

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

**Caracterização molecular do banco de germoplasma de Híbrido de Timor com
foco em resistência às principais doenças do cafeeiro**

Amanda Oliveira Vieira
Magister Scientiae

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2025**

AMANDA OLIVEIRA VIEIRA

**Caracterização molecular do banco de germoplasma de Híbrido de Timor com
foco em resistência às principais doenças do cafeeiro**

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

Orientadora: Eveline T. Caixeta Moura

Coorientadores: Iara G. dos Santos
Deisy G. Carneiro

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2025**

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

T

V658c
2025
Vieira, Amanda Oliveira, 2000-
Caracterização molecular do Banco de Germoplasma de
Híbrido de Timor com foco em resistência durável às principais
doenças do cafeeiro / Amanda Oliveira Vieira. – Viçosa, MG,
2025.

1 dissertação eletrônica (51 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Eveline Teixeira Caixeta.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Agronomia, 2025.

Referências bibliográficas: f. 39-45.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2025.731>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Café - Melhoramento genético. 2. Marcadores genéticos.
3. Germoplasma vegetal - Recursos. 4. Café - Resistência a
doenças e pragas - Aspectos genéticos. I. Caixeta, Eveline
Teixeira, 1972-. II. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Agronomia. Programa de Pós-Graduação em
Genética e Melhoramento. III. Título.

CDD 22. ed. 633.7323

AMANDA OLIVEIRA VIEIRA

Caracterização molecular do banco de germoplasma de Híbrido de Timor com foco em resistência às principais doenças do cafeeiro

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

APROVADA: 31 de julho de 2025.

Assentimento:

Amanda Oliveira Vieira
Autora

Eveline Teixeira Caixeta Moura
Orientadora

Essa dissertação foi assinada digitalmente pela autora em 31/10/2025 às 19:54:24 e pela orientadora em 03/11/2025 às 12:32:51. As assinaturas têm validade legal, conforme o disposto na Medida Provisória 2.200-2/2001 e na Resolução nº 37/2012 do CONARQ. Para conferir a autenticidade, acesse <https://siadoc.ufv.br/validar-documento>. No campo 'Código de registro', informe o código **FTLM.6V5R.FW2Y** e clique no botão 'Validar documento'.

Dedico à Deus por estar presente em minha vida, sustentando-me, ao meu marido
Rodrigo e ao meu filho Miguel.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me proporcionar saúde e força para enfrentar os desafios, iluminando minha caminhada para que esse sonho fosse possível.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento pela oportunidade de realizar o curso.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao meu esposo Rodrigo, por me acompanhar nessa caminhada e me sustentar em momentos difíceis, pelo incentivo em não desistir, e pela paciência em estar ao meu lado.

Ao meu filho Miguel, por me proporcionar um amor incondicional e aconchego, fazendo esquecer dos momentos difíceis da vida.

A minha mãe Selma (in memoriam) que esteve comigo durante a aprovação, matrícula e primeira aula no mestrado. Sua falta é enorme.

Ao meu pai e minha irmã que sempre acreditam em mim.

À Dra. Eveline Teixeira Caixeta, pela orientação, amizade, confiança e incentivo. Por não desacreditar em mim, mesmo em meio as conturbações da vida.

À Dra Deisy Guimarães, pelas correções, ensinamentos e coorientação, sua amizade me sustentou nos apertos durante o trajeto até aqui.

À Dra Iara Santos, pelos ensinamentos e confiança.

À equipe do Laboratório de Biotecnologia do Cafeeiro (Denise, Dênia, Samila, Danubia, Daniela, Bruna, Brenda, Bianca, Guilherme, Juan, Matheus, Thamires, Rafaela e Sr. Geraldo) pela amizade, incentivo e apoio nesse trabalho.

Ao Professor Dr. Felipe Silva e Dr. Antônio Alves Pereira, pela disponibilidade em participar da banca e elevar o trabalho.

Aos docentes da Pós-graduação em Genética e Melhoramento que contribuíram para minha formação acadêmica.

A todos, que de alguma forma contribuíram para meu desenvolvimento profissional e para realização desse trabalho.

Este trabalho foi realizado com o apoio das seguintes agências de pesquisa brasileiras: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Muito obrigada.

“O coração inteligente adquire o saber; o ouvido dos sábios procura a ciência.”.
(Provérbios 18,15)

RESUMO

VIEIRA, Amanda Oliveira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2025. **Caracterização molecular do banco de germoplasma de Híbrido de Timor com foco em resistência às principais doenças do cafeeiro.** Orientadora: Eveline Teixeira Caixeta Moura. Coorientadores: Iara Gonçalves dos Santos e Deisy Guimarães Carneiro.

O Brasil é o maior exportador mundial de café e, apesar dessa grande importância e muitas pesquisas para aumentar a produtividade, muitas doenças ainda acometem essa cultura. Entre as principais doenças, destacam-se a Ferrugem do Cafeeiro (CLR), a Antracnose do Fruto (CBD) e a Mancha-Aureolada (BHB). Para reduzir os impactos causados por essas doenças, o melhoramento genético tem empregado estratégias como a Seleção Assistida por Marcadores Moleculares (SAM), que utiliza ferramentas moleculares para detectar fontes de resistência em acessos promissores. O Híbrido de Timor (HdT) é utilizado como uma importante fonte de genes de resistência. O Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de HdT, mantido pela UFV e pela EPAMIG, possui um grande acervo que pode ser utilizado para introgressão de genes de resistência a diferentes doenças. No entanto, esses bancos não foram totalmente caracterizados, sendo subutilizados pelos melhoristas. Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo a caracterização molecular de 92 acessos de HdT, sendo 23 oriundos do BAG UFV e suas 69 progênies, provenientes do BAG EPAMIG, visando identificar fontes de resistência e analisar a diversidade genética. Os resultados revelaram uma alta frequência de alelos de resistência à CLR, com os locos B, D e E presentes em 50%, 58% e 57% dos acessos, respectivamente. Para CBD (loco F), foram identificados 36 acessos (39%) contendo o alelo de resistência e para BHB (loco G), 18 acessos (19%). Embora nenhum indivíduo tenha apresentado resistência simultânea às três doenças, foi possível identificar 69 acessos com mais de um loco de resistência. A análise de diversidade com marcadores microsatélites (SSR) agrupou os 92 acessos em 13 grupos distintos, evidenciando uma considerável variabilidade genética. Alguns indivíduos com perfis moleculares semelhantes também foram identificados. A análise da segregação nas progênies revelou tanto casos de similaridade quanto de divergência em relação aos genitores. Este trabalho demonstra o potencial da coleção de HdT da UFV e EPAMIG como um recurso genético estratégico. Os dados coletados fornecem subsídios para seleção de genitores, além de aumentar as chances de cruzamentos favoráveis. Os resultados obtidos podem otimizar o desenvolvimento de cultivares com resistência múltipla e durável, além de fundamentarem a criação de uma core collection favorecendo a conservação e o uso deste

valioso

germoplasma.

Palavras-chave: marcadores moleculares; diversidade genética; seleção assistida; piramidação gênica

ABSTRACT

VIEIRA, Amanda Oliveira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2025. **Molecular characterization of the Híbrido de Timor germplasm collection focusing in resistance to key diseases in Coffee.** Adviser: Eveline Teixeira Caixeta Moura. Co-advisers: Iara Gonçalves dos Santos and Deisy Guimarães Carneiro.

Brazil is the world's largest coffee exporter, and despite its significant importance and extensive research aimed at increasing productivity, numerous diseases still affect this crop. Key among these are Coffee Leaf Rust (CLR), Coffee Berry Disease (CBD), and Bacterial Halo Blight (BHB). To mitigate the impact of these diseases, genetic improvement employs strategies such as Marker-Assisted Selection (MAS), which uses molecular tools to identify sources of resistance in promising accessions. The Híbrido de Timor (HdT) is utilized as a crucial source of resistance genes. The Active Germplasm Bank (AGB) of HdT, maintained by UFV and EPAMIG, possesses a large collection of accessions that can be used for the introgression of resistance loci. However, these germplasm banks have not been fully characterized and remain underutilized by breeders. Therefore, the present study aimed to perform a molecular characterization of 92 HdT accessions—comprising 23 progenitors from the UFV AGB and their 69 progenies from the EPAMIG AGB—to identify sources of resistance and analyze genetic diversity. The results revealed a high frequency of resistance alleles for CLR, with loci B, D, and E present in 50%, 58%, and 57% of the accessions, respectively. For CBD (locus F), 36 accessions (39%) were identified as carriers. For BHB (locus G), 18 accessions (19%) were identified. Although no single individual presented simultaneous resistance to all three diseases, 69 accessions were found to carry more than one resistance locus. The diversity analysis using microsatellite (SSR) markers clustered the 92 accessions into 13 distinct groups, evidencing considerable genetic variability. Some individuals with similar molecular profiles were also identified. The analysis of segregation in the progenies revealed cases of both high similarity and significant divergence from their progenitors. This work demonstrates the potential of the UFV and EPAMIG HdT collection as a strategic genetic resource. The collected data provide a basis for parental selection and increase the chances of favorable crosses. The results obtained can optimize the development of cultivars with multiple and durable resistance, in addition to establishing a foundation for the creation of a core collection, thereby promoting the conservation and use of this valuable germplasm.

Keywords: molecular markers; genetic diversity; marker-assisted selection;

gene pyramiding

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 <i>Coffea arabica</i>	13
3. MATERIAIS E MÉTODOS	20
4. RESULTADOS.....	27
4.1 Caracterização da resistência a doenças via marcadores moleculares ..	27
4.1.1 Resistência à CLR.....	27
4.1.2 Resistência a CBD e BHB.....	28
4.1.4 Resistência múltipla	29
5. DISCUSSÃO	35
6. CONCLUSÃO	38
7. REFERÊNCIAS.....	39

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Coffea* compreende mais de 125 espécies descritas, das quais duas possuem importância econômica: *Coffea canephora* e *Coffea arabica*. Isoladamente, *C. arabica* representa cerca de 60% do mercado cafeeiro global, com uma produção mundial estimada em 11 milhões de toneladas por ano (ICO, 2025). Nativa do Sudoeste da Etiópia, a espécie foi introduzida no Brasil em 1727 e adaptou-se às condições climáticas, o que contribuiu para que o país se tornasse o maior exportador mundial de café (Ferrão et al., 2005; ICO, 2025; Resende et al., 2023).

As características agronômicas do cafeeiro representam um desafio para o melhoramento convencional. Sua natureza perene torna os ciclos de seleção demorados e trabalhosos, e a autogamia favorece a endogamia que, como consequência, reduz a variabilidade (Resende et al., 2023). Nesse sentido, a utilização de marcadores moleculares tem se mostrado uma estratégia rápida e eficaz para acelerar a seleção de indivíduos superiores (Almeida et al., 2021a; Van Der Vossen e Walyaro, 2008; Giddisa, 2016). Marcadores ligados a genes ou loco de resistência são ferramentas valiosas, pois aumentam a precisão e a eficiência do processo seletivo. Além disso, possibilitam a identificação de genótipos que abrigam múltiplos alelos de resistência, a introgressão desses alelos, por meio da piramidação em uma única cultivar, visando à obtenção de resistência durável e de amplo espectro (Almeida et al., 2021a; Koutouleas et al., 2023; Saavedra et al., 2023).

A baixa variabilidade, devida à sua domesticação e distribuição, tornou *C. arabica* suscetível a uma ampla variedade de patógenos. Dentre os principais desafios fitossanitários destacam-se *Hemileia vastatrix*, fungo causador da Ferrugem do Cafeeiro (*Coffee Leaf Rust* - CLR), *Colletotrichum kahawae*, fungo causador da Antracnose dos Frutos do Cafeeiro (*Coffee Berry Disease* - CBD) e a bactéria *Pseudomonas syringae* pv *garcae* responsável pela Mancha Aureolada (*Bacterial Halo Blight* - BHB) (Mohan et al., 1978; Van Der Vossen; Walyaro, 1980; Rodrigues-Junior; Gonçalves; Várzea, 2004; Várzea; Marques, 2005).

Uma importante fonte de resistência são híbridos naturais, como Híbrido de Timor (HdT), resultante do cruzamento natural entre *C. arabica* e *C. canephora*, e com prováveis retrocruzamentos espontâneos com *C. arabica* (Bettencourt, 1973; Rodrigues et al., 2004). Esses híbridos possuem diversas combinações de genes de resistência, como os genes S_H6 , S_H7 , S_H8 , S_H9 , e S_H10 , S_H11 que conferem resistência à CLR, além de outros ainda não caracterizados (Almeida et al., 2021b;

Bettencourt e Rodrigues 1988; Geleta et al., 2012). Em trabalhos anteriores, diversos acessos de HdT demonstraram resistência fenotípica à CBD (Bettencourt, 1973; Rodrigues et al., 2004), moderada resistência à BHB (Mohan et al., 1978) e resistência a nematoides como *Meloidogyne exigua* (Muniz et al., 2009), *M. paranaenses* (Salgado et al., 2014; Shigueoka et al., 2016) e *M. incognita* (Albuquerque et al., 2010). Além disso, são utilizados para o desenvolvimento de cultivares com maior potencial produtivo, uniformidade na maturação dos frutos e aprimoramento da qualidade sensorial de bebidas diferenciais (Setotaw et al., 2020).

A partir de sementes de HdT fornecidas pelo Centro de Investigações das Ferrugens do Cafeeiro (CIFC), de Portugal, e por estações experimentais de Angola, foi estabelecido um Banco Ativo de Germoplasma (BAG), mantido pela Universidade Federal de Viçosa (UFV) e pela Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG) (Várzea e Marques, 2005). Atualmente, esse banco constitui a maior coleção dessa fonte genética no mundo. O conhecimento da diversidade e a caracterização molecular dos acessos são fundamentais para a identificação genótipos com características desejáveis e para introgressão e eficiente utilização dos genes de resistência nos programas de melhoramento. No entanto, o potencial desse BAG ainda é subutilizado, com poucos acessos dessas coleções originando cultivares utilizadas na cafeicultura nacional e internacional (Silva et al., 2018).

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo a caracterização molecular de acessos do BAG da UFV e da EPAMIG. Para isso, marcadores moleculares específicos e associados à resistência às principais doenças do cafeeiro foram utilizados para identificar genótipos favoráveis, bem como o rastreamento de acessos com o maior número de alelos de resistência. Além disso, marcadores moleculares aleatórios distribuídos ao longo do genoma foram aplicados para mapear a diversidade genética da coleção e analisar redundâncias entre os acessos garantindo a eficiência e a representatividade do BAG. Os resultados obtidos nesse trabalho contribuirão para o uso eficiente desses recursos genéticos, com foco no desenvolvimento de cultivares com resistência múltipla e durável e no estabelecimento de uma futura *core collection*.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Coffea arabica*

O café, pertencente à família *Rubiaceae* e ao gênero *Coffea*, é uma das culturas agrícolas mais importantes do mundo, com expressiva relevância econômica e social (Resende et al., 2023; Pontes, 2002). Seus atributos sensoriais conferem ampla versatilidade de consumo, como cappuccino, expresso, solúvel, sachê, além da aplicação em produtos alimentícios e cosméticos (Ferrão et al., 2017). Com mais de 125 espécies descritas, apenas duas, *Coffea arabica* (arábica) e *Coffea canephora* (robusta e conilon) possuem importância econômica, sendo responsáveis por 60% e 40% da produção mundial, respectivamente (Davis et al., 2011; Davis et al., 2021; ICO, 2025). O café arábica se destaca em produção e consumo, devido ao seu aroma e sabor mais suave (Ferrão et al., 2017; Resende et al., 2023).

