 2020.

BARROS, A. F. et al. *Meloidogyne paranaensis* attacking coffee trees in Espírito Santo State, Brazil. **Australasian Plant Disease Notes**, v. 6, n. 1, p. 43–45, dez. 2011.

- BARROS, A. F. et al. Root-knot nematodes, a growing problem for Conilon coffee in Espírito Santo state, Brazil. **Crop Protection**, v. 55, p. 74–79, 2014.
- BEISSINGER, T. M. et al. Marker density and read depth for genotyping populations using genotyping-by-sequencing. **Genetics**, v. 193, n. 4, p. 1073–1081, 2013.
- BERTRAND, B. et al. Comportement agronomique et résistance aux principaux déprédateurs des lignées de Sarchimor et Catimor au Costa Rica. **Plantations, Recherche, Développement**, v. 4, n. 5, p. 312–318, 1997a.
- BERTRAND, B. et al. Comportement agronomique et résistance aux principaux déprédateurs des lignées de Sarchimor et Catimor au Costa Rica. **Plantations Recherche Développement**, v. 4, p. 312–321, 1997b.
- BERTRAND, B. et al. El mejoramiento genético en América Central. In: BERTRAND, B.; RAPIDEL, B. (Eds.). . **Los Desafíos de la Cafeicultura en América Central**. San José, Costa Rica: CIRAD, 1999. p. 327–367.
- BERTRAND, B. et al. Genetic study of *Coffea canephora* coffee tree resistance to *Meloidogyne incognita* nematodes in Guatemala and *Meloidogyne* sp. nematodes in El Salvador for selection of rootstock varieties in Central America. **Euphytica**, v. 113, n. 2, p. 79–86, 2000.
- BERTRAND, B.; ANTHONY, F. Genetics of resistance to rootknot nematode nematodes (*Meloidogyne* spp.) and breeding. In: SOUZA, R. M. (Ed.). . **Plant Parasitic Nematodes of coffee**. Dordrecht: Springer, 2008a. p. 165–190.
- BERTRAND, B.; ANTHONY, F. Genetics of resistance to root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) and breeding. **Plant-Parasitic Nematodes of Coffee**, p. 165–190, 2008b.
- BERTRAND, B.; ANTHONY, F.; LASHERMES, P. Breeding for resistance to *Meloidogyne exigua* in *Coffea arabica* by introgression of resistance genes of *Coffea canephora*. **Plant Pathology**, v. 50, n. 5, p. 637–643, 2001.
- BESSADA, S. M. F.; ALVES, R. C.; OLIVEIRA, M. B. P. P. Coffee silverskin: A review on potential cosmetic applications. **Cosmetics**, v. 5, n. 1, 2018.
- BETTENCOURT, A. J. **Considerações gerais sobre o Híbrido de Timor** Circular n°23, 1973.
- BIKILA, B. A. .; SAKIYAMA, N. S. .; CAIXETA, E. T. . SNPs Based Molecular Diversity of *Coffea canephora*. **Journal of Microbiology & Experimentation**, v. 5, n. 1, p. 1–5, 2017.

BISCO, J.; LOGAN, W. J. C. Types and varieties of coffee. In: **Coffee handbook**. Harare, Zimbabwe: Cannon Press, 1987.

BOISSEAU, M. et al. Resistance to *Meloidogyne paranaensis* in wild *Coffea arabica*. **Tropical Plant Pathology**, v. 34, n. 1, p. 38–41, 2009.

BROOKES, A. J. The essence of SNPs. **Gene**, v. 234, n. 2, p. 177–186, 1999.

BUSH, W. S.; MOORE, J. H. Chapter 11: Genome-Wide Association Studies. **PLoS Computational Biology**, v. 8, n. 12, 2012.

CAMPOS, V. P. Controle de Doenças. Doenças Causadas por Nematoides. In: VALE, F. X. R.; ZAMBOLIM, L. (Eds.). . **Controle de doenças de plantas**. Viçosa: UFV, 1997. p. 141–180.

CAMPOS, V. P.; SILVA, J. R. C. Management of *Meloidogyne* spp. in coffee plantations. In: SOUZA, R. M. (Ed.). . **Plant Parasitic Nematodes of coffee**. Dordrecht: Springer, 2008. p. 149–164.

CAMPOS, V. P.; SRIVAPALAN, P.; GNANAPRAGASAM, N. S. Nematode parasites in coffee, cocoa and tea. In: LUC, M.; SIKORA, R. A.; BRIDGE, J. (Eds.). . **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**. Wallington (UK): CAB, International, 1990. p. 387–430.

CAMPOS, V.; VILLAIN, L. Nematodes parasites of coffee and cocoa. In: LUC, M.; SIKORA, R. A.; BRIDGE, J. (Eds.). . **Plant Parasitic Nematodes in Subtropical and Tropical Agriculture**. Wallingford: CAB, International, 2005. p. 529–579.

CAPORALINO, C. D. et al. Root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.) Me resistance genes in pepper (*Capsicum annuum* L.) are clustered on the P9 chromosome. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 114, n. 3, p. 473–486, 23 jan. 2007.

CARNEIRO, R. M. D. G. et al. *Meloidogyne paranaensis* n. sp. (Nemata: Meloidogynidae), a root-knot nematode parasitizing coffee in Brazil. **Journal of Nematology**, v. 28, n. 2, p. 177–189, 1996.

CARNEIRO, R. M. D. G. et al. Identification and genetic diversity of *Meloidogyne* spp. (Tylenchida: Meloidogynidae) on coffee from Brazil, Central America and Hawaii. **Nematology**, v. 6, n. 2, p. 287–298, 2004.

- CARNEIRO, R. M. D. G.; COFCEWICZ, E. T. Taxonomy of Coffee-Parasitic Root-Knot Nematodes, *Meloidogyne* spp. In: **Plant-Parasitic Nematodes of Coffee**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2008. p. 87–122.
- CARVALHO, A. Distribuição geográfica e classificação botânica do gênero *Coffea* com referência especial à espécie Arabica, 1946, p. 174–180.
- CARVALHO, A. et al. Coffee. In: FERWERDA, F. P.; WIT, F. (Eds.). . **Outlines of Perennial Crop Breeding in the Tropics**. Wageningen: Veenman & Zonen NV, 1969. p. 189–241.
- CARVALHO, A. Principles and practice of coffee plant breeding for productivity and quality factors: *Coffea arabica*. **Coffee**, v. 4, p. 129–165, 1988.
- CARVALHO, A. et al. Aspectos genéticos do cafeeiro. **Revista Brasileira de Genética**, v. 14, n. 1, p. 135–183, 1991.
- CARVALHO, A. M. DE et al. Caracterização de genótipos de *Coffea arabica* L. em área infestada pelo nematoide *Meloidogyne paranaensis*. **Coffe Science**, v. 12, n. 1, p. 1–8, 2017.
- CASTILLO ZAPATA, J. MORENO RUÍZ, G. Selección de cruzamientos derivados del Híbrido de Timor en la obtención de variedades mejoradas de café para Colombia. **Cenicafé (Colombia)**, v. 32, p. 37–53, 1981.
- CASTRO, J. et al. Levantamento de Fitonematóides em Cafezais do Sul de Minas Gerais. **Nematologia Brasileira**, v. 32, n. 1, p. 56–64, 2008.
- CASTRO, J. M. C.; CAMPOS, V. P.; NAVES, R. L. Ocorrência de *Meloidogyne paranaensis* em cafeeiros na região do Alto Paranaíba em Minas Gerais. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 5, p. 565–565, 2003.
- CHARRIER, A.; BERTHAUD, J. Botanical Classification of Coffee. In: CLIFFORD, M. N.; WILSON, K. (Eds.). . **Coffee: Botany, Biochemistry and Production of Beans and Beverage**. Westport: The Avi Publishing Company, INC, 1985. p. 13–47.
- CHEVALIER, A.; DRAGON, M. **Recherches historiques sur les débuts de la culture du caféier en Amérique**. Paris: [s.n.].
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - (CONAB). **Acompanhamento da Safra Brasileira, Café, Safra 2022, 3º Levantamento**. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/>>. Acesso em: 6 nov. 2022.

COSTA, A. S. G. et al. Optimization of antioxidants extraction from coffee silverskin, a roasting by-product, having in view a sustainable process. **Industrial Crops and Products**, v. 53, p. 350–357, fev. 2014.

REGISTRO NACIONAL DE CULTIVARES - RNC. **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Disponível em: <https://sistemas.agricultura.gov.br/snpc/cultivarweb/cultivares_registradas.php>. Acesso em: 5 set. 2022.

DABABAT, A. et al. A GWAS to identify the cereal cyst nematode (*Heterodera filipjevi*) resistance loci in diverse wheat prebreeding lines. **Journal of Applied Genetics**, v. 62, p. 93–98, 2021.

DANEEL, M. S. Nematode Pests of Minor Tropical and Subtropical Crops. In: FOURIE, H. et al. (Eds.). **Nematology in South Africa: A View from the 21st Century**. Cham: Springer, 2017. p. 373–393.

DAVIS, A. P. et al. 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, 2011.

DE MUNIZ, M. F. S. et al. Reaction of coffee genotypes to different populations of *Meloidogyne* spp.: Detection of a naturally virulent *M. exigua* population. **Tropical Plant Pathology**, v. 34, n. 6, p. 370–378, 2009.

DIAS, F. P. et al. Desenvolvimento de cafeeiros enxertados em Apoatã IAC 2258 cultivados no campo isento de nematóides. **Coffee Science**, v. 6, n. 3, p. 203–211, 2011.

DIMKPA, S. O. N. et al. A genome-wide association study of a global rice panel reveals resistance in *Oryza sativa* to root-knot nematodes. **Journal of Experimental Botany**, v. 67, n. 4, p. 1191–1200, 2016.

DINIZ, L. E. C. et al. Analysis of AFLP markers associated to the Mex-1 resistance locus in Icatu progenies. **Cropps Breeding and Applied Biotechnology**, v. 5, n. 4, p. 387–393, 2005.

ELSHIRE, R. J. et al. A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. **PLoS ONE**, v. 6, n. 5, p. 1–10, 2011.

FATOBENE, B. J. DOS R. et al. Wild *Coffea arabica* resistant to *Meloidogyne paranaensis* and genetic parameters for resistance. **Euphytica**, v. 213, n. 8, 2017.

- FATOBENE, B. J. R. et al. *Coffea canephora* clones with multiple resistance to *Meloidogyne incognita* and *M. paranaensis*. **Experimental Agriculture**, v. 55, n. 3, p. 443–451, 2019.
- FAZUOLI, L. C. et al. Cultivars of coffee Arabica IAC, a patrimony of Brazilian coffee. **O agrônômico**, v. 59, n. 1, p. 12–15, 2007.
- FERNANDES, M. et al. Primeiro Relato de *Meloidogyne izarcoensis* em cafezal no Estado de Minas Gerais e levantamento de *Meloidogyne* spp . em cafeeiros do Triângulo Mineiro. **X Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil**, p. 7, out. 2019.
- FERRAZ, L. C. C. B. Brazil. In: SOUZA, R. M. (Ed.). . **Plant-Parasitic Nematodes of Coffee**. [s.l.] Springer Science & Business Media, 2008. p. 225–248.
- FERREIRA JÚNIOR, L. DE G. . et al. Recomendação para colheita mecânica do café baseado no comportamento de vibração das hastas derrçadoras. **Ciencia Rural**, v. 46, n. 2, p. 273–278, 2016.
- FERWERDA, F. P. Coffees, *Coffea* spp. (Rubiaceae). In: SIMMONDS N.W (Ed.). . **Evolution of Crop Plants**: London: [s.n.]. p. 257–260.
- FULLER, V. L.; LILLEY, C. J.; URWIN, P. E. Nematode resistance. **New Phytologist**, v. 180, n. 1, p. 27–44, 2008.
- FUNDAÇÃO DE APOIO A TECNOLOGIA CAFEEIRA. **Anais do Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras**. Disponível em: <<https://www.fundacaoprocafe.com.br/pesquisas-agronicas>>. Acesso em: 8 out. 2022.
- GARRIDO-CARDENAS, J. A.; MESA-VALLE, C.; MANZANO-AGUGLIARO, F. Trends in plant research using molecular markers. **Planta**, v. 247, n. 3, p. 543–557, 2018.
- GARTNER, G. A. L.; MCCOUCH, S. R.; MONCADA, M. D. P. A genetic map of an interspecific diploid pseudo testcross population of coffee. **Euphytica**, v. 192, n. 2, p. 305–323, 2013.
- GONÇALVES, W.; PEREIRA, A. Resistencia do cafeeiro a nematóides, 4: Reação de cafeeiros derivados do Híbrido de Timor a *Meloidogyne exigua*. **Nematologia Brasileira**, v. 22, n. 1, p. 39–50, 1998.
- GONÇALVES, W.; LIMA, M. M. A.; FAZUOLI, L. C. Resistência do cafeeiro a nematóides. III: Avaliação de resistência de espécies de *Coffea* e de híbridos interespecíficos a *Meloidogyne*

incognita raça 3. **Nematologia Brasileira**, v. 12, n. 1, p. 47–54, 1988.

GONÇALVES, W.; SILVAROLLA, M. B. Nematóides parasitos do Cafeeiro. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.). . **Tecnologias para produção de café com qualidade**. Viçosa, Brazil: Universidade Federal de Viçosa, 2001.

GONÇALVES, W.; SILVAROLLA, M. B. A luta contra a doença causada pelos nematoides parasitos do cafeeiro. **O Agrônômico**, v. 59, n. 1, p. 54–56, 2007.

GRODZICKER, T. et al. Physical mapping of temperature sensitive mutations of adenovirus. **Cold Spring Harb Symposia on Quantitative Biology**, v. 39, p. 439–446, 1974.

GROSSI, L. DEL et al. Rust resistance in arabic coffee cultivars in Northern Paraná. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 56, n. 1, p. 27–33, 2013.

GUSTAVO HIROSHI SERA et al. PROGÊNIES DE *COFFEA ARABICA* CV IPR-100 RESISTENTES AO NEMATÓIDE *Meloidogyne paranaensis*. **Bragantia, Campinas**, p. 43–49, 2007.

HADA, A. et al. A genome-wide association study in Indian wild rice accessions for resistance to the root-knot nematode *Meloidogyne graminicola*. **PLoS ONE**, v. 15, n. 9 September, p. 1–24, 2020.

HE, J. et al. Genotyping-by-sequencing (GBS), An ultimate marker-assisted selection (MAS) tool to accelerate plant breeding. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, n. SEP, p. 1–8, 2014.

HIRSCHHORN, J. N.; DALY, M. J. Genome-wide association studies for common diseases and complex traits. **Nature Reviews Genetics**, v. 6, n. 2, p. 95–108, 2005.

HOLDERBAUM, M. M. et al. Arabica coffee accessions originated from Ethiopia with resistance to nematode *Meloidogyne paranaensis*. **Australian Journal of Crop Science**, v. 14, n. 8, p. 1209–1213, 2020.

INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION. **Coffee Market Report, October 2022**. Disponível em: <<https://www.ico.org/documents/cy2022-23/cmr-1022-e.pdf>>. Acesso em: 6 nov. 2022.

JORDE, L. B. Linkage disequilibrium and the search for complex disease genes. **Genome Research**, v. 10, n. 10, p. 1435–1444, 2000.

KANAYAMA, F. S. et al. Progênies de *Coffea arabica* CV. IPR 100 com resistência ao

nematóide *Meloidogyne incognita* raça 1. **Ciencia e Agrotecnologia**, v. 33, n. 5, p. 1321–1326, 2009.

KRUG, C. A.; CARVALHO, A. The genetics of coffee. In: **Advances in Genetics**. [s.l.] Academic Press, 1951. v. 4p. 127–158.

KRUG, C. A. Mutações em *Coffea arabica* L. **Bragantia**, v. 9, n. 1–4, p. 1–10, 1949.

KRUGLYAK, L. Prospects for whole-genome linkage disequilibrium mapping of common disease genes. **Nature Genetics**, v. 22, n. 2, p. 139–144, 1999.

KRZYZANOWSKI, A. A. et al. Levantamento de espécies e raças de *Meloidogyne* em cafeeiros no estado do Paraná. **II Simpósio de Pesquisas dos Cafés do Brasil**, p. 1175–1181, 2001.

KUMAR, D. et al. Genome-wide association study in hexaploid wheat identifies novel genomic regions associated with resistance to root lesion nematode (*Pratylenchus thornei*). **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–14, 2021.

LASHERMES, P. et al. Molecular characterisation and origin of the *Coffea arabica* L. Genome. **Molecular and General Genetics**, v. 261, n. 2, p. 259–266, 1999.

LEROY, T. et al. Genetics of coffee quality. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 18, n. 1, p. 229–242, 2006.

LIMA, E. A. et al. The multi-resistant reaction of drought-tolerant coffee “Conilon clone 14” to *Meloidogyne* spp. and late hypersensitive-like response in *Coffea canephora*. **Phytopathology**, v. 105, n. 6, p. 805–814, 2015.

LINN, S.; ARBER, W. Host specificity of DNA produced by *Escherichia coli*, X. In vitro restriction of phage fd replicative form. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 59, n. 4, p. 1300–1306, 1968.

LITT, M.; LUTY, J. A. Hypervariable Amplification. **American Journal of Human Genetics**, v. 44, p. 397–401, 1989.

LOPEZ-LIMA, D. et al. Corky-root symptoms for coffee in central Veracruz are linked to the root-knot nematode *Meloidogyne paranaensis*, a new report for Mexico. **European Journal of Plant Pathology**, v. 141, n. 3, p. 623–629, 2015.

