



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

FILIPE GIMENEZ CARVALHO

**HERANÇA DA RESISTÊNCIA A *Pseudomonas syringae* pv.  
*garcae* EM CAFEIRO ARÁBICO SILVESTRE DA ETIÓPIA**

---

Londrina  
2019

FILIPE GIMENEZ CARVALHO

**HERANÇA DA RESISTÊNCIA A *Pseudomonas syringae* pv.  
*garcae* EM CAFEIEIRO ARÁBICO SILVESTRE DA ETIÓPIA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em  
Agronomia da Universidade Estadual de Londrina,  
como requisito parcial para a obtenção do título de  
doutor em Agronomia.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Inês Cristina de Batista  
Fonseca

Co-orientador: Dr. Gustavo Hiroshi Sera

Londrina  
2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

C331 Carvalho, Filipe Gimenez.  
HERANÇA DA RESISTÊNCIA A *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* EM CAFEIEIRO ARÁBICO SILVESTRE DA ETIÓPIA / Filipe Gimenez Carvalho. - Londrina, 2019.  
64 f.

Orientador: Inês Cristina de Batista Fonseca.  
Coorientador: Gustavo Hiroshi Sera.  
Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2019.  
Inclui bibliografia.

1. *Coffea arabica* - Tese. 2. Melhoramento genético - Tese. 3. Mancha aureolada do cafeeiro - Tese. I. Cristina de Batista Fonseca, Inês. II. Hiroshi Sera, Gustavo. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. IV. Título.

CDU 63

FILIPPE GIMENEZ CARVALHO

**HERANÇA DA RESISTÊNCIA A *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* EM  
CAFFEEIRO ARÁBICO SILVESTRE DA ETIÓPIA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em  
Agronomia da Universidade Estadual de Londrina,  
como requisito parcial para a obtenção do título de  
doutor em Agronomia.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Inês Cristina de Batista  
Fonseca  
Universidade Estadual de Londrina – UEL

---

Co-orientador: Dr. Gustavo Hiroshi Sera  
Instituto Agronômico do Paraná – IAPAR

---

Dr. Lucas Mateus Rivero Rodrigues  
Instituto Agronômico de Campinas – IAC

---

Dr.<sup>a</sup> Luciana Harumi Shigueoka  
Instituto Agronômico do Paraná – IAPAR

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Paula Barion Alves Nunes  
Universidade Estadual de Londrina – UEL

---

Prof. Dr. Leandro Simões Azeredo Gonçalves  
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Londrina, 24 de junho de 2019.

## **DEDICATÓRIA**

*Aos meus pais, Nilson e Brígida pelo total apoio na minha formação, aos meus irmãos Mateus e Davi pelo companheirismo e à minha esposa Thaís pelo incentivo e cumplicidade.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a presença de Deus em todos os momentos da minha vida.

À Universidade Estadual de Londrina, ao Programa de Pós Graduação em Agronomia e aos docentes que permitiram a realização deste trabalho.

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

Ao Instituto Agrônomo do Paraná por ceder sua infraestrutura, fundamental para o desenvolvimento dos experimentos.

Ao Instituto Agrônomo (IAC) pela disponibilidade da infraestrutura para a realização de parte do trabalho.

À Inquima pelo suporte e compreensão ao permitir a conclusão deste trabalho.

A Professora Dr<sup>a</sup>. Inês Cristina de Batista Fonseca, pela orientação e confiança depositada.

Ao Dr. Gustavo Hiroshi Sera pela co-orientação e valorosos ensinamentos transmitidos durante todas as etapas do trabalho.

Ao Dr. Lucas Mateus Rivero Rodrigues pelo apoio técnico e ensinamentos compartilhados.

Ao Dr. Tumoru Sera pela generosidade em partilhar seu vasto conhecimento e experiência.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Melhoramento Genético do Café do IAPAR pelo apoio técnico e auxílio com os experimentos.

À minha família, pelas orações, apoio e amor incondicional.

À minha esposa pelo carinho e presença.

Aos meus amigos, pelo incentivo e momentos de descontração.

E a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

CARVALHO, Filipe Gimenez. **Herança da resistência a *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* em cafeeiro arábico silvestre da Etiópia.** 2019. 64 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2019.

## RESUMO

A mancha aureolada do cafeeiro é uma importante doença causada pela bactéria *Pseudomonas syringae* pv. *garcae*, e tornou-se um fator limitante que afeta lavouras em formação, ou recém-podadas, localizadas em regiões elevadas altitudes e expostas ao vento. O uso de cultivares resistentes, é a alternativa mais eficiente e econômica para o controle da doença, entretanto, até o momento só existe uma cultivar resistente à bacteriose, IPR 102, e ainda é pouco cultivada. Ainda são desconhecidos o modo de ação gênico e o número de genes que controlam a resistência. O objetivo deste trabalho foi estudar o controle genético da resistência do cafeeiro arábico da Etiópia E 287 a *Pseudomonas syringae* pv. *garcae*. Para caracterizar a herança de resistência, o cafeeiro da Etiópia foi o parental resistente (P<sub>1</sub>) e o genótipo Sarchimor Mococa o suscetível (P<sub>2</sub>). Estes foram utilizados para a obtenção das gerações F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> e retrocruzamentos RC<sub>1</sub> e RC<sub>2</sub>. Foram avaliadas 20 plantas do P<sub>1</sub>, 19 plantas do P<sub>2</sub>, 15 plantas da população F<sub>1</sub>, 152 plantas da população F<sub>2</sub>, e 40 plantas de cada uma das populações obtidas nos retrocruzamentos RC<sub>1</sub> e RC<sub>2</sub>. As folhas novas de todas as mudas foram inoculadas pelo método da abrasão com a linhagem IBSBF 1197 da bactéria. As avaliações da severidade foram efetuadas aos 30 dias após as inoculações, seguindo uma escala de 0 a 5 pontos. A partir dos dados obtidos foram realizadas a análise das médias das gerações, o teste de modelos genéticos por meio da função de máxima verossimilhança e o teste qui-quadrado ( $\chi^2$ ). Através destas análises constatou-se que a herança da resistência a *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* em Etiópia E 287 é controlada por três genes de efeito principal (*Ps1*, *Ps2*, *Ps3*) de caráter qualitativo, com dominância completa e segregação independente. Somente um dos genes sozinho faz com que a planta seja resistente, e dois são epistáticos entre si, ou seja, as plantas são resistentes quando um dos seus alelos são dominantes nos dois genes, enquanto que as plantas são suscetíveis quando um dos genes apresenta dois alelos recessivos.

**Palavras-chave:** *Coffea arabica*. Melhoramento genético. Mancha aureolada do cafeeiro.

CARVALHO, Filipe Gimenez. **Inheritance of resistance to *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* in wild arabica coffee from Ethiopia.** 2019. 64 p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2019.

### ABSTRACT

The bacterial halo blight is an important disease caused by the bacterium *Pseudomonas syringae* pv. *garcae*, and has become a limiting factor that affects growing or newly pruned crops located at high altitudes and exposed to wind. The use of resistant cultivars is the most efficient and economical alternative for disease control, however, to date there is only one resistant cultivar, IPR 102, and it is still little cultivated. The mode of gene action and the number of genes that control resistance are unknown. The objective of this work was to study the genetic control of resistance of Ethiopian arabica coffee tree E 287 to *Pseudomonas syringae* pv. *garcae*. To characterize resistance inheritance, Ethiopian coffee was the resistant parent (P1) and the susceptible Sarchimor Mococa genotype (P2). These were used to obtain F1, F2 generations and RC1 and RC2 backcrosses. Twenty plants from P1, 19 plants from P2, 15 plants from population F1, 152 plants from population F2, and 40 plants from each of the populations obtained in the RC1 and RC2 backcrosses were evaluated. New leaves of all seedlings were inoculated by the abrasion method with the bacterial IBSBF 1197 strain. Severity assessments were performed 30 days after inoculation, following a scale of 0 to 5 points. From the obtained data, the analysis of the generation averages, the genetic models test using the maximum likelihood function and the chi-square test ( $\chi^2$ ) were performed. Through these analyzes it was found that the inheritance of resistance to *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* in Ethiopia E 287 is controlled by three qualitative main effect genes (Ps1, Ps2, Ps3), with complete dominance and independent segregation. Only one of the genes alone makes the plant resistant, and two are epistatic to each other, that is, plants are resistant when one of their alleles is dominant in both genes, while plants are susceptible when one of the genes has two recessive alleles.

**Key words:** *Coffea arabica*. Genetic breeding. Bacterial halo blight.



## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Distribuição de frequência de mudas com sintomas de mancha aureolada das gerações P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, RC<sub>1</sub>e RC<sub>2</sub> a partir do cruzamento entre Etiópia E 287 x Sarchimor Mococa. .... 44

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Modelos genéticos e seus respectivos parâmetros utilizados pelo programa Monogen v. 0.1. ....	43
<b>Tabela 2</b> – Estimativas dos parâmetros genéticos para a resposta à infecção de <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>garcae</i> , avaliados em plantas das gerações P <sub>1</sub> , P <sub>2</sub> , F <sub>1</sub> , F <sub>2</sub> , RC <sub>1</sub> e RC <sub>2</sub> . ....	46
<b>Tabela 3</b> – Estimativas de efeitos genéticos para a resposta à infecção de <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>garcae</i> no modelo completo, avaliados em plantas das gerações P <sub>1</sub> , P <sub>2</sub> , F <sub>1</sub> , F <sub>2</sub> , RC <sub>1</sub> e RC <sub>2</sub> a partir do cruzamento Etiópia E 287 x Sarchimor Mococa. ....	46
<b>Tabela 4</b> – Estimativas dos efeitos genéticos para a resposta à infecção de <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>garcae</i> , no modelo aditivo-dominante (m, a, d), avaliados em plantas das gerações P <sub>1</sub> , P <sub>2</sub> , F <sub>1</sub> , F <sub>2</sub> , RC <sub>1</sub> e RC <sub>2</sub> .....	47
<b>Tabela 5</b> – Testes de hipótese para os modelos genéticos hierárquicos da herança de resistência de <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>garcae</i> em <i>Coffea arabica</i> (MODELO 1).....	48
<b>Tabela 6</b> – Constituições genéticas nas gerações segregantes F <sub>2</sub> e RC <sub>2</sub> provenientes do cruzamento Etiópia E 287 x Sarchimor Mococa, considerando a resistência a <i>P. syringae</i> pv <i>garcae</i> controlada por dois e três genes.....	50
<b>Tabela 7</b> – Segregação fenotípica de resistência e suscetibilidade a <i>P. syringae</i> pv. <i>garcae</i> em gerações P <sub>1</sub> , P <sub>2</sub> , F <sub>1</sub> , F <sub>2</sub> , RC <sub>1</sub> e RC <sub>2</sub> e qui-quadrados ( $\chi^2$ ) para segregações em F <sub>2</sub> e RC <sub>2</sub> . ....	51

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	11
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	13
2.1	CAFÉ.....	13
2.2	O GÊNERO COFFEA .....	13
2.2.1	Coffea Arabica .....	14
2.3	MELHORAMENTO GENÉTICO DO CAFÉ ARÁBICA.....	15
2.4	ESTUDOS GENÉTICOS EM COFFEA ARABICA.....	18
2.5	ESTUDOS GENÉTICOS COM PSEUDOMONAS SYRINGAE.....	23
2.6	MANCHA AUREOLADA DO CAFEIRO.....	25
2.6.1	Agente Causal .....	25
2.6.2	Sintomas, Perdas E Danos .....	27
2.6.3	Disseminação E Sobrevivência.....	28
2.7	CONTROLE DA MANCHA AUREOLADA .....	29
2.7.1	Controle Cultural .....	29
2.7.2	Controle Químico.....	30
2.7.3	Controle Genético .....	31
<b>3</b>	<b>ARTIGO A: HERANÇA DA RESISTÊNCIA A <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>garcae</i> EM CAFEIRO ARÁBICO SILVESTRE DA ETIÓPIA</b> .....	34
3.1	RESUMO.....	34
3.2	ABSTRACT .....	35
3.3	INTRODUÇÃO .....	36
3.4	MATERIAL E MÉTODOS .....	37
3.4.1	Material Vegetal.....	37
3.4.2	Local E Período De Implantação Do Experimento.....	38
3.4.3	Linhagem Bacteriana E Preparo Do Inóculo .....	38
3.4.4	Avaliação Da Resistência À Mancha-Aureolada.....	39
3.4.5	Análise Dos Dados.....	39
3.4.5.1	Análise das médias das gerações .....	40
3.4.5.1.1	<i>Número de genes</i> .....	41

3.4.5.2	Teste de significância – Teste $\chi^2$ .....	42
3.4.5.3	Teste de modelos genéticos por meio da função de máxima verossimilhança.....	42
3.5	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	43
3.5.1	Análise Das Médias Das Gerações .....	45
3.5.1.1	Número de genes.....	47
3.5.2	Teste De Modelos Genéticos Por Meio Da Função De Máxima Verossimilhança.....	45
3.5.3	Teste De Significância – Teste $\chi^2$ .....	49
3.6	CONCLUSÃO.....	52
<b>4</b>	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>53</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O café é uma das principais *commodities* agrícolas e o Brasil tem liderado por décadas este mercado como o maior produtor, com 61,7 milhões de sacas (60 kg) produzidas em 2018 (CONAB 2018), e também o maior exportador, com 30,6 milhões de sacas, representando 17,3% das exportações mundiais em 2017 (ICO 2019). Esse cultivo proporciona alta rentabilidade para produtores que adotam tecnologias adequadas, podendo alcançar rendimentos superiores a 50 sacas beneficiadas por hectare, bem acima da média nacional, estimada em 33,07 sacas por hectare para a safra 2018 (CONAB 2018).