A primeira planta de café foi introduzida no Brasil em 1727 e, apesar de exótica, adaptou-se as condições climáticas (Ferrão et al., 2005). Com uma área de produção de 1,88 milhão de hectares, a produção brasileira de café em 2025 foi estimada em 55,2 milhões de sacas de 60 kg (EMBRAPA, 2025b). Desse total, 42,96 milhões foram destinados à exportação, o que gerou uma receita de US\$ 13,69 bilhões (EMBRAPA, 2025a). Além da importância econômica, a cafeicultura desempenha um papel social significativo, através da geração de 695 mil empregos diretos e indiretos e da distribuição de renda no meio rural (Sesso et al., 2021).

Descrita como alotetraploide, *C. arabica* originou-se por hibridização natural entre espécies do gênero *Coffea*. Com $2n = 4x = 44$ cromossomos, possui composição genômica de *C. canephora* (subgenoma CC) e *C. eugenoides* (subgenoma EE) ambos com $2n = 2x = 22$ (Bawin et al., 2020; Lashermes et al., 1999; Salojärvi et al., 2023). Através de estudos genômicos entre acessos selvagens e os progenitores de *C. arabica*, estima-se que essa hibridização tenha ocorrido entre 10 mil e 1 milhão de anos atrás (Scalabrin et al., 2020; Salojärvi et al., 2023; Salojärvi et al., 2024; Yu et al., 2011).

Entender o centro de origem e dispersão é fundamental para o desenvolvimento de estratégias em programas de melhoramento. A domesticação do café arábica é incerta, mas entende-se que ele se originou de plantas do sul da Etiópia, próximo à região de Kaffa, considerada o centro primário de diversidade de *C. arabica*. Estudos retratam que o sul da Etiópia, permaneceu isolado, com restrito

acesso de estrangeiros. Antes da derrubada do reino de Menelik II, em 1897, as fronteiras da região de Kaffa eram fechadas, o que dificultava a dispersão sementes de café (Meyer, 1965; Salojärvi et al., 2023; Salojärvi et al., 2024; Scalabrin et al., 2020; Yu et al., 2011).

Durante o século XIV, algumas sementes foram retiradas das florestas Etíopes e enviadas ao Iêmen, para suprir demandas de cafeterias em Moca e no Cairo. Assim, o cultivo na região do Iêmen, começou a partir de uma pequena quantidade de material genético, do qual um número restrito de sementes começou a se dispersar. As sementes enviadas à Índia posteriormente chegaram à Amsterdã e deram origem ao grupo varietal Typica. As poucas sementes da ilha de Bourbon (atual Reunião) originaram o grupo varietal Bourbon (CARVALHO et al., 1952). A maioria das cultivares comerciais modernas descendem desses dois grupos, o que contribuiu para a estreita base genética observada em *C. arabica* (Ferrão, 2017; Scalabrin et al., 2020; Wellman, 1961; Yu et al., 2011).

Segundo Meyer (1965), a maioria das plantas Bourbon produz descendentes pouco segregantes por meio da propagação de sementes, o que contribui para a vulnerabilidade genética. A natureza perene, autógama e a baixa diversidade genética de *C. arabica* representam um grande desafio para os programas de melhoramento da espécie (Merot-l'anthoene, 2019). Essas características também tornam *C. arabica* mais vulnerável a um amplo espectro de patógenos que afetam o seu desenvolvimento (Scalabrin et al., 2020; Salojärvi et al., 2024).

A Ferrugem do Cafeeiro (*Coffee Leaf Rust* – CLR) é a doença de maior impacto econômico nas plantações de café, resultando em perdas consideráveis na cafeicultura mundial (Zambolim; Caixeta, 2021). Causada pelo fungo biotrófico *Hemileia vastatrix*, os sintomas característicos são lesões amareladas na face adaxial da folha, que podem levar ao desfolhamento severo, comprometendo a atividade fotossintética e reduzindo a produtividade e a qualidade dos frutos (Zambolim; Caixeta, 2021). A infecção ocorre através dos estômatos e, com a progressão da doença, há produção de uredósporos, que podem ser observados na face abaxial. Nos estágios mais avançados, as lesões podem evoluir para necrose. Os esporos pulverulentos favorecem a propagação do patógeno na plantação, sendo o vento o principal agente de dispersão (Cui et al., 2020; Zambolim; Caixeta, 2018).

A CLR causa danos significativos a diversas áreas produtoras de café, com prejuízos econômicos que podem levar a perda de até 50% da produção (Salazar-

Navarro et al., 2024; Zambolim, 2016). Dados históricos relatam o aparecimento da ferrugem do cafeeiro no Sri Lanka, em 1869, espalhando-se progressivamente pela Ásia e África, alcançando a América Latina em 1970, quando foi registrada pela primeira vez no Brasil (Sera, et al., 2022; Zambolim e Caixeta, 2021.). Atualmente, está presente em todas as regiões produtoras de café do mundo (Avelino et al., 2015; Baker, et al., 2014).

Surtos de CLR, que afetaram severamente as regiões produtoras das Américas, coletivamente denominados como “*The Big Rust*”, conferiram, novamente, notoriedade à doença (Baker, et al., 2014). Segundo Avelino et al. (2015), fatores econômicos, de manejo, e principalmente climáticos, foram determinantes para ocorrência dessas epidemias, que afetaram a América Central e a Colômbia. As perdas estimadas causaram prejuízos significativos, principalmente entre pequenos produtores, que tinham a cafeicultura como principal fonte de renda. Esses eventos impulsionaram significativamente as pesquisas voltadas ao melhoramento genético do cafeeiro, com foco no desenvolvimento de cultivares resistentes à doença (Baker et al., 2014).

A resistência a CLR é conferida por, pelo menos, 11 genes caracterizados: S_H1, S_H2, S_H3, S_H4, S_H5, S_H6, S_H7, S_H8, S_H9, S_H10, S_H11. Os genes S_H1, S_H2, S_H4 e S_H5 são derivados de *C.arabica* e, atualmente, já foram suplantados por raças de *H. vastatrix* que ocorrem no Brasil. O gene S_H3 foi identificado em um acesso indiano de *C. liberica* e os demais S_H6 à S_H10 foram identificados em *C. canephora* (Bettencourt et al. 1988, Barka et al., 2020, Geleta et al., 2012). Almeida et al, (2021b) confirmou um provável gene S_H11, anteriormente identificado por Alvarenga et al. (2010) e caracterizado por Barka et al. (2020).

De acordo com Várzea e Marques (2005), o contexto das mudanças climáticas vem favorecendo a adaptação de patógenos e o desenvolvimento de novas raças de *H. vastatrix*, levando gradativamente à perda de resistência em muitas cultivares comerciais, como observado com os genes S_H derivados de *C. arabica*. A plasticidade genética dos microrganismos permite a alteração de suas estruturas, quando em sistemas naturais que promovam o estresse. Essa capacidade, associada à facilidade de multiplicação e dispersão em um curto tempo de gerações, favorece a rápida disseminação das adaptações adquiridas nas populações microbianas. As mudanças climáticas intensificam a pressão seletiva sobre esses patógenos, favorecendo o

surgimento de raças mais adaptadas, aumentando o risco às produções agrícolas (Ghinier et al., 2011; Scherm et al., 2000).

Outra importante doença, também causada por fungo, é a Antracnose do Cafeeiro (*Coffee Berry Disease* - CBD). Atualmente, é uma doença restrita ao continente Africano. Entretanto, a possibilidade de disseminação para as regiões produtoras das Américas, reforça a necessidade de adoção de cultivares resistentes ao patógeno, uma vez que há o risco de se tornar endêmica, como ocorreu com o CLR. De acordo com Van Der Vossen e Walyaro (2008), em condições favoráveis ao fungo, as epidemias de CBD podem dizimar mais de 50% da produção do fruto em cultivares suscetíveis. A preferência do patógeno por locais úmidos e frios é especialmente preocupante, uma vez que as lavouras tendem a ser, em sua maioria, em altitudes elevadas e com incidência de chuvas. Além disso, o controle químico pode representar cerca de 30% dos custos de produção, sem garantir a eliminação das perdas (Alemu et al., 2025; Van Der Vossen e Walyaro, 2008).

Os principais sintomas da CBD são lesões no fruto jovem, inicialmente pequenas, mas que rapidamente se tornam machas com tonalidade marrom ou pretas (Alemu et al., 2025; Van Der Vossen e Walyaro, 2008; Waller, 1993). Na fase mais avançada da doença, as lesões causam a queda prematura dos grãos ou a sua mumificação (Rutherford e Phiri, 2006). Frutos em estágio inicial de desenvolvimento, também podem desenvolver a doença, porém são mais resistentes, em sua maioria. Nesses casos, observa-se lesões superficiais, que podem ser curadas ou ficarem dormentes até que o fruto atinja um estágio mais suscetível (Alemu, 2025; Derso e Waller, 2003; Van Der Vossen e Walyaro, 2008). Além das perdas econômicas, os cafeeiros infectados podem perder qualidade sensorial, resultando em sabores indesejáveis e alterações no aroma (Alemu et al., 2025).

Como a doença ainda não foi registrada em outros continentes, e a detecção do patógeno exige populações em estágio avançado de infecção, a seleção de indivíduos resistentes através de técnicas moleculares é uma estratégia eficaz. Dessa forma, é possível realizar a seleção precoce de indivíduos resistentes, sem a necessidade de expô-los ao patógeno, o que contribui para evitar a disseminação da CBD em outros continentes. Desde 1985, cultivares resistentes têm sido utilizadas em regiões produtoras do continente africano, demonstrando resistência efetiva e duradoura. Mesmo após 20 anos, cultivares como Ruiru 11 no Quênia, Dessu, Ababuna, Melko CH2 e outras seleções, parecem conter uma resistência durável, não

havendo quebra de resistência pelo hospedeiro (Van Der Vossen e Walyaro, 2008; Giddisa, 2016). Esses resultados reforçam a importância do desenvolvimento de cultivares com alelos de resistência.

A Mancha Aureolada (*Bacterial Halo Blight* - BHB) é causada por *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* e tem ganhado destaque em diversas regiões produtoras, embora tenha sido considerada de menor importância em relação a outros patógenos do cafeeiro. A doença é favorecida pelo clima de altitude e incide principalmente sobre as folhas, mas podem afetar ramos do cafeeiro e inflorescências (Maciel, 2018; Rodrigues, 2017). A infecção tem como sintomas singulares o aparecimento de manchas necróticas circulares por um anel amarelo, podendo em casos mais intransigentes, promovendo o escurecimento dos galhos, causando desfolha até a morte do meristema apical. Populações jovens no campo e estabelecidas em viveiros são os principais alvos da bactéria (Badel e Zambolim, 2019). A doença é favorecida por chuvas de granizo e ventos, eventos comuns de temperaturas amenas, e que ocorre em regiões onde habitualmente estão localizadas as produções cafeeiras. O patógeno penetra na planta por meio de aberturas naturais, como estômatos, ou feridas foliares, sendo disseminado principalmente pela água. Os prejuízos causados podem ser significativos (Badel e Zambolim, 2019; Zoccoli, Takatsu, Uesugi, 2011).

O manejo tradicional de doenças no cafeeiro é realizado, principalmente, através do controle químico. Esta abordagem não apenas eleva os custos de produção, como também implica em impactos ambientais e sociais significativos (Alemu et al., 2025; Van Der Vossen e Walyaro, 2008; Giddisa, 2016; Talhinhos et al., 2017; Zambolim, 2016). Nesse contexto, o desenvolvimento de cultivares geneticamente resistentes, por meio do melhoramento genético, surge como a alternativa mais viável e sustentável a longo prazo (Talhinhos et al., 2017). Adicionalmente, melhoramento busca introduzir outras características agrônomicas desejáveis, como aumento de produtividade e melhoria da qualidade da bebida, para atender às demandas do mercado e dos produtores (Sousa et al., 2019).

A partir da técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) tornou-se possível a detecção de diferenças genéticas entre indivíduos, polimorfismos, o que tem otimizado a escolha de acessos superiores (Almeida et al., 2021b; Hospital, 2009; Sousa et al., 2019). Em plantas perenes como o café, técnicas de Seleção Assistida por Marcadores Moleculares (SAM) têm auxiliado e reduzido o tempo de triagem.

Atualmente, diversas metodologias estão disponíveis, variando conforme os tipos de marcadores moleculares e estratégias de identificação de polimorfismos (Caixeta et al., 2016; Hasan et al., 2021; Sousa et al., 2019).

A principal vantagem dos marcadores moleculares é a sua independência em relação às influências ambientais, o que lhes confere maior precisão e eficiência. Além disso, permitem não apenas abreviar o ciclo de melhoramento, através da identificação precoce de indivíduos superiores, como também favorecer a seleção genótipos com múltiplas fontes de resistência, reduzindo os custos e o tempo associados à seleção fenotípica (Almeida et al., 2021b; Hospital, 2009)

Em cafeeiros, diversos trabalhos têm sido conduzidos com base em SAM, envolvendo marcadores associados a genes de resistência. Prakash et al. (2004), utilizaram marcadores AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) para identificar locos associados à resistência a *H. vastratrix*, conferida pelo gene S_H3 . Posteriormente, Mahé et al., (2008) converteram marcadores AFLP em marcadores tipo SCAR (*Sequenced Characterized Amplified Region*), e desenvolveram marcadores microssatélites SSR (*Simple Sequence Repeat*). Os marcadores SCAR são baseados em PCR com *primers* específicos e caracterizam-se por serem simples, eficientes, de baixo custo e com alta reprodutibilidade. Além disso, podem atuar como marcadores codominantes, permitindo a distinção entre homozigotos e heterozigotos na população. Os marcadores SSR também são baseados em PCR, possuem alta reprodutibilidade e são mais polimórficos, possibilitando a observação de mais diferenças, bem como a distinção de acessos relacionados (Caixeta et al., 2009).

Outros marcadores associados à resistência a *H. vastratrix* foram desenvolvidos posteriormente. Almeida et al. (2021b) e Almeida et al. (2024) desenvolveram e validaram marcadores SCAR e SSR a partir de marcas AFLP ligadas ao QTL (*Quantitative Trait Loci*) de resistência às raças I, II e ao patótipo 001 da CLR, com base no mapa de ligação de *C. arabica* descrito por Pestana et al. (2015).