LORDELLO, A. I. L.; LORDELLO, R. R. A.; FAZUOLI, L. C. Levantamento de espécies de

- Meloidogyne* em cafeeiros no estado de São Paulo. **II Simpósio de Pesquisas dos Cafés do Brasil**, n. 19, p. 1182–1187, 2001.
- MAMMADOV, J. et al. SNP markers and their impact on plant breeding. **International Journal of Plant Genomics**, v. 2012, n. December, 2012.
- MATA, J. D. et al. Resistência de genótipos de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) de São Jorge do Patrocínio ao nematoide *Meloidogyne paranaensis*. **SBPN Scientific Journal**, v. 6, p. 34–36, 2002.
- MATIELLO, J. B. et al. Variedades de café. In: MATIELLO, J. B. et al. (Eds.). . **Cultura de café no Brasil - Manual de recomendações**. Varginha: Mapa/Procafé, 2010.
- MCCOOK, S.; VANDERMEER, J. The Big Rust and the Red Queen: Long-Term Perspectives on Coffee Rust Research. **Phytopathology**, v. 105, n. 9, p. 1164–1173, 2015.
- MESELSON, M.; YUAN, R. DNA restriction enzyme from *E. coli*. **Nature**, v. 217, n. 5134, p. 1110–1114, 1968.
- MISTRO, J. C. et al. Estimates of genetic parameters and expected genetic gains with selection in robust coffee. **Cropp Breeding and Applied Biotechnology**, v. 4, n. 1, p. 86–91, 2004.
- MONACO, L. C. Consequences of the introduction of coffee rust into Brazil. In: **The genetic basis of epidemics in agriculture**. [s.l.] New York Academy of Sciences, 1977. p. 57–71.
- MULLIS, K B; FALOONA, F A. Specific Synthesis of DNA in Vitro via a Polymerase-Catalyzed Chain Reaction. **Methods in Enzymology**, v. 155, p. 335–350, 1987.
- MUNISWAMY, B. et al. Field Performance and Genetic Fidelity of Micropropagated Plants of *Coffea canephora* (Pierre ex A. Froehner). **Open Life Sciences**, v. 12, n. 1, p. 1–11, 2017.
- MUNIZ, M. D. F. S. et al. Diversity of *Meloidogyne exigua* (tylenchida: Meloidogynidae) populations from coffee and rubber tree. **Nematology**, v. 10, n. 6, p. 897–910, 1 nov. 2008.
- NADEEM, M. A. et al. DNA molecular markers in plant breeding: current status and recent advancements in genomic selection and genome editing. **Biotechnology and Biotechnological Equipment**, v. 32, n. 2, p. 261–285, 2018.
- NOIR, S. et al. Identification of a major gene (Mex-1) from *Coffea canephora* conferring resistance to *Meloidogyne exigua* in *Coffea arabica*. **Plant Pathology**, v. 52, n. 1, p. 97–103, 2003.

- OLIVEIRA, A. L. DE et al. Desenvolvimento de cafeeiros (*Coffea arabica* L.) enxertados submetidos a diferentes níveis de reposição de água. **Science and Agrotechnology**, v. 28, n. 6, p. 1291–1298, 2002.
- OLSON, M. et al. A Common Language for Physical Mapping of the Human Genome. **American Journal of Psychiatry**, v. 245, n. 4925, p. 1434–1435, 1989.
- PARAN, I.; MICHELMORE, R. W. Development of reliable PCR-based markers linked to downy mildew resistance genes in lettuce. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 85, n. 8, p. 985–993, 1993.
- PASSIANOTTO, A. L. D. L. et al. Genome-wide association study for resistance to the southern root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) in soybean. **Molecular Breeding**, v. 37, n. 12, 2017.
- PERES, A. C. J. et al. Resistance of *Coffea arabica* genotypes against *Meloidogyne paranaensis* and *M. incognita* under controlled and field conditions. **Nematology**, v. 19, n. 5, p. 617–626, 2017.
- RABIEI, B. Linkage Map of SSR Markers and QTLs Detection for Heading Date of Iranian Rice Cultivars. **Journal of Agricultural Science and Tecnology**, v. 9, p. 235–242, 2007.
- REICHMAN, D. R. Big Coffee in Brazil: Historical Origins and Implications for Anthropological Political Economy. **Journal of Latin American and Caribbean Anthropology**, v. 23, n. 2, p. 241–261, 2018.
- RESENDE, M. D. V. DE et al. **Genome-Wide Selection (GWS)**. [s.l.] Elsevier Inc., 2014.
- REZENDE, R. M. et al. Genetic gain in the resistance of arabica coffee progenies to root-knot nematode. **Crop Science**, v. 57, n. 3, p. 1355–1362, 2017.
- RIBEIRO, B. B. et al. Avaliação química e sensorial de blends de. **Coffee Science**, v. 9, n. 2, p. 178–186, 2014.
- SALGADO, S. M. D. L. et al. Resistance of Conilon coffee cultivar Vitoria Incaper 8142 to *Meloidogyne paranaensis* under field conditions. **Experimental Agriculture**, p. 1–6, 2019.
- SALGADO, S. M. DE L. et al. Detecção de *Meloidogyne paranaensis* em Carmo da Cachoeira, região Sul de Minas Gerais. . 2018, p. 3.
- SALGADO, S. M. L.; RESENDE, M. L. V.; CAMPOS, V. P. Reprodução de *Meloidogyne*

exigua em cultivares de cafeeiros resistentes e suscetíveis. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, n. 4, p. 413–415, 2005.

SALGADO, S. M. L.; REZENDE, J. C. DE; NUNES, J. A. R. Selection of coffee progenies for resistance to nematode *Meloidogyne paranaensis* in infested area. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 14, n. 2, p. 94–101, 2014.

SANTOS, M. F. A. et al. Genetic variability of *Meloidogyne paranaensis* populations and their aggressiveness to susceptible coffee genotypes. **Plant Pathology**, v. 67, n. 1, p. 193–201, 2018a.

SANTOS, M. F. A. et al. *Meloidogyne incognita* parasitizing coffee plants in southern Minas Gerais, Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 43, n. 1, p. 95–98, 2018b.

SANTOS, H. F. et al. Initial productive performance of coffee progenies in an area infested by *Meloidogyne paranaensis*. **Coffee Science**, v. 13, n. 4, p. 530–538, 2018c.

SANTOS, M. F. A. et al. **Detecção de *Meloidogyne exigua* em cultivares de cafeeiro resistentes, usando marcadores moleculares e a influência de mecanismos tardios nos sintomas e na resistência ao nematoide**, Brasília, 2021.

SERA, G. H. et al. Porta-enxertos de café robusta resistentes aos nematóides *Meloidogyne paranaensis* e *M. incognita* raças 1 e 21. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 27, n. 2, p. 171, 2006.

SERA, G. H. et al. Resistance to Leaf Rust in Coffee cultivars. **Coffee Science**, v. 5, n. 1, p. 59–66, 2010.

SERA, G. H. et al. IPR 106: New Arabica coffee cultivar, resistant to some *Meloidogyne paranaensis* and *M. incognita* nematode populations of Paraná. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 20, n. 3, p. 1–6, 2020.

SERA, G. H.; SERA, T.; FAZUOLI, L. C. IPR 102 – Dwarf Arabica coffee cultivar with resistance to bacterial halo blight. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 17, n. 4, p. 403–407, 2017.

SERA, T. Coffee Genetic Breeding at IAPAR. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 1, n. 2, p. 179–199, 2001.

SERA, T. et al. Identificação de cafeeiros resistentes aos nematoides *Meloidogyne paranaensis* e *M. incognita* raças 2 e 1 em populações de Icatu (*Coffea arabica*). **SBPN Scientific Journal**,

v. 8, p. 20, 2004.

SERA, T. et al. IPR 100 – rustic dwarf arabica coffee cultivar with resistance to nematodes *Meloidogyne paranaensis* and *M. incognita*. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 17, n. 2, p. 175–179, 2017.

SETOTAW, T. ALEMU et al. Coefficient of parentage in *Coffea arabica* L. cultivars grown in Brazil. **Crop Science**, v. 53, n. 4, p. 1237–1247, 2013.

SHENDURE, J.; JI, H. Next-generation DNA sequencing. **Nature Biotechnology**, v. 26, n. 10, p. 1135–1145, 2008.

SHIGUEOKA, L. H. et al. Reaction of Arabica coffee progenies derivative from Icatu to *Meloidogyne paranaensis*. **Bragantia**, v. 75, n. 2, p. 193–198, 2016.

SILVA, R. V.; OLIVEIRA, R. D. L.; ZAMBOLIM, L. Primeiro Relato da Ocorrência de *Meloidogyne paranaensis* em Cafeeiro no Estado de Goiás. **Nematologia Brasileira**, v. 33 (2)–20, n. June, p. 187–190, 2009.

SOBRINO, B.; BRIÓN, M.; CARRACEDO, A. SNPs in forensic genetics: A review on SNP typing methodologies. **Forensic Science International**, v. 154, n. 2–3, p. 181–194, 2005.

STEFANELO, D. R. et al. *Meloidogyne izalcoensis* parasitizing coffee in Minas Gerais state: the first record in Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 44, n. 2, p. 209–212, 2019.

SYLVAIN, P. G. Some observations on *Coffea arabica* L. in Ethiopia, 1955, p. 5:37-53.

TAUTZ, D. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. **Nucleic Acids Research**, v. 18, n. 9, p. 6463–6471, 1989.

TERRA, W. C. et al. Expanded Geographic Distribution of *Meloidogyne paranaensis* Confirmed on Coffee in Brazil. **Plant Disease**, v. 103, n. 3, p. 589, 2019.

THOMAS, A. S. The wild arabica coffee on the Boma Plateau, Anglo-Egyptian Sudan. **Empire Journal of Experimental Agriculture**, v. 10, p. 207–212, 1942.

TRINH, Q. P. et al. *Meloidogyne daklakensis* n. sp. (Nematoda: Meloidogynidae), a new root-knot nematode associated with Robusta coffee (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner) in the Western Highlands, Vietnam. **Journal of Helminthology**, v. 93, n. 2, p. 242–254, 2019.

VAN DER VOSSSEN, H. A. M. coffee selection and breeding. In: **Coffee: Botany**,

- Biochemistry and Production of Beans and Beverage.** London & Sydney: Croom Helm, 1985. p. 48–96.
- VILLAIN, L. et al. Diversity of root-knot nematodes parasitizing coffee in Central America. **Nematropica**, v. 43, n. 2, p. 194–206, 2013.
- VILLAIN, L.; SALGADO, S. M. L.; TRINH, P. Q. Nematodes parasites of coffee and cocoa. In: SIKORA, R. A. et al. (Eds.). . **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture.** Wallingford, UK: CAB International, 2018. p. 536–583.
- VOS, P. et al. AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. **Nucleic Acids Research**, v. 23, n. 21, p. 4407–4414, 1995.
- VUONG, T. D. et al. Genetic architecture of cyst nematode resistance revealed by genome-wide association study in soybean. **BMC Genomics**, v. 16, n. 1, p. 1–13, 2015.
- WANG, D. G. et al. Large-scale identification, mapping, and genotyping of single- nucleotide polymorphisms in the human genome. **Science**, v. 280, n. 5366, p. 1077–1082, 1998.
- WEBER, J. L.; MAY, P. E. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. **American Journal of Human Genetics**, v. 44, n. 3, p. 388–396, 1989.
- WELLMAN, F. L. **Coffee: botany, cultivation, and utilization.** London: Leonard Hill Books, 1961.
- WELSH, J.; MCCLELLAND, M. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. **Nucleic Acids Research**, v. 18, n. 24, p. 6531–6535, 1990.
- WILLIAMS, J. G. K. et al. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, v. 18, n. 22, p. 6531–6535, 1990.
- WIRYADIPUTRA, S.; TRAN, L. K. Indonesia and Vietnan. In: SOUZA, R. M. (Ed.). . **Plant-Parasitic Nematodes of Coffee.** Campos dos Goytacazes: Springer Science & Business Media, 2008. p. 277–292.
- XU, Y.; CROUCH, J. H. Marker-assisted selection in plant breeding: From publications to practice. **Crop Science**, v. 48, n. 2, p. 391–407, 2008.
- ZAMBOLIM, L. Current status and management of coffee leaf rust in Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 41, n. 1, p. 1–8, 2016.

ZHANG, J. et al. Genome-wide association study for soybean cyst nematode resistance in Chinese elite soybean cultivars. **Molecular Breeding**, v. 37, n. 5, 2017.

CAPÍTULO II

ESTUDO DE ASSOCIAÇÃO GENÔMICA AMPLA DA RESISTÊNCIA DO GERMOPLASMA AMPHILLO A *Meloidogyne paranaensis*

INTRODUÇÃO

O café é uma das bebidas mais consumidas do mundo (SACHS et al., 2019). A produção mundial é derivada das espécies *Coffea arabica* L. e *Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner, as quais são cultivadas em mais de 80 países (MISHRA; SLATER, 2012). Os grãos beneficiados destas espécies são uma das principais *commodities* no mercado internacional e desempenham papel fundamental na balança comercial de diversos países da América Latina, África e Ásia (CATALAN et al., 2022). No ano agrícola de 2021/2022, a produção mundial foi estimada em mais de 167,2 milhões de sacas de grãos beneficiados (ICO, 2022).

Os fitonematoides pertencentes ao gênero *Meloidogyne* são um dos maiores problemas fitossanitários da cafeicultura, comprometendo a produtividade e longevidade de lavouras nas principais regiões cafeeiras do mundo (FATOBENE et al., 2019a; GONÇALVES et al., 2021; SANTOS et al., 2018b). Dentre as espécies de *Meloidogyne* que infectam cafeeiros, a espécie *Meloidogyne paranaensis* (CARNEIRO et al., 1996) se destaca por acarretar sérios prejuízos à cafeicultura brasileira em razão da suscetibilidade observada entre as principais cultivares comerciais, da agressividade (VILLAIN; SALGADO; TRINH, 2018) e da rápida dispersão geográfica do patógeno para diferentes regiões cafeeiras (BARROS et al., 2011a; FERNANDES et al., 2019; SALGADO et al., 2018).

O uso de cultivares resistentes é a estratégia de manejo mais eficiente em áreas infestadas pelo patógeno (VILLAIN; SALGADO; TRINH, 2018). As cultivares comerciais IPR100 e IPR106, portadoras de genes oriundos das espécies *Coffea liberica* e *Coffea canephora*, respectivamente, são resistente a *M. paranaensis*, apresentando, no entanto suscetibilidade à ferrugem (*Coffee Leaf Rust* - CLR) (SERA et al., 2020, 2017), outra importante doença do cafeeiro. Desta forma, o desenvolvimento de cultivares com resistência múltipla a CLR e *M. paranaensis* e adaptadas às condições edafoclimáticas das principais regiões cafeeiras do Brasil e do mundo é uma demanda imperativa para programas de melhoramento genético do cafeeiro. Além disso, a introdução de novas fontes de resistência e, conseqüentemente, obtenção de cultivares contendo diferentes genes é importante para a durabilidade da resistência ao nematoide.

Uma das principais limitações para o melhoramento genético de *C. arabica* é a baixa diversidade genética da espécie. As principais cultivares comerciais são oriundas de bases genéticas estreitas de Typica e/ou Bourbon (ANTHONY et al., 2002), apresentando homogeneidade fenotípica (BERTRAND et al., 1999) e alta similaridade genotípica (SETOTAW et al., 2020). Para contornar estes fatores, diversos trabalhos têm buscado fontes

de resistência em acessos de *C. arabica* silvestres oriundos da Etiópia (AZEVEDO et al., 2022; FATOBENE et al., 2017; PERES et al., 2017; SANTOS et al., 2018a). Estes autores verificaram resistência à *M. paranaensis* em progênies derivadas de cruzamentos envolvendo germoplasma “Amphillo”, as quais têm sido avaliadas em áreas infestadas pelo patógeno e apontadas como promissoras fontes de resistência para programas de melhoramento do cafeeiro.

Apesar do avanço de gerações destas populações, a herança e os mecanismos de resistência expressos por esses materiais ainda não foram completamente elucidados (ALVES et al., 2019). A utilização de acessos silvestres como fonte de resistência a doenças para cultivares comerciais pode resultar na transferência de alelos indesejados, demandando maior número de gerações de retrocruzamentos para a recuperação de caracteres como produtividade, vigor vegetativo e qualidade de bebida (GIMASE et al., 2020). Esta limitação é ainda mais relevante em culturas perenes como o cafeeiro, no qual o desenvolvimento de uma cultivar é longo e laborioso (ALMEIDA et al., 2021), podendo demandar de 25-30 anos (MONCADA et al., 2016). Desta forma, compreender as relações entre polimorfismo genético e variações fenotípicas é fundamental para a elaboração de estratégias eficientes para o aproveitamento de recursos genéticos no melhoramento de plantas.

Com a descoberta dos marcadores *Single Nucleotide Polimorphism* (SNPs) (BROOKES, 1999) e os avanços das tecnologias de sequenciamento de DNA verificados nas últimas duas décadas (ELSHIRE et al., 2011; SHENDURE; JI, 2008), os estudos de associação genômica ampla (GWAS) emergiram como poderosa ferramenta para detecção de associações entre marcadores e caracteres e para identificação de genes envolvidos no controle destes caracteres (RAFALSKI, 2010). Diversos trabalhos com GWAS têm identificado marcadores moleculares associados a resistência a fitonematóides (DABABAT et al., 2021; KUMAR et al., 2021; ZHANG et al., 2017a), incluindo espécies do gênero *Meloidogyne* (ALEKCEVETCH et al., 2021; HADA et al., 2020; PASSIANOTTO et al., 2017). Em cafeeiros, a técnica têm sido utilizada para investigação da herança e detecção de marcadores associados à produção, qualidade de bebida, bienalidade, arquitetura de planta e resistência pragas e doenças, (CASTILLO et al., 2022; GIMASE et al., 2020; NONATO et al., 2021; SANT’ANA et al., 2018; SILVA et al., 2022a).