Diversos fatores interferem negativamente na produção e na produtividade da cultura do café, como estresses abióticos (seca, temperaturas extremas, umidade, entre outros) e bióticos, por meio do ataque de pragas e doenças (ferrugem, cercosporiose, mancha aureolada, bicho mineiro, nematoides, entre outros). A mancha aureolada (MA) é uma importante doença provocada pela bactéria *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* (Psg) e ocorre em regiões cafeeiras mais frias e com maior exposição ao vento (BELAN et al., 2014).

Essa bacteriose atinge mudas nos viveiros e plantas jovens e adultas no campo, com sintomas nas folhas, rosetas, frutos jovens e ramos. Os sinais característicos ocorrem nas folhas como lesões necróticas irregulares de coloração marrom-escuro e circundadas de halo amarelado. A intensidade dessa doença pode ser amenizada com a utilização de algumas medidas preventivas, como evitar a entrada da doença na lavoura pela utilização de mudas sadias e o plantio de quebra-ventos, que nem sempre são utilizados nas propriedades (BADEL; ZAMBOLIM, 2019).

Recentemente foi comprovado que sementes provenientes de cafeeiros com sintomas da mancha aureolada podem conter inóculo viável da bactéria (BELAN et al., 2016), porém a dispersão do patógeno ocorre principalmente ao serem carregadas pela água por meio de respingos de chuva, chuva de granizo ou água de irrigação de lavouras ou plantas vizinhas infectadas. O controle químico pode ser realizado por meio de aplicações foliares de produtos à base de cobre como hidróxido de cobre e óxido cuproso e cloridrato de casugamicina (antibiótico) de forma antecipada à ocorrência da doença, caso contrário esses produtos terão baixa eficiência. (RODRIGUES et al., 2013).

O uso de cultivares resistentes é considerado uma das principais alternativas para o controle da MA. Porém, atualmente existem poucos cultivares, como o IPR 102, considerado completamente resistente, enquanto outros como IPR 103, IPR 104, IPR 108 e

IAPAR 59 apresentam resistência moderada (ITO et al., 2008). Foram considerados resistentes ou imunes os cafeeiros denominados *Hara*, *Dilla* e *Alghe*, *S12 Kaffa* e *Geisha* (MORAES et al., 1975), além de 38 introduções originárias da Etiópia, identificadas por Mohan et al. (1978), que definiram também como resistentes as variedades *semirecta*, *ennarea* e *geisha* de *C. arabica*, o acesso M7846, com resistência simultânea à ferrugem (*Hemileia vastatrix*), derivados de híbridos interespecíficos de *C. canephora* x *C. arabica* e as espécies *C. eugenioides* e *C. stenophylla*.

A resistência de plantas a um determinado fator adverso é caracterizada pelo número de genes que controlam a característica, podendo ser monogênica, oligogênica ou poligênica (BALDISSERA et al., 2014). O entendimento do modo como a resistência à MA é herdada tem grande importância na definição da estratégia a ser adotada para incorporá-la em outros genótipos de café. O conhecimento da natureza e extensão dos efeitos gênicos que controlam um caráter é fundamental para os processos de seleção e previsão do comportamento das gerações segregantes (LOBO et al., 2005).

Até o momento não existem trabalhos publicados sobre o controle genético de caracteres ligados à resistência de cafeeiros a mancha aureolada. Deste modo, o objetivo deste trabalho foi caracterizar a herança da resistência do cafeeiro E 287 da Etiópia a *P. syringae* pv. *garcae* e determinar o número de genes envolvidos nessa expressão.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 CAFÉ

O café é uma das principais *commodities* agrícolas, sendo produzido extensivamente em aproximadamente 60 países em regiões tropicais e subtropicais. Desses países, somente 15 produzem acima de 1 milhão de sacas por ano. O Brasil produz atualmente 17,3% do café consumido no mundo, o que o coloca como maior produtor e exportador mundial (ICO, 2019).

A produção brasileira de café em 2018 apresentou alta em relação à safra 2017, com 61,7 milhões de sacas colhidas, esse resultado representa um acréscimo de 31,7%, comparado à safra anterior, em razão da bienalidade positiva nas maiores regiões produtoras. A produtividade por hectare também foi maior em relação à safra 2017, alcançando 33 sacas. O café arábica corresponde a 67% da produção brasileira, enquanto o café conilon corresponde ao restante (CONAB, 2018).

O cultivo de café no Brasil tem área estimada em 2,16 milhões de hectares, dos quais 13,6% ainda estão em formação. O maior estado produtor é Minas Gerais com 56,6% da área em produção no Brasil, seguido por Espírito Santo, São Paulo, Bahia, Rondônia, Paraná, Rio de Janeiro, Goiás e Mato Grosso (CONAB, 2018).

A cadeia produtiva de café no Brasil é bastante complexa e pode ser dividida em fornecedores de insumos para a produção agrícola, produtores rurais, cooperativas, corretores, indústria (torrefação e moagem, solúvel, cápsulas) exportadores de café verde, atacado interno e externo e, por fim, os consumidores (CONCEIÇÃO, 2017). Com essa cadeia produtiva são gerados empregos e renda para os diversos setores de produção, comércio, indústria e serviços, além de arrecadar taxas e impostos para os governos dos estados e municípios. O café é responsável por significativa geração de divisas para o país e no ano de 2018 gerou 5,14 bilhões de dólares somente em exportações (CECAFÉ, 2019).

### 2.2 O GÊNERO *COFFEA*

Os cafeeiros pertencem à divisão das Fanerógamas, classe Angiosperma, subclasse Eudicotiledônea, ordem Rubiales, família Rubiaceae, tribo Coffeae, subtribo Coffeinae e gênero *Coffea* L. (DAVIS et al., 2006).

O gênero *Coffea* L. é dividido em dois subgêneros *Coffea* subgen. *Coffea* e *Coffea* subgen. *Baracoffea*. A maioria das espécies de *Coffea* L. pertencem ao subgênero *Coffea*, possui 124 espécies descritas (DAVIS et al., 2011) incluindo *C. arabica* e *C. canephora*, utilizadas para o consumo da bebida, além de espécies utilizadas no melhoramento genético do cafeeiro, como: *C. liberica*, *C. dewevrei*, *C. congensis*, *C. racemosa*, *C. eugenoides*, *C. kapakata*, entre outras e ocorre em toda a extensão natural do gênero no continente africano, Madagascar e Ilhas Mascarenhas. O subgênero *Coffea Baracoffea* contém apenas três espécies aceitas e é restrito a florestas do oeste de Madagascar (DAVIS et al., 2006).

### 2.2.1 *Coffea arabica*

O café arábica é uma planta perene e autógama com frequente alogamia. O fruto é climatérico e, quando maduro, é conhecido como cereja, podendo apresentar exocarpo de cor vermelha ou amarela. O fruto é do tipo drupa, com duas sementes chatas que possuem um sulco ventral no sentido longitudinal. A semente possui uma película, endosperma verdadeiro de cor verde e um pequeno embrião com dois cotilédones. Devido à cor do endosperma, o grão de café cru é comercialmente chamado de café verde (*green coffee*) (SAKIYAMA, 2015).

Esta espécie é nativa da região localizada entre sudoeste da Etiópia, sudeste do Sudão e norte do Quênia, regiões com altitudes elevadas, que variam entre 1000 a 3000 metros (ANTHONY et al., 2001). Nesta região ocorrem altitudes entre 1600 a 2800 m e a temperatura do ar com média anual de cerca de 20°C. A precipitação é bem distribuída, variando de 1600 a mais de 2000 mm, com uma estação seca durando de três a quatro meses, coincidindo com o período mais frio (DAMATTA; RAMALHO, 2006)

*Coffea arabica* é um alotetraploide verdadeiro com 44 cromossomos, enquanto *C. canephora* e as demais espécies do gênero *Coffea* são diploides com 22 cromossomos. O número básico de cromossomos do gênero *C. arabica* é 11 e apresenta a segregação genética típica de espécies diploides para a maioria dos locos estudados, mas uma pequena parte dos locos apresenta desvio dessa segregação com herança tetrassômica ou distorção da segregação. (TEIXEIRA-CABRAL et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2007). O tamanho estimado de genoma é de  $2,56 \times 10^9$  pares de bases para *C. arabica* (CLARINDO; CARVALHO, 2009).



*Coffea arabica* é autofértil com cerca de 10% de polinização cruzada (CARVALHO; MÔNACO, 1964) e vários estudos de natureza genética (CHARRIER; BERTHAUD, 1985), citológica (PINTO-MAGLIO; CRUZ, 1987), relacionados à origem geográfica (CARVALHO; MÔNACO, 1964), e através de estudos moleculares comprovaram que *C. arabica* foi originada de uma hibridação natural de gametas não reduzidos entre duas espécies diplóides de café, *C. canephora* e *C. eugenioides* (LASHERMES et al., 1999).

### 2.3 MELHORAMENTO GENÉTICO DO CAFÉ ARÁBICA

O melhoramento de café é uma das áreas de pesquisa que vêm proporcionando grandes contribuições para o aumento da produtividade e da qualidade. Por ser uma planta perene, o melhoramento para todos os caracteres demanda um longo tempo (PEREIRA, 2010).

As primeiras cultivares introduzidas no Brasil foram Typica e Bourbon Vermelho, nos anos de 1727 (CAMARGO; TELES Jr., 1953) e 1859 (CARVALHO, 2007), respectivamente, sendo essa última considerada de maior produtividade. Após isso, foi introduzida a cultivar Sumatra, que é uma derivada de Typica de maior produtividade (CARVALHO, 1952). Mutações e híbridos espontâneos foram aproveitados pelos programas de melhoramento, originando as cultivares Maragogipe, Amarelo de Botucatu, Caturra Vermelho, Caturra Amarelo e Bourbon Amarelo (CARVALHO, 1952; CARVALHO et al., 1957; MÔNACO, 1960; PEREIRA; BAIÃO, 2015).

O melhoramento genético do cafeeiro no Brasil teve início, com muito mais intensidade, no ano de 1933, quando foi criada a Seção de Genética do Instituto Agrônomo (IAC) (CARVALHO; FAZUOLI, 1993). A partir de um cruzamento espontâneo entre as cultivares Sumatra e Bourbon Vermelho, o IAC realizou várias seleções a partir 1943 até iniciar a multiplicação da cultivar Mundo Novo em 1952. Novas seleções foram liberadas pelo IAC a partir de 1977 (CARVALHO, 1981, 1985). Ganhos expressivos na produtividade foram obtidos com a cultivar Mundo Novo. Em experimentos conduzidos em Campinas, Jaú e Mococa, foi observado que as melhores progênies de ‘Mundo Novo’ chegaram a produzir 80% a mais que o material original (sem seleção); 50% a mais do que as melhores seleções de ‘Bourbon Amarelo’; 95% a mais que as melhores seleções de ‘Bourbon Vermelho’ e 240% a mais do que as progênies de ‘Typica’ (FAZUOLI et al., 2008).

A partir de 1972, a cafeicultura brasileira também teve um grande ganho com as cultivares do grupo Catuaí, que surgiram da hibridação artificial de Caturra Amarelo IAC 476-11 com Mundo Novo IAC 374-19 realizado no IAC em 1949, com o intuito de transmitir os alelos responsáveis pelo porte baixo (*CtCt*) de Caturra Amarelo para Mundo Novo (CARVALHO et al., 2008; GUERREIRO FILHO; RAMALHO; ANDRADE, 2018).

Antes da constatação da ferrugem alaranjada do cafeeiro no Brasil, no início da década de 1970, eram realizados outros programas de melhoramento visando a resistência à essa doença em várias instituições brasileiras, como EPAMIG (Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais) (PEREIRA et al., 2013), IAC (Instituto Agrônomo) (FAZUOLI et al., 2007), IAPAR (Instituto Agrônomo do Paraná) (SERA, 2001) e ex-IBC (Instituto Brasileiro do Café) (MEDINA FILHO et al., 2008), utilizando como fontes de resistência cafeeiros arábicos com introgressão de *C. canephora* como Icatu e Híbrido de Timor e com introgressão de *C. liberica* como derivados da série BA.

Além da resistência à ferrugem, outras linhas de pesquisa foram iniciadas, buscando desenvolver cultivares com resistência a outros patógenos, aos nematoides do gênero *Meloidogyne*, à insetos como o bicho-mineiro (*Leucoptera coffeella*) e broca (*Hypotenemus hampei*), à fatores abióticos como seca e geadas, entre outras características, sempre aliadas à alta produtividade (MEDINA FILHO et al., 2008; SERA, 2001; FAZUOLI et al., 2007). A maioria das cultivares lançadas nos últimos 25 anos, tiveram início com os trabalhos desenvolvidos na década de 70.