Com advento do sequenciamento, novas abordagens para o desenvolvimento de marcadores têm surgido. Dentre elas, destacam-se os marcadores funcionais EST-PCR (*Expressed Sequence Tag-Polymerase Chain Reaction*), que se baseiam em sequências transcritas do genoma. Por representarem genes expressos, esses marcadores são mais conservados. Alvarenga et al. (2011) identificaram e validaram um marcador associado à suscetibilidade e a resistência a *H. vastratrix*, a partir de ESTs previamente descritas por Alvarenga et al. (2010). Além disso, outro gene

relacionado à resistência à CLR, baseado em uma proteína de membrana conservada, foi desenvolvido e validado por Almeida et al. (2021a).

No contexto da CBD, Gichuru et al. (2008) identificou o loco de resistência, denominado Ck-1 e validou dois marcadores SSR codominantes associados a esse loco, o qual, segundo o grupo, corresponde ao gene “T” observado por Agwanda et al. (1997). Em um estudo baseado em associação genômica ampla, utilizando a diversidade genética de cafeeiros selvagens da Etiópia, foram identificados QTNs (*Quantitative Trait Nucleotides*) no subgenoma *Eugenioides* de *C. arabica*, associados a efeitos relacionados à resposta imunológica contra a BHB. Posteriormente o grupo desenvolveu e validou um marcador AS-PCR (*Allele-Specific PCR*), (Ariyoshi et al., 2022a; Ariyoshi et al., 2022b). Essa técnica utiliza primers cuja penúltima base da extremidade 3’OH é posicionada sobre um sítio SNP (*Single-Nucleotide Polymorphisms*) (Kalendar et al., 2022).

Os marcadores moleculares são ferramentas estratégicas no melhoramento genético, otimizando a seleção de genótipos superiores. Uma de suas aplicações mais relevantes é na análise de piramidação de alelos de resistência, um processo que permite a identificação e combinação de múltiplas fontes de resistência em um único indivíduo. Como resultado, é possível desenvolver cultivares com resistência mais durável e de amplo espectro, algo difícil de alcançar apenas por meio da seleção fenotípica (Alzate-Marin et al., 2005).

Uma importante fonte de variabilidade genética para o desenvolvimento de novas cultivares surgiu em 1917, com a descoberta do cafeeiro denominado Híbrido de Timor (HdT), identificado após um surto de *H. vastatrix* na ilha de Timor-Leste, no sudeste Asiático. Os HdT são indivíduos tetraploides e autoférteis, originados do provável cruzamento espontâneo entre *C. arabica* ($2n = 4x = 44$) e *C. canephora* ($2n = 2x = 22$) (Agwanda et al., 1997; Bettencourt, 1973; Capucho et al., 2009; Carvalho et al., 1989; Rodrigues et al., 1975, Rodrigues et al., 2004).

O HdT destaca-se principalmente por sua ploidia, que possibilita o cruzamento com *C. arabica*, e pela combinação de genes de resistência a doenças, herdados do progenitor *C. canephora*. Adicionalmente, apresenta qualidade de bebida com notas sensoriais desejáveis, tipicamente associada à espécie *C. arabica* (Alvarenga, et al., 2011; Mahé et al., 2008; Sobreira et al., 2015). A utilização de acessos de HdT no melhoramento genético de *C. arabica* ganhou notoriedade devido à sua robusta resistência à CLR, uma característica fundamental diante das epidemias que

assolavam a cafeicultura. Subsequentemente, estudos observaram a presença dos genes S_{H5} a S_{H10} em de populações de HdT (Bettencourt et al., 1988; Barka et al., 2020; Almeida et al., 2021b; Almeida et al., 2024). Além da resistência à CLR, diversos acessos de HdT apresentaram resistência à CBD (Bettencourt, 1973; Rodrigues et al., 2004), moderada resistência à BHB (Mohan et al., 1978) e resistência a nematoides como *Meloidogyne exigua* (Muniz et al., 2009), *M. paranaenses* (Salgado et al., 2014; Shigueoka et al., 2016) e *M. incognita* (Albuquerque et al., 2010).

A maior parte dos acessos de HdT presentes no Brasil foram disponibilizados pelo Centro de Investigação das Ferrugens do Cafeeiro (CIFC), de Portugal, e enviada ao Departamento de Fitopatologia da UFV e ao Instituto Agrônomo de Campinas (IAC). Essas instituições foram responsáveis por estabelecer as coleções que fundamentam os programas nacionais de melhoramento genético. Os acessos disponibilizados incluíram clones do CIFC 4106, clones das cultivares diferenciadoras e sementes de cafeeiros selecionados oriundos das estações experimentais do Instituto de Investigação Agrônoma de Angola (IIAA) e da Estação Regional de Uige (ERU). Com base no germoplasma introduzido, foi estruturado o Banco Ativo de Germoplasma de Híbridos de Timor, atualmente mantido pelo Departamento de Agronomia (BAG/UFV). E, através de sementes derivadas de autofecundação, foi estabelecido o Banco de Germoplasma de Café da EPAMIG (BGC/EPAMIG), localizados no Campo Experimental de Patrocínio. Esses são os maiores bancos de HdT do mundo.

No entanto, apesar do reconhecido valor dos acessos de HdT como recurso genético estratégico, sua caracterização molecular ainda é limitada, com um número reduzidos de acessos originado cultivares utilizadas na cafeicultura nacional e mundial. Dessa forma, considerando a importância do HdT como fonte de variabilidade genética para *C. arabica*, este trabalho visa a caracterização molecular de acessos do BAG/UFV e BGC/EPAMIG, contribuindo para a otimização do uso desses recursos para futuras pesquisas e cruzamentos. Os resultados obtidos auxiliarão na seleção de genitores superiores para o desenvolvimento de cultivares mais produtivas e resistentes.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Biotecnologia do Cafeeiro (BIOCAFÉ), vinculado ao Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária

(BIOAGRO), da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, Minas Gerais, Brasil.

3.1 Material genético

A amostragem do material genético utilizado, compreendeu parte dos Bancos ativos de Germoplasma. Para a realização do presente trabalho, foram obtidas folhas de 92 cafeeiros, sendo 23 acessos de Híbrido de Timor (HdT) conservados no Banco Ativo de Germoplasma da Universidade Federal de Viçosa (BAG/UFV) e os demais 69 cafeeiros pertencentes a 23 acessos de HdT conservados no Banco de Germoplasma de Café da EPAMIG (BGC/EPAMIG), localizado no Campo Experimental de Patrocínio. Do BGC/EPAMIG foram amostradas três plantas de cada um dos 23 acessos, os quais correspondem a progênies de fecundação livre (autofecundação sem controle) de cada um dos 23 acessos de HdT do BAG/UFV, conforme apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Acessos selecionados para caracterização molecular neste trabalho.

Código	Descrição da Amostra	Parental	BAG de Origem
UFV 377-51	Híbrido Timor UFV377-51	-	UFV
MG 377-51 -1	MG0266-2R1	Híbrido Timor UFV377-51	Epamig
MG 377-51 -2	MG0266-4R1	Híbrido Timor UFV377-51	Epamig
MG 377-51 -3	MG0266-7R1	Híbrido Timor UFV377-51	Epamig
UFV 377-34	Híbrido Timor UFV 377-34	-	UFV
MG 377-34 -1	MG0267-1R1	Híbrido Timor UFV 377-34	Epamig
MG 377-34 -2	MG0267-5R1	Híbrido Timor UFV 377-34	Epamig
MG 377-34 -3	MG0267-7R1	Híbrido Timor UFV 377-34	Epamig
UFV 377-24	Híbrido Timor UFV 377-24	-	UFV
MG 377-24 -1	MG0268-1R1	Híbrido Timor UFV 377-24	Epamig
MG 377-24 -2	MG0268-2R1	Híbrido Timor UFV 377-24	Epamig
MG 377-24 -3	MG0268-4R1	Híbrido Timor UFV 377-24	Epamig
UFV 377-23	Híbrido Timor UFV 377-23	-	UFV
MG 377-23 -1	MG0269-1R1	Híbrido Timor UFV 377-23	Epamig
MG 377-23 -2	MG0269-2R1	Híbrido Timor UFV 377-23	Epamig
MG 377-23 -3	MG0269-3R1	Híbrido Timor UFV 377-23	Epamig
UFV 377-21	Híbrido Timor UFV 377-21	-	UFV
MG 377-21 -1	MG0270-1R1	Híbrido Timor UFV 377-21	Epamig
MG 377-21 -2	MG0270-2R1	Híbrido Timor UFV 377-21	Epamig
MG 377-21 -3	MG0270-6R1	Híbrido Timor UFV 377-21	Epamig
UFV 376-57	Híbrido Timor UFV 376-57	-	UFV
MG 376-57 -1	MG0276-1R1	Híbrido Timor UFV 376-57	Epamig
MG 376-57 -2	MG0276-3R1	Híbrido Timor UFV 376-57	Epamig
MG 376-57 -3	MG0276-4R1	Híbrido Timor UFV 376-57	Epamig
UFV 376-52	Híbrido Timor UFV 376-52	-	UFV
MG 376-52 -1	MG0277-1R1	Híbrido Timor UFV 376-52	Epamig
MG 376-52 -2	MG0277-5R1	Híbrido Timor UFV 376-52	Epamig
MG 376-52 -3	MG0277-5R1	Híbrido Timor UFV 376-52	Epamig
UFV 376-37	Híbrido Timor UFV 376-37	-	UFV
MG 376-37 -1	MG0278-2R1	Híbrido Timor UFV 376-37	Epamig
MG 376-37 -2	MG0278-3R1	Híbrido Timor UFV 376-37	Epamig
MG 376-37 -3	MG0278-4R1	Híbrido Timor UFV 376-37	Epamig
UFV 376-31	Híbrido Timor UFV 376-31	-	UFV
MG 376-31 -1	MG0279-2R1	Híbrido Timor UFV 376-31	Epamig
MG 376-31 -2	MG0279-5R1	Híbrido Timor UFV 376-31	Epamig
MG 376-31 -3	MG0278-7R1	Híbrido Timor UFV 376-31	Epamig
UFV 376-14	Híbrido Timor UFV 376-14	-	UFV
MG 376-14 -1	MG0280-3R1	Híbrido Timor UFV 376-14	Epamig
MG 376-14 -2	MG0280-4R1	Híbrido Timor UFV 376-14	Epamig
MG 376-14 -3	MG0280-5R1	Híbrido Timor UFV 376-14	Epamig
UFV 376-12	Híbrido Timor UFV 376-12	-	UFV
MG 376-12 -1	MG0282-4R1	Híbrido Timor UFV 376-12	Epamig
MG 376-12 -2	MG0282-5R1	Híbrido Timor UFV 376-12	Epamig
MG 376-12 -3	MG0282-7R1	Híbrido Timor UFV 376-12	Epamig
UFV 376-11	Híbrido Timor UFV 376-11	-	UFV
MG 376-11-1	MG0283-2R1	Híbrido Timor UFV 376-11	Epamig
MG 376-11-2	MG0283-3R1	Híbrido Timor UFV 376-11	Epamig
MG 376-11-3	MG0283-6R1	Híbrido Timor UFV 376-11	Epamig
UFV 379-07	Híbrido Timor UFV 379-07	-	UFV
MG 379-07 -1	MG0291-2R1	Híbrido Timor UFV 379-07	Epamig
MG 379-07 -2	MG0291-3R1	Híbrido Timor UFV 379-07	Epamig
MG 379-07 -3	MG0291-6R1	Híbrido Timor UFV 379-07	Epamig
MG 380-52	Híbrido Timor UFV 380-52	-	UFV
MG 380-52 -1	MG0293-2R1	Híbrido Timor UFV 380-52	Epamig
MG 380-52 -2	MG0293-4R1	Híbrido Timor UFV 380-52	Epamig
MG 380-52 -3	MG0293-6R1	Híbrido Timor UFV 380-52	Epamig

Tabela 1 – Continuação

Código	Descrição da Amostra	Parental	BAG de Origem
UFV 408-01	Híbrido Timor UFV 408-01	-	UFV
MG 408-01- 1	MG0294-2R1	Híbrido Timor UFV 408-01	Epamig
MG 408-01- 2	MG0294-4R1	Híbrido Timor UFV 408-01	Epamig
MG 408-01- 3	MG0294-6R1	Híbrido Timor UFV 408-01	Epamig
UFV 408-10	Híbrido Timor UFV 408-10	-	UFV
MG 408-10- 1	MG0295-3R1	Híbrido Timor UFV 408-10	Epamig
MG 408-10- 2	MG0295-5R1	Híbrido Timor UFV 408-10	Epamig
MG 408-10- 3	MG0295-6R1	Híbrido Timor UFV 408-10	Epamig
MG 408-18	Híbrido Timor UFV 408-18	-	UFV
MG 408-18- 1	MG0298-1R1	Híbrido Timor UFV 408-18	Epamig
MG 408-18- 2	MG0298-2R1	Híbrido Timor UFV 408-18	Epamig
MG 408-18- 3	MG0298-5R1	Híbrido Timor UFV 408-18	Epamig
UFV 408-26	Híbrido Timor UFV 408-26	-	UFV
MG 408-26- 1	MG0299-1R1	Híbrido Timor UFV 408-26	Epamig
MG 408-26- 2	MG0299-2R1	Híbrido Timor UFV 408-26	Epamig
MG 408-26- 3	MG0299-3R1	Híbrido Timor UFV 408-26	Epamig
UFV 408-28	Híbrido Timor UFV 408-28	-	UFV
MG 408-28- 1	MG0300-1R1	Híbrido Timor UFV 408-28	Epamig
MG 408-28- 2	MG0300-3R1	Híbrido Timor UFV 408-28	Epamig
MG 408-28- 3	MG0300-4R1	Híbrido Timor UFV 408-28	Epamig
UFV 427-01	Híbrido Timor UFV 427-01	-	UFV
MG 427-01- 1	MG0302-2R1	Híbrido Timor UFV 427-01	Epamig
MG 427-01- 2	MG0302-3R1	Híbrido Timor UFV 427-01	Epamig
MG 427-01- 3	MG0302-5R1	Híbrido Timor UFV 427-01	Epamig
UFV 427-09	Híbrido Timor UFV 427-09	-	UFV
MG 427-09- 1	MG0303-1R1	Híbrido Timor UFV 427-09	Epamig
MG 427-09- 2	MG0303-2R1	Híbrido Timor UFV 427-09	Epamig
MG 427-09- 3	MG0303-5R1	Híbrido Timor UFV 427-09	Epamig
UFV 437-02	Híbrido Timor UFV 437-02	-	UFV
MG 437-02- 1	MG0329-5R1	Híbrido Timor UFV 437-02	Epamig
MG 437-02- 2	MG0329-7R1	Híbrido Timor UFV 437-02	Epamig
MG 437-02- 3	MG0329-8R1	Híbrido Timor UFV 437-02	Epamig
UFV 442-42	Híbrido Timor UFV 442-42	-	UFV
MG 442-42- 1	MG0364-4R1	Híbrido Timor UFV 442-42	Epamig
MG 442-42- 2	MG0364-6R1	Híbrido Timor UFV 442-42	Epamig
MG 442-42- 3	MG0364-9R1	Híbrido Timor UFV 442-42	Epamig

3.2 Extração do DNA

Para extração do DNA, foram coletadas amostras foliares dos progenitores e progênies (Tabela 1). O material genético foi extraído utilizando o método proposto por Diniz et al. (2005). Para isso, folhas jovens, macias e totalmente expandidas foram coletadas, identificadas, limpas e imediatamente armazenadas a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, posteriormente, liofilizadas e maceradas. A quantificação e a avaliação da qualidade do DNA foram efetuadas em espectrofotômetro NanoDrop 2000® e eletroforese em gel de agarose a 0,8% corado GelRed® sob luz UV, respectivamente. As amostras foram diluídas para uma concentração de $25\text{ ng}/\mu\text{L}$ e armazenadas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Para verificar a integridade, a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) foi realizada com o primer microssatélite SSR16.