A identificação e disponibilidade de marcadores moleculares associados à regiões cromossômicas envolvidas no controle de caracteres agrônômicos permite ao melhorista a adoção de diferentes estratégias de seleção assistida por marcadores (SAM), como a seleção assistida de genes/QTLs, introgressão a partir de germoplasma silvestre, retrocruzamento assistido por marcadores, seleção recorrente e piramidação de genes (ALKIMIM et al., 2017;

ALMEIDA et al., 2021; HASAN et al., 2021; LEMA, 2018; VALENCIA et al., 2017). Estas estratégias permitem aumentar a eficiência dos programas de melhoramento e acelerar o processo de desenvolvimento de novas cultivares (HENKRAR; UDUPA, 2020). A adoção destas estratégias é particularmente vantajosa em culturas perenes, nas quais os métodos clássicos de melhoramento podem ser onerosos devido o tempo e recursos demandado para o desenvolvimento, condução e avaliação fenotípica de populações de melhoramento. Além disso, a avaliação de caracteres como a resistência a fitonematoides apresenta limitações como a difícil avaliação em campo e demanda por análises destrutivas. Por meio da SAM, torna-se possível a seleção de genótipos promissores em estágios iniciais, como plântulas e mudas, sendo especialmente viável para a introgressão de locos envolvidos na resistência à doenças (MIGICOVSKY; MYLES, 2017).

O presente trabalho teve como objetivo identificar marcadores moleculares associados a resistência expressa pelo germoplasma de ‘Amphillo’ a *M. paranaensis* e mapear genes potencialmente envolvidos na herança desse caractere.

MATERIAIS E MÉTODOS

Material genético

Os genótipos de *Coffea arabica* avaliados no presente trabalho foram obtidos do banco de germoplasma da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (Epamig) e correspondem à quatro diferentes progênes em geração F₄, oriundas de cruzamentos entre acessos silvestres do germoplasma Amphillo (resistente a *M. paranaensis*) e linhagens de Catuaí Vermelho (suscetível a *M. paranaensis*). No Campo Experimental da Epamig Sul, município de Lavras, (21°14'53.94"S, 45° 0'5.21"O, 932 m de altitude), estado de Minas Gerais, as sementes foram plantadas em sacos plásticos de 850 cm³ contendo substrato composto por mistura de terra, areia e esterco (2:1:1) previamente desinfestado com nematicida de ingrediente ativo dazomet (Basamid®). Foram produzidas 40 mudas de cada progênie, totalizando 160 plantas (Tabela 1). Também foram produzidas 40 mudas da cultivar Catuaí Vermelho IAC 144, a qual foi avaliada no trabalho como padrão de suscetibilidade a *M. paranaensis*.

Tabela 1 Genealogia dos genótipos utilizados para composição da população de associação

Progênie (F_{3:4})	Progenitores
MG0185-1-R2-(1-40)	Amphillo MR 2-474 x Linhagem de Catuaí Vermelho
MG0179-5-R1-(1-40)	Amphillo MR 2-161 x Linhagem de Catuaí Vermelho
MG0179-1-R1-(1-40)	Amphillo MR 2-161 x Linhagem de Catuaí Vermelho
MG0179-3-R1-(1-40)	Amphillo MR 2-161 x Linhagem de Catuaí Vermelho

Análise fenotípica

Após a formação do terceiro par de folhas as plantas foram inoculadas e incubadas em casa de vegetação, onde foi utilizado delineamento inteiramente casualizado. Foi utilizado inóculo oriundo de população de *M. paranaensis* fenótipo de esterase P1 (SANTOS et al., 2017) coletada no município de Piumhi, estado de Minas Gerais (20° 25' 28,7"S, 46° 1' 10,5"O, 812 m de altitude). O inóculo foi obtido por meio de extração em raízes de cafeeiro infectado, utilizando metodologia proposta por Hussey and Barker (1973) modificada por Bonetti and Ferraz (1981). Após a obtenção e calibração do inóculo, cada planta foi inoculada com 1600 ovos (aproximadamente 2 ovos por cm³ de substrato). Este número de ovos é considerado a densidade de população inicial (PI). Aos 180 dias após a inoculação (DAI) foram avaliadas variáveis associadas ao parasitismo por *M. paranaensis*:

(i) **Nota (NOTA)** – foram atribuídas notas para cada genótipo com base na sintomatologia de infecção observada no sistema radicular. As notas foram atribuídas com base em escala descritiva proposta por Carneiro (1995) adaptada, onde 0 = Ausência de sintomas; 1 = Poucas raízes finas parasitadas; 2 = Engrossamento, rachaduras e descolamento de córtex em raízes secundárias grossas e redução do volume de raízes finas; 3 = Raízes secundárias e pião da planta parasitados, algumas rachaduras, necroses e descolamento de córtex; 4 = Intensa infestação no pião da planta; 5 = Raízes completamente depauperadas;

(ii) **Massa Fresca de Raízes (MFR)** - Após a remoção do substrato e limpeza das raízes foi aferida a massa fresca do sistema radicular utilizando balança analítica de precisão;

(iii) **Número de ovos por grama de raízes (NOGR)** – Foi feita a extração de ovos de *M. paranaensis* presentes no sistema radicular de cada planta (BONETTI; FERRAZ, 1981; HUSSEY; BARKER, 1973). Com auxílio de microscópio óptico e câmara de Peters foi aferida a população final (PF) do patógeno. O NOGR foi obtido por meio da equação $NOGR = PF/MFR$;

(iv) **Fator de reprodução (FR)** – Calculado com base na expressão $RF = FP/PI$;

(v) **Tipo de reação (TR)** – Classificação categórica dos genótipos quanto a resistência ao patógeno baseada no fator de reprodução. Para as análises estatísticas, foram atribuídos os valores 0 e 1 para genótipos com $FR \geq 1$ (suscetível) e $FR < 1$ (resistente), respectivamente.

Genotipagem

Um par de folhas jovens completamente expandidas foi coletado de cada genótipo e enviados em caixas térmicas ao Laboratório de Biotecnologia do Cafeeiro - BioCafé (20°45'31.78"S, 42°52'7.98"O), na Universidade Federal de Viçosa, onde foi realizada extração do DNA genômico (DINIZ et al., 2005). Após a extração, a qualidade do DNA extraído foi avaliada em gel de agarose a 1% e a concentração quantificada usando espectrofotômetro NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific®). A concentração das amostras de DNA foi padronizada para 25ng.µL⁻¹. As amostras foram enviadas para a empresa Rapid Genomics, na Universidade da Flórida (EUA), para o sequenciamento de regiões genômicas contendo SNPs. As regiões sequenciadas foram inicialmente selecionadas por Resende et al. (2016). Estes autores desenharam sondas buscando cobrir todo o genoma de *C. arabica*, utilizando como base sequências disponíveis em bancos de dados de *Expressed Sequence tag* (EST's) desenvolvidos pelo Projeto Genoma Brasileiro de Café (VIEIRA et al., 2006) e também o genoma de referência de *C. canephora* (DENOEUDE et al., 2014). Para o presente trabalho, foram selecionadas regiões contendo maior número de SNP, com base em trabalhos anteriores (DA SILVA, 2019; SILVA et al., 2022a; SOUSA et al., 2017). Foram desenhados pares de primers para a amplificação destas regiões usando a tecnologia Flex-Seq EX-L (Rapid Genomics, 2021). O sequenciamento das regiões amplificadas foi realizado usando a plataforma Illumina HiSeq.

Controle de qualidade dos dados genotípicos

Foram feitas filtragens para remoção de SNPs que não atendiam os parâmetros *Minor Allele Frequency* (MAF) > 0.05 e *Call Rate* (CR) > 0.90. Estas filtragens foram realizadas utilizando o software VCFtools (DANECEK et al., 2011). Foram também identificados grupos de SNPs apresentando resultados redundantes em relação ao polimorfismo. Apenas um SNP de cada grupo foi mantido no conjunto de dados. Além disso, SNPs com heteroziguidade = 1 foram eliminados. Foram também eliminados do conjunto de dados os genótipos com ausência de informação em mais de 50% dos SNPs genotipados na população (*Missing Data* > 0.5). As filtragens de SNPs por redundância e heteroziguidade e de genótipos por *Missing Data* foram feitas utilizando *scripts* personalizados no software R (R core Team, 2021).

Análise de desequilíbrio de ligação

O desequilíbrio de ligação (*Linkage Disequilibrium* - LD) entre pares de SNPs localizados em mesmo cromossomo foi estimado usando o *squared allele frequency correlations* (r^2) (VANLIERE; ROSENBERG, 2008). Para esta análise foi utilizado o pacote *sommer* (COVARRUBIAS-PAZARAN, 2016), no *software* R.

Avaliação da diversidade genética e da estrutura de população

Para a avaliação do parentesco entre os genótipos foi calculada a matriz de parentesco genômico utilizando o algoritmo proposto por VanRaden (2008). Para avaliar a presença de estrutura na população foi realizada a análise de componentes principais (PCA) utilizando o pacote *Genome Association and Prediction Integrated Tool* (GAPIT3) (WANG; ZHANG, 2021).

Análise de associação genômica ampla

Dois diferentes modelos de GWAS foram testados:

(i) Modelo Linear com correção da estrutura de população – os componentes principais foram inseridos como efeitos fixos ao modelo:

$$y = Xb + e \quad (1)$$

Em que y : vetor de fenótipos observados; b : vetor de efeitos fixos, incluindo a média, o efeito da estrutura de população (PC's) e efeito do marcador; e : vetor de resíduos (assumido como aleatório); X : matriz de incidência.

(ii) Modelo Linear Misto com correção da estrutura de população e parentesco genômico – além dos componentes principais, também foram inseridas ao modelo a matriz de variância e covariância genética e a matriz de parentesco genômica (Kinship Matrix) (Yu et al., 2006).

$$y = Xb + Zu + e \quad (2)$$

Em que y : vetor de fenótipos observados; b : vetor de efeitos fixos, incluindo a média, o efeito da estrutura de população e efeito do marcador; u : vetor de efeitos genéticos aditivos, assumido como aleatório, Z : Matriz de incidência. Neste modelo, assume-se que os vetores u and e apresentam são normalmente distribuídos, com media igual a zero e variância:

$$\text{Var} \begin{pmatrix} u \\ e \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} G & 0 \\ 0 & R \end{pmatrix}$$

Onde $G = \sigma_a^2 K$, sendo σ_a^2 a variância genética aditiva e K a matriz de parentesco genômico, e $R = \sigma_e^2 I$, sendo σ_e^2 a variância residual e I uma matriz identidade.

A correção dos *P-values* para carga de testes múltiplos foi realizada utilizando a técnica *False Discovery Rate* (FDR). A avaliação do modelo de GWAS mais adequado para o conjunto de dados foi feita com auxílio de *quantile-quantile* (Q-Q) plots, onde foram analisados os melhores ajustes entre *P-values* esperados e observados. Os *P-valores* corrigidos para associação entre SNPs e características foram expressos graficamente em Manhattan plots, sendo estabelecidos *thresholds* para associações significativas ao nível de 5% (FDR *P-value* 0,05) e 10% (FDR *P-value* 0,1). Foi calculada a porcentagem de variação fenotípica explicada por cada marcador (R^2) e o efeito alélico no fenótipo dos SNPs que apresentaram associações significativas. Para estas análises e elaboração de gráficos foi utilizado o pacote GAPIT3.

Identificação de genes potencialmente relacionados à resistência

Para identificar e compreender os potenciais genes envolvidos no controle da resistência expressa pelo germoplasma Amphillo, foram selecionados os genes nos quais os SNPs com associações significativas estão locados. Também foram selecionados os genes vizinhos imediatamente mais próximos a estes genes nos sentidos *upstream* ou *downstream*. A identificação desses genes foi feita utilizando comandos de rotina em ambiente bash tendo como base a anotação (General Feature Format 3 - GFF3) e o genoma de referência de *C. arabica* (GCF_003713225.1), disponível na plataforma do National Center for Biotechnology Information (NCBI). Após a seleção dos genes, uma análise dos domínios funcionais presentes nas proteínas codificadas por cada um deles foi realizada, usando a ferramenta Pfam (MISTRY et al., 2021). Os SNPs inseridos em genes foram avaliados em relação a sua localização em regiões de íntrons ou éxons; quando presentes em éxons, foi avaliado se causam mutações sinônimas ou não-sinônimas.

RESULTADOS

Análise fenotípicas

A maioria dos genótipos das progênes derivadas do cafeeiro ‘Amphillo’ não apresentou sintomas de infecção por *M. paranaensis*. Em menor frequência, alguns destes genótipos apresentaram diferentes tipos e intensidades de sintomas. No cafeeiro Catuaí Vermelho IAC 144, utilizado como controle de suscetibilidade, foi verificada alta intensidade de infestação e manifestação de sintomatologia característica do parasitismo por *M. paranaensis* (Tabela 2).

Tabela 2 Frequências absoluta e relativa (%) de genótipos classificados nas diferentes classes das variáveis categóricas. NOTA – Nota; TR – Tipo de reação.

Variável	Classe	Germoplasma		Catuaí Vermelho IAC 144	
		Frequência		Frequência	
		Absoluta	%	Absoluta	%
NOTA	0	115	71,88	0	0
	1	9	5,63	0	0
	2	15	9,38	1	2,5
	3	12	7,50	8	20
	4	8	5,00	12	30
	5	1	0,63	19	47,5
TR	Resistente	137	85,62	0	0
	Suscetível	23	14,38	40	100

Foram verificadas maiores médias de MFR, NOGR e FR entre os genótipos padrão de suscetibilidade em relação às progênes derivadas de Amphillo (Tabela 3).

Tabela 3 Análise descritiva das quantitativas associadas à resistência à *M. paranaensis*. MFR – Massa fresca de raízes; NOGR – Número de ovos por grama de raízes; FR – Fator de reprodução.

Variável	Germoplasma de Amphillo					
	Mín.	Média	Máx.	Desvio	Variância	
MFR	5,56	17,21	31,67	4,754694	22,60712	
NOGR	0	223,245	5828,94	766,63	587729,6	
FR	0	2,38418	62,1875	8,33	69,37	
Variável	Catuaí Vermelho IAC 144					
	MFR	8,95	25,57	52,30	10,97131	120,3697
	NOGR	127,2	2081,2	5049,4	1351,562	1826720
	FR	2,156	31,929	88,438	24,52255	601,3554

Todas as repetições do padrão de suscetibilidade apresentaram altos valores de NOGR e $FR > 1$. Nas progênes derivadas de Amphillo foram observados os menores valores de NOGR, sendo verificada ausência de ovos do patógeno em 55 genótipos. Alguns genótipos destas progênes apresentaram valores de NOGR superiores à média observada entre repetições do padrão de suscetibilidade. Valores de $FR > 1$ foram observados em 23 destes genótipos, os quais foram classificados como suscetíveis. Foram verificados coeficientes de correlação significativos entre as variáveis NOTA, NOGR e FR (Tabela 4).

Tabela 4 Coeficiente de correlação de Pearson entre variáveis quantitativas associadas à resistência a *M. paranaensis*. NOTA – Nota; MFR – Massa fresca de raízes; FR – Fator de reprodução; NOGR – Número de ovos por grama de raízes.

Variável	NOTA	MFR	NOGR
MFR	-0,069		
NOGR	0,6429*	0,0205	
FR	0,6233*	0,0667	0,9862*

*Significante à 1% pelo teste t

Genotipagem e controle de qualidade dos dados genotípicos

Por meio dos pares de *primers* desenhados foram amplificadas e sequenciadas 2000 regiões genômicas (sondas), distribuídas ao longo de todos os cromossomos de *C. arabica*. Nestas regiões foram identificados 7116 SNPs. Deste total, 4640 SNPs (65,21%) não atenderam os parâmetros de qualidade MAF e CR adotados. Foi verificada heterozigiosidade = 1 em 777 SNPs (10,92%) e informações redundantes em 768 SNPs (10,79%). Dessa forma, 931 SNPs de alta qualidade e informativos foram utilizados para a avaliação da estrutura de população, parentesco de genótipos e condução da GWAS. Dois genótipos foram eliminados do conjunto de dados por apresentarem valor de *Missing Data* > 0.5.

Análise de desequilíbrio de ligação

A avaliação do LD entre pares de SNPs locados em cada cromossomo gerou 28254 comparações. Deste total, 8589 pares (30,37%) apresentaram $r^2 \geq 0,1$ (11,12%). Também foi verificado que 21167 comparações (74,91%) foram significativas ao nível de 5% ($P\text{-value} < 0,05$) (Tabela 5). Valores de r^2 superiores a 0,8 e 0,9 foram verificados em 922 (3,26%) e 341 (1,21%) comparações, respectivamente, sendo maior a probabilidade destes SNPs serem herdados juntos. Valores de $r^2=0$ foram verificados entre 174 (0,61%) pares de SNPs, indicando ausência total de ligação entre estes marcadores. Foi verificada alto desequilíbrio de ligação ($r^2 \geq 0,1$) em comparações entre SNPs locados em intervalos ≤ 10 *kilobase* (kb) (66,87%). Em intervalos de até 10 e 20 *megabase* (Mb) foi verificado $r^2 \geq 0,1$ em 35,96% e 32,48% das comparações, respectivamente. A queda do LD em função da distância física dos SNPs ao longo do genoma está representada na Figura 1.