Após quatro décadas de intenso melhoramento genético realizado pelos melhoristas do Brasil foi possível lançar diversas cultivares originadas dos cruzamentos: Villa Sarchí x Híbrido de Timor (Sarchimor), Caturra x Híbrido de Timor (Catimor) Icatu, Catuaí x Mundo Novo, Icatu x Catuaí, Catuaí x Híbrido de Timor, Catimor x Acaiá, Sarchimor x Catuaí, Sarchimor x Mundo Novo, Catuaí x (Catuaí x BA-10) e Icatu x Catimor (CARVALHO et al., 2008; PEREIRA; BAIÃO, 2015; MATIELLO et al., 2015b).

Um dos principais desafios dos programas de melhoramento de café do Brasil é desenvolver cultivares de café arábica com produtividades superiores aos das cultivares mais antigas como as dos grupos Catuaí e Mundo Novo, as quais ainda são as mais cultivadas no Brasil, segundo Chalfoun e Reis (2010), pois são produtivas e possuem ampla adaptabilidade no Brasil, porém são suscetíveis à ferrugem (FAZUOLI et al., 2008).

Algumas cultivares superaram as produtividades do Catuaí no noroeste do estado do Rio de Janeiro, como é o caso das cultivares Catucaí Amarelo 20/15, Sabiá 398,

Catiguá MG 02, Catucaí Amarelo 24/137, IPR 103, IPR 100 e Acauã, que foram mais produtivas do que Catuaí Vermelho IAC 144 (RODRIGUES et al., 2014). Sabiá 398 foi mais produtivo do que Catuaí Amarelo IAC 74 no município de Varginha, estado de Minas Gerais (PAIVA et al., 2010) e IPR 102 foi mais produtivo em quatro locais no estado do Paraná (SERA; SERA; FAZUOLI, 2017). Em um estudo efetuado em quatro ambientes de Minas Gerais, foi observado que Sabiá Tardio, Pau Brasil MG1, Obatã IAC 1669-20, Catucaí Amarelo 24/137 e IPR 103 destacaram-se por serem as mais produtivas, com estabilidade e adaptabilidade independentemente do ambiente, além de possuírem resistência total ou parcial à ferrugem (CARVALHO et al., 2012).

Apesar de existir muitas cultivares no Brasil, a base genética de *C. arabica* é bastante estreita (CARVALHO, 1993) e a maioria das cultivares dessa espécie foi derivada de duas formas botânicas: *Typica* e *Bourbon*. Como já relatado anteriormente, os híbridos interespecíficos Híbrido de Timor, Icatu e cafeeiros da série BA também contribuíram para ampliar a base genética das cultivares modernas de café arábica, pois possuem genes de *C. canephora* e *C. liberica*, respectivamente.

Uma diversidade genética maior comparado à esses genótipos é observada em cafeeiros do centro de origem da espécie *C. arabica*, que se encontra nos altiplanos do sudoeste da Etiópia. Esses recursos genéticos oriundos da Etiópia constituem uma grande fonte de alelos para o melhoramento genético (SILVESTRINI et al., 2007). A necessidade da ampliação da base genética de *C. arabica* motivou uma expedição organizada pela FAO na década de 1960, em que foram coletadas sementes de 621 genótipos de *C. arabica* silvestres, originários de vários locais da Etiópia. As amostras coletadas foram encaminhadas para seis institutos, na Índia, Tanzânia, Etiópia, Costa Rica, Peru e Portugal (MEYER et al., 1968).

Dos acessos coletados, 308 foram disponibilizados ao IAC pelo Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza - CATIE (Costa Rica) (SILVESTRINI et al., 2007) e destes, 144 acessos foram repassados ao Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR).

Nas últimas décadas, os institutos de pesquisa vêm avaliando esses genótipos para diversas características, como resistência a nematoides do gênero *Meloidogyne* (ANZUETO et al., 2001; BOISSEAU et al., 2009; FATOBENE et al., 2017), caracterização nutricional (SANTOS et al., 2015), tolerância à seca (QUEIROZ-VOLTAN et al., 2014; CARVALHO et al., 2017) qualidade de bebida (BERTRAND et al., 2006), teores de cafeína (SILVAROLLA; MAZZAFERA; FAZUOLI, 2004) e outros componentes químicos (SCHOLZ et al., 2016), diversidade molecular (SILVESTRINI et al., 2007), resistência à mancha

aureolada (MORAES et al., 1975; MOHAN et al., 1978), entre outros temas de pesquisa em andamento, visando explorar a variabilidade genética existente nesses cafeeiros.

#### 2.4 ESTUDOS GENÉTICOS EM *COFFEA ARABICA*

Em *Coffea arabica* L. a realização de estudos genéticos é mais onerosa e demorada que na maioria das outras espécies cultivadas, por dois principais motivos. Primeiramente, esta espécie é um alotetraploide do tipo segmental, ou seja, formada pela justaposição de dois genomas de  $n=11$ , dos quais certos cromossomos conservam uma grande similaridade, assim não é possível identificar muitas plantas mutantes. A outra razão é o longo ciclo de semente a semente, que leva de 3 a 4 anos (CARVALHO et al., 1991), assim trabalhos de caracterização de herança levam aproximadamente oito anos para a obtenção de populações para o estudo.

Apesar desses fatos, alguns estudos foram realizados e outros encontram-se em andamento. Em 1932, no IAC, foi iniciado um plano bastante amplo de estudos biológicos e agrônomicos do cafeeiro e, particularmente de melhoramento. Assim foram realizados estudos de sistemática, de citologia, de biologia da reprodução, de genética e de técnicas agrônomicas (CARVALHO, 2007) que na época contava com um número reduzido de cultivares.

A Seção de Genética do IAC, identificou e analisou cerca de 40 mutantes, esclarecendo a herança de diversos caracteres tendo como base na maioria dos casos a cultivar Typica, contribuindo para o entendimento das relações de dominância ou epistasia entre os fatores (MENDES et al., 2002).

A primeira análise genética foi realizada por Krug, Mendes e Carvalho (1939), objetivando esclarecer em *C. arabica* as relações genéticas entre os cultivares Bourbon Vermelho e Murta, e as plantas anãs surgidas na descendência. Os autores verificaram que dois alelos (*TT*) controlam a condição Typica na condição homozigota dominante (*TTNaNa*) e qualquer variação na constituição desses locos poderia alterar o fenótipo. Plantas  $F_1$ , resultantes da hibridação entre os cultivares Typica e plantas anãs (*nana*) são de aspecto normal, semelhantes às do Typica, porém em  $F_2$  foram obtidos sete fenótipos diferentes: Typica (*TTNaNa*; *TtNaNa*), Quase Typica (*TTNana*, *TtNana*), Quase Typica semelhante a Bourbon (*TTnana*), Murta com folhas maiores (*Ttnana*), Bourbon (*ttNaNa*), Murta (*ttNana*) e Anã ou Nana (*ttnana*). Com este estudo foi possível verificar que há diferença genética entre o Arabica

(*TT*) e o Bourbon (*tt*), assim todas as variações de *C. arabica* e mutantes poderiam ser classificadas com relação a esse loco como oriundos do Arabica ou do Bourbon. Mendes (1941) também investigou algumas plantas mutantes encontradas nas variedades Bourbon, Murta e Nana, demonstrando instabilidade no par de alelos *Na-na*.

Outras características presentes em mutantes de *C. arabica* foram estudados no IAC por Krug e Carvalho, algumas sem interesse comercial, mas que poderiam ter potencial em programas de melhoramento do cafeeiro (MENDES et al., 2002). A fasciação dos ramos, flores e frutos deve-se à ação de um gene (*FsFs*) com dominância incompleta. Anômala e Anormalis são mutantes com algumas diferenças morfológicas, mas com muitas características em comum e distintas do *Typica*, e apresentam ramificação densa e internódios curtos, folhas anormais e malformadas, multicaule e mais altas que *Typica*. A mutação *Anômala* é devido à um fator recessivo (*an*), enquanto *Anormalis* apresenta dominância incompleta do fator *Am*. Os fatores *Anômala* e *Anormalis* acham-se ligados, com valor de recombinação de cerca de 15% e trata-se do primeiro exemplo de ligação gênica constatada em *C. arabica* (CARVALHO et al. 1991).

A herança da cor de frutos, sementes e brotos novos também já foi realizada. Para a cor dos brotos novos, são visualizadas as cores verde (*brbr*), bronze-claro (*Brbr*) e bronze-escuro (*BrBr*), sendo bronze escuro de dominância incompleta em relação ao verde (KRUG; CARVALHO, 1942). Na característica cor dos frutos maduros, a cor amarela é controlada pela ação de um par de alelos recessivos *xcxc* denominado xantocarpa, frutos vermelhos são homocigotos *XcXc*, sendo sua dominância incompleta e as plantas heterocigotas têm frutos com casca laranja (*Xcxc*) (KRUG; CARVALHO, 1940). As sementes de *C. arabica* normalmente apresentam o endosperma de cor esverdeada, porém foram encontrados cafeeiros com sementes de coloração amarelada, conhecidos como café Cera, o fator responsável por essa característica (*ce*) revelou-se recessivo, sendo amarelada apenas as sementes de constituição *cecece* (CARVALHO; KRUG, 1949).

A espécie *C. arabica* em geral, floresce de três a quatro vezes ao ano a partir do período chuvoso, porém em uma mutação derivada da cultivar Bourbon Vermelho, denominada *Semperflorens*, a floração é contínua durante todo o ano. Essa variedade apresenta folhagem densa e de verde intenso, ramos mais curtos que *Typica* e aparentemente mais resistentes à seca. Análises genéticas revelaram que essa característica é controlada por apenas um par de alelos recessivos (*sf*) (CARVALHO; KRUG, 1952).

Com relação à posição dos ramos, na cultivar *Typica* esse ângulo varia de 50° a 85°, porém em cafeeiros descritos como *Erecta*, todos os ramos laterais estão em posição mais vertical junto à haste principal, com ângulos que variam de 11° a 41°, sendo todas as outras características iguais a *Typica*. A característica *erecta* é dominante (*Er*) e controlada por apenas um gene (KRUG; CARVALHO, 1950).

O café *Laurina*, provavelmente uma mutação do *Bourbon Vermelho*, apresenta porte menor, forma cônica, multicaule, ramificação lateral densa, com ramificação e internódios curtos, folhas pequenas e elípticas, frutos pequenos e afilados na base, somente as folhas apresentam forma e tamanho normais. Após estudo genético, Krug, Carvalho e Antunes Filho (1954) verificaram que essas características são controladas por um par de fatores genéticos recessivos (*lrlr*). Esse genótipo tem a importante característica de apresentar em suas sementes aproximadamente a metade (0,6%) do teor de cafeína encontrado em outras cultivares de *C. arabica* (1,2%) (CARVALHO; TANGO; MÔNACO, 1965).

Outras mutações em cafeeiros também apresentam o porte reduzido, foram e ainda são de interesse nos programas de melhoramento genético pela facilidade na colheita que proporcionam. Os cultivares mais conhecidos e estudados são o *Caturra*, *Pacas*, *Villa Sarchi*, *San Ramon*, *Vila Lobos* e *São Bernardo* (CARVALHO et al., 1991). Estudos genéticos foram realizados e verificados para determinar a herança dos fatores que os caracterizam. *Caturra* é a primeira mutação encontrada de porte reduzido e com elevada capacidade produtiva, suas características são controladas por um par de alelos dominantes (*CtCt*). Esse genótipo vem contribuindo nos programas de melhoramento ao transmitir sua característica aos cultivares comerciais, um exemplo é a transferência do fator *Ct* para a cultivar *Mundo Novo*, dando origem a cultivar *Catuai* (CARVALHO; MÔNACO, 1972), até hoje, uma das cultivares mais plantadas no Brasil.

O café *Pacas*, descoberto em El Salvador e o *Vila Sarchi* na Costa Rica, apresentam as mesmas características do *Caturra* e por meio de testes de hibridação com o mesmo, indicam que essas três cultivares possuem o alelo *Ct* (CARVALHO et al., 1991). O café *São Bernardo*, originário da Guatemala tem porte menor que o *Caturra* e internódios muito curtos, essas características ocorrem devido à ação de um par de alelos dominantes (*SbSb*), enquanto que o *Vila Lobos*, também compacto, com entrenós curtos e ramificação lateral abundante é portador de um outro fator genético dominante e independente de *Ct* e *Sb*, ao qual se deu o símbolo *IV*. *San Ramon* também originário da Costa Rica possui entrenós muito curtos, semelhante ao *São Bernardo*, com folhas elípticas e de cor verde escura e a maturação dos frutos

é um pouco mais tardia. A análise genética indica que essa variedade é portadora do fator dominante *Sr* (CARVALHO et al., 1984).

A mutação Maragogipe também foi estudada e verificaram que seus caracteres, aumentados em relação à cultivar original (Typica), devem-se à ação de um par de alelos dominantes (*MgMg*), apesar de ter sementes maiores que o Typica, tem baixa capacidade produtiva pelo menor número de flores por axila e reduzida taxa de pegamento (KRUG; CARVALHO, 1942). Híbridos de Maragogipe com outras cultivares estão sendo pesquisados com a intenção de obter cultivares de porte baixo, boa qualidade de bebida e sementes graúdas (MENDES et al., 2002).