3.3 Caracterização molecular

A caracterização molecular abrangeu a análise da diversidade genética, através do uso de marcadores moleculares aleatórios distribuídos ao longo do genoma e a análise de resistência a doenças através do emprego de marcadores específicos associados à resistência as três principais doenças que afetam *C. arabica*: Ferrugem do Cafeeiro (*H. vastatrix*), Antracnose dos Frutos (*C. kahawae*) e Mancha Aureolada (*P. syringae* pv. *garcae*).

3.3.1 Análise de diversidade e *fingerprinting*

A análise da diversidade genética e a obtenção de perfis moleculares (*fingerprinting*) foram realizadas utilizando um painel de 9 marcadores microssatélites (SSR) (Tabela 2). Para verificar a cobertura de cada marcador, as sequências dos *primers* foram alinhadas contra o genoma de referência *C. arabica* cultivar ET-39 (Acesso GenBank: GCA_036785885.1) utilizando o programa BLAST (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/index.cgi?>). As reações de PCR foram realizadas conforme o protocolo descrito por Brito et al. (2010). Para um volume total de $20\text{ }\mu\text{L}$ de reação, utilizou-se $2\text{ }\mu\text{L}$ de DNA ($25\text{ ng}/\mu\text{L}$), $1\text{ }\mu\text{L}$ de tampão, $0,3\text{ }\mu\text{L}$ de dNTPs, $1,0\text{ mM}$ de MgCl_2 , $1,5\text{ }\mu\text{L}$ de cada primer ($0,15\text{ }\mu\text{M}$) e $0,6\text{ U}$ de Taq DNA polimerase (ThermoFisher, EUA). As reações de amplificação foram conduzidas no termociclador Veriti (Applied Biosystems, EUA) com um ciclo inicial de $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 2 minutos, seguido por 10 ciclos de *touchdown*. Cada ciclo de *touchdown* consistiu em desnaturação a $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 30 segundos, anelamento por 30 segundos com

temperatura decrescente de 66 °C a 57 °C (redução de 1 °C por ciclo), e extensão a 72 °C por 30 segundos. Após o *touchdown*, realizou-se 30 ciclos adicionais, consistindo em desnaturação a 94 °C por 30 segundos, anelamento a 57 °C por 30 segundos, e extensão a 72 °C por 30 segundos. Por fim, extensão final a 72 °C por 20 minutos. Para a análise em eletroforese capilar, foram utilizados primers marcados com fluoróforos compatíveis com o equipamento SeqStudio Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific, EUA). Os eletroferogramas foram obtidos e analisados com auxílio do software GeneMapper™.

Tabela 2: *Primers* SSR utilizados para análise de diversidade dos 92 acessos do BAG de HdT.

<i>Primer</i>	Tam. pb	<i>Forward</i>	<i>Reverse</i>
CaEST 01 ^a	151	GAAGACCAAGCACCCCTCAAC	ACACCAACTACGGGCAGACA
CaEST 02 ^a	184	GAAGGGACAAAGACGCCTAA	CGACAGATGCAGGAATAAACTG
CaEST 22 ^b	207	GCCATTTACAATCTCACCTC	AGACCCAGCAGACAACAACA
CaEST 28 ^b	169	TTAACCTCCTGCCACACA	GCCCAAATAAATCCCTCCA
CaEST 29 ^c	199	AGGAGATGCCTGTGACGAAC	GGACGGAAAGATTCTGGCTTT
CaEST 45 ^a	259	GCATCCTACCGAGTACATACAA	TCCATCAACAACAACCGAAG
CaEST 71 ^c	155	ATGGAGAGGAAGACGCAACA	CCTTATTGAAGACGCCAAA
SSR 016 ^d	146	ACCCGAAAGAAAGAACCAAG	CCACACA ACTCTCCTCATT C
SSR 095 ^c	226	CGCGTG GGAGATATTGAAGT	AAGCGGCAGAAATCAGTGG

Forward: sequência de nucleotídeos na direção 3' para 5', *Reverse*: sequência de nucleotídeos na direção 5' para 3'. Referências: ^a Souza et al., 2013; ^b Missio et al., 2009; ^c Ferrão et al., 2015; ^d Combes et al., 2000.

3.3.2 Análise de resistência a doenças

Os DNAs foram amplificados utilizando marcadores associados a gene/loco de resistência (Tabela 3). Para análise de resistência à CLR os seguintes marcadores foram utilizados: SAT244, BA-124-12K-F, CaRHv8, CaRHv9, CaRHv10, CARF 005, RLK2. Para identificar alelos de resistência à CBD, SAT235 e SAT207. Para detectar resistência à BHB, o marcador Psg_QL1 foi utilizado.

Tabela 3: *Primers* utilizados para análise de resistência dos 92 acessos do BAG de HdT.

<i>Primer</i>	Tam. pb	<i>Forward</i>	<i>Reverse</i>	Gene	Loco
SAT244 ^a	316	GCATGTGCTTTTTGATGTCGT	GCATACTAAGGAAATTATCTGACTGCT	S _H 3	A
BA-124-12K-f	384	TGATTTTCGCTTGTGTCGAG	TGCAGATTGATGGCACGTTA	S _H 3	A
SSR016 ^d	146	ACCCGAAAGAAAGAACCAAG	CCACACAACCTCCTCATTTC	QTL/GL2	B
CaRHv8 ^b	272	ACCTTCTAGTGTTACCGAGGA	TCTTAGCGCCATGAATAGCCA	QTL/GL2	B
CaRHv9 ^b	151	TGATGAAGAAGAGCGCATAGC	GTCTAAGACCAGAATCAGATGG	QTL/GL5	C
CaRHv10 ^c	282	GAGAATGTTACGCCCCGTT3	CTTCACAGTTGTACGCTCG3	QTL/GL5	C
CARF005 ^e	397	GGACATCAACACCAACCTC	ATCCCTACCATCCACTTCAAC	CC-NBS-LRR	D
RLK ^f	-	-	-	-	E
SAT207 ^g	90	GAAGCCGTTTCAAGCC	CAATCTC TTTCCGATGCTCT	<i>Ck-1</i>	F
SAT235 ^g	222	TCGTTCTGTCATTAATCGTCAA	GCAAATCATGAAAATAGTTGGTG	<i>Ck-1</i>	F
Psg_QL1 ^h	224	TTTATCTATCTGATGTGCTGG	TACATCGGCAGCCTCAGAAA	Psg_QL	G

Forward: sequência de nucleotídeos na direção 3' para 5', Reverse: sequência de nucleotídeos na direção 5' para 3'. Referências: ^a Mahé et al., 2008; ^b Almeida et al., 2021b; ^c Almeida et al., 2024; ^d Missio et al., 2009; ^e Alvarenga et al., 2011; ^f Dados não publicados; ^g Gichuru et al., 2008; ^h Ariyoshi et al., 2022b.

As reações de PCR para os marcadores foram realizadas de acordo com os protocolos descritos pelos respectivos autores (Tabela 3). Os marcadores SAT244, BA-124-12K-F, SSR016, SAT207 e SAT235 foram avaliados utilizando primers marcados com fluoróforos compatíveis com o equipamento SeqStudio Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific, EUA). Os eletroferogramas foram analisados com auxílio do software GeneMapper™. Já os marcadores CaRHv8, CaRHv9, CaRHv10, CARF 005, RLK e Psg_QL1 foram avaliados por PCR e eletroforese em gel de argarose (1,5%), corados com GelRed® e visualizados sob luz UV em aparelho Fotodocumentador L-Pix®.

3.4 Análise dos dados

Os perfis alélicos obtidos por meio dos marcadores SSR foram utilizados para construir uma matriz de dissimilaridade, com base no complemento aritmético de um índice de coincidência não-ponderado, dado pela expressão:

$$D_{ii'} = \frac{1}{2L} \sum_{j=1}^L C_j$$

Em que $D_{ii'}$ representa a dissimilaridade entre alelos de dois indivíduos, L é o número de locos e C_j é o número de alelos em comum entre os acessos.

Para os grupos não divergentes, foi utilizado o coeficiente de similaridade de Jaccard, dado pela expressão:

$$S_j = \frac{a}{a + b + c}$$

No qual a representa o número de coincidências do tipo 1-1 entre os indivíduos analisados, b é o número de similaridade do tipo 1-0, e c é o número de similaridade 0-1. As relações genéticas entre acessos foram analisadas utilizando o método *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean* (UPGMA). Os dendrogramas foram construídos a partir das matrizes de distância geradas pelo *software* GENES (Cruz, 2016), e editados no *software* FIGTREE. Os pontos de corte foram definidos com base no teste de Mojena (1977), utilizando o valor $k= 1,25$.

4. RESULTADOS

4.1 Caracterização da resistência a doenças via marcadores moleculares

4.1.1 Resistência à CLR

A caracterização da resistência à CLR foi realizada por meio de um conjunto de marcadores. Dois marcadores, SAT224 e BA-124-12K-F, associados ao gene S_H3 e identificados como loco A. Quatro marcadores, CaRHv8, SSR16, CaRHV9 e CaRHv10, associados a dois QTL de resistência as raças I, II e ao patótipo 001, sendo os dois primeiros identificados como Loco B e os dois últimos como Loco C. Um marcador associado ao gene *CC-NBS-LRR*, identificado como Loco D. Por fim, um marcador associado ao gene *HdT_LLR_RLK2*, identificado como Loco E.

Com relação ao Loco A, apenas o acesso do BAG/UFV, HdT UFV 379-07, e seus três descendentes (MG 379-07-1, MG 379-07-2, MG 379-07-3) apresentaram alelos associados à resistência, identificados pelo marcador BA-124-12K-F. Dessa forma, nenhum dos indivíduos foi considerado portador do alelo de resistência. A estratégia utilizada nesse trabalho para inferir a presença do alelo de resistência no cafeeiro, foi a presença dos dois marcadores que flanqueiam o gene. Essa abordagem visa minimizar a ocorrência de falsos positivos, ou seja, indivíduos que apresentam apenas um dos marcadores e que, podem ter perdido o alelo de resistência devido a eventos de recombinação.

Para o Loco B, observou-se que 46 (50%) cafeeiros apresentaram os dois marcadores moleculares (CaRHv8 e SSR16) que flanqueiam um dos QTL associado a resistência às raças I e II e ao patótipo 001 de *H. vastatrix*, sendo, portanto, fontes

de resistência para esse loco. Acessos do BAG/UFV (parentais) identificados como B_, contendo pelo menos um alelo de resistência, apresentaram descendentes (acessos BGC/Epamig) compatíveis com o padrão esperado para autofecundação. Cinco acessos parentais apresentaram genótipo homozigoto recessivo (bb), sendo que para um deles, UFV 376-12, observou-se a presença do alelo dominante em um cafeeiro da sua progênie (Tabela 4, Tabela Suplementar).

Para o Loco C, o outro QTL associado a resistência às três raças do patógeno, apenas três acessos, UFV 408-18, MG 408-26-1 e MG 408-28-3, apresentaram alelos de resistência avaliados nos dois marcadores (CaRHv9 e CaRHv10). Observou-se que o acesso parental UFV 408-28, identificado como homozigoto recessivo, exibiu pelo menos um descendente contendo o alelo de resistência C_ (Tabela 4, Tabela Suplementar).

A análise do marcador funcional CARF005, relacionado ao gene *CC-NBS-LRR* (Loco D), permitiu a identificação de 54 (57,60%) indivíduos com o genótipo D_, não sendo possível distinguir, por meio desse marcador, cafeeiros homozigotos dominantes ou heterozigotos. Dos 23 acessos parentais, 10 foram identificados como homozigotos recessivos ("dd"), sendo que alguns apresentaram o gene D na progênie (Tabela 4).

Em análises com o marcador funcional RLK2 (Loco E), relacionado ao gene *HdT_LLR_RLK2*, 53 indivíduos apresentaram marca relacionada à resistência. A genotipagem revelou que 12 acessos parentais foram homozigotos recessivos ("ee") e que, como nos demais marcadores, alguns cafeeiros da progênie apresentaram o alelo de resistência E_ (Tabela 4, Tabela Suplementar).

4.1.2 Resistência a CBD e BHB

Para o loco F, associado ao gene *Ck-1* de resistência a CBD e rastreado pelos marcadores SAT207 e SAT235, foram identificados 36 acessos (39,13%) com a marca de resistência. Dessas fontes de resistência, 11 acessos são homozigotos dominantes ("FF") e 25 acessos heterozigotos ("Ff"). Observou-se, como nos demais marcadores, alelo dominante resistente em progênies originadas de parental recessivo (Tabela 4).

Para o loco G, relacionado ao gene de resistência a *P. syringae* pv. *garcae*, e detectado pelo marcador Psg_QL foram identificados 18 acessos portadores do alelo dominante ("G_") (Tabela 4).

4.1.4 Resistência múltipla

A análise conjunta de todos os locos de resistência as principais doenças do cafeeiro, demonstrou que nenhum acesso de HdT apresentou marcas de resistência para todos os sete locos. Cafeeiros HdT não são fontes de resistência para o loco S_{H3}, confirmado pelas análises moleculares. Dessa forma, a piramidação gênica nos HdT foram analisados considerando os demais seis locos, B, C, D, E, F e G

Considerando os locos B e C, que correspondem a dois QTL que conferem resistência a três raças de *H. vastatrix* (raças I, II e ao patótipo 001), 49 (53,26%) acessos apresentaram pelo menos um QTL. Observou-se que, para os diferentes locos de resistência a CLR, 32 cafeeiros possuem três locos contendo alelos de resistência, com combinações diferentes (Tabela 4, Tabela 5).

Nenhum indivíduo apresentou alelos de resistência simultaneamente para as três doenças analisadas. Todavia, 17 cafeeiros possuem três locos contendo resistência a CLR e o loco de resistência a CBD e um cafeeiro contendo dois locos para CLR e o loco de BHB. Diferentes locos piramidados foram encontrados, conforme representado na Figura 1.