Tabela 5 Desequilíbrio de ligação entre pares de SNPs locados em um mesmo cromossomo. Crom - Cromossomo; N° SNPs – Número de SNPs alocados em cada cromossomo após as filtragens de controle de qualidade; Comp – número de comparações entre pares de SNP alocados nos respectivos cromossomos; SNP LD – número de comparações com desequilíbrio de ligação igual ou superior a 0,1 ou significativas a 5% de probabilidade; Porcentagem – porcentagem das comparações que atenderam estes parâmetros, Máx. e mín. LD – número de comparações com valores extremos de desequilíbrio de ligação.

Crom.	N° SNPs	Comp.	SNP LD		Porcentagem		Máx. e mín. LD		
			$r^2 \geq 0,1$	$p < 0,05$	$r^2 \geq 0,1$	$p < 0,05$	$r^2 > 0,8$	$r^2 > 0,9$	$r^2 = 0$
1Cc	100	4950	2250	4149	32,44	83,82	194	68	7
1Ce	109	5886	1855	4955	15,31	84,18	62	19	38
2Cc	45	990	131	637	8,89	64,34	9	8	0
2Ce	71	2485	174	1412	6,36	56,82	65	27	82
3Cc	43	903	237	633	23,48	70,10	25	16	0
3Ce	12	66	7	29	10,61	43,94	3	3	0
4Cc	79	3081	1527	2780	46,51	90,23	221	65	20
4Ce	49	1176	320	802	20,07	68,20	21	9	0
5Cc	26	325	113	248	27,69	76,31	23	10	0
5Ce	26	325	57	197	15,38	60,62	15	3	0
6Cc	51	1275	297	852	19,29	66,82	56	28	0
6Ce	34	561	100	350	16,04	62,39	25	12	0
7Cc	81	3240	807	2127	16,51	65,65	138	53	24
7 Ce	38	703	166	497	14,08	70,70	6	0	0
8Cc	24	276	57	235	15,94	85,14	11	5	0
8Ce	10	45	1	25	0,00	55,56	0	0	0
9Cc	29	406	16	196	1,97	48,28	3	1	0
9Ce	19	171	93	151	48,54	88,30	12	6	0
10Cc	16	120	14	58	11,67	48,33	7	4	0
10Ce	8	28	4	18	14,29	64,29	1	1	0
11Cc	49	1176	346	773	25,00	65,73	23	2	3
11Ce	12	66	8	43	7,58	65,15	2	1	0
Total	931	28254	8580	21167	30,37	74,91	922	341	174

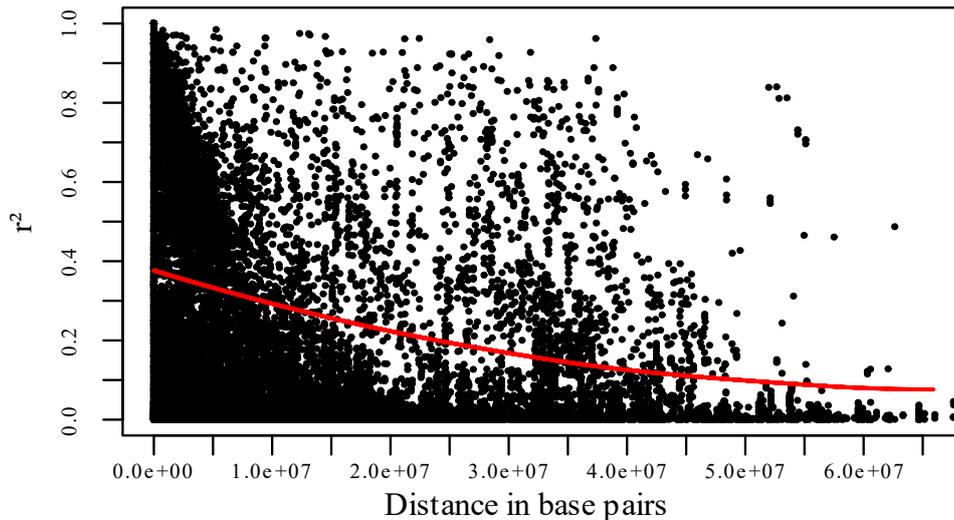


Figura 1 Queda do LD entre pares de SNPs em função da distância física

Avaliação da diversidade genética e da estrutura de população

A avaliação do parentesco genômico entre os pares de genótipos revelou existência de três diferentes clusters. Os maiores valores de parentesco genômico foram observados entre pares de genótipos pertencentes às mesmas progênies (Figura 2). A progênie derivada do acesso MG-185-1-R2 apresentou o maior média e menor variância para os valores de coeficiente de parentesco genômico (média = 0,3327; variância = 0,0033), indicando alta similaridade genética entre estes genótipos e homogeneidade. A progênie derivada do acesso MG-079-1-R1 também apresentou alto valor médio de coeficiente de parentesco (média = 0,3125). No entanto, foi verificada maior variância entre pares de genótipos pertencentes a esta progênie (variância = 0,0681), indicando similaridade genética heterogênea entre estes genótipos. Menores valores médios de coeficiente de parentesco genômico foram entre genótipos pertencentes às progênies MG-079-5-R1 (média = 0,1306) e MG-079-3-R1 (média = 0,1507), com variâncias de 0,0094 e 0,0082, respectivamente. O maior valor médio de coeficiente de parentesco entre progênies foi verificado os genótipos pertencentes às progênies MG-079-3-R1 e MG-079-5-R1 (0,1263). Entre as demais progênies foram verificados valores de coeficiente de parentesco genômico < 0. Desta forma, foi verificada maior parentesco genômico entre genótipos dentro das progênies em relação ao parentesco entre progênies.

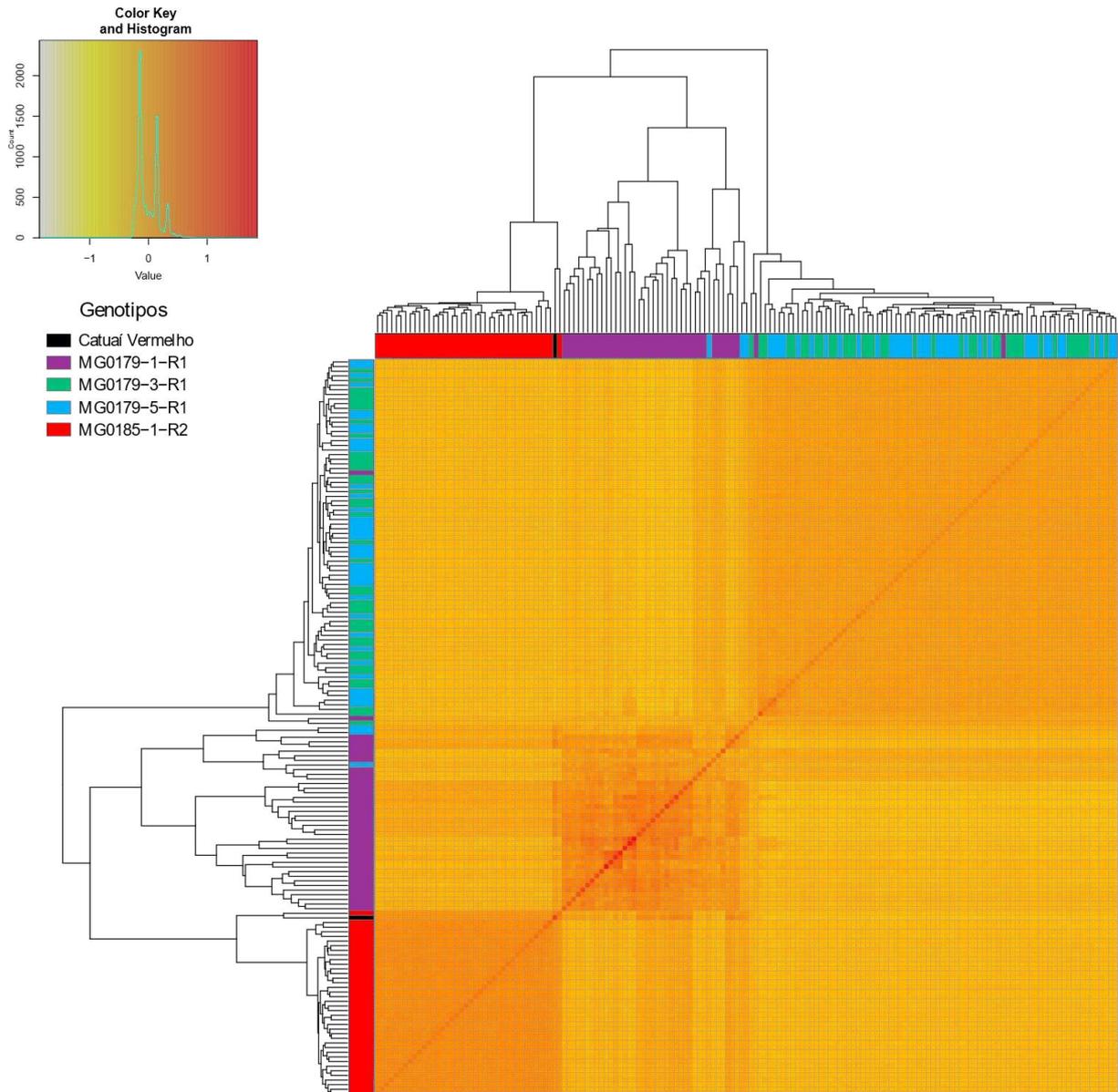


Figura 2 Heatmap baseado na matriz de parentesco genômico (Matriz K) entre os pares de genótipos. Quanto mais escura a cor na matriz, maior o parentesco entre o respectivo par de genótipos. As cores nas barras paralelas ao dendrograma representam as quatro diferentes progênes utilizadas e o padrão de suscetibilidade.

Por meio da análise de componentes principais foi verificada a formação de três diferentes clusters com base na estrutura de população (Figura 3), sendo um cluster constituído por genótipos pertencentes às progênes MG-079-3-R1 e MG-079-5-R1, um cluster por genótipos pertencentes à progênie MG-185-1-R2, e um terceiro cluster formado em maior parte por genótipos pertencentes à progênes MG-079-1-R1. Os componentes principais 1 e 2 (PC1 e PC2) capturaram 79.41% da variância observada na população para os 931 SNPs selecionados (Figura 4).

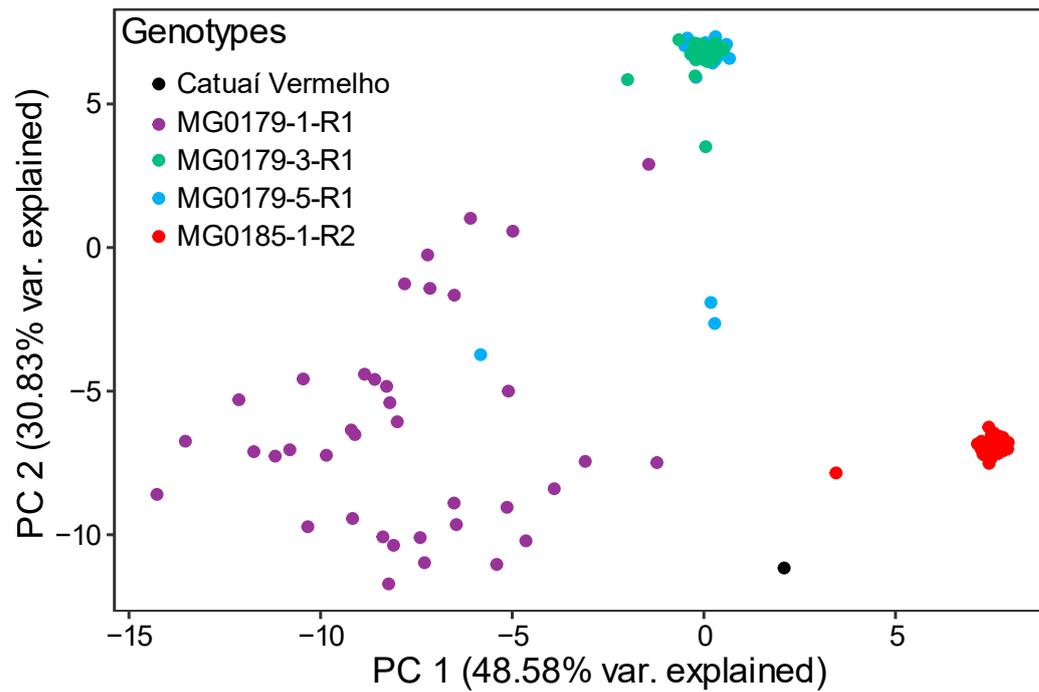


Figura 3 Scatter plot baseado na análise de componentes principais (*Principal Component Analysis - PCA*) dos SNPs avaliados. O eixo X corresponde ao componente principal 1 (PC1) e o eixo Y ao componente principal 2 (PC2). Pontos com as mesmas cores correspondem a genótipos pertencentes às mesmas progênes.

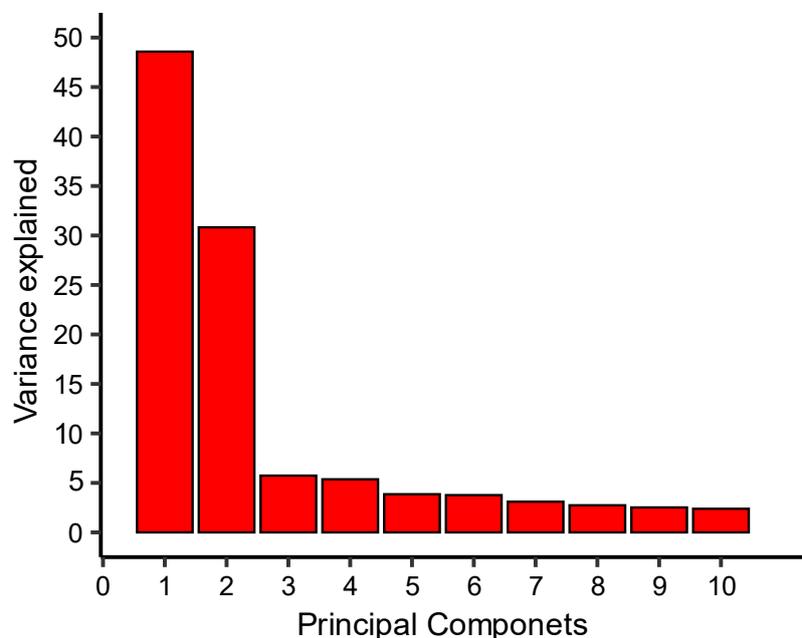


Figura 4 Porcentagem de variância acumulada nos dez primeiros componentes principais.

Análise de associação genômica ampla

Os componentes principais 1 e 2 (PC1, PC2) foram incluídos como efeitos fixos nos dois modelos testados para o GWAS. A inclusão de componentes principais adicionais ao modelo não diminuiu a probabilidade de erro tipo I. Com base na análise dos Q-Q plots (Figura 5), o melhor ajuste foi obtido com o modelo incluindo estes componentes principais e a matriz de parentesco genômico (MLM+PC's+K).

Após a correção do *P-values* para carga de testes múltiplos foram identificadas associações significativas aos níveis de 5 e 10%. Considerando o *threshold* a 5% (FDR *P-value* < 0.05) foram identificadas 4, 0, 4, 4 e 5 associações significativas entre SNPs e as variáveis NOTA, MFR, NOGR, FR e TR, respectivamente. Considerando o *threshold* a 10% (FDR *P-value* < 0.1) foram identificadas 8, 0, 5, 4 e 8 associações significativas entre SNPs e as variáveis NOTA, MFR, NOGR, FR e TR, respectivamente (Figura 6). Entre os SNPs com associações significativas, sete estão alocados em um intervalo de 74 bp no cromossomo 7 do subgenoma da espécie *C. eugenoides*, constituindo um bloco com alto LD (Figura 7). Outros cinco SNPs estão alocados nos cromossomos 1 e 9 do subgenoma oriundo de *C. eugenoides* e cromossomos 2, 3 e 4 do subgenoma da espécie *C. canephora*. Estes SNPs explicaram entre 23,93-28,13%, 22,10-29,76%, 27,02-31,74% e 38,57-45,92% da variação fenotípica observada nas variáveis NOTA, MFR, NOGR, FR e TR, respectivamente. Informações sobre todas as associações significativas identificadas neste trabalho estão sumarizadas na tabela 6.