A primeira tentativa para se estudar a hereditariedade da resistência a algum patógeno em cafeeiros foi realizada por Mayne, em 1935, na Índia, estudando a herança da resistência no patossistema *Coffea* spp. vs. *H. vastatrix* (ferrugem do cafeeiro) (BETTENCOURT, 1981). A partir deste trabalho, muitos outros foram realizados com esse foco.

A resistência do cafeeiro à ferrugem tem sido atribuída a ao menos nove genes dominantes (*SH1* a *SH9*), atuando sozinhos ou em conjunto. *Coffea arabica* é fonte dos genes *SH1*, *SH2*, *SH4* e *SH5*; *Coffea liberica* do *SH3*; e *C. canephora* de *SH6*, *SH7*, *SH8* e *SH9* (NORONHA-WAGNER; BETTENCOURT, 1967; BETTENCOURT; NORONHA-WAGNER, 1971; BETTENCOURT; RODRIGUES, 1988). Genes maiores e menores de *C. canephora* também podem condicionar resistência à ferrugem (ESKES; DA COSTA, 1983; BETTENCOURT; RODRIGUES, 1988; ESKES et al., 1990; VÁRZEA; MARQUES, 2005; ROMERO et al., 2014).

A moléstia conhecida como CBD (*Coffee Berry Disease*) causada pelo patógeno *Colletorichum coffeanum*, também já foi estudada geneticamente, mas ainda não há consenso sobre seu controle genético. Essa doença causa sérios prejuízos à produção no continente africano pelo ataque de frutos novos em cultivares de *C. arabica*. Aparentemente são três os locos responsáveis pela resistência, dois deles (*R* e *K*) oriundos de *C. arabica* e o fator *T* possivelmente de *C. canephora*, portanto herança oligogênica (VOSSSEN; WALYARO, 1980, 2009). Estudos realizados por Belachew (2001) revelaram através de análise de gerações que ocorre variação epistática, além de efeitos aditivos e de dominância, e que o controle da resistência é realizado por no mínimo dois a cinco genes.

Pesquisas visando entender a herança de resistência a nematoides em cafeeiros, é mais recente. Noir et al. (2003) concluíram que a resistência a *Meloidogyne exigua*,

encontrada nas plantas derivadas do Híbrido de Timor é determinada por um gene de efeito maior oriundo de *C. canephora*, identificado como *Mex-1*. No entanto Alpizar, Etienne e Bertrand (2007) concluíram que este gene maior apresenta dominância incompleta. Também foi analisada a herança da resistência a *M. incognita* em *C. arabica* da Etiópia, que indicaram a presença de um gene dominante em alguns cruzamentos e dois genes dominantes complementares em outros, sendo provável a dominância incompleta (ANZUETO et al., 2001).

O bicho mineiro (*Leucoptera coffeella*) é a praga de maior distribuição, e responsável por sérios prejuízos em todo o Brasil, já que até o momento, o número de cultivares resistentes registradas é muito reduzido. A resistência ocorre em outras espécies de *Coffea*, e análises genéticas mostraram que em *C. dewevrei*, *C. eugenioides*, *C. kapakata* e *C. salvatrix* é de natureza monogênica e dominante (MEDINA FILHO et al., 1977). Em *C. racemosa* também foi comprovada resistência à essa praga, e esta espécie é a mais utilizada em programas de melhoramento no Brasil. Foi a partir da hibridação de *C. racemosa* x *C. arabica* que foi desenvolvida a cultivar Siriema AS1, resistente ao bicho-mineiro (MATIELLO et al., 2015a). Guerreiro Filho, Silvarolla e Eskes (1999) verificaram que a resistência é determinada por dois genes dominantes e complementares.

O estudo genético de cafeeiros resistentes a *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* nunca foi realizado, mas até pouco tempo acreditava-se que o gene *SH1*, encontrado nos genótipos de café arábica Harar, Dilla e Alghe, S12 Kaffa e Geisha, originados da Etiópia, conferiria resistência simultânea para algumas raças de ferrugem (*H. vastatrix*) e para *P. syringae* pv. *garcae* (MORAES et al., 1975) através de ligação gênica entre alelos de resistência para os dois patógenos ou por efeito pleiotrópico do alelo *SH1*. Porém Rodrigues, Braghini e Guerreiro Filho (2017) provaram que a resistência encontrada nesses genótipos não ocorre por nenhuma das duas hipóteses. Ao avaliarem a inoculação por *P. syringae* pv. *garcae* e *H. vastatrix* nas mesmas plantas de duas populações F<sub>2</sub>, derivadas do cruzamento entre um parental suscetível às duas doenças e um resistente (Geisha), verificaram que, entre mudas resistentes à raça de ferrugem foram avaliadas plantas resistentes e suscetíveis à mancha aureolada, e a segregação também ocorreu para as plantas F<sub>2</sub> suscetíveis ao isolado de ferrugem.

Além disso, existem outras fontes de resistência, sem o gene *SH1*, identificadas nas espécies *C. congensis* (MORAES et al., 1975), *C. eugenioides*, *C. stenophylla*, *C. arabica* var. *ennarea*, *C. arabica* var. *semirecta* (MOHAN et al. 1978), em cafeeiros do “Icatu”, derivados do “Híbrido de Timor” (MOHAN et al., 1978; SERA; CARDOSO; MOHAN, 1980) e “Catucaí” (PETEK et al., 2006).



## 2.5 ESTUDOS GENÉTICOS COM PSEUDOMONAS SYRINGAE

Apesar de não haver relatos sobre estudos genéticos realizados com *P. syringae* pv. *garcae*, estes trabalhos já foram realizados com outros patovares de *P. syringae* em outras espécies cultivadas. Coletivamente, os mais de 60 patovares já identificados infectam quase todas as espécies de plantas cultivadas no mundo. *P. syringae* é um dos patógenos mais bem estudados e serve como modelo para a compreensão das interações patógeno-hospedeiro, mecanismos de virulência bacteriana e adaptação do hospedeiro aos patógenos (XIN; KVITKO; HE, 2018).

No tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill), a resistência a *P. syringae* pv. *tomato* foi inicialmente identificada na espécie selvagem *Lycopersicon pimpinellifolium*, condicionada por um único gene dominante (PILOVSKY; ZUTRA, 1982). Em outro estudo de herança da resistência a *P. syringae* pv. *tomato*, Fallik et al. (1983) utilizaram como parental resistente a cultivar Rehovot-13 e VF-198 como variedade suscetível, e através da análise genética de F1, F2 e do retrocruzamento segregante, verificou que a resistência da cultivar Rehovot-13 é determinada por um único gene dominante em interação com genes menores.

No estudo de herança em que a cultivar de tomate Ontario 7710 foi utilizada como parental resistente em dois cruzamentos com cultivares suscetíveis a *P. syringae* pv. *tomato* (BI2CAD e ONT777), verificaram que um gene dominante confere resistência a *P. syringae* pv. *tomato* em Ontario 7710, denominando-o de gene *Pto* (PITBLADO; MACNEILL, 1983). Em trabalho semelhante, Kozik (2002) utilizou como parental resistente a mesma cultivar, Ontario 7710, porém outro parental suscetível foi utilizado, A100, e através da análise das gerações constatou que a resistência a *P. syringae* pv. *garcae* é determinada por um gene de dominância incompleta, o gene *Pto*. Neste estudo, Kozik., analisou que na população F2 as plantas apresentaram a frequência 1:2:1, sendo resistente, tolerante e suscetível respectivamente, ao contrário do que foi avaliado por Pitblado e MacNeill, que verificaram apenas plantas resistentes e suscetíveis, na proporção de 3 resistentes e 1 suscetível. Esta diferença pode ter ocorrido devido a maior concentração da bactéria inoculada no estudo de Kozik (2002).

O gene *R*, denominado de *Pto* (serina/treonina quinase), originário do tomateiro, foi clonado e usado no controle de isolados da bactéria *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (MARTIN et al., 1993). *Pto* e *AvrPto*, gene de avirulência da bactéria, interagem fisicamente, e essa interação é necessária para a ativação da resistência do hospedeiro. Kim et

al., (2002) identificaram uma segunda proteína, *AvrPtoB*, que interage especificamente com *Pto* e é amplamente distribuída entre os patógenos de plantas. Assim, dois efetores bacterianos distintos ativam a imunidade da planta, interagindo com a mesma proteína-hospedeira quinase através de um mecanismo estrutural similar.

No feijoeiro ocorre o crestamento aureolado, doença causada pela bactéria *P. syringae* pv. *phaseolicola*. O melhoramento genético do feijoeiro para a resistência à essa doença é complexa, pela diversidade de virulência da bactéria, com a ocorrência de 9 raças. Deste modo, os mecanismos de resistência ainda não foram completamente entendidos devido aos diversos modos de herança (qualitativos e quantitativos), a ocorrência de genes independentes para expressão de resistência em folhas e vagens e mecanismos separados para resistência ao crescimento da bactéria e supressão da produção de toxinas (MIKLAS et al., 2009). O estudo da herança da resistência a *P. syringae* pv. *phaseolicola* foi realizada com uma cultivar resistente, denominada CAL 143, e esta foi determinada por um gene dominante e independente (CHATAIKA et al., 2011). O mesmo tipo de herança, com um gene dominante, denominado Pse-1, foi relatado por Miklas et al., (2009) com a cultivar UI-3, e este gene promove resistência às raças 1, 5, 7 e 9. Outros quatro genes são conhecidos (Pse-2, Pse-3, Pse-4 e Pse-5) e identificados através de oito cultivares diferenciadoras, que promovem a resistência às nove raças de *P. syringae* pv. *phaseolicola*, os quais possuem 1 ou mais genes de resistência.

Em outras culturas comerciais também foi realizado o estudo genético da resistência a *Pseudomonas syringae*. No caso do kiwi (*Actinidia chinensis*), estirpes de *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* com graus variados de virulência, indicam uma clássica relação evolucionária entre hospedeiro e patógeno. Em uma população de kiwi diploide, derivada do cruzamento entre uma cultivar elite, porém suscetível ‘Hort16A’ e um parental tolerante ao cancro bacteriano, múltiplos locos de caracteres quantitativos contribuem para a tolerância de uma população, portanto a natureza da resistência é quantitativa (TAHIR et al., 2019). De maneira semelhante, Cheng (2014) ao estudar populações de kiwi diploide (susceptíveis) com cultivares resistentes a *P. syringae* pv. *actinidiae*, constatou significativa variação em todos os caracteres avaliados, e concluiu que a herança da resistência de *A. chinensis* à doença ocorre de maneira poligênica.

Em tabaco (*Nicotiana tabacum* L.) ocorrem as doenças fogo selvagem e mancha angular, respectivamente causadas por *P. syringae* pv. *tabaci* e uma estirpe desta bactéria, antigamente denominada *Pseudomonas syringae* pv. *angulata*. Woodend e Mudzengerere (1992) estudando as reações das doenças nas gerações parentais, F1, F2 e

retrocruzamentos, derivadas do cruzamento de três linhas suscetíveis a uma linha resistente Nr-7, observaram que a resistência é determinada por um único gene dominante.

A mancha angular, doença comum do pepino, *Cucumis sativus*, causada por *Pseudomonas syringae* pv. *lacrimans* foi investigada por Olczak-Woltman (2009) e através do estudo genético das populações derivadas do cruzamento entre as cultivares Borszczagowski (resistente) e *Cucumis sativus* var. *hardwickii* (suscetível), verificaram que a gravidade da doença parece ser controlada por múltiplos genes e a presença ou ausência do halo clorótico é determinada como sendo governada por um único gene, sendo um caráter dominante.

Muitos outros estudos genéticos foram realizados visando entender a resistência genética a *P. syringae*, porém devido a grande quantidade de patovares que infectam diferentes espécies de plantas e pela ocorrência da variabilidade genética dentro de um mesmo patovar, é muito difícil definir um padrão na herança genética de resistência a *P. syringae*.

## 2. 6 MANCHA AUREOLADA DO CAFEIEIRO

### 2.6.1 Agente causal

A mancha aureolada do cafeeiro, causada pela bactéria *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* (Amaral, Teixeira & Pinheiro) Young, Dye & Wilkie, foi relatada pela primeira vez no ano de 1955, em cafezal localizado no município de Garça, estado de São Paulo, com sintomas em folhas, ramos e frutos (AMARAL et al., 1956). Foi reportada posteriormente nos estados do Paraná (MOHAN et al., 1978; PETEK et al., 2006; ITO et al., 2008) e Minas Gerais (ZOCCOLI; TAKATSU; UESUGI, 2011). Em outros países a bactéria também foi identificada causando a mancha aureolada, como o Quênia (RAMOS; SHAVDIA, 1976), Etiópia (KOROBKO; WONDINAGEGNE, 1997), Uganda (CHEN, 2002) e China (BAI et al., 2013).