Tabela 4: Resistência e suscetibilidade nos genes *Sh3* (loco A), QTL para resistência às raças I, II e ao patótipo 001 (Loco B e C); *CC-NBS-LRR* (loco D); *HdT_LRR_RLK2* (loco E); *Ck-1* para CBD (Loco F) e *Psg_QL* para BHB (loco G)

Código	Genótipo							Código	Genótipo						
	A	B	C	D	E	F	G		A	B	C	D	E	F	G
UFV 377-51	S	R	S	R	R	S	S	UFV 379-07	S	R	S	R	S	S	S
MG 377-51 -1	?	S	S	S	S	?	S	MG 379-07- 1	S	S	S	R	S	S	S
MG 377-51 -2	S	S	S	R	R	S	S	MG 379-07- 2	S	R	S	R	S	?	S
MG 377-51 -3	S	R	S	R	R	S	S	MG 379-07- 3	S	R	S	R	R	S	S
UFV 377-34	?	R	S	S	R	S	S	UFV 380-52	S	R	S	R	R	S	S
MG 377-34 -1	?	R	S	R	R	S	S	MG 380-52- 1	S	R	S	S	R	?	S
MG 377-34 -2	?	R	S	R	R	S	S	MG 380-52- 2	S	R	S	S	S	?	S
MG 377-34 -3	S	R	S	R	R	S	S	MG 380-52- 3	S	R	S	S	S	S	S
UFV 377-24	?	R	S	R	R	S	S	UFV 408-01	?	S	S	S	R	S	R
MG 377-24 - 1	?	R	S	R	R	S	S	MG 408-01- 1	?	S	S	S	R	S	R
MG 377-24 - 2	?	R	S	R	R	S	S	MG 408-01- 2	?	R	S	S	S	S	R
MG 377-24 - 3	?	R	S	R	R	S	S	MG 408-01- 3	?	S	S	R	S	S	R
UFV 377-23	?	R	S	S	R	S	S	UFV 408-10	?	R	S	R	R	S	S
MG 377-23- 1	?	R	S	R	R	S	S	MG 408-10- 1	?	S	S	R	R	S	S
MG 377-23- 2	?	R	S	R	R	S	S	MG 408-10- 2	?	R	S	R	S	S	S
MG 377-23- 3	?	R	S	R	R	?	S	MG 408-10- 3	?	S	S	R	R	?	S
UFV 377-21	?	R	S	S	S	?	R	UFV 408-18	S	R	R	R	R	S	S
MG 377-21- 1	?	R	S	R	R	S	S	MG 408-18- 1	S	S	S	S	R	S	S
MG 377-21- 2	?	R	S	S	S	S	S	MG 408-18- 2	?	S	S	S	S	S	S
MG 377-21- 3	?	?	S	S	S	S	R	MG 408-18- 3	?	S	S	R	R	S	S
UFV 377-57	?	R	S	R	R	S	S	MG 408-26	S	S	S	R	S	S	R
MG 377-57- 1	?	R	S	S	R	S	S	MG 408-26- 1	S	R	R	R	S	?	R
MG 377-57- 2	?	R	S	R	R	S	S	MG 408-26- 2	?	S	S	S	S	S	R
MG 377-57- 3	?	R	S	R	R	S	S	MG 408-26- 3	S	S	S	R	S	S	S
UFV 376-52	?	S	S	R	R	S	S	UFV 408-28	?	S	S	S	S	S	R
MG 376-52- 1	S	S	S	R	R	S	S	MG 408-28- 1	S	S	S	R	S	?	R
MG 376-52- 2	S	R	S	R	R	S	S	MG 408-28- 2	?	S	S	R	R	S	R
MG 376-52- 3	S	S	S	R	R	S	S	MG 408-28- 3	?	S	R	S	S	S	R
UFV 376-37	S	R	S	S	R	S	S	UFV 427-01	?	R	S	S	S	S	R
MG 376-37- 1	S	R	S	S	R	S	S	MG 427-01- 1	?	S	S	S	S	?	R
MG 376-37- 2	S	R	S	R	R	S	S	MG 427-01- 2	?	S	S	S	S	S	R
MG 376-37- 3	S	R	S	S	R	S	S	MG 427-01- 3	?	R	S	S	S	?	R
UFV 376-31	S	R	S	R	R	S	S	UFV 427-09	?	S	S	S	S	S	S
MG 376-31- 1	S	S	S	R	R	?	S	MG 427-09- 1	?	S	S	S	S	S	R
MG 376-31- 2	S	R	S	S	R	S	S	MG 427-09- 2	S	S	S	S	S	S	S
MG 376-31- 3	S	R	S	R	R	S	S	MG 427-09- 3	S	S	S	S	S	S	S
UFV 376-14	?	S	S	S	S	S	S	UFV 437-02	?	S	S	R	R	S	S
MG 376-14- 1	?	R	S	R	R	S	S	MG 437-02- 1	S	R	S	R	R	S	S
MG 376-14- 2	?	R	S	R	R	S	S	MG 437-02- 2	?	R	S	S	S	S	S
MG 376-14- 3	?	R	S	R	R	S	S	MG 437-02- 3	S	R	S	R	R	?	S
UFV 376-12	?	R	S	S	S	S	S	UFV 442-42	S	R	S	R	S	S	S
MG 376-12- 1	?	R	S	S	S	S	S	MG 442-42- 1	S	R	S	R	S	S	S
MG 376-12- 2	?	R	S	S	S	S	S	MG 442-42- 2	S	R	S	R	S	S	S
MG 376-12- 3	?	S	S	S	S	S	S	MG 442-42- 3	S	R	S	S	R	S	S
UFV 376-11	?	?	S	R	S	S	S								
MG 376-11-1	?	R	S	R	R	S	S								
MG 376-11-2	?	R	S	S	S	S	S								
MG 376-11-3	?	R	S	R	R	S	S								

S= Suscetível; R= Resistente; RE= Recombinantes; ? = genótipo não identificado

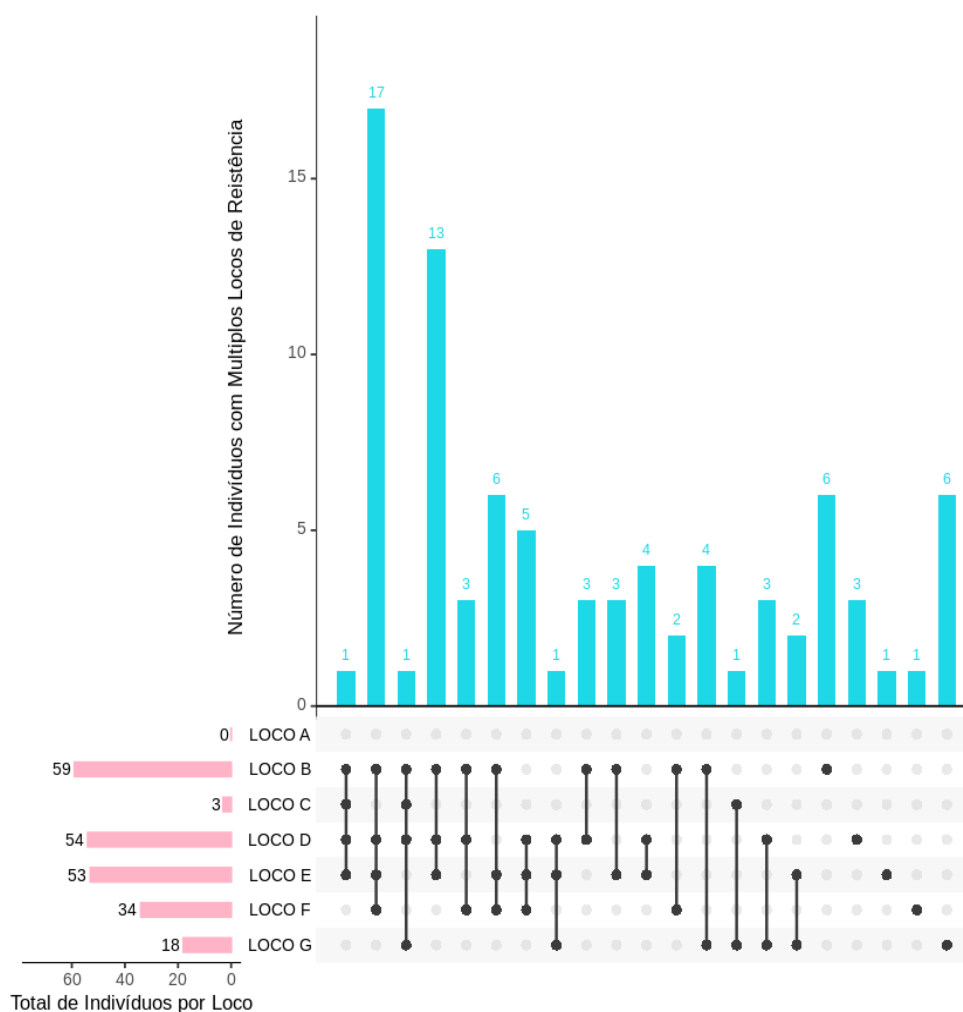


Figura 1. O gráfico ilustra a distribuição de frequência dos locos de resistência. As barras em rosa representam a contagem de acessos portadores de cada loco individualmente, as barras em azul quantificam o número de acessos com resistência múltipla, e os pontos pretos indicam as combinações específicas de locos em cada pirâmide gênica.

Tabela 5: Relação de acessos por Locos em ordem decrescente ao número de indivíduos

Locos	Resistência	Indivíduos	Número de indivíduos
LOCO B, LOCO D, LOCO E, LOCO F	CLR BHB CBD	MG-376-14-1, MG-376-14-3, UFV -376-31, MG -376-31-3, MG -376-37-2, MG -376-52-2, MG -377-23-1, MG -377-23-2, UFV -377-24, MG -377-24-1, MG -377-24-2, MG-377-24-3, MG-377-34-1, MG-377-34-2, UFV-377-51, MG-377-57-2, MG-437-02-1	17
LOCO B, LOCO D, LOCO E	CLR	MG-376-11-1, MG-376-11-3, MG-376-14-2, MG-377-21-1, MG-377-23-3, MG-377-34-3, MG-377-51-3, UFV-377-57, MG-377-57-3, MG-379-07-3, UFV-380-52, UFV-408-10, MG-437-02-3	13
LOCO B	CLR	MG-376-11-2, MG-376-12-1, MG-376-12-2, MG-377-21-2, MG-380-52-2, MG-380-52-3	6
LOCO B, LOCO E, LOCO F	CLR CBD	MG-376-31-2, MG-376-37-1, MG-376-37-3, UFV-377-23, UFV-377-34, MG-442-42-3	6
LOCO G	BHB	MG-377-21-3, MG-408-26-2, UFV-408-28, MG-427-01-1, MG-427-01-2, MG-427-09-1	6

Continuação...				
LOCO D, LOCO E, LOCO F	CLR CBD	UFV-376-52, MG-376-52-1, MG-376-52-3, MG-377-51-2, UFV-437-02		5
LOCO B, LOCO G	CLR BHB	UFV-377-21, MG-408-01-2, UFV-427-01, MG-427-01-3		4
LOCO D, LOCO E	CLR	MG-376-31-1, MG-408-10-1, MG-408-10-3, MG-408-18-3		4
LOCO B, LOCO D	CLR	UFV-379-07, MG-379-07-2, MG-408-10-2		3
LOCO B, LOCO D, LOCO F	CLR CBD	UFV-442-42, MG-442-42-1, MG-442-42-2		3
LOCO B, LOCO E	CLR	UFV-376-37, MG-377-57-1, MG-380-52-1		3
LOCO D	CLR	UFV-376-11, MG-379-07-1, MG-408-26-3		3
LOCO D, LOCO G	CLR BHB	MG-408-01-3, UFV-408-26, MG-408-28-1		3
LOCO B, LOCO F	CLR CBD	UFV-376-12, MG-437-02-2		2
LOCO E, LOCO G	CLR BHB	UFV-408-01, MG-408-01-1		2
LOCO B, LOCO C, LOCO D, LOCO E	CLR	UFV-408-18		1
LOCO B, LOCO C, LOCO D, LOCO G	CLR BHB	MG-408-26-1		1
LOCO C, LOCO G	CLR BHB	MG-408-28-3		1
LOCO D, LOCO E, LOCO G	CLR	MG-408-28-2		1
LOCO E	BHB	MG-408-18-1		1
LOCO F	CBD	UFV-427-09		1

4.2 Análise de diversidade genética

Os 92 acessos de HdT foram analisados com 11 marcadores SSR aleatoriamente distribuídos no genoma. Com base na análise BLAST, foi verificado que esses marcadores se encontram localizados em quatro cromossomos do subgenoma *C. canephora* (1, 6, 7 e 11) e dois cromossomos do subgenoma de *C. eugenioides* (6 e 7).

Por meio desses marcadores, detectou-se um total de 23 alelos, com variações de 1 a 3 e média de 2,09 alelos por marcador. A análise de agrupamento pelo método UPGMA, utilizando ponto de corte definido pelo teste de Mojena, resultou na formação de 13 grupos distintos (Figura 2). Os grupos IV e V apresentaram o maior número de indivíduos, com 19,5% e 26% dos acessos, respectivamente. Quatro acessos (MG 377-34-1, MG 377-34-1, MG 380-52-2, UFV 376-57) não foram agrupados, sendo considerados mais divergentes (Figura 2).

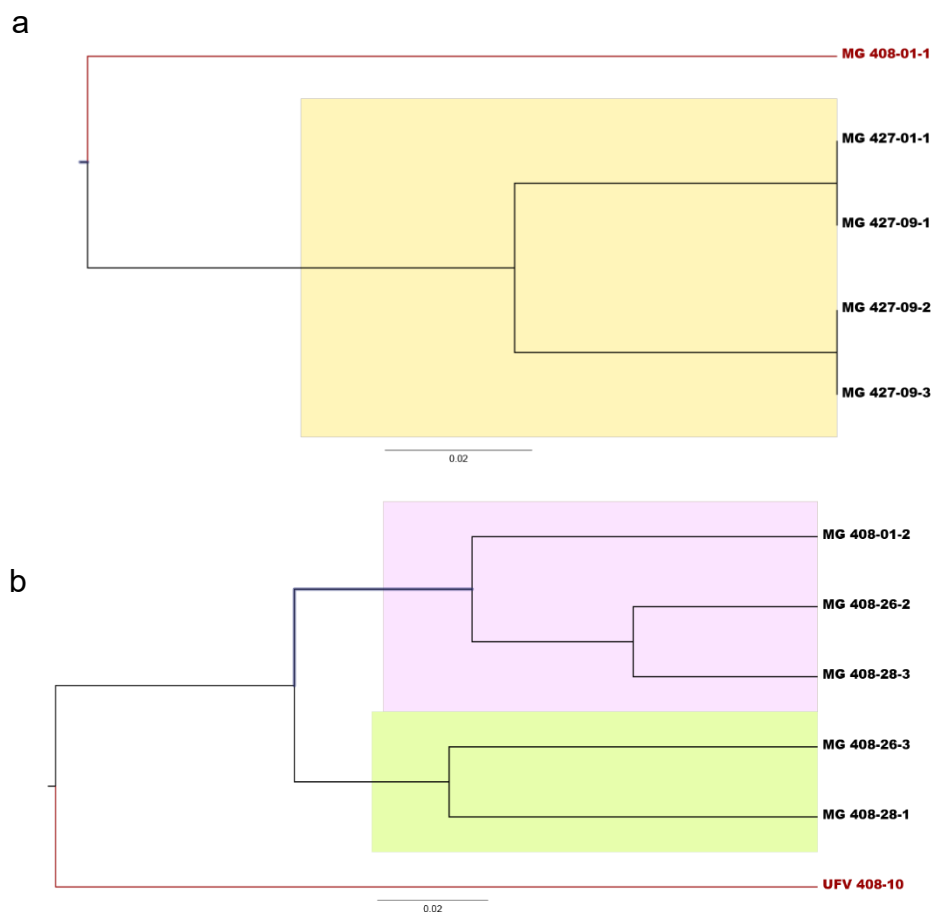


Figura 3. Dendrograma dos conjuntos A e B, revelando a estrutura de diversidade interna. Os dendrogramas foram construídos pelo método UPGMA a partir da matriz de dissimilaridade do coeficiente de Jaccard. **(a)** Dendrograma para o Conjunto A. **(b)** Dendrograma para o Conjunto B. Os subgrupos, definidos pelo método de Mojena como ponto de corte, são representados pelas cores rosa, amarelo e verde. Acessos que não se agruparam são destacados em vermelho.