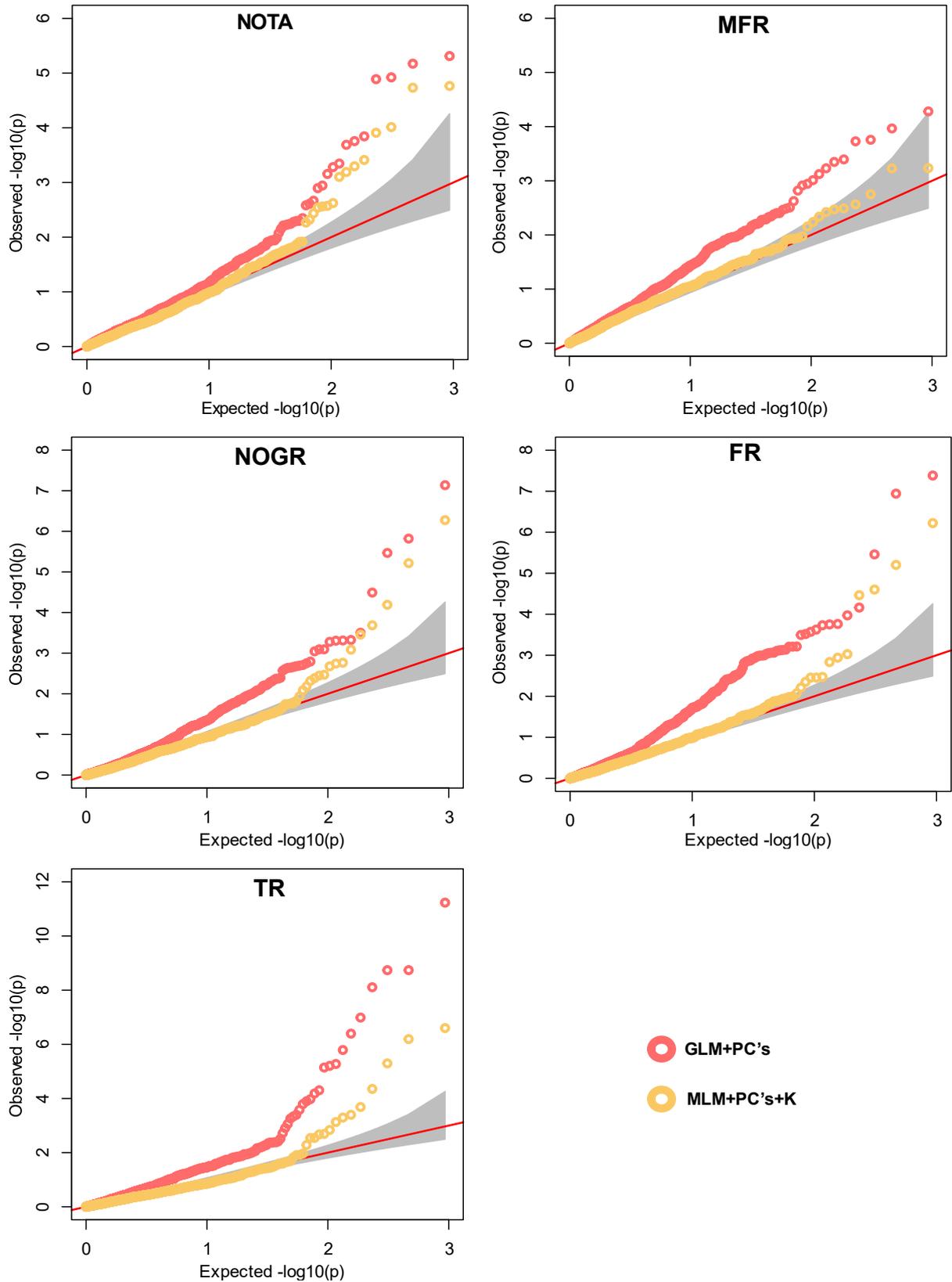


Figura 5 Ajuste dos modelos de GWAS à população deste estudo. A linha vermelha corresponde à distribuição esperada aos p-valores sob hipótese nula. Os pontos em vermelho e amarelo correspondem a distribuição observada dos p-valores utilizando os modelos GLM+PC'

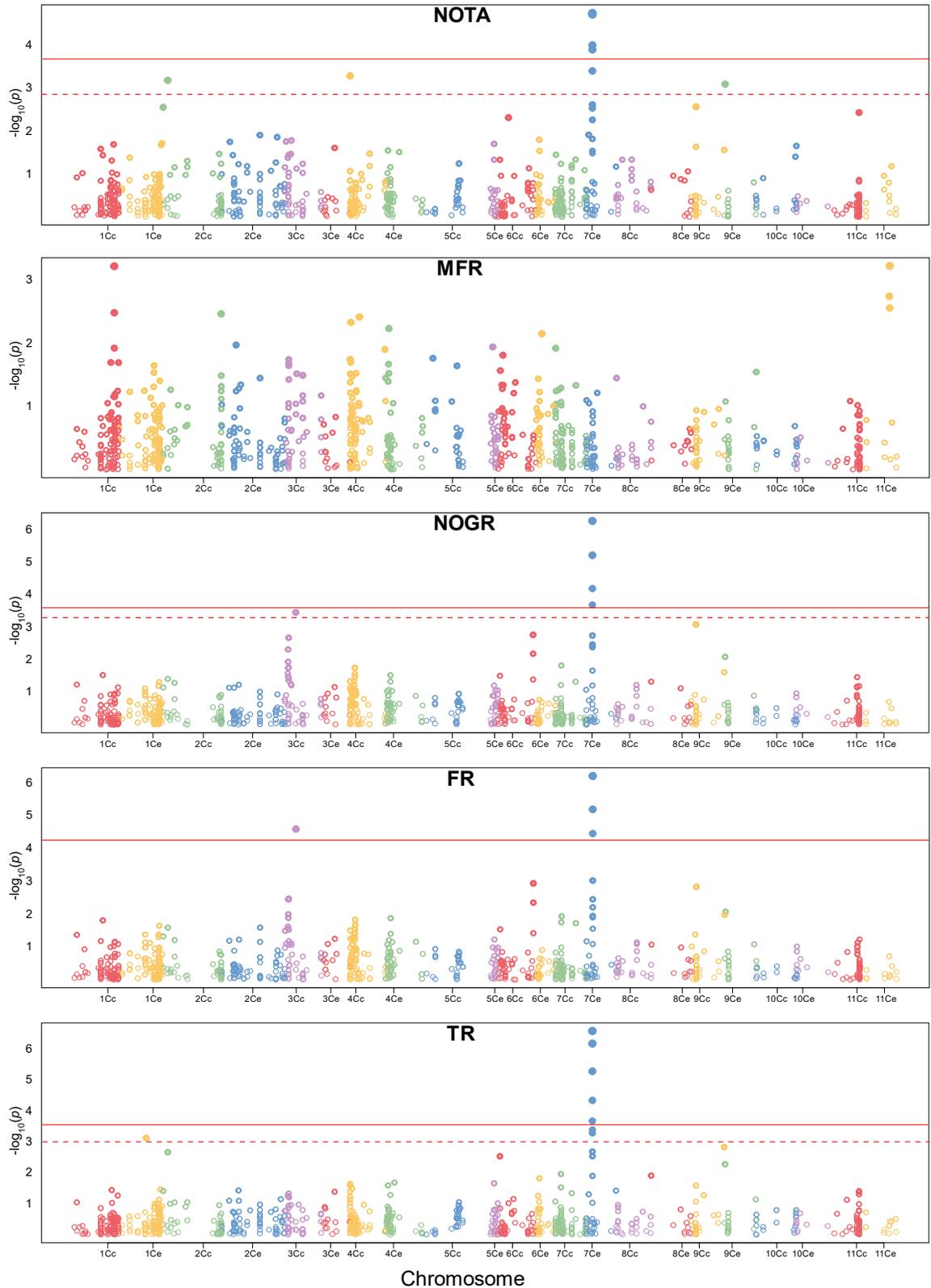


Figura 6 Significância da associação entre as características avaliadas e os SNPs selecionados. O eixo vertical corresponde ao logaritmo negativo dos p-valores e o eixo horizontal à posição dos SNPs no genoma de *C. arabica*.

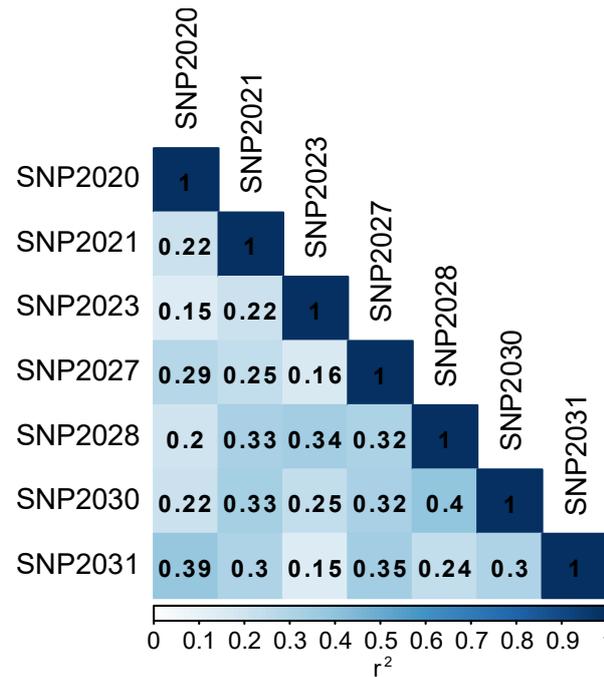


Figura 7 Bloco de LD entre SNPs com associações significativas localizados no cromossomo 7 do subgenoma oriundo de *C. eugenioides*

Identificação de genes potencialmente relacionados à resistência

Os 12 SNPs que apresentaram associações significativas com as variáveis avaliadas neste trabalho estão inseridos dentro de genes (Tabela 7). O SNP873 está localizado no gene LOC113701373 que é um gene não codificador de proteínas (Figura 8). Dentre os SNPs identificados em genes codificadores de proteínas (LOC113702776, LOC113725506, LOC113701373, LOC113702242 e LOC113709268), três (LOC113725506, LOC113739564 e LOC113709268) estão localizados em regiões de éxons (Figura 7), dentre eles, o SNP962 é uma mutação não-sinônima. O bloco SNPs (SNP2020, SNP2021, SNP2023, SNP2027, SNP2028, SNP2030 e SNP2031) identificados no gene LOC113702242 estão localizados no primeiro éxon (uma provável região 5'-UTR) (Figura 8).

Além disso, os genes que flanqueiam os SNPs estão localizados à distância mínima de 1431 bp e máxima 76141 bp. Cada SNP apresentou ao menos um gene vizinho à distância inferior à 5000 bp (Tabela 8).

Tabela 6 Resumo dos resultados da GWAS utilizando o modelo linear misto com adição de matriz de parentesco e componentes principais. Char – caractere; SNP – identidade do SNP; Chr – cromossomo; Pos – posição do SNP no cromossomo em pares de base; R/A – alelo referência/alelo alternativo; MAF – frequência do alelo alternativo; R² - coeficiente de determinação do modelo considerando o SNP; FDR p-value – p-value ajustado utilizando false discovery rate; EFFECT – efeito alélico de cada SNP

Car.	SNP	Chr	Pos	R/A	MAF	R²	FDR P-value	EFFECT
NOTA	SNP508	2Cc	6333338	C/G	0,456	0,2415	0,0855	1,4444
	SNP962	4Cc	417133	CT/CG	0,0881	0,244	0,0784	-1,0035
	SNP2020	7Ce	7568773	T/C	0,0566	0,2469	0,0721	-1,2331
	SNP2027	7Ce	7568790	A/T	0,0943	0,2813	0,0086	-1,2699
	SNP2029	7Ce	7568799	C/T	0,0535	0,2593	0,0287	-1,4158
	SNP2030	7Ce	7568803	A/C	0,1478	0,2805	0,0086	-1,1782
	SNP2031	7Ce	7568807	C/T	0,0566	0,2619	0,0287	-1,4011
	SNP2234	9Ce	954933	G/A	0,4717	0,2393	0,0919	1,5712
NOGR	SNP873	3Cc	12458219	T/C	0,3711	0,221	0,0652	2003,75
	SNP2020	7Ce	7568773	T/C	0,0566	0,2679	0,0028	-1009
	SNP2027	7Ce	7568790	A/T	0,0943	0,2976	0,0005	-958,03
	SNP2030	7Ce	7568803	A/C	0,1478	0,2269	0,0479	-647,85
	SNP2031	7Ce	7568807	C/T	0,0566	0,2402	0,02	-926,38
FR	SNP873	3Cc	12458219	T/C	0,3711	0,2738	0,0078	26,8614
	SNP2020	7Ce	7568773	T/C	0,0566	0,2897	0,0029	-11,206
	SNP2027	7Ce	7568790	A/T	0,0943	0,3174	0,0006	-10,63
	SNP2031	7Ce	7568807	C/T	0,0566	0,2702	0,008	-10,755
TR	SNP334	1Ce	30878792	C/A	0,1164	0,3857	0,086	0,2876
	SNP2020	7Ce	7568773	T/C	0,0566	0,4104	0,0103	0,3793
	SNP2021	7Ce	7568774	A/C	0,1478	0,391	0,0621	0,2301
	SNP2023	7Ce	7568778	CT/CC	0,1447	0,3889	0,0674	0,2195
	SNP2027	7Ce	7568790	A/T	0,0943	0,4304	0,0016	0,3629
	SNP2028	7Ce	7568792	TA/TT	0,173	0,3967	0,0384	0,2678
	SNP2030	7Ce	7568803	A/C	0,1478	0,4501	0,0003	0,3779
	SNP2031	7Ce	7568807	C/T	0,0566	0,4592	0,0002	0,5119

Tabela 7 Genes onde os SNPs com associações significativas estão alocados

SNP	ID do gene	Posição do gene (bp)	Descrição
SNP334	LOC113702776	chr1Ce:30877614-30879855	<i>Protein GAST1-like</i>
SNP508	LOC113725506	chr2Cc:6322903-6333840	<i>Uncharacterized LOC113725506</i>
SNP873	LOC113701373	chr3Cc:12456084-12458913	<i>Uncharacterized LOC113701373</i>
SNP962	LOC113739564	chr4Cc:415327 -418954	<i>Mitogen-activated protein kinase 5-like</i>
SNP2020			
SNP2021			
SNP2023	LOC113702242	chr7Ce:7568636-7572248	<i>Very-long-chain (3R)-3-hydroxyacyl-CoA dehydratase PASTICCINO 2-like</i>
SNP2027			
SNP2028			
SNP2030			
SNP2031			
SNP2234	LOC113709268	chr9Ce:953805-955253	<i>probable F-box protein At4g22030</i>

Tabela 8 Genes flanqueando SNPs com associações significativas.

Marker IDs	Genes mais próximos	Posição do gene (bp)	Distancia do SNP (bp)	Descrição
SNP334	LOC113702768, LOC113693629	chr1Ce:30865552-30867895, chr1Ce:30883697-30932979	upstream 10897, downstream 4905	<i>Scarecrow-like protein 3,</i> <i>uncharacterized LOC113693629</i>
SNP508	LOC113721426, LOC113725508	chr2Cc:6313042-6315964, chr2Cc:6335546 6341441	upstream 17374, downstream 2208	<i>THO complex subunit 4A-like,</i> <i>elongator complex protein 1-like</i>
SNP873	LOC113700652, LOC113701372	chr3Cc:12417668-12418180, chr3Cc:12459650-12466779	upstream 40039, downstream 1431	<i>Uncharacterized LOC113700652,</i> <i>protein artemis-like</i>
SNP962	LOC113739556, LOC113739565	chr4Cc:335885-340992, chr4Cc:421848-425437	upstream 76141, downstream 4715	<i>Uncharacterized LOC113739556,</i> <i>DNA-dependent metalloprotease</i>
SNP2020 SNP2021 SNP2023 SNP2027 SNP2028 SNP2030 SNP2031	LOC113702421, LOC113702241	chr7Ce:7556691-7561782, chr7Ce:7572444-7576285	upstream 6991, downstream 3637	<i>O-fucosyltransferase 31-like,</i> <i>cysteine-rich receptor-like protein</i> <i>kinase 42</i>
SNP2234	LOC113709207, LOC113710635	chr9Ce:947836 -950625, chr9Ce:958685 -959932	upstream 4308, downstream 3752	<i>B-cell receptor-associated protein 31-</i> <i>like, probable F-box protein</i>

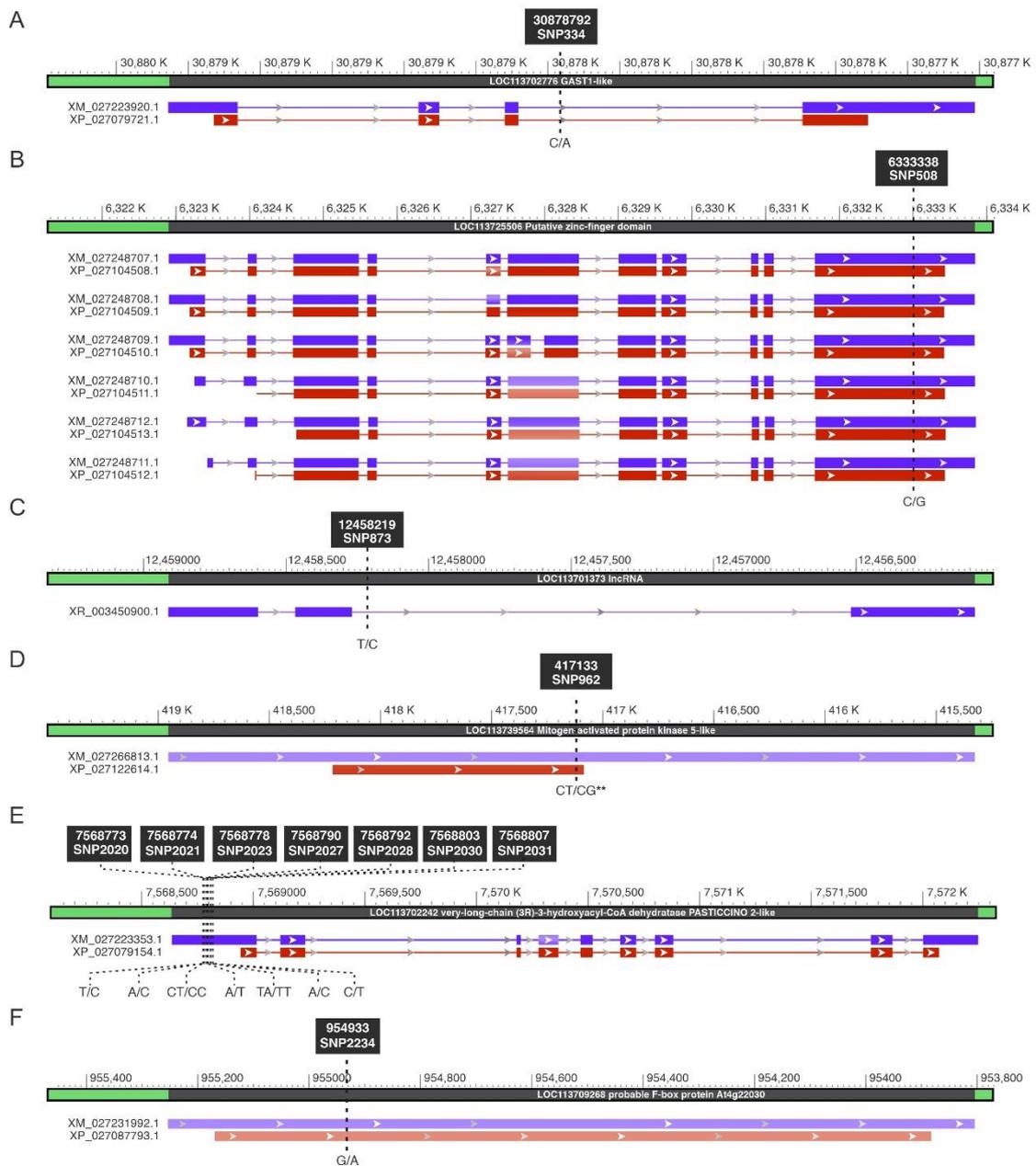


Figura 8 Regiões gênicas nos cromossomos 1Ce (A), 2Cc (B), 3Cc (C), 4Cc (D), 7Ce (E) e 9Ce (F) com SNPs que apresentaram associações significativas com as variáveis avaliadas. A estrutura de íntrons e éxons foi destacada e as linhas pontilhadas marcam a posição dos SNPs. Códigos com início LOC correspondem a códigos de genes, códigos com início XM correspondem a códigos de transcrito, códigos com início XR correspondem a códigos de transcrito não codificador de proteína, e códigos com início XP correspondem a códigos de proteínas. Os blocos de cor azul representam os íntrons, enquanto os blocos de cor vermelha representam regiões na proteína. Linhas (azuis e vermelhas) representam regiões não codificadoras de proteínas snps que apresentaram associações significativas com as variáveis avaliadas. Snps que causam mutação não sinônima são representados com **.