No final da década de 70, Young e colaboradores propuseram uma alteração na nomenclatura de uma série de bactérias fitopatogênicas, e a partir desse período o termo patovar passa a ser utilizado no nível infrasubspecífico para diferenciar cepas da mesma espécie ou subespécie, agrupando bactérias que, somente eram distinguíveis pela sua gama de hospedeiros ou por testes laboratoriais muito específicos. Assim, a partir de 1980 a bactéria causadora da mancha aureolada, que era conhecida como *Pseudomonas garcae* ou

*Pseudomonas garcae* Amaral et al., passa a ser denominada oficialmente como *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* (YOUNG et al., 2010).

Para diferenciar *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* de outros patovares são realizados testes fisiológicos, sorológicos e bioquímicos (ZOCCOLI; TAKATSU; UESUGI, 2011; BELAN et al., 2016; BERIAM et al., 2017; RODRIGUES et al., 2017). Existe uma grande diversidade genética e possibilidade de variabilidades intraespecíficas entre isolados bacterianos de *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* no Brasil e no Quênia. Os patótipos isolados nos dois países possuem diferenças com relação às características morfológicas, bioquímicas e produção de bacteriocinas. Um grupo de cepas isolado no Quênia produziu sintomas da doença no cafeeiro *C. arabica* cv. SL 28, considerada resistente à mancha aureolada no Brasil. (KAIRU, 1997). Em estudo realizado por Maciel et al., (2018) foi avaliada a diversidade genética de *P. syringae* pv. *garcae* em 25 isolados do Brasil e três provenientes do Quênia por meio de ERIC-PCR, e a combinação de ERIC- e REP-PCR, e verificaram que os isolados do Brasil foram agrupados separadamente dos isolados do Quênia.

*Pseudomonas syringae* pv. *garcae* é uma bactéria Gram negativa, tem formato de bastonete, é estritamente aeróbica e produz pigmento fluorescente em meio de cultura King B (King et al., 1954) sob luz ultravioleta (BERIAM et al., 2017). Pertence à família *Pseudomonadaceae*, ordem *Pseudomonadales* da classe *Gammaproteobacteria* (BADEL; ZAMBOLIM, 2019). Em meios de cultura com Batata Dextrose Agar (BDA) e Nutrientes Ágar (NA), produzem melanina, um pigmento marrom difuso (BARTA; WILLIS, 2005) e são móveis por meio de um a sete flagelos polares (RODRIGUES et al., 2013).

Algumas espécies de plantas cultivadas podem ser inoculadas artificialmente por *P. syringae* pv. *garcae* como espécies do gênero *Citrus*, oliveira (*Olea europaea*), tomateiro (*Solanum lycopersicum*), batateiro (*Solanum tuberosum*), jurubeba (*Solanum paniculatum* var. *acutilobum*), ligustro (*Ligustrum lucidum*), feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) (BRADBURY, 1986) e aveia (*Avena sativa*) (BARTA; WILLIS, 2005), porém não há registros de infecção natural nessas plantas. Curiosamente, após a identificação filogenética de membros do complexo de espécies de *Pseudomonas syringae*, verificaram que *P. syringae* pv. *garcae* se situava no clado contendo *P. syringae* pv. *coronafaciens*, que compreende cinco patógenos de *Poaceae* incluindo o hospedeiro *Avena sativa* (PARKINSON et al., 2011).

Um estudo contestou a patogenicidade de *P. syringae* pv. *garcae* em outras hospedeiras, pois os sintomas observados foram produzidos pela reação de hipersensibilidade, concluindo que a gama de hospedeiro da bactéria é restrita aos cafeeiros (KIMURA et al.,

1973). No entanto, em trabalho recente, Raimundi (2017), verificou que *Cucumis sativus*, *Carica papaya*, *Desmodium canum*, *Aster sp* e *Celosia plumosa*, que são hospedeiras naturais de *P. syringae* pv. *tabaci*, são também hospedeiras por inoculação artificial de *P. syringae* pv. *garcae*, e as colônias obtidas no reisolamento das bactérias presentes nas lesões dessas plantas mostraram-se semelhantes às colônias originais de *P. syringae* pv. *garcae* inoculadas.

### 2.6.2 Sintomas, perdas e danos

Após a constatação da mancha aureolada em 1955, a doença não foi considerada de grande importância por muitos anos, uma vez que não foram registrados danos significativos em lavouras até o início da década de 1970 (MOHAN, 1978). Após esse período foi observada uma severa incidência da bacteriose em viveiros do Instituto Agrônomo de Campinas (KIMURA et al., 1973) e extensivamente no estado do Paraná após a geada de 1975, resultando em severos danos nos viveiros, brotações de plantas recepadas e em replantes (MOHAN et al., 1978). Os danos provocados pela ação de geadas podem ser potencializados pela presença da bactéria *P. syringae* pv. *garcae* que possui ação nucleadora de gelo, ou seja, conseguem catalisar o congelamento da água (GONÇALVES; MASSAMBANI, 2011).

A doença é fator limitante para o cultivo do café nas regiões produtoras dos estados do Paraná, São Paulo e Minas Gerais, com maior incidência em regiões mais frias e expostas ao vento, principalmente nas lavouras em formação ou recém-podadas e viveiros (SERA; ALTEIA; PETEK, 2002; SERA et al., 2004; PATRÍCIO et al., 2010; ZOCCOLI; TAKATSU; UESUGI, 2011). A mancha aureolada incide com alta frequência em lavouras cafeeiras situadas em topografias acidentadas e altitudes elevadas, superiores a 1000 metros. As áreas serranas do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba, conhecidas regiões produtoras de café, apresentam incidência frequente e severidade variável da doença, podendo inviabilizar a cafeicultura nessas regiões (ZOCCOLI; TAKATSU; UESUGI, 2011).

Os sintomas de mancha aureolada podem ser constatados em folhas, rosetas, frutos jovens e ramos, atingindo mudas no viveiro e plantas no campo (ZAMBOLIM et al. 2005). Os sinais característicos são observados nas folhas como pequenas lesões necróticas irregulares (5 a 20 mm de diâmetro), de coloração marrom-escuro, e circundadas de halo amarelado quando em folhas maduras. Essas lesões podem se juntar a outras e formar grandes áreas necróticas, resultando na queda prematura das folhas. (RODRIGUES et al. 2013).

Em ataques mais severos, pode ocorrer necrose de ramos e de frutos em expansão, desfolha generalizada e seca de ponteiros, já que a colonização bacteriana ocorre inicialmente no ápice seguindo para a base, e como resultado o superbrotamento. Esses sintomas geralmente ocorrem em lavouras jovens, de 3 a 4 anos de idade, comprometem a arquitetura da planta e conseqüentemente a produtividade na safra corrente e posteriores (ITO et al., 2008).

Oliveira e Romero (1991) verificaram que folhas novas são mais afetadas pelo patógeno comparada as velhas na cultivar Catuaí, observando que extratos obtidos de folhas velhas foram capazes de inibir o desenvolvimento *in vitro* de *P. syringae* pv. *garcae* e, em folhas novas, a bactéria obteve maior crescimento. Em estudo mais recente, Tomiyama et al. (2018) evidenciaram os mesmos resultados, de que a severidade da mancha aureola é maior em folhas jovens do primeiro internódio, mas verificaram que estirpes mais agressivas de *P. syringae* pv. *garcae* provocaram danos de intensidade semelhante em folhas de diferentes idades, do primeiro ao quinto internódio.

As manchas são mais comuns nas bordas das folhas, onde a bactéria encontra maior facilidade de penetração devido a danos mecânicos através da agitação das folhas pelo vento, no entanto, podem se estender por toda a superfície foliar penetrando por ferimentos causados por insetos e outras doenças (RODRIGUES et al., 2013; ZOCCOLI; TAKATSU; UESUGI, 2011), além de microfissuras geradas por partículas de areia carregadas pelo vento e aberturas naturais como os estômatos (RODRIGUES; QUEIROZ-VOLTAN; GUERREIRO FILHO, 2015).

Nos viveiros os sintomas são muito semelhantes, porém a disseminação é facilitada pelo adensamento das plantas e alta umidade nas folhas, que proporciona ambiente ideal para o desenvolvimento da doença, causando necrose das folhas novas e do ponteiro, o que ocasiona, em muitos casos a morte das mudas (RODRIGUES et al., 2013).

### 2.6.3 Disseminação e sobrevivência

A fase de sobrevivência da bactéria ocorre nos períodos de baixa pluviosidade, que ocorre entre os meses de maio a setembro nas principais regiões cafeeiras do Brasil. Nessa época mais seca é realizada a colheita do café, e a atividade também contribui para a disseminação da doença, que ocorre através do carregamento da bactéria das plantas infectadas para plantas sadias pelas hastes de colheitadeiras e derriçadeiras e até mesmo pelas

mãos dos trabalhadores no caso de colheita manual (POZZA; CARVALHO; CHALFOUN, 2010).

Nesse período, a bactéria sobrevive na forma epífita na face abaxial das folhas do cafeeiro, bem como em restos de cultura presentes no solo, até que o próximo período chuvoso proporcione condições propícias para que as células bacterianas sobreviventes se constituam no inóculo primário para novas infecções (ZOCCOLI; TAKATSU; UESUGI, 2011).

A bactéria inicia o processo infeccioso ao atingir as plantas de café transportadas por respingos de chuva (aerossóis), chuva de granizo ou água de irrigação. Em contato com a planta e havendo um filme de água sobre esta, as células bacterianas penetram por aberturas naturais e/ou por ferimentos (ZAMBOLIM et al., 2005), assim inicia-se a colonização dos espaços intra e intercelulares e o desenvolvimento da lesão, pois os exsudatos celulares são utilizados como substrato para a bactéria (RODRIGUES et al., 2013).

Um estudo recente confirmou que sementes provindas de cafeeiros infectados podem conter inóculo viável de *P. syringae* pv. *garcae*, assim o manejo da doença em viveiros deve ser inicialmente preventivo, permitindo somente a entrada de sementes de cafezais sadios (BELAN et al., 2016). Além disso, o uso de mudas de viveiros livres da doença é fundamental, uma vez que mudas doentes, ou que carregam a bactéria de forma epífita (assintomáticas) podem resultar em uma epidemia no campo (ZOCCOLI; TAKATSU; UESUGI, 2011; RODRIGUES; QUEIROZ-VOLTAN; GUERREIRO FILHO, 2015).

## 2.7 CONTROLE DA MANCHA AUREOLADA

O controle da mancha aureolada ocorre preferencialmente por meio de medidas preventivas, com o objetivo de evitar a entrada da bactéria e reduzir condições favoráveis para seu estabelecimento, porém em locais onde já foi detectada são recomendadas medidas que visam inibir o avanço da doença.

### 2.7.1 Controle cultural

O controle inicial deve ser realizado na escolha do local de instalação do viveiro e da área de implantação do cafezal, que devem ser protegidos de ventos frios e distantes de áreas onde foi constatada a doença (RODRIGUES et al., 2013). Caso esses locais não sejam

naturalmente protegidos, devem ser instalados quebra ventos antes do início das atividades para interferir na velocidade do vento que atinge as plantas, sendo essa a principal forma de diminuir a disseminação do patógeno, e estes podem ser temporários ou permanentes (ZAMBOLIM et al., 2005).

A nutrição equilibrada das plantas também propicia proteção contra a entrada e colonização das bactérias, já que os nutrientes auxiliam na formação de barreiras como as camadas de cera na cutícula e parede celular, que as torna mais espessas e rígidas (BELAN et al., 2015).

### 2.7.2 Controle químico

Em áreas com histórico de ocorrência da doença, na qual a bactéria está presente (de maneira epífita) e a cultivar é suscetível, os fatores determinantes para o início de um novo ciclo da doença e o início das pulverizações, são as condições ambientais favoráveis à doença. (BELAN et al., 2014) A maioria dos cafezais implantados, tem em sua maioria, cultivares suscetíveis à mancha aureolada (SERA, 2001), assim, uma das medidas de manejo para diminuir a infecção pela bactéria é a pulverização preventiva com antibióticos (cloridrato de casugamicina) e bacteriostáticos (fungicidas cúpricos) a partir do início das chuvas (PATRÍCIO et al., 2008).

Em viveiros, as mudas com sintomas da doença devem ser separadas das saudáveis e eliminadas quando a doença se encontra em estágio avançado, para que a doença não se espalhe pelos canteiros (RODRIGUES et al., 2013). Para a prevenção da mancha aureolada nos viveiros, são utilizados o cloridrato de casugamicina intercalado com o uso de oxiclreto de cobre, evitando-se assim a seleção e proliferação de linhagens resistentes da bactéria ao antibiótico (CARVALHO; CUNHA; SILVA, 2012).

Quando já houver aparecido a bacteriose no campo, o uso de fungicidas cúpricos é o mais indicado, já que o cobre metálico é tóxico para as bactérias e controla outros males associados (MATIELLO et al., 2015b), além de possuir baixo custo para o produtor e baixa toxicidade ambiental. Em estudo recente, Barbosa et al. (2018) concluíram que a casugamicina quando associada ao hidróxido de cobre também é eficiente no controle da mancha aureolada no campo, aumentando a produtividade e o vigor vegetativo do café, e não afetam a qualidade física e química dos grãos.