A análise de diversidade demonstrou um padrão divergente de relação entre parentais e progênie, onde ao menos um descendente se distanciava significativamente do progenitor. Como, por exemplo, o acesso parental UFV 377-24 e um de seus descendentes, MG 377-24-3, agrupados no grupo VIII, enquanto os outros dois descendentes MG 377-24-1 e MG 377-24-2 foram alocados em grupos distintos (grupo III e grupo VII, respectivamente), demonstrando variabilidade genética na descendência.

Foi realizada análise conjunta da diversidade genética com a distribuição dos alelos de resistência nos sete locos avaliados. Todos os grupos formados apresentaram acessos com alelos de resistência a CLR. Todos os acessos que não apresentaram alelos de resistência à CBD foram agrupados nos grupos IV, V, X e XI.

Da mesma forma, os grupos I, II, IX e XIII, não possuem acessos com alelos de resistência à BHB.

Quanto a distribuição de indivíduos com múltiplos locos de resistência, dos 17 acessos que contemplam os locos B, D, E e F, estão distribuídos majoritariamente entre os grupos VII, VII e IX. O indivíduo UFV 408-18 foi o único identificado como fonte de resistência a todas as marcas relacionadas a ferrugem do cafeeiro, enquanto o MG 408-26-1, apesar de não contemplar todas as marcas para ferrugem, possui o loco para BHB e foi identificado dentro do grupo X, onde há pouca diversidade entre os acessos.

5. DISCUSSÃO

A busca de fontes de resistência para múltiplas doenças e raças de *H. vastatrix* é fundamental para o desenvolvimento de cultivares com resistência durável, como alternativa sustentável aos métodos de controle químico (Almeida et al., 2021b; Alvarenga et al., 2011; Talhinhos et al., 2017). Nesse contexto, os HdT oriundos dos BAG/UFV e BGC/EPAMIG demonstraram potencial promissor para o desenvolvimento de tais cultivares.

Na caracterização molecular observou-se grande quantidade de cafeeiros HdT contendo alelos de resistência, em diferentes combinações, nos locos B, C, D e E que confere resistência a diferentes raças de *H. vastatrix*. Esses dados confirmam que HdT são importantes fontes de resistência para a CLR (Alkimim et al., 2017; Mahé et al., 2007; Prakash et al., 2004) e que os acessos mantidos pela UFV e Epamig contêm diferentes genes de resistência. A ausência de indivíduos com alelo de resistência no loco A era esperado, uma vez que o gene S_H3 é derivado de *C. liberica* (Alkimim et al., 2017; Mahé et al., 2007; Prakash et al., 2004) e os HdT não contêm introgressão dessa espécie no genoma.

O melhoramento preventivo, com foco na resistência à CBD tem sido uma estratégia adota pelos programas de melhoramento genético. A identificação de 34 acessos portadores do loco F associado à resistência a essa doença, demonstra o potencial do BAG de HdT como fonte promissora de genes que podem ser incorporados como primeira linha de defesa visando mitigar futuros impactos, caso o patógeno seja introduzido no Brasil. Van Der Vossen e Walyaro (2008) investigaram a durabilidade da resistência à CBD em acessos de *C. arabica* etíope, baseada no melhoramento genético, e confirmaram a eficiência da introgressão de alelos de

resistência, uma vez que ainda não houve relatos de quebra da resistência. A eficácia da resistência em progênies de HdT, vem se mostrando eficiente, por meio de inoculações com *C. kahawae* no Quênia. As linhagens derivadas de HdT, vem sendo utilizadas mundialmente, bem como matrizes doadoras em programas de melhoramento no Quênia (Gichuru et al., 2008).

Além de resistência à CLR e à CBD, também foram observados alelos de resistência à BHB. Tanto de forma isolada, quanto associado a locos de resistência a essas outras doenças. Além disso, este é o primeiro trabalho de genotipagem que inclui a resistência a essa doença em HdT.

Dessa forma, cafeeiros contendo diferentes combinações dos genes de resistência, piramidados, foram encontrados nos acessos de HdT. A piramidação gênica baseia-se na hipótese de que, para um patógeno suplantar múltiplos genes de resistência ao mesmo tempo, ainda que para a mesma doença, seriam necessárias mutações simultâneas em vários de seus genes que são reconhecidos pelo hospedeiro. Essas mutações simultâneas são raras e resultam na diminuição do *fitness* do patógeno, pois os genes que são reconhecidos pelo hospedeiro codificam proteínas responsáveis pela patogênese do fungo. Dessa forma, a piramidação gênica consiste em uma estratégia promissora para obtenção de resistência duradoura à CLR (Jones et al., 2024; Zambolim e Caixeta, 2021). Além disso, favorece a obtenção de uma combinação de genes que possam atuar simultaneamente a vários patógenos (Almeida et al., 2021; Alvarenga, et al., 2011; Alkimim, et al., 2017; Cui et al., 2020). A identificação de acessos com múltiplas fontes de resistência reforça a importância do BAG de HdT como fonte de genes importantes. Embora, na análise conjunta dos sete locos de resistência, nenhum indivíduo tenha apresentado locos associados simultaneamente às três doenças avaliadas, foram detectados 69 indivíduos que combinam dois ou mais locos de resistência, e 17 com três dos cinco locos de resistência a CLR concomitante ao loco relacionado à CBD.

O estudo de diversidade auxilia no conhecimento e distribuição da variação genética da população em estudo, contribuindo para redução da seleção de indivíduos aparentados (Caixeta et al., 2016; Silva et al., 2018). Com os 11 marcadores microsatélites utilizados para caracterização dos acessos, observou-se que a coleção consiste em genótipos com alta variabilidade genética, agrupados em 13 grupos maiores. Alguns indivíduos não foram separados, apresentando perfis moleculares idênticos, demonstrando que são geneticamente muito próximos. Entre

os indivíduos diferenciados pelo método de Jaccard, observou-se que MG 427-01-1 e MG 427-09-1 possuem o mesmo perfil molecular, assim como MG 427-09-2 e MG 427-09-3. Esses resultados fundamentam a importância do estabelecimento de uma futura *core collection*, pois, ao identificar materiais muito aparentados, é possível eliminá-los, reduzindo os custos de manutenção e otimizando a seleção dos acessos superiores.

O presente estudo revelou uma considerável diversidade genética. A expectativa era que os descendentes se agrupassem próximos aos seus respectivos parentais, como observado para o acesso UFV 376-52 e seus descendentes (grupo VII). No entanto, esse padrão esperado não foi observado para a maioria dos acessos. Essa divergência pode ser explicada por três hipóteses. Primeiro, pela heterozigotidade. Sendo o HdT um híbrido natural recente, é muito provável que muitos locos ainda não tenham se fixado na população, resultando em progênies segregantes, mesmo em autofecundação. Segundo, pela ocorrência de fecundação cruzada em campo, uma vez que não houve autofecundação controlada. Apesar de multiplicar-se preferencialmente por autofecundação, plantas autógamas podem sofrer polinização cruzada pelo vento e por insetos (Anthony et al., 2002; Berthaud & Charrier, 1988). Diferente da autofecundação, o cruzamento entre indivíduos diferentes promove a variabilidade genética. Por fim, algumas divergências podem ser explicadas por eventuais trocas de sementes durante a coleta, uma vez que o BAG EPAMIG foi estabelecido a partir de sementes de autofecundação não controlada do BAG UFV.

Através da análise de 152 acessos de HdT do BAG da UFV, Silva et al. (2018) observaram que indivíduos resistentes à CLR se associaram em um mesmo grupo genético. De maneira semelhante, neste trabalho, foi possível observar grupos de indivíduos suscetíveis à CBD e à BHB. Em relação à CLR, houve uniformidade isso se deve ao fato de que os genitores são resistentes à ferrugem do cafeeiro.

Em estudo prévio, Silva et al. (2018) inocularam folhas dos acessos parentais (acessos da UFV) deste estudo, com isolados das raças II e XXXIII de *H. vastatrix*, constatando que estes genótipos são resistentes à raça II. Relacionando os resultados fenotípicos obtidos por Silva et al. (2018) aos moleculares obtidos nesse trabalho, observa-se que oito acessos parentais caracterizados como recombinantes, apresentaram resistência à raça II de *H. vastatrix*. Esse resultado indica que a recombinação não eliminou o loco de resistência. Por outro lado, quatro dos 23

acessos parentais analisados não apresentaram alelos de resistência para os locos B e C, que conferem resistência as raças I, II e patótipo 001. No entanto, em análise fenotípica, esses mesmos acessos apresentaram resistência à raça II. Essa divergência pode-se ser explicada por dois motivos: o primeiro, a existência de um loco de resistência ainda não identificado; o segundo, possíveis falhas na amplificação impossibilitando o aparecimento da marca. Entre os parentais, apenas três não foram resistentes a inoculação da raça II, o que foi confirmado na análise molecular. Tal comparação mostra que o BAG UFV possui acessos com uma ampla fonte de resistência, e que a união de marcadores moleculares auxilia de forma efetiva a observação de indivíduos resistentes, com uma baixa taxa de falha.

6. CONCLUSÃO

Por meio da SAM foi possível analisar 92 cafeeiros de HdT que compõe os BAG/UFV e BGC/EPAMIG, quanto à presença de alelos de resistência às principais doenças do cafeeiro, identificar a ocorrência de piramidação gênica, bem como avaliar a diversidade desses acessos. A caracterização desses BAG contribuirão para sua conservação e uso estratégico, fornecendo informações relevantes sobre o *pool* gênico disponível. Os resultados encontrados nesse trabalho demonstraram que, embora as sementes oriundas do BAG UFV originaram o BGC da Epamig, os dois bancos possuem uma ampla diversidade genética, ampliando ainda mais a disponibilidade de acessos favoráveis para introgressão de alelos de interesse em *C. arabica*.

7. REFERÊNCIAS

- AGWANDA, C. O. et al. Identification of RAPD markers for resistance to coffee berry disease, *Colletotrichum kahawae*, in arabica coffee. **Euphytica**, v. 97, p. 241-248, 1997.
- ALBUQUERQUE, E. V. S. et al. A resistência a *Meloidogyne incognita* expressa uma reação semelhante à hipersensibilidade resposta em *Coffea arabica*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 127, p. 365-373, 2010.
- ALEMU, K. Coffee berry disease: a threat to Arabica coffee production in Ethiopia. **Discover Life**, v. 55, n. 1, p. 12, 2025.
- ALEMU, K. et al. Situação atual da doença do café (*Colletotrichum kahawae* Waller & Bridge) na Etiópia. **Arquivos de Fitopatologia e Proteção de Plantas**, v. 49, n. 17-18, p. 421-433, 2016.
- ALKIMIM, E. R. et al. Marker-assisted selection provides arabica coffee with genes from other *Coffea* species targeting on multiple resistance to rust and coffee berry disease. **Molecular Breeding**, v. 37, n. 1, p. 6, 2017.
- ALMEIDA, D. P. et al. New and efficient AS-PCR molecular marker for selection of coffee resistant to coffee leaf rust. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 24, n. 4, p. e498424410, 2024.
- ALMEIDA, D. P. et al. Marker-assisted pyramiding of multiple disease resistance genes in coffee genotypes (*Coffea arabica*). **Agronomy**, v. 11, n. 9, p. 1763, 2021b.
- ALMEIDA, D. P. et al. Receptor-Like Kinase (RLK) as a candidate gene conferring resistance to *Hemileia vastatrix* in coffee. **Scientia Agricola**, v. 78, e20200110, 2021a.
- ALVARENGA, S. M. et al. Molecular markers from coffee genome expressed sequences potentially involved in resistance to rust. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 8, p. 890-898, 2011.
- ALVARENGA, S.M. et al. In silico identification of coffee genome expressed sequences potentially associated with resistance to diseases. **Genetics and Molecular Biology**, v.33, p.795-806, 2010.
- ALZATE-MARIN, A. L. et al. Seleção assistida por marcadores moleculares visando ao desenvolvimento de plantas resistentes a doenças, com ênfase em feijoeiro e soja. **Fitopatologia brasileira**, v. 30, p. 333-342, 2005.
- ANTHONY, F. C. 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.
- ARIYOSHI, C. et al. Genome-wide association study for resistance to *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* in *Coffea arabica*. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, p. 989847, 2022a.

- ARIYOSHI, C. et al. Development and validation of an allele-specific marker for resistance to bacterial halo blight in *Coffea arabica*. **Agronomy**, v. 12, n. 12, p. 3178, 2022b.
- 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, p. 303–321, 2015.
- BADEL, J. L.; ZAMBOLIM, L. Coffee bacterial diseases: a plethora of scientific opportunities. **Plant Pathology**, v. 68, n. 3, p. 411–425, 2019.
- BAKER, P. The 'Big Rust': an update on the coffee leaf rust situation. **Coffee Cocoa International**, v. 40, n. 6, p. 37–39, 2014.
- BARKA, G. D. et al. In silico guided structural and functional analysis of genes with potential involvement in resistance to coffee leaf rust: A functional marker-based approach. **PLoS one**, v. 15, n. 7, p. e0222747, 2020.
- BENSCH, S.; ÅKESSON, M. Ten years of AFLP in ecology and evolution: why so few animals? **Molecular ecology**, v. 14, n. 10, p. 2899–2914, 2005.
- BERTHAUD, J.; CHARRIER, A. Genetic resources of *Coffea*. In: CLARKE, R. J.; MACRAE, R. (eds.). **Coffee: volume 4 – Agronomy**. London: Elsevier Applied Science, 1988. p. 1–40.
- BETTENCOURT, A. J. **Considerações gerais sobre o Híbrido de Timor**. Campinas: Instituto Agrônômico, 1973. 20 p. (Circular, 23).
- BETTENCOURT, A. J.; RODRIGUES JUNIOR, C. J. Principles and practice of coffee breeding for resistance to rust and other diseases. In: CLARKE, R. J.; MACRAE, R. (eds.). **Coffee: volume 4 – Agronomy**. London: Elsevier Applied Science, 1988. v. 4, p. 199–234.
- CAIXETA, E. T. et al. Tipos de marcadores moleculares. In: BORÉM, A.; CAIXETA, E. T. (eds.). **Marcadores moleculares**. 1. ed. Viçosa: UFV, 2016. p. 9–93.
- CAPUCHO, A. S. et al. Herança da resistência do Híbrido de Timor UFV 443-03 à ferrugem-do-cafeeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 3, p. 276–282, 2009.
- CARVALHO, A. et al. Melhoramento do cafeeiro: IV-café Mundo Novo. **Bragantia**, v. 12, p. 97–130, 1952.
- CARVALHO, C. H. S. et al. **Catálogo de cultivares de café arábica**. Brasília, DF: Embrapa Café, 2022. 120 p. (Documentos, 16). ISSN 1678-1694.
- COIMBRA, J. L. M. et al. Erro experimental em marcadores AFLP: consequências e estimativas. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, n. 1, p. 87–100, 2012.
- COMBES, M. C. et al. Characterization of microsatellite loci in *Coffea arabica* and related coffee species. **Molecular ecology**, v. 9, n. 8, p. 1178–1180, 2000.