DISCUSSÃO

Análise fenotípica

Na fenotipagem da população foi verificada intensa sintomatologia de infecção por *M. paranaensis* nas raízes de cafeeiros Catuaí Vermelho IAC 144. No sistema radicular destas plantas foram observados pronunciados engrossamentos, rachaduras, necrose e depauperamento aos 180 DAI. Cultivares de Catuaí são altamente suscetíveis à *M. paranaensis*, sendo utilizadas por como padrão de suscetibilidade ao patógeno em diversos trabalhos (ALVES et al. 2019; SALGADO et al. 2019; AZEVEDO et al. 2022). A alta população do nematoide verificada pelo NOGR nestas plantas indica eficiência parasítica do inóculo, do procedimento de inoculação e adequação das condições de umidade e temperatura para o desenvolvimento do patógeno. Desta forma, verificamos que a fenotipagem da população foi realizada de forma acurada, um dos fatores determinantes para a eficiência dos estudos de GWAS (ALQUDAH et al., 2020).

Foi verificada alta proporção de genótipos resistentes nas progênes derivadas do germoplasma Amphillo. Diversos autores têm identificado resistência a *M. paranaensis* em progênes derivadas deste germoplasma (AZEVEDO et al., 2022; FATOBENE et al., 2017; PERES et al., 2017; SANTOS et al., 2018a). Nas progênes oriundas dos acessos ‘MG0179-5-R1’ e ‘MG0179-3-R1’ não foi verificada segregação da resistência. Nas progênes derivadas dos acessos ‘MG0179-1-R1’ e ‘MG0185-1-R2’ foram observadas taxas de segregação de 25 e 32.5%, respectivamente. Progênes em geração F4 e F5 derivadas do germoplasma Amphillo foram avaliadas por outros autores em campo e casa de vegetação e apontadas como promissoras para a seleção de genótipos associando resistência a *M. paranaensis* e outros caracteres de interesse agrônômico (PERES et al., 2017; SALGADO; REZENDE; NUNES, 2014; SANTOS et al., 2018a, 2017). No entanto, estes autores também relataram segregação da resistência. Peres et al. (2017) avaliaram a resistência de progênes oriundas deste mesmo germoplasma a *M. paranaensis* e *M. incognita* e identificaram taxas de segregação variando entre 20-40%. Santos et al. (2017), verificaram taxas de segregação da resistência de 2.4% em progênes derivadas do cruzamento Catuaí Vermelho x Amphillo MR2161. Estas taxas foram inferiores às observadas por estes autores nas cultivares Apoatã IAC 2258 (12%) e IPR100 (29%) e no acesso Híbrido de Timor UFV 408-01 (26%).

Foram verificados coeficientes de correlação significativos entre as variáveis NOTA, NOGR e FR. A variável NOTA foi avaliada por meio da adaptação de escala descritiva de notas, com base nas sintomatologias observadas no sistema radicular das plantas. Na interação

cafeeiro x *M. paranaensis*, a formação de galhas típicas pode ocorrer em cultivares resistentes, enquanto cultivares suscetíveis podem não exibir este tipo de reação (BARROS et al., 2011a; DE MUNIZ et al., 2009; REZENDE et al., 2019). Devido esta particularidade, escalas de nota baseadas no índice de galhas e no índice de dano têm sido adaptadas para avaliação da resistência neste patossistema (FATOBENE et al., 2017, 2019a, 2019b; REZENDE et al., 2019; SALGADO et al., 2018; SERA et al., 2009). Escalas de nota adaptadas apresentaram altos coeficientes de correlação genética com o número de ovos/J2 e fator de reprodução em trabalhos realizados por Fatobene et al. (2017) e Rezende et al. (2019). Estas duas variáveis, por sua vez, apresentaram alta herdabilidade, tornando-as promissoras para obtenção de elevados ganhos por seleção.

Mesmo entre os genótipos pertencentes às progênes derivadas de Amphillo classificados como resistentes (FR<1) e/ou com ausência de sintomas (NOTA=0), foi possível verificar a presença de ovos do patógeno no sistema radicular de plantas aos 180 DAI. Estes resultados sugerem que, mesmo na presença de mecanismos envolvidos na resistência, o patógeno foi capaz de estabelecer relação parasitária e reproduzir-se em baixas taxas em alguns genótipos. A interação entre *M. paranaensis* e as espécies *C. arabica* e *C. canephora* já foi investigada por meio de estudos histológicos. Em genótipos de *C. canephora* resistentes a penetração de raízes por juvenis de segundo estágio (J2) ocorre em menor frequência em relação a genótipos suscetíveis. No entanto, maior parte destes J2 não completam seu ciclo de vida, sendo observada degradação de células adjacentes, possivelmente associadas à reação de hipersensibilidade. Fêmeas que atingem a fase adulta apresentam má formação, com ausência de sinais de produção de ovos (LIMA et al., 2015). De modo similar, no genótipo de *C. arabica* 16-6-1, pertencente ao germoplasma Amphillo, foi verificada a penetração de raízes por J2 em menor número em relação a genótipo suscetível. No entanto, foi verificada a degradação das células gigantes associadas ao patógeno à partir dos 14 DAI, sugerindo que a resistência deste genótipo está associada a respostas de defesa precoces e tardias (ALVES et al., 2019).

Resistência intermediária foi relatada no patossistema *C. arabica* x *Meloidogyne exigua*, no qual a resistência do hospedeiro é governada por um gene Mex-1, um gene R oriundo de *C. canephora* (NOIR et al., 2003). Estudos histológicos demonstraram que mesmo em genótipos resistentes podem ocorrer eventuais penetrações do patógeno nos tecidos radiculares. Após a penetração, é desencadeada HR nas células circundantes ao patógeno, inibindo o estabelecimento de sítio de alimentação e a formação de células gigantes. Eventuais escapes à estas respostas de defesa do hospedeiro permitem que o sítio de alimentação seja estabelecido, com formação de células gigantes e reprodução, a qual ocorre em menor intensidade em relação

a genótipos suscetíveis (ANTHONY et al., 2005). Estudos posteriores confirmaram que este gene apresenta dominância incompleta, sendo possível a penetração de juvenis nos tecidos de genótipos heterozigotos, com subsequente inibição do desenvolvimento de galhas e redução da reprodução do patógeno em relação à genótipos suscetíveis (ALPIZAR; ETIENNE; BERTRAND, 2007). Desta forma, a presença de genes de efeito maior com dominância incompleta não pode ser descartada para o patossistema *M. paranaensis* x *C. arabica*.

Genotipagem com marcadores SNP

Diferentes metodologias de genotipagem por sequenciamento (*genotyping by sequencing* - GBS) têm sido utilizadas em estudos de genômica em *Coffea* sp. (CASTILLO et al., 2022; TRAN et al., 2018). Resende et al. (2016) desenharam 40000 sondas buscando cobrir todo o genoma de *C. arabica*. Estas sondas foram desenvolvidas utilizando como referência expressed sequence tags (ESTs) de *C. arabica* e *C. canephora* disponíveis no Brazilian Coffee Genome Project (VIEIRA et al., 2006) e o genoma de referência de *C. canephora* (DENOEUDE et al., 2014) e têm sido utilizadas por diversos autores para a genotipagem de SNPs em *Coffea arabica* (SOUSA et al., 2017) e *C. canephora* (ALKIMIM et al., 2018, 2020; SILVA et al., 2022a). No presente trabalho nós utilizamos a tecnologia Flex-Seq EX-L para a amplificação de regiões alvo contendo as sondas que foram altamente informativas no trabalho de Sousa et al. (2017). Por meio desta tecnologia, foi possível obter alto número de SNPs distribuídos ao longo de todos os cromossomos de *C. arabica*, poupando tempo e recursos.

Análise de desequilíbrio de ligação

O LD é uma medida utilizada para mensurar associação não aleatória entre alelos de dois diferentes loci (SLATKIN, 2008). Em termos práticos, pode ser compreendido como uma medida que descreve o grau em que alelo de um marcador é herdado conjuntamente a um alelo de um segundo marcador em uma determinada população (BUSH; MOORE, 2012). O *square of the correlation coefficient* é a medida mais amplamente utilizada para mensuração do LD em loci bialélicos (VANLIERE; ROSENBERG, 2008). Foi verificado alto LD entre pares de cromossomos localizados em um mesmo cromossomo. Neste trabalho, adotamos como valor de corte para identificação de alto LD valores de $r^2 \geq 0.1$. Este valor têm sido adotado para identificar altos LD entre SNPs em trabalhos de GWAS em diversas culturas (CAMACHO et al., 2019; WANG et al., 2012), incluindo o cafeeiro (CASTILLO et al., 2022; GIMASE et al., 2020).

Avaliação da diversidade genética e da estrutura de população

Através da análise de componentes principais foi verificada a existência de estrutura de população entre as progênies, com a formação de ao menos dois clusters distintos. Um cluster foi constituído exclusivamente por genótipos derivados do acesso MG0185-2-R1. A formação deste cluster pode ser atribuída a ancestralidade desta progênie. O acesso MG0185-2-R1 é derivado do cruzamento envolvendo o progenitor resistente o acesso Amphillo MR2-474, enquanto as demais progênies possuem como progenitor resistente o acesso Amphillo MR2-161. Os genótipos pertencentes às progênies derivadas dos acessos MG0179-3-R1 e MG0179-5-R1 foram agrupados em um segundo cluster. Estas progênies, que não apresentaram segregação da resistência, possuem como progenitor resistente o acesso Amphillo MR 2-161, o que pode justificar a maior similaridade genética entre os genótipos. Os genótipos derivados do acesso MG0179-1-R1 apresentaram menor similaridade genética em relação às demais progênies, não sendo verificada a formação de cluster entre estes genótipos. A menor similaridade genética entre estes genótipos pode estar associada a segregação de locos nas progênies MG0179 e/ou à eventuais fecundações cruzadas, com consequente modificação das frequências alélicas nas progênies subsequentes. Divergências genéticas, mesmo que sutis, entre as quatro linhagens de Catuaí Vermelho utilizadas como progenitores suscetíveis podem também ter contribuído para a estrutura de população observada.

A presença de estrutura em populações é atribuída a diferenças nas frequências alélicas entre grupos de genótipos com diferentes ancestralidades e/ou origens geográficas e pode acarretar associações espúrias em estudos de associação genômica-ampla (FREEDMAN et al., 2004; HELGASON et al., 2005; PRICE et al., 2006). Por meio das informações oriundas de marcadores moleculares é possível determinar e corrigir o efeito da estrutura da população, sendo as metodologias STRUCTURE (PRITCHARD; STEPHENS; DONNELLY, 2000) e componentes principais (PCA) (PRICE et al., 2006) as mais utilizadas para esta finalidade. Apesar destas duas abordagens apresentarem resultados similares, a técnica de componentes principais é utilizada com maior frequência devido a menor demanda computacional (KALER et al., 2020). Desta forma, os feitos atribuídos à estrutura de população foram contabilizados no modelo generalizado por meio da adição das duas primeiras componentes principais, que juntas capturaram 79.41% da variância entre os genótipos.

O efeito do parentesco entre os genótipos foi contabilizado no Modelo Linear Misto por meio da matriz de parentesco genômico (K), calculada por meio do algoritmo proposto por VanRaden (2008). Foram verificados altos índices de parentesco genômico entre genótipos

pertencentes às progênies derivadas dos acessos MG0179-3-R1 e MG0179-5-R1. Os genótipos pertencentes às progênies derivadas dos acessos MG0185-1-R2 e MG0179-1-R1 apresentaram maior similaridade dentro das progênies em relação aos genótipos pertencentes às outras progênies. O cálculo do parentesco genômico entre os genótipos permite contabilizar com maior acurácia os efeitos genéticos em relação ao parentesco calculado via pedigree ou por meio do coeficiente de endogamia (LOPES et al., 2013; VANRADEN, 2007) utilizados no melhoramento animal e vegetal. Por meio do cálculo baseado em informações genotípicas é possível avaliar a *Identity by State* (IBS), a qual é mais confiável do que a *Identity by Descent* (IBD), estimada por meio da genealogia de cada indivíduo. Além disso, a estimação do parentesco entre genótipos através de dados de marcadores moleculares é particularmente adequada em populações de pequeno tamanho e em populações onde são esperados altos valores de parentesco (GOUDET; KAY; WEIR, 2018).

Análise de associação genômica ampla

A população utilizada para o presente estudo de GWAS foi constituída por cafeeiros pertencentes às quatro progênies em geração F₄, cujas sementes foram colhidas em plantas pertencentes ao banco de germoplasma do programa de melhoramento do cafeeiro da *Epamig*. Estas progênies já estão em melhoramento genético e foram eficientes para identificar marcadores moleculares associados à resistência do cafeeiro a *M. paranaensis* por meio de GWAS. A técnica de GWAS não demanda a utilização de populações geneticamente estruturadas (ALQUDAH et al. 2020) como os tradicionais mapeamentos de QTL, onde são requeridas populações de origem biparental. Dessa forma, permite a análise de populações em diferentes etapas de melhoramento, bem como aproveitamento de germoplasma disponível em condições de campo, contendo caracteres de interesse. Assim, GWAS permite detectar marcadores e potenciais genes envolvidos nas características de interesse, demandando menor custo e tempo para obtenção de populações. Esta vantagem é especialmente importante em culturas perenes, onde a obtenção de populações de mapeamento é demorada e onerosa (Silva et al. 2022a).

As quatro progênies utilizadas nesta população possuem progenitores em comum ou aparentados. Apesar da inclusão de genótipos não aparentados na população ser desejável na composição das populações de mapeamento, é frequente a utilização de genótipos aparentados para o aproveitamento de recursos genéticos já disponíveis (CORTES; ZHANG; YU, 2021). A inclusão com diferentes genealogias permite agregar maior número de eventos de recombinação

ocorridos durante as gerações posteriores ao último ancestral comum, possibilitando maior resolução em relação ao uso de populações biparentais (Rafalski 2010).

Com base na análise dos Q-Q plots foi verificado melhor ajuste MLM com inclusão dos dois primeiros componentes principais como efeitos fixos e da matriz (K) como efeitos aleatórios. A associação da correção da estrutura de população por meio da inclusão de PCs como covariáveis com a correção do parentesco genômico por meio da matriz K tem como objetivo melhorar a correção de falsas associações (WANG; ZHANG, 2021), sendo utilizada em estudos de GWAS em diferentes culturas (MAI et al., 2021; ZAIDI et al., 2016; ZHANG et al., 2021) incluindo o cafeeiro (CASTILLO et al., 2022; GIMASE et al., 2020; NONATO et al., 2021). Por meio da adoção deste modelo foram identificados SNPs com associações significativas localizados em 4 diferentes cromossomos de *C. arabica*. Uma vez que a herança da resistência expressa pelo germoplasma Amphillo a *M. paranaensis* ainda não foi elucidada, no presente trabalho selecionamos marcadores com associações considerando os dois níveis de 5 e 10% de significância. Desta forma, novos trabalhos poderão investigar em nível bioquímico o possível efeito de genes associados a estes SNPs na resistência a *M. paranaensis* e a aplicabilidade destes marcadores na seleção assistida, a qual demanda por trabalhos de validação (CORTES; ZHANG; YU, 2021).