Os resultados das avaliações realizadas por Patrício et al., (2010) mostraram que houve redução da incidência da doença nas parcelas pulverizadas com casugamicina (1,5L/ha), casugamicina (1,5L/ha) + hidróxido de cobre (2,5kg/ha), além dos tratamentos utilizando óleos vegetais e minerais, adesivo siliconado e um indutor de resistência. Porém nas parcelas expostas ao vento, a incidência da doença foi maior, independentemente dos produtos utilizados, demonstrando que medidas de controle cultural são indispensáveis, principalmente a utilização de quebra-ventos.

Outros produtos já foram testados experimentalmente em mudas de cafeeiro e se mostraram promissores para o manejo da mancha aureolada. Patrício et al., (2008) verificaram redução na incidência e desenvolvimento de mancha aureolada pela Resistência Sistêmica Adquirida (SAR) utilizando o Acibenzolar-S-methyl (ASM) que possui a habilidade de induzir resistência em plantas contra fungos, bactérias e vírus, com ou sem a associação com fungicidas, bactericidas e cobre. Domingues et al., (2015) constataram que o produto microbiológico formulado com *Bacillus amyloliquefasciens* promoveram o controle da mancha aureolada semelhante ao dióxido de cloro, hidróxido de cloro e casugamicina, reduzindo a incidência e a severidade da doença.

Zoccoli, Takatsu e Uesugi (2011) relataram que agricultores de alguns municípios de Minas Gerais aplicavam hipoclorito de sódio em mudas e cafezais de Minas Gerais para o controle da mancha aureolada por meio de uma possível desinfecção superficial das folhas, porém esse método não foi testado cientificamente.

Apesar dos bons resultados dos produtos testados experimentalmente, estes devem ser analisados em condições de campo, uma vez que temos carência de produtos comerciais registrados para o controle de mancha aureolada no cafeeiro. São apenas seis produtos comerciais, quatro cúpricos, três deles com o ingrediente ativo hidróxido de cobre e o outro um óxido cuproso, um antibiótico (cloridrato de casugamicina) e um produto obtido a partir do óleo essencial de *Melaleuca altemifolia* (AGROFIT 2019), porém este último com dados escassos na literatura para o controle de *P. syringae* pv. *garcae*.

### 2.7.3 Controle genético

Cultivares resistentes à mancha aureolada têm o potencial de reduzir o custo de produção e também oferecem uma solução ambientalmente segura, porém ainda são poucos os genótipos que reúnem alta produtividade e resistência à doença. Vários autores relataram

que cultivares do grupo Catuaí e Mundo Novo são suscetíveis (MOHAN et al., 1978; PETEK et al., 2006; ITO et al., 2008; ZOCCOLI; TAKATSU; UESUGI, 2011, ANDREAZI et al., 2015) e isso é um grande problema para o controle e multiplicação da mancha aureolada, já que segundo Chalfoun e Reis (2010) as cultivares desses dois grupos ainda são as mais cultivadas no Brasil.

Também foram identificadas como suscetíveis as cultivares Bourbon Amarelo (MOHAN; PAVAN, 1977), Acaíá Cerrado MG 1474, Topázio MG 1190 (ZOCCOLI; TAKATSU; UESUGI, 2011), IPR 98, IPR 99, IPR 100, IPR 107 (ITO et al., 2008), Tupi IAC 1669-33 (ANDREAZI et al., 2015), Rouxinol, Arara, Saíra, Guará, alguns clones do Germoplasma Siriema (3, 3-32, 3-34-336, 3-32-567, 3-29-224 e 13/36), IAC Ouro Verde, IAC 125 RN, Catucaí Amarelo 2SL, Catuaí SH3, Icatu Amarelo IAC 2944 e IPR 103 (RODRIGUES et al., 2018).

Fontes de resistência a *P. syringae* pv. *garcae* foram primeiramente identificadas em genótipos de *C. arabica* portadoras do gene *SH1*, como Harar, Dilla & Alghe, S12 KAFFA e Geisha. Esse gene é classicamente conhecido por proporcionar resistência a algumas raças de ferrugem (*H. vastatrix* Berk. & Br.) (MORAES et al., 1975).

Em estudo visando identificar fontes de resistência, foram testados 121 acessos do banco de germoplasma de café do IAPAR (Londrina-PR-Brasil) e 140 acessos provenientes da Etiópia. Todos os 121 acessos foram altamente suscetíveis, com exceção das variedades de *C. arabica* *Semirecta*, *Ennarea* e *Geisha*. Dos 140 acessos da Etiópia, 29 foram altamente resistentes e nove foram resistentes (MOHAN et al., 1978).

Outras fontes têm sido relatadas como Icatu, Híbrido de Timor, *C. stenophylla* (MOHAN et al., 1978) e *C. eugenoides* (MOHAN; PAVAN, 1977; MOHAN et al., 1978), porém os dois últimos dificilmente poderão ser utilizados pela dificuldade de cruzamento com cultivares comerciais de *C. arabica*. Moderada resistência foi observada em *C. congensis* (MORAES et al., 1975). Em cafeeiros derivados do cruzamento entre Icatu e Catuaí (PETEK et al., 2006; ITO et al., 2008) também foram avaliados como resistentes à doença.

Andreazi et al., (2015) identificaram três híbridos de *C. arabica* com resistência completa à mancha aureolada e produtividade superior às testemunhas utilizadas nos três locais avaliados, um deles portador de genes de *C. arabica* da Etiópia com resistência simultânea à ferrugem e outros dois possuem genes de *C. racemosa* com resistência simultânea ao bicho mineiro. Em um estudo com 18 linhagens que possuem genes de *C. racemosa*, dez delas apresentaram resistência à bacteriose em condições de campo (ANDREAZI et al., 2018),

estas eram derivadas do genótipo C1195-5-6-2, que é um importante genótipo utilizado em programas de melhoramento genético para transferência da resistência ao bicho-mineiro e tolerância à seca para outros genótipos (MEDINA-FILHO et al., 1977), características herdadas de *C. racemosa*. Apesar das constatações, a confirmação de que a espécie *C. racemosa* é de fato uma fonte de resistência a *P. syringae* pv. *garcae* ainda precisa ser realizada por meio de inoculações artificiais.

Resultados obtidos em ensaios de campo, dez meses após o plantio e com ocorrência natural de *P. syringae* pv. *garcae*, mostraram 95% de plantas com resistência completa na cultivar IPR 102, além de resistência parcial em IPR 103, IPR 104, IPR 108 e IAPAR 59, indicando possível presença de resistência qualitativa e quantitativa (ITO et al., 2008). IPR102 também apresentou resistência completa em outros três ensaios de campo no estado do Paraná, realizado nas cidades de Londrina, Mandaguari e Itaguajé, e obtiveram as maiores médias produtivas quando comparado às cultivares tradicionais Catuaí Vermelho IAC81 e IAPAR 59 (SERA; SERA; FAZUOLI, 2017).

### 3 ARTIGO A: HERANÇA DA RESISTÊNCIA A *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* EM CAFEIEIRO ARÁBICO SILVESTRE DA ETIÓPIA.

#### 3.1 RESUMO

A mancha aureolada do cafeeiro, doença causada pela *Pseudomonas syringae* pv. *garcae*, tornou-se um dos fatores limitantes nas principais regiões cafeeiras do Brasil, principalmente em altitudes elevadas e expostas ao vento. O uso de cultivares resistentes é o método com melhor custo/benefício para o controle da doença, entretanto, até o momento só existe uma cultivar resistente, IPR 102, e ainda é pouco cultivada. Ainda são desconhecidos o modo de ação gênico e o número de genes que controlam a resistência. O objetivo deste trabalho foi estudar o controle genético da resistência ao patógeno *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* no cafeeiro arábico E 287 da Etiópia. No estudo de herança, o cafeeiro da Etiópia foi o parental resistente ( $P_1$ ) e o genótipo Sarchimor Mococa o suscetível ( $P_2$ ). Estes foram utilizados para a obtenção das gerações  $F_1$ ,  $F_2$  e retrocruzamentos  $RC_1$  e  $RC_2$ . Foram avaliadas 20 plantas do  $P_1$ , 19 plantas do  $P_2$ , 15 plantas da população  $F_1$ , 152 plantas da população  $F_2$ , e 40 plantas de cada uma das populações obtidas nos retrocruzamentos ( $RC_1$  e  $RC_2$ ). As folhas novas de todas as mudas foram inoculadas pelo método da abrasão com a linhagem da bactéria IBSBF 1197. As avaliações da severidade foram efetuadas aos 21 e 30 dias após as inoculações, sendo a resposta à doença avaliada seguindo uma escala de 0 a 5 pontos. A partir dos dados obtidos foram realizados a análise das médias das gerações, o teste de modelos genéticos por meio da função de máxima verossimilhança e o teste qui-quadrado ( $\chi^2$ ). Com base nestas análises foi constatado que a herança da resistência a *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* em Etiópia E 287 é controlada por três genes de efeito principal (*Psg1*, *Psg2*, *Psg3*) de caráter qualitativo, com dominância completa e segregação independente. Somente um dos genes sozinho faz com que a planta seja resistente, e dois são epistáticos entre si, ou seja, as plantas são resistentes quando um dos seus alelos são dominantes nos dois genes, enquanto que as plantas são suscetíveis quando um dos genes apresenta dois alelos recessivos.

Palavras-chave: *Coffea arabica*, melhoramento genético, mancha aureolada do cafeeiro

## INHERITANCE OF RESISTANCE TO *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* IN WILD ARABICA COFFEE FROM ETHIOPIA.

### 3.2 ABSTRACT

The bacterial halo blight, a disease caused by *Pseudomonas syringae* pv. *garcae*, has become one of the limiting factors in Brazil's main coffee regions, especially at high altitudes exposed to wind. The use of resistant cultivars is the most cost-effective method for disease control, however, to date there is only one resistant cultivar, IPR 102, and it is still little cultivated. The mode of gene action and the number of genes that control resistance are unknown. The objective of this work was to study the genetic control of resistance to the pathogen *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* in Ethiopian arabica coffee tree E 287. In the inheritance study, the Ethiopian coffee tree was the resistant parent (P1) and the susceptible Sarchimor Mococa genotype (P2). These were used to obtain F1, F2 generations and RC1 and RC2 backcrosses. Twenty plants from P1, 19 plants from P2, 15 plants from population F1, 152 plants from population F2, and 40 plants from each of the populations obtained in backcrossing (RC1 and RC2) were evaluated. New leaves of all seedlings were inoculated by the abrasion method with the IBSBF 1197 bacterial lineage. Severity assessments were performed at 21 and 30 days after inoculation, and the disease response was evaluated by a scale of 0 to 5 points. From the obtained data, the analysis of the generation averages, the genetic models test using the maximum likelihood function and the chi-square test ( $\chi^2$ ) were performed. Based on these analyzes it was found that the inheritance of resistance to *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* in Ethiopia E 287 is controlled by three qualitative main effect genes (Psg1, Psg2, Psg3), with complete dominance and independent segregation. Only one of the genes alone makes the plant resistant, and two are epistatic to each other, that is, plants are resistant when one of their alleles is dominant in both genes, while plants are susceptible when one of the genes has two recessive alleles.

Key-words: *Coffea arabica*, breeding, bacterial halo blight

### 3.3 INTRODUÇÃO

A mancha aureolada do cafeeiro, conhecida também crestamento bacteriano ou mancha bacteriana, é uma importante doença causada pela bactéria *Pseudomonas syringae* pv. *garcae*. Essa doença foi descrita pela primeira vez por Amaral et al., (1956) causando danos em uma lavoura de café na cidade de Garça, São Paulo. Atualmente, consiste em fator limitante para o cultivo do café, principalmente em regiões produtoras do Brasil, como Minas Gerais, São Paulo e Paraná.

Os principais sintomas ocorrem em folhas, causando sintomas necróticos de coloração pardo-escuro, com 0,5 a 2,0 cm de diâmetro e centro necrótico, circundadas por halo amarelado quando em folhas desenvolvidas. Com a coalescência das lesões, formam-se grandes áreas necrosadas, resultando em queda prematura das folhas. A doença incide também em ramos novos causando requeima, nas rosetas, nos restos de flores e em frutos novos na fase de chumbinho, causando necrose. A penetração da bactéria nos tecidos foliares ocorre por aberturas naturais ou por injúrias mecânicas, sendo sua evolução favorecida, na fase de granação dos frutos, por períodos de alta precipitação e, na entressafra, por alta umidade e ventos frios.

Como controle preventivo é recomendado o uso de plantas quebra-ventos, espaçamento maior entre plantas, controle dos focos da doença nos viveiros e controle químico (ZAMBOLIM et al., 2005). No entanto a utilização de cultivares resistentes é a medida com melhor custo/benefício ao produtor. Plantas resistentes apresentam menores níveis de infecção sem danos ao ambiente, pela diminuição do uso de produtos fitossanitários, e com menor custo de produção (RODRIGUES et al., 2013).