CRUZ, C. D. Programa Genes- Ampliado e integrado aos aplicativos R, Matlab e Selegen. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 38, p. 547-552, 2016.

CUI, L. et al. Improving pathogen resistance by exploiting plant susceptibility genes in coffee (*Coffea* spp.). **Agronomy**, v. 10, n. 12, p. 1928, 2020.

DERSO, E.; WALLER, J. M. Variation among *Colletotrichum* isolates from diseased coffee berries in Ethiopia. **Crop protection**, v. 22, n. 3, p. 561-565, 2003.

EMBRAPA^a. **Exportação dos Cafés do Brasil totaliza 42,96 milhões de sacas no acumulado de onze meses**. Brasília, DF, 18 julho 2025. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/101307472/exportacao-dos-cafes-do-brasil-totaliza-4296-milhoes-de-sacas-no-acumulado-de-onze-meses>. Acesso em: 09 setembro 2025.

EMBRAPA^b. **Safra dos Cafés do Brasil foi estimada em volume físico total equivalente a 55,2 milhões de sacas de 60kg em 2025**. Brasília, DF, 18 setembro 2025. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/102963052/safra-dos-cafes-do-brasil-foi-estimada-em-volume-fisico-total-equivalente-a-552-milhoes-de-sacas-de-60kg-em-2025>. Acesso em: 09 setembro 2025.

FERRÃO, M. A. G. et al. **Cultivares de café arábica para a região das montanhas do estado do Espírito Santo**. 2. ed. Vitória: Incaper, 2005. 40 p.

FERRÃO, R. G. et al. **Coffea canephora: Café Conilon**, ed. 2, p. 37-50, Vitória, ES: Incaper, 2017.

FREDERICO, S. Lógica das commodities, finanças e cafeicultura. **Boletim Campineiro de Geografia**, v. 3, n. 1, p. 97-116, 2013.

GELETA, M. et al. Genetic diversity of arabica coffee (*Coffea arabica* L.) in Nicaragua as estimated by simple sequence repeat markers. **The scientific world journal**, v. 2012, n. 1, p. 939820, 2012.

GHINI, R. et al. Impacto das mudanças climáticas sobre as doenças de plantas. **Impactos das mudanças climáticas sobre doenças de importantes culturas no Brasil**, p. 15-40, 2011.

GICHURU, E. K. et al. Identification of molecular markers linked to a gene conferring resistance to coffee berry disease (*Colletotrichum kahawae*) in *Coffea arabica*. **Plant pathology**, v. 57, n. 6, p. 1117-1124, 2008.

GIDDISA, G. A review on the status of coffee berry disease (*Colletotrichum kahawae*) in Ethiopia. **Journal of Biology, Agriculture and Healthcare**, v. 6, n. 19, p. 140-151, 2016.

GIMASE, J. M. et al. Genome-wide association study identifies the genetic loci conferring resistance to coffee berry disease (*Colletotrichum kahawae*) in *Coffea arabica* var. Rume Sudan. **Euphytica**, v. 216, n. 6, p. 86, 2020.

- 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. 128, 2021.
- HOSPITAL, F. Challenges for effective marker-assisted selection in plants. **Genetica**, v. 136, p. 303-310, 2009.
- ITO, D. S. et al. Resistance to bacterial blight in arabica coffee cultivars. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 8, n. 2, 2008.
- JONES, J. et al. The plant immune system: from discovery to deployment. **Cell**, v. 187, n. 9, p. 2095-2116, 2024.
- KIGUONGO, A. P. K. et al. Analysis of simple sequence repeat markers linked to coffee berry disease resistance genes in a segregating population of arabica coffee (*Coffea arabica* L.). **Int. J. Biotechnology Food Science**, v. 2, p. 156–166, 2014.
- KUSHALAPPA, A. C. **Coffee rust: epidemiology, resistance and management**. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1989.
- MACIEL, K. W. et al. Bacterial halo blight of coffee crop: aggressiveness and genetic diversity of strains. **Bragantia**, v. 77, n. 1, p. 96-106, 2017.
- MAHÉ, L., COMBES, M. C., VÁRZEA, V. M. Development of sequence characterized DNA markers linked to leaf rust (*Hemileia vastatrix*) resistance in coffee (*Coffea arabica* L.). **Molecular Breeding**, v. 21, n. 1, p. 105-113, 2008.
- MEROT-L'ANTHOENE, V. et al. Development and evaluation of a genome-wide Coffee 8.5 K SNP array and its application for high-density genetic mapping and for investigating the origin of *Coffea arabica* L. **Plant biotechnology journal**, v. 17, n. 7, p. 1418-1430, 2019.
- MISHRA, M. K.; SLATER, A. Recent advances in the genetic transformation of coffee. Review article. **Biotechnology Research International**, p.17, 2012.
- MOHAN, S. K. et al. Resistência em germoplasma de *Coffea* ao cretamento bacteriano incitado por *Pseudomonas garcae*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 13, n. 1, p. 53-64, 1978.
- MOJENA, R. Hierarchical grouping methods and stopping rules: an evaluation. **The Computer Journal**, v. 20, n. 4, p. 359-363, 1977.
- MORAES, S. A. et al. **Resistência de cafeeiros à *Pseudomonas garcae***. In: Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras 2, Poços de Caldas. Rio de Janeiro: IBC, 1974. p. 183-187.
- MUNIZ, M. F. S. et al. Reação de genótipos de cafeeiros a diferentes populações de *Meloidogyne* spp.: detecção de uma população de *M. exigua* naturalmente virulenta quebrando a resistência do gene *Mex-1*. **Tropical Plant Pathology**, v. 34, n. 6, p. 370-378, 2009.

PESTANA, K. N. et al. Inheritance study and linkage mapping of resistance loci to *Hemileia vastatrix* in Híbrido de Timor UFV 443-03. **Tree genetics & genomes**, v. 11, p. 1-13, 2015.

PETEK, M. R. et al. Seleção de progênies de *Coffea arabica* com resistência simultânea à mancha aureolada e à ferrugem alaranjada. **Bragantia**, v. 65, p. 65-73, 2006.

PONTES, S. The 'latte revolution'? Regulation, markets and consumption in global coffee chain. *World Development*, **Oxford**, v.30, n.7, p. 1099-1122. 2002.

PRAKASH, N. S. et al. Introgression molecular analysis of a leaf rust resistance gene from *Coffea liberica* into *C. arabica* L. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 109, p. 1311-1317, 2004.

PRAKASH, S. N. et al. AFLP analysis of introgression in coffee cultivars (*Coffea arabica* L.) derived from a natural interspecific hybrid. **Euphytica**, v. 124, n. 3, p. 265-271, 2002.

RESENDE, M. D. et al. **Métodos ótimos de seleção genética no melhoramento do cafeeiro arábica**. Embrapa Café, 2024. e-ISSN 2965-9159.

RODRIGUES JUNIOR, C. J.; GONÇALVES, M. Mayer; VÁRZEA, V. M. P. Importância do Híbrido de Timor para o território e para o melhoramento da cafeicultura mundial. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 27, n. 1/2, p. 203-216, 2004.

RODRIGUES, C. J. Jr; BETTENCOURT, A. J.; RIJO, L. Races of the pathogen and resistance to coffee rust. 1975.

RODRIGUES, L. M. R. et al. First report of mixed infection by *Pseudomonas syringae* pathovars *garcae* and *tabaci* on coffee plantations. **Bragantia**, v. 76, n. 4, p. 543-549, 2017.

RUBIO, M. et al. Opportunities of marker-assisted selection for Plum pox virus resistance in apricot breeding programs. **Tree Genetics & Genomes**, v. 10, n. 3, p. 513–525, 2014.

RUTHERFORD, M. A.; PHIRI, Noah. Pests and diseases of coffee in Eastern Africa: A technical and advisory manual. **Wallingford, UK: CAB International**, p. 2-3, 2006.

SALAZAR-NAVARRO, A. et al. Coffee leaf rust (*Hemileia vastatrix*) disease in coffee plants and perspectives by the disease control. **Phyton**, v. 93, p. 923–949, 2024.

SALGADO, S. M. L.; REZENDE, J. C.; NUNES, J. A. R. Seleção de progênies de café quanto à resistência ao nematóide *Meloidogyne paranaensis* em área infestada. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 14, n. 2, p. 94-101, 2014.

SALOJÄRVI, J. et al. The genome and population genomics of allopolyploid *Coffea arabica* reveal the diversification history of modern coffee cultivars. **Nature genetics**, v. 56, n. 4, p. 721-731, 2024.

SCALABRIN, S. et al. A single polyploidization event at the origin of the tetraploid genome of *Coffea arabica* is responsible for the extremely low genetic variation in wild and cultivated germplasm. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p. 4642, 2020.

SCHERM, H. et al. Global networking for assessment of impacts of global change on plant pests. **Environmental Pollution**, v. 108, n. 3, p. 333-341, 2000.

SENRA, J. F. B et al. Evaluation of the genetic potential of coffee trees in agroforestry systems with rubber trees. **Bragantia**, v. 84, p. e20240182, 2025.

SERA, G. H. et al. Coffee leaf rust in Brazil: Historical events, current situation, and control measures. **Agronomy**, v. 12, n. 2, p. 496, 2022.

SETOTAW, T. A. et al. Genome introgression of Híbrido de Timor and its potential to develop high cup quality *C. arabica* cultivars. **The Journal of Agricultural Science**, v. 12, p. 64, 2020.

SHIGUEOKA, L. H. et al. Host reaction of arabica coffee genotypes derived from Sarchimor to *Meloidogyne paranaensis*. **Nematoda**, v. 3, n. 1, p. 10-16, 2016.

SILVA, R. A. et al. The Híbrido de Timor germplasm: identification of molecular diversity and resistance sources to coffee berry disease and leaf rust. **Euphytica**, v. 214, n. 9, p. 153, 2018.

SOUSA, T. V. et al. Early selection enabled by the implementation of genomic selection in *Coffea arabica* breeding. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, art. 1934, 2019.

TALHINHAS, P. et al. The coffee leaf rust pathogen *Hemileia vastatrix*: one and a half centuries around the tropics. **Molecular Plant Pathology**, v. 18, n. 8, p. 1039-1051, 2017.

VAN DER VOSSSEN, H. A. M.; WALYARO, D. J. Additional evidence for oligogenic inheritance of durable host resistance to coffee berry disease (*Colletotrichum kahawae*) in arabica coffee (*Coffea arabica* L.). **Euphytica**, v. 165, n. 1, p. 105-111, 2008.

VAN DER VOSSSEN, H. A. M.; WALYARO, D. J. Breeding for resistance to coffee berry disease in *Coffea arabica* L II. Inheritance of resistance. **Euphytica**, v. 29, p. 777-791, 1980.

VÁRZEA, V. M. P.; MARQUES, D. V. Population variability of *Hemileia vastatrix* vs. coffee durable resistance. In: ZAMBOLIM, L.; ZAMBOLIM, E. M.; VÁRZEA, V. M. P. (eds.). **Durable Resistance to Coffee Leaf Rust**. Viçosa: UFV, 2005. p. 53-74.

WALLER, J. M. et al. Characterization of the coffee berry disease pathogen, *Colletotrichum kahawae* sp. nov. **Mycological Research**, v. 97, n. 8, p. 989-994, 1993.

YU, Q. et al. Micro-collinearity and genome evolution in the vicinity of an ethylene receptor gene of cultivated diploid and allotetraploid coffee species (*Coffea*). **The Plant Journal**, v. 67, n. 2, p. 305-317, 2011.

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

ZAMBOLIM, L.; CAIXETA, E. T. An overview of physiological specialization of coffee leaf rust: new designation of pathotypes. **International Journal of Current Research**, v. 13, n. 1, p. 15564-15575, 2021.

ZAMBOLIM, L.; CAIXETA, E. T. Ferrugem. *In*: ZAMBOLIM, L.; BRENES, B. M. (ed.). **Doenças do café no Brasil – Enfermedades del café en Central – América**. Viçosa: UFV, ed. 1, 2018. p. 17-48.

ZOCCOLI, D. M.; TAKATSU, Armando; UESUGI, Carlos Hidemi. Ocorrência de mancha aureolada em cafeeiros na Região do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba. **Bragantia**, v. 70, p. 843-849, 2011.

Tabela Suplementar 1. Seleção Assistida por Marcadores Moleculares associados a resistência do cafeeiro à ferrugem nos genes SH3 (loco A), QTL para resistência às raças I, II e ao patótipo 001 (Loco B e C); *CC-NBS-LRR* (loco D); *HdT_LRR_RLK2* (loco E); *Ck-1* para CBD (Loco F) e *g010741* para BHB (loco G).