Identificação de genes potencialmente relacionados à resistência

O SNP334 está alocado no gene LOC113702776, um provável homólogo da família de genes de *Arabidopsis* estimulado por ácido giberélico (GASA - *Gibberellin Acid-Stimulated Arabidopsis*), anotado como Protein GAST1-like e contendo o domínio *gibberellin regulated protein*. Essa família de genes, classificados como peptídeos ricos em cisteínas, é composta por um grande número de integrantes e a maioria é regulado pelo hormônio giberelina. Este fitormônio desempenha um papel importante no crescimento, desenvolvimento e respostas nos estresses bióticos e abióticos em plantas e são amplamente reconhecidos como importantes componentes de sinalização que coordenam a comunicação célula-célula nas plantas (HAN et al., 2021; QIAO et al., 2021). Um gene codificador de uma provável *Scarecrow-like protein 3* (LOC113702768), contendo o domínio GRAS, está alocado no sentido *upstream* ao SNP334. A família de genes GRAS é uma família de fatores de transcrição que estão envolvidos na regulação do crescimento e desenvolvimento e resposta ao estresse das plantas. Além disso, as proteínas da família GRAS são conhecidas por serem importantes na sinalização da giberelina (KHAN et al., 2022; ZHANG; IYER; ARAVIND, 2012). Estas funções sustentam a

possibilidade dessa região gênica estar associada a resistência, com funções relacionadas à resposta ao estresse e a sinalização celular.

O gene no qual o SNP962 está alocado (LOC113739564) codifica uma proteína com função de proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK - *Mitogen-activated protein kinase* 5-like). Esse grupo de proteínas é classicamente associado a defesa das plantas contra uma gama de patógenos, e possuem o domínio de proteína quinase (*Pkinase*). Em um estudo sobre os mecanismos envolvidos na interação *Coffea* x *Hemileia vastatrix*, Silva et al. (2022) relataram o envolvimento de MAPK na resistência de *Coffea* ao fungo *H. vastatrix*. Os autores concluíram que cascatas MAPKs desempenham um papel essencial na transdução de sinais ambientais e no desenvolvimento das plantas. As MAPKs estão localizadas no citoplasma ou no núcleo, e as cascatas de quinase são ativadas por padrões moleculares associados à padrões moleculares associados à patógenos (PAMPs – *Pathogen Associated Molecular Patterns*) ou proteínas efetoras de patógenos. Entretanto, o número de MAPKs envolvidas na resistência do cafeeiro a *H. vastatrix* ainda é desconhecido (SILVA et al., 2022b). Diola et al. (2013) identificaram três MAPKs, e apenas duas foram reguladas positivamente em *Coffea* spp. na resistência à *H. vastatrix*. Um resultado relacionado ao SNP962 no gene LOC113739564 que chama a atenção é a ocorrência de uma mutação não sinônima causada pelo alelo alternativo. O alelo referência possui os nucleotídeos CT os alelos alternativos apresentam CG. Uma análise da troca da T por G mostrou uma mudança no aminoácido codificado, trocando uma Treonina (T) por uma Prolina (P). Estes dois aminoácidos possuem propriedades distintas, enquanto a Treonina é um aminoácido polar não carregado, a Prolina apresenta propriedades não polar. Essa mudança nas propriedades desse aminoácido pode trazer mudanças na atividade da proteína, podendo estar relacionada à resistência das plantas. Entretanto, mais estudos são necessários para entender a consequência dessa troca.

O SNP962 está locado *downstream* ao gene *DNA-dependent metalloprotease* WSS1-like (LOC113739565). Este gene possui domínio WLM e dois domínios *Zn-finger in Ran binding protein* e outros. As proteases Wss1 degradam ligações cruzadas DNA-proteínas (DPCs) e emergiram como enzimas de reparo de DNA de importância crucial. Seu papel protetor foi descrito em vários sistemas modelo, desde leveduras, plantas, vermes e moscas até camundongos e humanos (REINKING; HOFMANN; STINGELE, 2020). As estruturas dos dedos de zinco são tão diversas quanto suas funções. Proteínas contendo domínios de dedo de zinco desempenham papéis importantes em células eucarióticas, regulando diferentes vias de transdução de sinal e controlando processos como desenvolvimento e morte celular programada (CIFTICI-YILMAZ; MITTLER, 2008). Em uma análise do transcriptoma de raízes de soja

resistentes, infectadas por *Meloidogyne javanica*, entre as respostas de defesa, foram encontrados genes regulados positivamente que codificam para dedo de zinco. Os autores concluíram que a expressão deste gene pode indicar a ativação do metabolismo celular relacionado ao estresse, na tentativa de controlar o desenvolvimento de juvenis de *M. javanica* (SÁ et al., 2012). Desse modo, fica evidente que o SNP962 além de ser uma marca identificada nesse estudo como associada a plantas resistentes a *M. paranaensis*, tem grande relação com genes bem definidos na literatura como essenciais para a resposta de defesa de plantas. Esses genes, podem ser fortes candidatos para futuros estudos envolvendo o melhoramento genético de plantas.

O SNP508 está locado em uma região gênica que também contém o domínio putativo de dedo de zinco. *Upstream* a esse SNP está alocado o gene *THO complex subunit 4A-like* e *downstream* está alocado o gene *Elongator complex protein 1-like*. O gene *THO complex subunit 4A-like* possui domínios *RNA recognition motif*. (também conhecidos como domínios RRM, RBD, ou RNP) e *C-terminal duplication domain of Friend of PRMT1*. A regulação da expressão gênica no nível pós-transcricional é alcançada principalmente por proteínas contendo motivos de sequência bem definidos envolvidos na ligação de RNA. O maior grupo de proteínas de ligação a RNA de fita simples é a família de motivos de reconhecimento de RNA eucariótico (RRM) que contém uma sequência de consenso RNP-1 de oito aminoácidos (LORKOVIĆ; BARTA, 2002; VAN DIJK et al., 2010). O gene *Elongator complex protein 1-like* possui o domínio *IKI3 family*. O complexo alongador eucariótico tem sido associado a muitas atividades celulares, incluindo alongamento transcricional. A proteína 1 do complexo alongador (também conhecida como Iki3) é um componente do complexo alongador da RNA polimerase II (KROGAN; GREENBLATT, 2001). Desta forma, a região gênica onde o SNP508 está alocado possui potencial associação com a regulação da expressão gênica, função estritamente relacionada com a defesa das plantas.

Sete SNPs com associações significativas (SNP2020, SNP2022, SNP2023, SNP2027, SNP2028, SNP2030 e SNP2031) estão locados no gene descrito como *Very-long-chain (3R)-3-hydroxyacyl-CoA dehydratase PASTICCINO 2-like*, contendo o domínio *protein tyrosine phosphatase-like protein*. Pasticcino2 é uma proteína do tipo tirosina fosfatase envolvida na proliferação e diferenciação celular (BELLEC et al., 2002). A fosforilação da proteína tirosina (pTyr) é uma modificação pós-traducional comum que pode criar novos motivos de reconhecimento para interações de proteínas e localização celular, afetando a estabilidade da proteína, e regular a atividade enzimática. Essas enzimas são componentes reguladores chave nas vias de transdução de sinal (como a via da MAP quinase) e são importantes no controle do

crescimento, proliferação, diferenciação e transformação celular, ou seja, estão relacionadas com atividades já descritas na literatura com associação à resistência das plantas (BARTELS et al., 2009; ESWARAN et al., 2006; PAUL; LOMBROSO, 2003; SHANKAR et al., 2015).

Upstream a estes SNPs está locado o gene O-fucosyltransferase 31-like, com o domínio *GDP-fucose protein O-fucosyltransferase*. Alguns membros desta família de *O-fucosyltransferases* interagem fisicamente com proteínas envolvidas na divisão celular, bem como no estresse e nas respostas hormonais (LI et al., 2018). *Downstream* ao bloco composto por estes sete SNP está alocado o gene *Cysteine-rich receptor-like protein kinase 4*. Este gene possui domínio de proteína quinase (*Pkinase*) e dois domínios *salt stress response/antifungal*. Os mecanismos de defesa das plantas dependem do reconhecimento inicial do patógeno e essa percepção é realizada por uma grande família de receptores de reconhecimento padrão (PRR - *Pattern Recognition Receptor*). Geralmente os PRRs são proteínas transmembranas pertencentes à classe de proteínas semelhantes a receptores (RLP - *Receptor-Like Proteins*) ou receptores do tipo quinase (RLK - *Receptor-Like Kinases*). A subfamília de RLK rica em cisteína, são proteínas da membrana plasmática, que têm um papel na detecção de sinal e na ativação da resistência sistêmica adquirida (SAR - *Salinic Acquired resistance*) (CHANNALE et al., 2021). Domínios de resposta ao estresse salino/antifúngico é frequentemente encontrado em associação com os domínios de quinase (ZHANG et al., 2009).

O SNP2234 está locado no gene anotado como *Probable F-box protein At4g22030*, contendo o domínio *petal formation-expressed*. Um outro gene, com a mesma anotação funcional e contendo este mesmo domínio está locado *downstream* a este SNP. A família de proteínas *F-box* (FBPs) é uma das maiores famílias de proteínas do reino vegetal. Essas proteínas são fundamentais na determinação da resposta da planta em vários cenários (ABD-HAMID et al., 2020). As proteínas *F-box* estão associadas a funções celulares, como transdução de sinal hormonal e regulação do ciclo celular e desempenham um papel importante na resposta ao estresse da planta (ZHANG et al., 2017b). Assim, essa também é uma região com potenciais atividades associadas a resistência.

O SNP873 está locado em uma região gênica não caracterizada. O gene *Protein artemis-like*, contendo o domínio *DNA repair metallo-beta-lactamase* (DRMBL) está locado *downstream* a este loco. As proteínas relacionadas com as proteínas SNM de mamíferos e leveduras são proteínas nucleares contendo um domínio *metalo-β-lactamase* conservado. Este domínio é essencial para a atividade nuclease e é necessário para o reparo de quebras de fita dupla de DNA (DSBs) resultantes da remoção de ligação cruzada entre fitas (ICL). Uma das proteínas humanas relacionadas ao SNM é conhecida como ARTEMIS. Mutações em

ARTEMIS estão associadas à síndrome de imunodeficiência grave devido a um defeito na recombinação. Essa proteína interage com a proteína quinase dependente de DNA e é responsável pela abertura do hairpin e pelo processamento da saliência durante o processo de recombinação. Os mutantes ARTEMIS também são hipersensíveis a agentes que danificam o DNA (MOLINIER; STAMM; HOHN, 2004). Atividades relacionadas com o reparo de DNA preservam a integridade do genoma, após danos causados por fatores ambientais, sendo de grande importância durante a interação planta x patógeno.

CONCLUSÃO

No presente trabalho identificamos 12 marcadores SNPs com associações significativas com a resistência do germoplasma de Amphillo a *M. paranaensis*. Estes SNPs estão localizados em 6 cromossomos diferentes. As variáveis NOTA, NOGR, FR, TR apresentaram associações significativas com SNPs localizados no cromossomo 7 do subgenoma oriundo de *C. eugenioides*, sendo estes marcadores especialmente promissores para a seleção assistida. Uma vez validados, a disponibilidade destes marcadores poderá aumentar a eficiência dos programas de melhoramento do cafeeiro, aumentando a eficiência de seleção e reduzindo o tempo para a transferência da resistência do germoplasma de “Amphillo” para cultivares comerciais de *C. arabica*. Os SNPs com associações significativas estão localizados e/ou próximos a regiões gênicas com anotações funcionais relacionadas a características importantes para a resistência das plantas, sendo alguns desses já descritos em outros estudos. Desse modo, apresentamos aqui o primeiro estudo que disponibiliza marcas genéticas associadas a resistência de plantas de café a *M. paranaensis*, além de fornecer evidências de mutações em importantes genes classicamente envolvidos em vias de sinalização e processos biológicos marcantes para a resposta de defesa. Essas mutações podem ser alvo de futuros estudos de biologia molecular que demonstrem o impacto de SNPs presentes em regiões genicas codificadoras (éxons) na função final da proteína.

REFERÊNCIAS

- ABD-HAMID, N. A. et al. Diverse and dynamic roles of F-box proteins in plant biology. **Planta**, v. 251, n. 3, p. 1–31, 2020.
- ALEKCEVETCH, J. C. et al. Genome-wide association study for resistance to the *Meloidogyne javanica* causing root-knot nematode in soybean. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 134, p. 777–792, 2021.
- ALKIMIM, E. R. et al. High-throughput targeted genotyping using next-generation sequencing applied in *Coffea canephora* breeding. **Euphytica**, v. 214, n. 3, p. 50, 2018.
- ALKIMIM, E. R. et al. Selective efficiency of genome-wide selection in *Coffea canephora* breeding. **Tree Genetics & Genomes**, v. 16, n. 41, p. 11, 2020.
- ALMEIDA, D. P. et al. Marker-assisted pyramiding of multiple disease resistance genes in coffee genotypes (*Coffea arabica*). **Agronomy**, v. 11, n. 9, p. 1–18, 2021.
- ALPIZAR, E.; ETIENNE, H.; BERTRAND, B. Intermediate resistance to *Meloidogyne exigua* root-knot nematode in *Coffea arabica*. **Crop Protection**, v. 26, n. 7, p. 903–910, 2007.
- ALQUDAH, A. M. et al. GWAS: Fast-forwarding gene identification and characterization in temperate Cereals: lessons from Barley – A review. **Journal of Advanced Research**, v. 22, p. 119–135, 2020.
- ALVES, P. S. et al. Early and late responses characterise the resistance derived from Ethiopian wild germplasm “Amphillo” of *Coffea arabica* to *Meloidogyne paranaensis*. **Nematology**, v. 21, p. 793–804, 2019.
- ANTHONY, F. et al. The origin of cultivated *Coffea arabica* L. varieties revealed by AFLP and SSR markers. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 104, n. 5, p. 894–900, 2002.
- ANTHONY, F. et al. Hypersensitive-like reaction conferred by the Mex-1 resistance gene against *Meloidogyne exigua* in coffee. **Plant Pathology**, v. 54, n. 4, p. 476–482, 2005.
- AZEVEDO, L. M. et al. *Coffea arabica* rootstock resistant to *Meloidogyne paranaensis* nematodes. **Crop Science**, v. 62, p. 1149–1161, 2022.
- BARROS, A. F. et al. *Meloidogyne paranaensis* attacking coffee trees in Espírito Santo State, Brazil. **Australasian Plant Disease Notes**, v. 6, n. 1, p. 43–45, 2011.
- BARTELS, S. et al. Map kinase phosphatase1 and protein tyrosine phosphatase1 are repressors

- of salicylic acid synthesis and SNC1 -mediated responses in Arabidopsis. **Plant Cell**, v. 21, n. 9, p. 2884–2897, 2009.
- BELLEÇ, Y. et al. Pasticcino2 is a protein tyrosine phosphatase-like involved in cell proliferation and differentiation in Arabidopsis. **Plant Journal**, v. 32, n. 5, p. 713–722, 2002.
- BERTRAND, B. et al. El mejoramiento genético en América Central. In: BERTRAND, B.; RAPIDEL, B. (Eds.). . **Los Desafíos de la Cafeicultura en América Central**. San José, Costa Rica: CIRAD, 1999. p. 327–367.
- BONETTI, J. I. S.; FERRAZ, S. Modifications of the Hussey and Barker method for extracting eggs from *Meloidogyne exigua* in coffee roots. **Fitopatologia Brasileira**, v. 6, p. 553, 1981.
- BROOKES, A. J. The essence of SNPs. **Gene**, v. 234, n. 2, p. 177–186, 1999.
- BUSH, W. S.; MOORE, J. H. Chapter 11: Genome-Wide Association Studies. **PLoS Computational Biology**, v. 8, n. 12, 2012.
- CAMACHO, L. R. DE S. et al. A genome-wide association study for partial resistance to southern corn rust in tropical maize. **Plant Breeding**, n. December 2018, p. 1–11, 2019.
- CAO, S. et al. Genetic architecture underpinning yield component traits in wheat. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 133, n. 6, p. 1811–1823, 2020.
- CARNEIRO. Reação de progênies de café Icatu a *Meloidogyne incognita* raça 2, em condições de campo. **Nematologia Brasileira**, v. 19, p. 53–59, 1995.
- CARNEIRO, R. M. D. G. et al. *Meloidogyne paranaensis* n. sp. (Nemata: Meloidogynidae), a root-knot nematode parasitizing coffee in Brazil. **Journal of Nematology**, v. 28, n. 2, p. 177–189, 1996.
- CARVALHO, A. M. DE et al. Caracterização de genótipos de *Coffea arabica* L. em área infestada por nematoide *Meloidogyne paranaensis* Alex. p. 1–8, 2017.
- CASTILLO, J. L. S. et al. SNP markers identification by genome wide association study for chemical quality traits of coffee (*Coffea* spp.) Germplasm. **Molecular Biology Reports**, p. 4849–4859, 2022.
- CATALAN, R. U. et al. Growing Inequality in the Coffee Global Value Chain: A Complex Network Assessment. **Sustainability (Switzerland)**, v. 14, n. 2, p. 1–27, 2022.