Até o momento, existe apenas uma cultivar resistente disponível para os cafeicultores, a IPR 102 (ITO et al., 2008; SERA; SERA; FAZUOLI, 2017), outras demonstraram ter resistência parcial como IPR 103, IPR 104, IPR 108 e IPR 59 (ITO et al., 2008). As cultivares dos grupos Catuaí e Mundo Novo que apresentam alta produtividade e ampla adaptabilidade são suscetíveis à mancha aureolada (MOHAN et al., 1978; PETEK et al., 2006; ITO et al., 2008; ZOCCOLI; TAKATSU; UESUGI, 2011; SERA; SERA; FAZUOLI, 2017), da mesma forma que a maioria dos cultivares disponíveis aos cafeicultores.

Acreditava-se que o gene *SH1*, encontrado nas variedades *Harar*, *Dilla* & *Alge*, *S12 Kaffa* e *Geisha*, originadas da Etiópia, conferiria resistência simultânea para algumas raças de ferrugem e para *P. syringae* pv. *garcae* (MORAES et al., 1975; SERA, 2001;

FAZUOLI et al., 2009) através de ligação gênica entre alelos de resistência para os dois patógenos ou por efeito pleiotrópico do alelo *SHI*. Porém Rodrigues; Braghini e Guerreiro Filho (2017) provaram que a resistência encontrada nesses genótipos não ocorre por nenhuma das duas hipóteses quando verificaram segregação para resistência às duas doenças em populações F<sub>2</sub> provindas do cruzamento entre um genótipo portador do gene *SHI* (Geisha) e outro sem o gene.

Além desse fato, outras fontes de resistência são descritas sem o gene *SHI*. Mohan et al., (1978) consideraram como resistentes ou imunes 38 introduções também originárias da Etiópia, as espécies *C. eugenioides* e *C. stenophylla*, as variedades *semierecta* e *ennarea* de *C. arabica*, o acesso M7846, com resistência simultânea à ferrugem e um híbrido interespecífico de *C. canephora* x *C. arabica*. Também foi identificada moderada resistência em dois genótipos de *C. canephora* e em um cafeeiro do germoplasma Icatu (MOHAN et al., 1978), assim como verificado por Petek et al., (2006) em progênies derivadas do cruzamento “Icatu” x “Catuai”.

Estudos genético de cafeeiros resistentes a *P. syringae* pv. *garcae* nunca ainda não foram relatados. Porém pelo fato de existirem genótipos resistentes e moderadamente resistentes à mancha aureolada, evidencia-se que há mais de um gene controlando esse caráter. O conhecimento do número de genes que atuam no controle do caráter e sua natureza é de extrema importância na previsão do comportamento das gerações segregantes em um programa de melhoramento genético (LOBO et al., 2005).

O objetivo deste trabalho foi caracterizar a herança da resistência a *P. syringae* pv. *garcae* do cafeeiro E 287 da Etiópia, um dos acessos considerado altamente resistente por Mohan et al., (1978), e determinar o número de genes envolvidos nessa expressão.

### 3.4 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.4.1 MATERIAL VEGETAL

Para avaliar a herança de resistência à mancha aureolada do cafeeiro foram obtidas as populações P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, RC<sub>1</sub> e RC<sub>2</sub>. O cafeeiro da Etiópia E 287 (IAPAR CAF234) foi utilizado como parental resistente (P<sub>1</sub>). Esse genótipo é um dos acessos da Etiópia classificados como imunes por Mohan et al., (1978) quando testou 138 introduções de *Coffea*

*arabica* provenientes da Etiópia (MEYER et al., 1968). O genótipo Sarchimor Mococa foi utilizado neste estudo como parental suscetível (P<sub>2</sub>).

Em 2010, na estação experimental do Instituto Agronômico do Paraná – IAPAR, em Londrina-PR, foram realizadas hibridações manuais entre os genitores contrastantes em relação a resistência à mancha aureolada, tendo o genótipo Etiópia E 287 como genitor masculino no cruzamento controlado com a cultivar suscetível Sarchimor Mococa, gerando uma população F<sub>1</sub>. Uma planta da geração F<sub>1</sub>, denominada H1041 foi plantada em março de 2012 e submetida à autofecundação controlada em setembro de 2016 para a obtenção da geração segregante F<sub>2</sub>, com 160 indivíduos. Desta mesma planta F<sub>1</sub> (H1041) também foram obtidas 15 plantas através da produção de mudas clonais por estaquia, obtendo-se a população F<sub>1</sub>.

O genótipo E 287 foi autofecundado e as 20 plantas originadas foram utilizadas para confirmar a homozigose dos genes de resistência. O mesmo procedimento foi realizado com o P<sub>2</sub>, para comprovar sua suscetibilidade. A planta F<sub>1</sub> foi retrocruzada com seus parentais, dando origem ao RC<sub>1</sub> (F<sub>1</sub> x E 287) com 40 plantas e RC<sub>2</sub> (F<sub>1</sub> x Sarchimor Mococa) também com 40 plantas.

#### 3.4.2 LOCAL E PERÍODO DE IMPLANTAÇÃO DO EXPERIMENTO

Todas as gerações avaliadas no experimento foram obtidas de cafeeiros da estação experimental do IAPAR. As mudas obtidas através de semeadura em germinadores (P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, F<sub>2</sub>, RC<sub>1</sub> e RC<sub>2</sub>) e por estaquia (F<sub>1</sub>), foram conduzidas no viveiro do IAPAR entre os meses de março de 2017 a maio de 2018. Posteriormente as mudas com 8 a 10 pares de folhas foram levadas ao Instituto Agronômico (IAC) para a inoculação do patógeno e avaliadas quanto à resistência a *Pseudomonas syringae* pv. *garcae*.

#### 3.4.3 LINHAGEM BACTERIANA E PREPARO DO INÓCULO

A linhagem bacteriana de *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* utilizada no estudo foi obtida da Coleção de Culturas de Fitobactérias do Laboratório de Bacteriologia Vegetal (IBSBF) em Campinas, SP, depositada sob o número IBSBF 1197. A linhagem foi reativada em meio de cultura Ágar Nutriente (0,5% de peptona, 0,3% de extrato de carne, 0,1%



de NaCl e 18g de ágar / L de água destilada e pH 7,0). Após o crescimento por 48 h a 28° C, as colônias puras foram multiplicadas para obtenção das suspensões bacterianas.

A suspensão bacteriana utilizada como inóculo foi preparada a partir de colônias crescidas por 24 hs a 28° C, suspendidas em solução salina (NaCl 0,85%). A concentração do inóculo foi ajustada em espectrofotômetro a 0,3 de absorbância (~600nm), resultando em inóculo com aproximadamente  $3 \times 10^8$  UFC/mL<sup>-1</sup> (LELLIOTT et al., 1966).

#### 3.4.4 AVALIAÇÃO DA RESISTÊNCIA À MANCHA-AUREOLADA

A avaliação das plantas quanto a resistência à mancha-aureolada (MA) foi realizada a partir de inoculações artificiais pelo método de abrasão, que consiste na fricção de uma lixa embebida no inóculo contra a superfície abaxial da folha (RODRIGUES; BRAGHINI.; GUERREIRO FILHO, 2017).

As avaliações da severidade foram efetuadas aos 21 e 30 dias após as inoculações, sendo a resposta à doença avaliada seguindo a escala de 0 a 5 pontos, proposta por Rodrigues, Braghini e Guerreiro Filho (2017), em que: 0 = ausência de clorose e / ou anasarca ou reação de hipersensibilidade ao redor das lesões; 1 = início da colonização pela bactéria com ou sem amarelecimento em torno de punções, correspondendo a até 10% da área de superfície inoculada com sintomas da MA; 2 = 11-25% da área inoculada com lesões encharcadas cercadas ou não por halo amarelo; 3 = 26-50% da área inoculada mostrando lesões e pronunciado halo amarelado em torno das lesões; 4 = 51-75% da área inoculada necrótica com um halo amarelado em toda a superfície inoculada; 5 = necrose em 100% da área inoculada.

Considerando que neste estudo foi avaliada somente a resistência qualitativa à MA, assim foram classificadas como resistentes (R) plantas com notas 0 e 1 e as com notas maior ou igual a 2 como suscetíveis (S).

#### 3.4.5 ANÁLISE DOS DADOS

Para testar a hipótese de herança da resistência a *P. syringae* pv. *garcae* em Etiópia E 287 foram utilizadas três metodologias, a análise das médias das gerações, seguindo método descrito por Mather e Jinks (1984), o teste de significância – Teste  $\chi^2$ , e o teste de modelos genéticos por meio da função de máxima verossimilhança (SILVA, 2003).

### 3.4.5.1 Análise das médias das gerações

Com os valores obtidos pelas avaliações visuais de severidade (escala de notas) foram estimados os componentes de médias e variâncias para cada geração. As estimativas destes componentes permitiu presumir a variância ambiental, bem como os componentes de variância genética e fenotípica das gerações (MATHER; JINKS, 1984). Estes valores foram obtidos por meio das seguintes fórmulas (CRUZ, 2006):

$$\text{Variância fenotípica: } \sigma_f^2 = \sigma_{F_2}^2$$

$$\text{Variância ambiental: } \sigma_e^2 = \frac{(\sigma_{P_1}^2 + 2\sigma_{F_1}^2 + \sigma_{P_2}^2)}{4}$$

$$\text{Variância genotípica: } \sigma_g^2 = \sigma_{F_2}^2 - \sigma_e^2$$

$$\text{Variância aditiva: } \sigma_a^2 = 2\sigma_{F_2}^2 - (\sigma_{RC_1}^2 + \sigma_{RC_2}^2)$$

$$\text{Variância devido aos desvios de dominância: } \sigma_d^2 = \sigma_g^2 - \sigma_a^2$$

$$\text{Herdabilidade no sentido amplo: } h_a^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_{F_2}^2} = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_g^2 + \sigma_e^2}$$

$$\text{Herdabilidade no sentido restrito: } h_r^2 = \frac{\sigma_a^2}{\sigma_{F_2}^2} = \frac{\sigma_a^2}{\sigma_a^2 + \sigma_d^2 + \sigma_e^2}$$

$$\text{Grau médio de dominância baseado em variâncias: } k = \sqrt{\frac{2\sigma_d^2}{\sigma_a^2}}$$

$$\text{Grau médio de dominância (GMD) baseado em médias: } k_m = \frac{2\bar{F}_1 - (\bar{P}_1 + \bar{P}_2)}{\bar{P}_1 - \bar{P}_2}$$

$$\text{Número mínimo de genes envolvidos na determinação do caráter: } \eta = \frac{R^2 (1 + 0,5k^2)}{8 \sigma_g^2},$$

sendo  $R = \bar{P}_1 + \bar{P}_2$ .

Os parâmetros genéticos foram determinados por meio da análise de média das gerações, pelo método dos quadrados mínimos ponderados, conforme Mather & Jinks (1984) através das equações abaixo:

$$\bar{P}_1 = m + a + aa;$$

$$\bar{P}_2 = m - a + aa;$$

$$\bar{F}_1 = m + d + dd;$$

$$\bar{F}_2 = m + \frac{1}{2}d + \frac{1}{4}dd;$$

$$\overline{RC1} = m + \frac{1}{2}a + \frac{1}{2}d + \frac{1}{4}aa + \frac{1}{4}ad + \frac{1}{4}dd$$

$$\overline{RC2} = m - \frac{1}{2}a + \frac{1}{2}d + \frac{1}{4}aa - \frac{1}{4}ad + \frac{1}{4}dd.$$

A análise foi realizada considerando o modelo completo cujos parâmetros são estimados a partir do método dos quadrados mínimos ordinários, neste modelo as variações das médias atribuem-se aos efeitos m, a, d, aa, ad, dd, sendo:

m = média de todos os homozigotos possíveis;

a = medida dos efeitos aditivos;

d = medida dos desvios de dominância;

aa = medida de todas as interações aditiva x aditiva;

ad = medida de todas as interações aditiva x dominante;

dd = medida de todas as interações epistáticas dominante x dominante.

No modelo aditivo-dominante (m, a, d), os parâmetros foram estimados pela decomposição não ortogonal da soma dos quadrados. O ajuste do modelo foi avaliado através do coeficiente de determinação ( $R^2$ ), que expressa o grau de similaridade das estimativas entre os valores observados e os estimados. Todas as análises foram executadas com o auxílio do software estatístico Genes (CRUZ, 2013).

#### 3.4.5.1.1 Número de genes

De acordo com Ramalho et al., (2012) é possível estimar o número de genes que atuam na resistência utilizando o método proposto por Sewall Wright em 1934, utilizando variâncias e médias. O número de genes que atuam na resistência pode ser estimado através da fórmula:

$$n = \frac{(\bar{P}_1 - \bar{P}_2)^2}{8\sigma_{G_{F_2}}^2}, \text{ em que:}$$

n: número de genes controlando o caráter;

$\bar{P}_1 - \bar{P}_2$ : diferença entre a média dos genitores;

$\sigma_{G_{F_2}}^2$ : variância genética na população  $F_2$ .

Para a aplicação desta expressão, são necessários alguns requisitos, e caso não ocorram, o número de genes envolvidos será subestimado. Os genitores devem ser homozigotos e completamente contrastantes, ou seja, todos os alelos efetivos devem estar em um dos

genitores e todos os não efetivos, no outro. Não deve haver interação gênica ou ligação e todos os genes devem ter efeitos iguais e aditivos sobre a expressão fenotípica do caráter.