Código	Descrição da Amostra	Sat 224	Ba 124	LOCO A	CaRH V8	SSR0 16	LOCO B	CaRH v9	CaRHv 10	LOCO C	LOCO D	LOCO E	Sat 235	Sat 207	LOCO F	LOCO G
UFV 377-51	Híbrido Timor UFV377-51	aa	aa	aa	BB	Bb	B_	cc	C_	RE	D_	E_	Ff	Ff	Ff	gg
MG 377-51 -1	MG0266-2R1	aa	?	?	BB	bb	RE	cc	cc	cc	dd	ee	?	Ff	?	gg
MG 377-51 -2	MG0266-4R1	aa	aa	aa	BB	bb	RE	cc	cc	cc	D_	E_	Ff	Ff	Ff	gg
MG 377-51 -3	MG0266-7R1	aa	aa	aa	BB	Bb	B_	cc	cc	cc	D_	E_	Ff	ff	RE	gg
UFV 377-34	Híbrido Timor UFV 377-34	aa	?	?	BB	Bb	B_	cc	cc	cc	dd	E_	Ff	Ff	Ff	gg
MG 377-34 -1	MG0267-1R1	aa	aa	aa	BB	Bb	B_	cc	C_	RE	D_	E_	FF	FF	FF	gg
MG 377-34 -2	MG0267-5R1	?	?	?	BB	Bb	B_	cc	cc	cc	D_	E_	FF	FF	FF	gg
MG 377-34 -3	MG0267-7R1	aa	aa	aa	BB	Bb	B_	cc	C_	RE	D_	E_	Ff	ff	RE	gg
UFV 377-24	Híbrido Timor UFV 377-24	aa	?	?	BB	Bb	B_	cc	cc	cc	D_	E_	Ff	Ff	Ff	gg
MG 377-24 - 1	MG0268-1R1	aa	?	?	BB	Bb	B_	cc	C_	RE	D_	E_	Ff	Ff	Ff	gg
MG 377-24 - 2	MG0268-2R1	aa	?	?	BB	Bb	B_	cc	cc	cc	D_	E_	Ff	Ff	Ff	gg
MG 377-24 - 3	MG0268-4R1	aa	?	?	BB	Bb	B_	cc	C_	RE	D_	E_	Ff	Ff	Ff	gg
UFV 377-23	Híbrido Timor UFV 377-23	aa	?	?	BB	Bb	B_	cc	cc	cc	dd	E_	Ff	Ff	Ff	gg
MG 377-23- 1	MG0269-1R1	aa	?	?	BB	Bb	B_	cc	C_	RE	D_	E_	FF	Ff	Ff	gg
MG 377-23- 2	MG0269-2R1	aa	?	?	BB	Bb	B_	cc	C_	RE	D_	E_	FF	Ff	Ff	gg
MG 377-23- 3	MG0269-3R1	aa	?	?	BB	Bb	B_	cc	C_	RE	D_	E_	Ff	?	?	gg

Tabela Suplementar 1. Continuação																
Código	Descrição da Amostra	Sat 224	Ba 124	LOC O A	CaR HV8	SSR 016	LOC O B	CaR Hv9	CaRH v10	LOC O C	LOC O D	LOC O E	Sat 235	Sat 207	LOC O F	LOC O G
UFV 377-21	Híbrido Timor UFV 377-21	aa	?	?	BB	Bb	Bb	cc	cc	cc	dd	ee	Ff	?	?	G_
MG 377-21- 1	MG0270-1R1	aa	?	?	BB	Bb	Bb	cc	cc	cc	D_	E_	ff	Ff	RE	gg
MG 377-21- 2	MG0270-2R1	aa	?	?	BB	Bb	Bb	cc	cc	cc	dd	ee	ff	ff	ff	gg
MG 377-21- 3	MG0270-6R1	aa	?	?	b	?	?	cc	cc	cc	dd	ee	ff	ff	ff	G_
UFV 376-57	Híbrido Timor UFV 376-57	aa	?	?	b	Bb	Bb	cc	cc	cc	D_	E_	FF	ff	RE	gg
MG 376-57- 1	MG0276-1R1	aa	?	?	BB	Bb	Bb	cc	cc	cc	dd	E_	Ff	ff	RE	gg
MG 376-57- 2	MG0276-3R1	aa	?	?	BB	bb	B_	cc	cc	cc	D_	E_	FF	FF	FF	gg
MG 376-57- 3	MG0276-4R1	aa	?	?	b	Bb	Bb	cc	cc	cc	D_	E_	FF	ff	Re	gg
UFV 376-52	Híbrido Timor UFV 376-52	aa	?	?	BB	bb	RE	cc	cc	cc	D_	E_	FF	FF	FF	gg
MG 376-52- 1	MG0277-1R1	aa	aa	aa	BB	bb	RE	cc	cc	cc	D_	E_	FF	FF	FF	gg
MG 376-52- 2	MG0277-5R1	aa	aa	aa	b	bb	bb	cc	cc	cc	D_	E_	FF	FF	FF	gg
MG 376-52- 3	MG0277-5R1	aa	aa	aa	BB	bb	RE	cc	cc	cc	D_	E_	FF	FF	FF	gg
UFV 376-37	Híbrido Timor UFV 376-37	aa	aa	aa	BB	Bb	B_	cc	cc	cc	dd	E_	FF	Ff	RE	gg
MG 376-37- 1	MG0278-2R1	aa	aa	aa	BB	Bb	B_	cc	cc	cc	dd	E_	Ff	Ff	Ff	gg
MG 376-37- 2	MG0278-3R1	aa	aa	aa	b	Bb	Bb	cc	cc	cc	D_	E_	Ff	Ff	Ff	gg
MG 376-37- 3	MG0278-4R1	aa	aa	aa	BB	Bb	B_	cc	cc	cc	dd	E_	Ff	Ff	Ff	gg
UFV 376-31	Híbrido Timor UFV 376-31	aa	aa	aa	BB	Bb	B_	cc	cc	cc	D_	E_	Ff	Ff	Ff	gg
MG 376-31- 1	MG0279-2R1	aa	aa	aa	BB	bb	RE	cc	cc	cc	D_	E_	FF	?	?	gg

Tabela Suplementar 1. Continuação																
Código	Descrição da Amostra	Sat 224	Ba 124	LOC O A	CaR HV8	SSR 016	LOC O B	CaR Hv9	CaRH v10	LOC O C	LOC O D	LOC O E	Sat 235	Sat 207	LOC O F	LOC O G
MG 376-31-2	MG0279-5R1	aa	aa	aa	BB	Bb	B_	cc	cc	cc	dd	E_	Ff	Ff	Ff	gg
MG 376-31-3	MG0278-7R1	aa	aa	aa	BB	Bb	B_	cc	cc	cc	D_	E_	Ff	Ff	Ff	gg
UFV 376-14	Híbrido Timor UFV 376-14	aa	?	?	BB	bb	RE	cc	cc	cc	dd	ee	ff	Ff	RE	gg
MG 376-14-1	MG0280-3R1	aa	?	?	b	Bb	Bb	cc	cc	cc	D_	E_	Ff	Ff	Ff	gg
MG 376-14-2	MG0280-4R1	aa	?	?	b	bb	bb	cc	cc	cc	D_	E_	ff	Ff	RE	gg
MG 376-14-3	MG0280-5R1	aa	?	?	BB	Bb	B_	cc	cc	cc	D_	E_	Ff	Ff	Ff	gg
UFV 376-12	Híbrido Timor UFV 376-12	aa	?	?	b	bb	bb	cc	cc	cc	dd	ee	Ff	Ff	Ff	gg
MG 376-12-1	MG0282-4R1	aa	?	?	b	Bb	Bb	cc	cc	cc	dd	ee	ff	ff	ff	gg
MG 376-12-2	MG0282-5R1	?	?	?	b	bb	bb	cc	cc	cc	dd	ee	ff	ff	ff	gg
MG 376-12-3	MG0282-7R1	aa	?	?	BB	bb	RE	cc	cc	cc	dd	ee	ff	ff	ff	gg
UFV 376-11	Híbrido Timor UFV 376-11	aa	?	?	BB	?	?	cc	cc	cc	D_	ee	ff	ff	ff	gg
MG 376-11-1	MG0283-2R1	aa	?	?	BB	Bb	B_	cc	cc	cc	D_	E_	ff	ff	ff	gg
MG 376-11-2	MG0283-3R1	aa	?	?	b	Bb	Bb	cc	cc	cc	dd	ee	ff	ff	ff	gg
MG 376-11-3	MG0283-6R1	aa	?	?	BB	Bb	B_	cc	C_	RE	D_	E_	FF	Ff	Ff	gg
UFV 379-07	Híbrido Timor UFV 379-07	aa	Aa	RE	b	bb	bb	cc	cc	cc	D_	ee	FF	Ff	Ff	gg
MG 379-07-1	MG0291-2R1	aa	Aa	RE	BB	bb	RE	cc	cc	cc	D_	ee	ff	ff	ff	gg
MG 379-07-2	MG0291-3R1	aa	Aa	RE	b	bb	bb	cc	cc	cc	D_	ee	ff	?	?	gg
MG 379-07-3	MG0291-6R1	aa	Aa	RE	b	bb	bb	cc	cc	cc	D_	E_	ff	ff	ff	gg

Tabela Suplementar 1. Continuação																
Código	Descrição da Amostra	Sat 224	Ba 124	LOC O A	CaR HV8	SSR 016	LOC O B	CaR Hv9	CaRH v10	LOC O C	LOC O D	LOC O E	Sat 235	Sat 207	LOC O F	LOC O G
UFV 380-52	Híbrido Timor UFV 380-52	aa	aa	aa	BB	Bb	B_	cc	cc	cc	D_	E_	ff	ff	ff	gg
MG 380-52- 1	MG0293-2R1	aa	aa	aa	BB	Bb	B_	cc	cc	cc	dd	E_	ff	?	?	gg
MG 380-52- 2	MG0293-4R1	aa	aa	aa	BB	Bb	B_	cc	cc	cc	dd	ee	ff	?	?	gg
MG 380-52- 3	MG0293-6R1	aa	aa	aa	b	Bb	Bb	cc	cc	cc	dd	ee	ff	Ff	RE	gg
UFV 408-01	Híbrido Timor UFV 408-01	aa	?	?	BB	bb	RE	cc	cc	cc	dd	E_	ff	ff	ff	G_
MG 408-01- 1	MG0294-2R1	?	?	?	BB	bb	RE	cc	cc	cc	dd	E_	ff	ff	ff	G_
MG 408-01- 2	MG0294-4R1	?	?	?	BB	Bb	B_	cc	cc	cc	dd	ee	ff	ff	ff	G_
MG 408-01- 3	MG0294-6R1	aa	?	?	BB	bb	RE	cc	cc	cc	D_	ee	ff	ff	ff	G_
UFV 408-10	Híbrido Timor UFV 408-10	aa	?	?	b	bb	bb	cc	cc	cc	D_	E_	ff	ff	ff	gg
MG 408-10- 1	MG0295-3R1	aa	?	?	BB	bb	RE	cc	cc	cc	D_	E_	ff	Ff	RE	gg
MG 408-10- 2	MG0295-5R1	aa	?	?	b	bb	bb	cc	cc	cc	D_	ee	ff	ff	ff	gg
MG 408-10- 3	MG0295-6R1	aa	?	?	BB	bb	RE	cc	cc	cc	D_	E_	ff	?	?	gg
UFV 408-18	Híbrido Timor UFV 408-18	aa	aa	aa	b	bb	bb	C_	C_	C_	D_	E_	ff	Ff	RE	gg
MG 408-18- 1	MG0298-1R1	aa	aa	aa	BB	bb	RE	cc	cc	cc	dd	E_	ff	ff	ff	gg
MG 408-18- 2	MG0298-2R1	?	aa	?	BB	bb	RE	cc	cc	cc	dd	ee	ff	ff	ff	gg
MG 408-18- 3	MG0298-5R1	?	aa	?	BB	bb	RE	cc	cc	cc	D_	E_	ff	ff	ff	gg
UFV 408-26	Híbrido Timor UFV 408-26	aa	aa	aa	BB	bb	RE	C_	cc	RE	D_	ee	Ff	ff	RE	G_
MG 408-26- 1	MG0299-1R1	aa	aa	aa	b	bb	bb	C_	C_	C_	D_	ee	ff	?	?	G_

Tabela Suplementar 1. Continuação																
Código	Descrição da Amostra	Sat 224	Ba 124	LOC O A	CaR HV8	SSR 016	LOC O B	CaR Hv9	CaRH v10	LOC O C	LOC O D	LOC O E	Sat 235	Sat 207	LOC O F	LOC O G
MG 408-26-2	MG0299-2R1	?	aa	?	BB	bb	RE	cc	cc	cc	dd	ee	ff	ff	ff	G_
MG 408-26-3	MG0299-3R1	aa	aa	aa	BB	bb	RE	cc	cc	cc	D_	ee	ff	ff	ff	gg
UFV 408-28	Híbrido Timor UFV 408-28	?	aa	?	BB	bb	RE	cc	cc	cc	dd	ee	ff	ff	ff	G_
MG 408-28-1	MG0300-1R1	aa	aa	aa	BB	bb	RE	C_	cc	RE	D_	ee	ff	?	?	G_
MG 408-28-2	MG0300-3R1	aa	?	?	BB	bb	RE	C_	cc	RE	D_	E_	ff	ff	ff	G_
MG 408-28-3	MG0300-4R1	?	aa	?	BB	bb	RE	C_	C_	C_	dd	ee	ff	ff	ff	G_
UFV 427-01	Híbrido Timor UFV 427-01	aa	?	?	b	bb	bb	cc	cc	cc	dd	ee	ff	ff	ff	G_
MG 427-01-1	MG0302-2R1	aa	?	?	BB	bb	RE	cc	cc	cc	dd	ee	ff	?	?	G_
MG 427-01-2	MG0302-3R1	aa	?	?	BB	bb	RE	cc	cc	cc	dd	ee	ff	ff	ff	G_
MG 427-01-3	MG0302-5R1	?	aa	?	b	bb	bb	cc	cc	cc	dd	ee	?	ff	?	G_
UFV 427-09	Híbrido Timor UFV 427-09	?	aa	?	BB	bb	RE	cc	cc	cc	dd	ee	FF	FF	FF	gg
MG 427-09-1	MG0303-1R1	aa	?	?	BB	bb	RE	cc	cc	cc	dd	ee	ff	ff	ff	G_
MG 427-09-2	MG0303-2R1	aa	aa	aa	BB	bb	RE	cc	cc	cc	dd	ee	ff	ff	ff	gg
MG 427-09-3	MG0303-5R1	aa	aa	aa	BB	bb	RE	cc	cc	cc	dd	ee	ff	ff	ff	gg
UFV 437-02	Híbrido Timor UFV 437-02	?	aa	?	BB	bb	RE	cc	C_	RE	D_	E_	Ff	Ff	Ff	gg
MG 437-02-1	MG0329-5R1	aa	aa	aa	BB	Bb	B_	cc	C_	RE	D_	E_	FF	FF	FF	gg
MG 437-02-2	MG0329-7R1	aa	?	?	BB	Bb	B_	cc	C_	RE	dd	ee	FF	FF	FF	gg
MG 437-02-3	MG0329-8R1	aa	aa	aa	BB	Bb	B_	cc	C_	RE	D_	E_	FF	?	?	gg

Tabela Suplementar 1. Continuação

Código	Descrição da Amostra	Sat 224	Ba 124	LOC O A	CaR HV8	SSR 016	LOC O B	CaR Hv9	CaRH v10	LOC O C	LOC O D	LOC O E	Sat 235	Sat 207	LOC O F	LOC O G
UFV 442-42	Híbrido Timor UFV 442-42	aa	aa	aa	BB	Bb	B_	cc	cc	cc	D_	ee	FF	Ff	Ff	gg
MG 442-42- 1	MG0364-4R1	aa	aa	aa	BB	Bb	B_	cc	C_	RE	D_	ee	Ff	Ff	Ff	gg
MG 442-42- 2	MG0364-6R1	aa	aa	aa	BB	Bb	B_	cc	cc	cc	D_	ee	FF	Ff	Ff	gg
MG 442-42- 3	MG0364-9R1	aa	aa	aa	BB	Bb	B_	cc	cc	cc	dd	E_	FF	FF	FF	gg

RE: Indivíduos recombinantes; ?: genótipos não identificados