- CHANNALE, S. et al. Transcriptome analysis reveals key genes associated with root-lesion nematode *Pratylenchus thornei* resistance in chickpea. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–11, 2021.
- CIFTCI-YILMAZ, S.; MITTLER, R. The zinc finger network of plants. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 65, n. 7–8, p. 1150–1160, 2008.
- CORTES, L. T.; ZHANG, Z.; YU, J. Status and prospects of genome-wide association studies in plants. **Plant Genome**, v. 14, n. 1, p. 1–17, 2021.
- COVARRUBIAS-PAZARAN, G. Genome-Assisted prediction of quantitative traits using the *r* package sommer. **PLoS ONE**, v. 11, n. 6, p. 1–15, 2016.
- DA SILVA, R. A. **ESTUDO DE ASSOCIAÇÃO GENÔMICA AMPLA (GWAS) EM *Coffea arabica***. [s.l.] Universidade Federal de Viçosa, 2019.
- DABABAT, A. et al. A GWAS to identify the cereal cyst nematode (*Heterodera filipjevi*) resistance loci in diverse wheat prebreeding lines. **Journal of Applied Genetics**, v. 62, p. 93–98, 2021.
- DANECEK, P. et al. The variant call format and VCFtools. **Bioinformatics**, v. 27, n. 15, p. 2156–2158, 2011.
- DE MUNIZ, M. F. S. et al. Reaction of coffee genotypes to different populations of *Meloidogyne* spp.: Detection of a naturally virulent *M. exigua* population. **Tropical Plant Pathology**, v. 34, n. 6, p. 370–378, 2009.
- DENOEUD, F. et al. The coffee genome provides insight into the convergent evolution of caffeine biosynthesis. **Science**, v. 345, n. 6201, p. 1181–1184, 2014.
- DINIZ, L. E. C. et al. Analysis of AFLP markers associated to the Mex-1 resistance locus in Icatu progenies. **Cropp Breeding and Applied Biotechnology**, v. 5, n. 4, p. 387–393, 2005.
- DIOLA, V. et al. A new set of differentially expressed signaling genes is early expressed in coffee leaf rust race II incompatible interaction. **Functional and Integrative Genomics**, v. 13, n. 3, p. 379–389, 2013.
- ELSHIRE, R. J. et al. A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. **PLoS ONE**, v. 6, n. 5, p. 1–10, 2011.
- ESWARAN, J. et al. The crystal structure of human receptor protein tyrosine phosphatase κ

phosphatase domain 1. **Protein Science**, v. 15, n. 6, p. 1500–1505, 2006.

FATOBENE, B. J. DOS R. et al. Wild *Coffea arabica* resistant to *Meloidogyne paranaensis* and genetic parameters for resistance. **Euphytica**, v. 213, n. 8, 2017.

FATOBENE, B. J. DOS R. et al. Clonal arabica coffee resistant to *Meloidogyne paranaensis* and damage threshold on plants development. **Scientia Agricola**, v. 76, n. 3, p. 227–231, 2019a.

FATOBENE, B. J. R. et al. *Coffea canephora* clones with multiple resistance to *Meloidogyne incognita* and *M. paranaensis*. **Experimental Agriculture**, v. 55, n. 3, p. 443–451, 2019b.

FERNANDES, M. et al. Primeiro Relato de *Meloidogyne izalcoensis* em cafezal no Estado de Minas Gerais e levantamento de *Meloidogyne* spp . em cafeeiros do Triângulo Mineiro. **X Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil**, p. 7, out. 2019.

FREEDMAN, M. L. et al. Assessing the impact of population stratification on genetic association studies. **Nature Genetics**, v. 36, n. 4, p. 388–393, 2004.

RAPID GENOMICS, **Flex Seq EX-L**. Disponível em: <<https://rapid-genomics.com/applications/agriculture/flex-seq-ex-l/>>. Acesso em: 11 de Agosto de 2022.

GIMASE, J. M. et al. Genome-Wide Association Study identify the genetic loci conferring resistance to Coffee Berry Disease (*Colletotrichum kahawae*) in *Coffea arabica* var. Rume Sudan. **Euphytica**, v. 216, n. 6, 2020.

GONÇALVES, W. et al. Selection strategy of a *Coffea canephora* rootstock with simultaneous nematode resistance to *Meloidogyne exigua*, *M. incognita* and *M. paranaensis*. **European Journal of Plant Pathology volume**, v. 160, p. 81–95, 2021.

GOUDET, J.; KAY, T.; WEIR, B. S. How to estimate kinship. **Molecular Ecology**, v. 27, n. 20, p. 4121–4135, 2018.

HADA, A. et al. A genome-wide association study in Indian wild rice accessions for resistance to the root-knot nematode *Meloidogyne graminicola*. **PLoS ONE**, v. 15, n. 9 September, p. 1–24, 2020.

HAN, S. et al. Genome-wide comprehensive analysis of the gasa gene family in populus. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 22, 2021.

HASAN, N. et al. Recent advancements in molecular marker-assisted selection and applications in plant breeding programmes. **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology**, v. 19, n.

1, p. 1–26, 2021.

HELGASON, A. et al. An Icelandic example of the impact of population structure on association studies. **Nature Genetics**, v. 37, n. 1, p. 90–95, 2005.

HENKRAR, F.; UDUPA, S. Marker Assisted Selection - A New Paradigm in Plant Breeding. **Moroccan Journal of Agricultural Science**, v. 1, n. 5, p. 237–247, 2020.

HUSSEY, R. S.; BARKER, K. R. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. **Plant Disease Reporter**, v. 57, p. 1025–1028, 1973.

ICO, I. C. O. **Coffee Market Report - July 2022**. [s.l: s.n.].

KALER, A. S. et al. Comparing Different Statistical Models and Multiple Testing Corrections for Association Mapping in Soybean and Maize. **Frontiers in Plant Science**, v. 10, n. February, p. 1–13, 2020.

KAYA, H. B. et al. Genome wide association study of 5 agronomic traits in olive (*Olea europaea* L.). **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–14, 2019.

KHAN, Y. et al. Expression and roles of GRAS gene family in plant growth, signal transduction, biotic and abiotic stress resistance and symbiosis formation—a review. **Plant Biology**, v. 24, n. 3, p. 404–416, 2022.

KROGAN, N. J.; GREENBLATT, J. F. Characterization of a Six-Subunit Holo-Elongator Complex Required for the Regulated Expression of a Group of Genes in *Saccharomyces cerevisiae*. **Molecular and Cellular Biology**, v. 21, n. 23, p. 8203–8212, 2001.

KUMAR, D. et al. Genome-wide association study in hexaploid wheat identifies novel genomic regions associated with resistance to root lesion nematode (*Pratylenchus thornei*). **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–14, 2021.

LEMA, M. Marker Assisted Selection in Comparison to Conventional Plant Breeding: Review Article. **Agricultural Research & Technology: Open Access Journal**, v. 14, n. 2, 2018.

LI, X. et al. Proteomic analysis of the effect of plant-derived smoke on soybean during recovery from flooding stress. **Journal of Proteomics**, v. 181, n. April, p. 238–248, 2018.

LIMA, E. A. et al. The multi-resistant reaction of drought-tolerant coffee “Conilon clone 14” to *Meloidogyne* spp. and late hypersensitive-like response in *Coffea canephora*.

Phytopathology, v. 105, n. 6, p. 805–814, 2015.

LOPES, M. S. et al. Improved estimation of inbreeding and kinship in pigs using optimized SNP panels. 2013.

LORKOVIĆ, Z. J.; BARTA, A. Genome analysis: RNA recognition motif (RRM) and K homology (KH) domain RNA-binding proteins from the flowering plant *Arabidopsis thaliana*. **Nucleic Acids Research**, v. 30, n. 3, p. 623–635, 2002.

MAI, N. T. P. et al. Discovery of new genetic determinants of morphological plasticity in rice roots and shoots under phosphate starvation using GWAS. **Journal of Plant Physiology**, v. 257, n. April 2020, p. 153340, 2021.

MIGICOVSKY, Z.; MYLES, S. Exploiting wild relatives for genomics-assisted breeding of perennial crops. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, n. April, p. 1–16, 2017.

MISHRA, M. K.; SLATER, A. Recent Advances in the Genetic Transformation of Coffee. **Biotechnology Research International**, v. 2012, p. 1–17, 2012.

MISTRY, J. et al. Pfam: The protein families database in 2021. **Nucleic Acids Research**, v. 49, n. D1, p. D412–D419, 2021.

MOLINIER, J.; STAMM, M. E.; HOHN, B. SNM-dependent recombinational repair of oxidatively induced DNA damage in *Arabidopsis thaliana*. **EMBO Reports**, v. 5, n. 10, p. 994–999, 2004.

MONCADA, M. D. P. et al. A genetic linkage map of coffee (*Coffea arabica* L.) and QTL for yield, plant height, and bean size. **Tree Genetics and Genomes**, v. 12, n. 1, p. 1–17, 2016.

NOIR, S. et al. Identification of a major gene (Mex-1) from *Coffea canephora* conferring resistance to *Meloidogyne exigua* in *Coffea arabica*. **Plant Pathology**, v. 52, n. 1, p. 97–103, 2003.

NONATO, J. V. A. et al. Association mapping reveals genomic regions associated with bienniality and resistance to biotic stresses in arabica coffee. **Euphytica**, v. 217, n. 10, p. 1–19, 2021.

PASSIANOTTO, A. L. D. L. et al. Genome-wide association study for resistance to the southern root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) in soybean. **Molecular Breeding**, v. 37, n. 12, 2017.

- PAUL, S.; LOMBROSO, P. J. Receptor and nonreceptor protein tyrosine phosphatases in the nervous system. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 60, n. 11, p. 2465–2482, 2003.
- PERES, A. C. J. et al. Resistance of *Coffea arabica* genotypes against *Meloidogyne paranaensis* and *M. incognita* under controlled and field conditions. **Nematology**, v. 19, n. 5, p. 617–626, 2017.
- PRICE, A. L. et al. Principal components analysis corrects for stratification in genome-wide association studies. **Nature Genetics**, v. 38, n. 8, p. 904–909, 2006.
- PRITCHARD, J. K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, v. 155, n. 2, p. 945–959, 2000.
- QIAO, K. et al. Identification, characterization, and expression profiles of the GASA genes in cotton. **Journal of Cotton Research**, v. 4, n. 1, 2021.
- RAFALSKI, J. A. Association genetics in crop improvement. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 13, n. 2, p. 174–180, 2010.
- REINKING, H. K.; HOFMANN, K.; STINGELE, J. Function and evolution of the DNA-protein crosslink proteases Wss1 and SPRTN. **DNA Repair**, v. 88, n. February, p. 102822, 2020.
- RESENDE, M.; CAIXETA, E.; ALKIMIM, E. R. High-throughput targeted genotyping of *Coffea arabica* and *Coffea canephora* using next generation sequencing. **San Diego, CA**, p. 1, 2016.
- REZENDE, R. M. et al. Arabica coffee progenies with multiple resistant to root-knot nematodes. **Euphytica**, v. 215, n. 3, p. 1–9, 2019.
- SÁ, M. E. L. DE et al. Transcriptome analysis of resistant soybean roots infected by *Meloidogyne javanica*. **Genetics and Molecular Biology**, v. 35, p. 272–282, 2012.
- SACHS, J. D. et al. **Ensuring Economic Viability and Sustainability of Coffee Production**. [s.l.] Columbia Center on Sustainable Investment, 2019.
- SALGADO, S. M. D. L. et al. Resistance of Conilon coffee cultivar Vitoria Incaper 8142 to *Meloidogyne paranaensis* under field conditions. **Experimental Agriculture**, p. 1–6, 2019.
- SALGADO, S. M. DE L. et al. Detecção de *Meloidogyne paranaensis* em Carmo da Cachoeira, região Sul de Minas Gerais. . 2018, p. 3.

- SALGADO, S. M. L.; REZENDE, J. C. DE; NUNES, J. A. R. Selection of coffee progenies for resistance to nematode *Meloidogyne paranaensis* in infested area. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 14, n. 2, p. 94–101, 2014.
- SANT'ANA, G. C. et al. Genome-wide association study reveals candidate genes influencing lipids and diterpenes contents in *Coffea arabica* L. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1–12, 2018.
- SANTOS, H. F. et al. Initial productive performance of coffee progenies in an area infested by *Meloidogyne paranaensis*. **Coffee Science**, v. 13, n. 4, p. 530–538, 2018a.
- SANTOS, M. F. A. et al. Genetic variability of *Meloidogyne paranaensis* populations and their aggressiveness to susceptible coffee genotypes. **Plant Pathology**, v. 67, n. 1, p. 193–201, 2017.
- SANTOS, M. F. A. et al. *Meloidogyne incognita* parasitizing coffee plants in southern Minas Gerais, Brazil. **Tropical Plant Pathology**, v. 43, n. 1, p. 95–98, 2018b.
- SERA, G. H. et al. Reaction of coffee cultivars Tupi IAC 1669-33 and IPR 100 to nematode *Meloidogyne paranaensis*. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 9, p. 293–298, 2009.
- SERA, G. H. et al. IPR 106: New Arabica coffee cultivar, resistant to some *Meloidogyne paranaensis* and *M. incognita* nematode populations of Paraná. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 20, n. 3, p. 1–6, 2020.
- SERA, T. et al. IPR 100 – rustic dwarf arabica coffee cultivar with resistance to nematodes *Meloidogyne paranaensis* and *M. incognita*. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 17, n. 2, p. 175–179, 2017.
- SETOTAW, T. A. et al. Genome Introgression of Híbrido de Timor and Its Potential to Develop High Cup Quality *C. arabica* Cultivars. **Journal of Agricultural Science**, v. 12, n. 4, p. 64–76, 2020.
- SHANKAR, A. et al. Role of Protein Tyrosine Phosphatases in Plants. **Current Genomics**, v. 16, n. 4, p. 224–236, 2015.
- SHENDURE, J.; JI, H. Next-generation DNA sequencing. **Nature Biotechnology**, v. 26, n. 10, p. 1135–1145, 2008.
- SILVA, L. DE F. et al. Genome-wide association study of plant architecture and diseases resistance in *Coffea canephora*. **Euphytica**, v. 218, n. 7, p. 1–13, 2022a.

- SILVA, M. DO C. et al. An Overview of the Mechanisms Involved in Coffee-*Hemileia vastatrix* Interactions: Plant and Pathogen Perspectives. **Agronomy**, v. 12, n. 2, p. 326, 2022b.
- SLATKIN, M. Linkage disequilibrium - Understanding the evolutionary past and mapping the medical future. **Nature Reviews Genetics**, v. 9, n. 6, p. 477–485, 2008.
- SOUSA, T. V. et al. Population structure and genetic diversity of coffee progenies derived from Catuaí and Híbrido de Timor revealed by genome-wide SNP marker. **Tree Genetics and Genomes**, v. 13, n. 6, 2017.
- R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing Viena, Austria, 2021.
- TRAN, H. T. M. et al. SNP in the *Coffea arabica* genome associated with coffee quality. **Tree Genetics and Genomes**, v. 14, n. 5, 2018.
- TURNER-HISSONG, S. D. et al. Evolutionary insights into plant breeding. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 54, p. 93–100, 2020.
- VAN DIJK, T. B. et al. Friend of Prmt1, a Novel Chromatin Target of Protein Arginine Methyltransferases. **Molecular and Cellular Biology**, v. 30, n. 1, p. 260–272, 2010.
- VANLIERE, J. M.; ROSENBERG, N. A. Mathematical properties of the r^2 measure of linkage disequilibrium. **Theoretical Population Biology**, v. 74, n. 2, p. 130–137, 2008.
- VANRADEN, P. M. Genomic Measures of Relationship and Inbreeding. **INTERBULL bulletin**, v. 37, p. 33–36, 2007.
- VANRADEN, P. M. Efficient methods to compute genomic predictions. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 11, p. 4414–4423, 2008.
- VIEIRA, L. G. ESTEVES et al. Brazilian coffee genome project: An EST-based genomic resource. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 18, n. 1, p. 95–108, 2006.
- VILLAIN, L.; SALGADO, S. M. L.; TRINH, P. Q. Nematodes parasites of coffee and cocoa. In: SIKORA, R. A. et al. (Eds.). . **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**. CABI ed. Wallingford, UK: [s.n.]. p. 536–583.
- WANG, J.; ZHANG, Z. GAPIT Version 3 : Boosting Power and Accuracy for Genomic. **Genomics, Proteomics & Bioinformatics**, 2021.
- WANG, M. et al. Plant Science Genome-wide association study (GWAS) of resistance to head

- smut in maize. **Plant Science**, v. 196, p. 125–131, 2012.
- YU, J. et al. A unified mixed-model method for association mapping that accounts for multiple levels of relatedness. **Nature Genetics**, v. 38, n. 2, p. 203–208, 2006.
- YU, J.; BUCKLER, E. S. Genetic association mapping and genome organization of maize. **Current Opinion in Biotechnology** 2006, v. 17, p. 155–160, 2006.
- ZAIDI, P. H. et al. Genomic Regions Associated with Root Traits under Drought Stress in Tropical Maize (*Zea mays* L .). p. 1–18, 2016.
- ZHANG, D.; IYER, L. M.; ARAVIND, L. Bacterial GRAS domain proteins throw new light on gibberellic acid response mechanisms. **Bioinformatics**, v. 28, n. 19, p. 2407–2411, 2012.
- ZHANG, J. et al. Genome-wide association study for soybean cyst nematode resistance in Chinese elite soybean cultivars. **Molecular Breeding**, v. 37, n. 5, 2017a.
- ZHANG, L. et al. Identification of an apoplastic protein involved in the initial phase of salt stress response in rice root by two-dimensional electrophoresis. **Plant Physiology**, v. 149, n. 2, p. 916–928, 2009.
- ZHANG, M. et al. The genetic architecture of shoot–root covariation during seedling emergence of a desert tree, *Populus euphratica*. **Plant Journal**, v. 90, n. 5, p. 918–928, 2017b.
- ZHANG, M. Y. et al. Genome-wide association studies provide insights into the genetic determination of fruit traits of pear. **Nature Communications**, v. 12, n. 1, p. 1–10, 2021.