Porém na ocorrência de dominância, Wright apresentou outro estimador para o número de genes, utilizando a fórmula:

$$n = \left[ \frac{1/4(3/4 - \mu + \mu^2)D^2}{\sigma_{G_{F_2}}^2} \right] \text{ em que: } \mu = \left( \frac{F_1 - P_1}{P_2 - P_1} \right) \text{ e } D = P_2 - P_1.$$

Para que a estimativa não seja subestimada, é necessário que o grau de dominância seja o mesmo em todos os genes envolvidos (RAMALHO et al., 2012).

#### 3.4.5.2 Teste de significância – Teste $\chi^2$

O teste qui-quadrado ( $\chi^2$ ) foi realizado a partir dos dados obtidos pelas segregações mendelianas dos fenótipos R e S, através da fórmula:  $\chi^2 = \sum \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i}$ , onde:  $O_i$  = número de indivíduos observados na classe fenotípica;  $E_i$  = número de indivíduos esperados na classe fenotípica.

As diferentes proporções fenotípicas na população  $F_2$  foram analisadas para herança condicionada por um gene (3R:1S), dois genes (9R:7S; 12R:4S e 15R:1S) e três genes (54R:10S; 57R:7S; 60R:4S, e 63R:1S). Na população do retrocruzamento suscetível ( $RC_2$ ) foram testadas as hipóteses significativas de  $F_2$ , comprovando qual a mais adequada para a resistência do cafeeiro da Etiópia a *P. syringae* pv. *garcae*.

Aceitar a hipótese de nulidade implicará na obtenção de segregações esperadas iguais às observadas, a 5% de probabilidade.

#### 3.4.5.3 Teste de modelos genéticos por meio da função de máxima verossimilhança

A hipótese de herança controlada por genes maiores e/ou a presença de poligenes alterando o caráter de interesse, utilizando-se estimadores de máxima verossimilhança. Essa metodologia proposta por Silva (2003) é baseada em modelos, no qual o modelo mais amplo considera a presença de um gene de efeito maior aditivo e dominante mais poligenes com efeitos aditivos e de dominância, além de variâncias ambientais iguais em todas as gerações. Outros modelos são fundamentados em genes de efeito maior, bem como

poligenes, sendo que a partir das funções de verossimilhança para cada modelo é possível compor testes de interesse considerando várias hipóteses conforme a Tabela 1 onde são mostrados os modelos na ordem decrescente de hierarquização. Para a realização dos testes foi utilizado o *software* estatístico Monogen 1.0 desenvolvido por Silva (2003).

**Tabela 1** - Modelos genéticos e seus respectivos parâmetros utilizados pelo programa Monogen v. 0. 1.

Modelo	Herança	Gene Maior	Polígenes	Parâmetros
1	Maior + Polígenes	Dom. e Adit.	Dom. e Adit.	$\mu, A, D, [a], [d], V_A, V_D, S_{AD}, \sigma^2$
2	Maior + Polígenes	Dom. e Adit.	Adit.	$\mu, A, D, [a], V_A, \sigma^2$
3	Maior + Polígenes	Adit.	Dom. e Adit.	$\mu, A, [a], [d], V_A, V_D, S_{AD}, \sigma^2$
4	Maior + Polígenes	Adit.	Adit.	$\mu, A, [a], V_A, \sigma^2$
5	Somente Polígenes	-	Dom. e Adit.	$\mu, [a], [d], V_A, V_D, S_{AD}, \sigma^2$
6	Somente Polígenes	-	Adit.	$\mu, [a], V_A, \sigma^2$
7	Somente Gene Maior	Dom. e Adit.	-	$\mu, A, D, \sigma^2$
8	Somente Gene Maior	Adit.	-	$\mu, A, \sigma^2$
9	Nenhum	-	-	$\mu, \sigma^2$

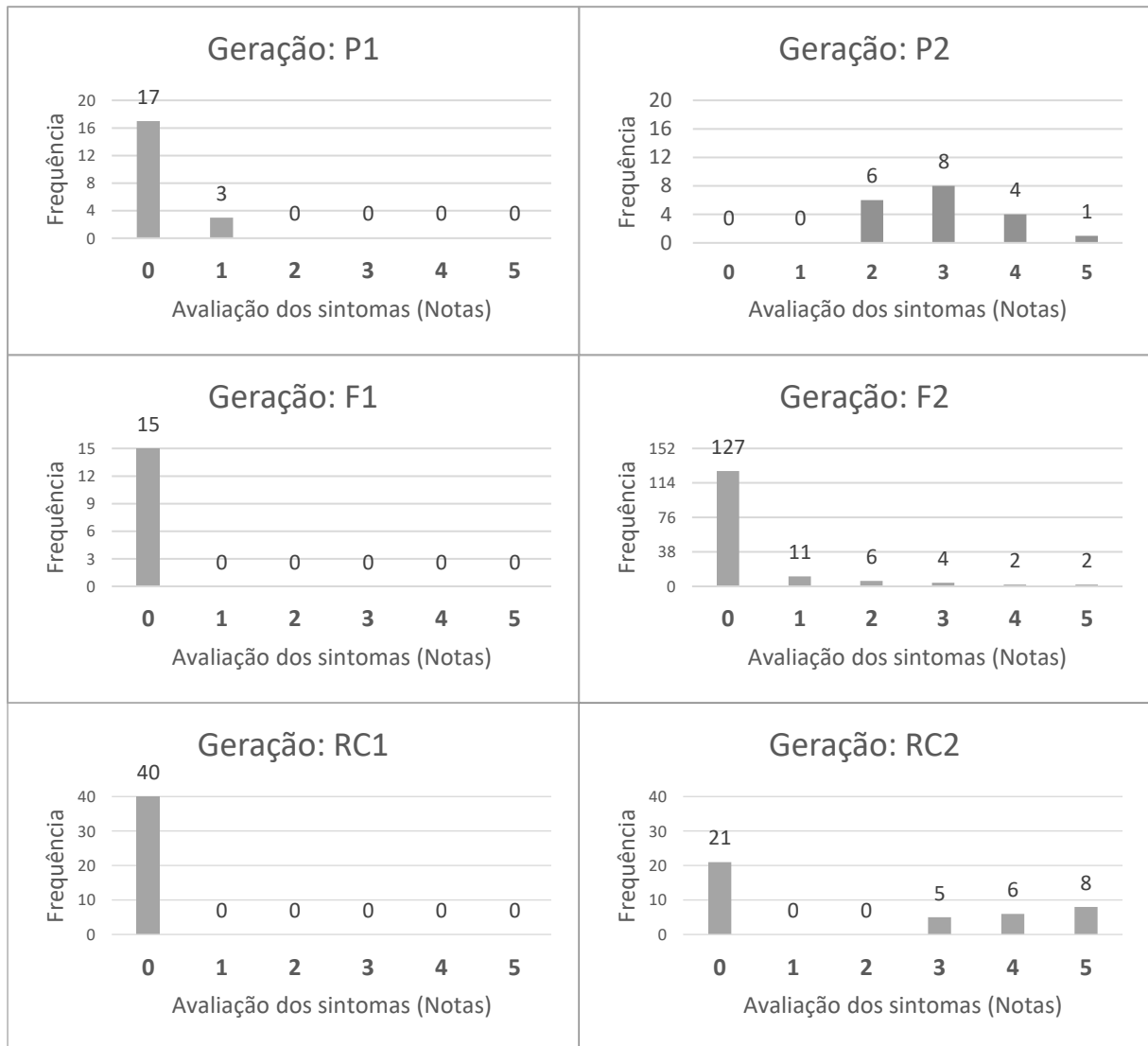
### 3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as plantas provenientes da autofecundação do parental resistente form resistentes, apresentando notas 0 e 1. Esses resultados corroboram com Mohan (1978), que classificou o genótipo Etiópia E 287 como imune. Isso indica que os locos de resistência estão em homozigose. Também foi confirmada a suscetibilidade do genótipo Sarchimor Mococa, que apresentou as 19 plantas avaliadas com notas iguais ou maiores que 2 (Figura 1). As médias dos pais E287 e Sarchimor Mococa foram 0,15 e 3,0 respectivamente, demonstrando a divergência entre os dois genitores com relação a resistência a *P. syringae* pv. *garcae*.

Na geração F<sub>1</sub>, não foi observada variabilidade dos sintomas (Figura 1), todas as plantas foram resistentes à MA, apresentando média igual a 0, não sendo visualizados sintomas da doença nas mudas clonais provenientes da planta F<sub>1</sub> (H1041). Na população RC<sub>1</sub>, todas as plantas também foram classificadas como resistentes, recebendo nota 0. Esses resultados indicam que os genes de resistência a Psg presentes em Etiópia E 287 são dominantes.

As outras populações avaliadas apresentaram segregação, como esperado. Em RC<sub>2</sub> foi observada resistência em 21 plantas (52,5%) e suscetibilidade em 19 (47,5%). Em F<sub>2</sub> foi possível visualizar a ampla variabilidade nos sintomas previstos para esta geração, no entanto ocorreu alta frequência de mudas sem sinais da doença. Apenas 14 delas (9,2%) foram suscetíveis e apresentaram notas entre 2 a 5, enquanto o maior número, 138 plantas (90,8%), foram classificadas como resistentes, sendo 83,5% com nota 0 e 7,3% com nota 1. Tanto as médias das gerações quanto as distribuições de frequência das notas de severidade de doença indicam ação gênica de dominância (Figuras 1).

**Figura 1** - Distribuição de frequência de mudas com sintomas de mancha aureolada das gerações P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, RC<sub>1</sub>e RC<sub>2</sub> a partir do cruzamento entre Etiópia E 287 x Sarchimor Mococa.



### 3.5.1 ANÁLISE DAS MÉDIAS DAS GERAÇÕES

A partir das informações obtidas das médias, foram testados o modelo completo, com os parâmetros genéticos  $m$ ,  $a$ ,  $d$ ,  $aa$ ,  $ad$ ,  $dd$  e o modelo aditivo-dominante, com apenas os parâmetros  $m$ ,  $a$  e  $d$ , para verificar a importância dos efeitos epistáticos no controle genético das características avaliadas.

Os valores obtidos por meio das avaliações visuais da resposta da inoculação de *P. syringae* pv *garcae* (notas 0 a 5) foram usados para calcular os parâmetros genéticos (Tabela 2). O coeficiente de variância ambiental foi mais baixo que o de variância genética, indicando que os efeitos genéticos agem em maior proporção na expressão da resistência à bacteriose. A estimativa de herdabilidade ampla, que é a proporção da variação fenotípica que pode ser herdada, ou seja, quantifica a confiabilidade do valor fenotípico como indicador do valor genotípico (BORÉM; MIRANDA, 2013), possibilitou inferir que 65.87% da variação total em  $F_2$  é atribuída a causas genéticas.

Os valores de herdabilidade em características quantitativas são normalmente baixas (inferiores a 30%), pois são fortemente influenciados pelo ambiente (RAMALHO et al., 2012), porém neste estudo verificou-se que a herdabilidade foi relativamente alta, explicando que o caráter avaliado foi pouco influenciado pelo ambiente.

Em geral, são consideradas pouco herdáveis estimativas com valores abaixo de 20%, moderadamente herdáveis estimativas com valores entre 20% e 40% e altamente herdáveis estimativas com valores superiores a 40%. Carvalho et al., (2012) obtiveram maior herdabilidade para a resistência à ferrugem, com valores entre 67% e 96%, ao analisarem estimativas combinadas de diversos caracteres vegetativos e reprodutivos do café arábica, por meio da técnica de meta-análise. Esse resultado refletiu a grande variabilidade genética dos cafeeiros analisados e a baixa influência ambiental.

Por esse modelo matemático, não foi possível estimar a variância aditiva e, conseqüentemente a herdabilidade no sentido restrito. Portanto, é possível dizer que para a herança da resistência a *P. syringae* pv. *garcae* ocorreu a predominância da variância de dominância.

O grau médio de dominância, fundamentado em médias, mostra a ocorrência de dominância completa, com valor de 1,10, indicando a predominância de efeitos não aditivos (dominância ou sobredominância), no controle genético do caráter. O valor do grau médio da

dominância apresentou-se maior que 1 pelo fato de que a média da população  $F_1$  é mais alta que a média dos pais.

As análises de gerações através das médias foram utilizadas para testar o modelo completo (Tabela 3) e o modelo aditivo-dominante (Tabela 4). No modelo completo, foi observado que o efeito de dominância tem maior contribuição para a resistência e apresenta a maior variância, além de sofrer efeitos epistáticos da interação dominante-dominante, também com alta variância.

**Tabela 2** - Estimativas dos parâmetros genéticos para a resposta à infecção de *Pseudomonas syringae* pv. *garcae*, avaliados em plantas das gerações  $P_1$ ,  $P_2$ ,  $F_1$ ,  $F_2$ ,  $RC_1$  e  $RC_2$ .

Parâmetros	Estimativa
Variância fenotípica	0,89
Variância ambiental ( $F_2$ )	0,30
Variância genotípica	0,59
Variância aditiva	-2,96
Variância dos desvios de dominância	3,55
Herdabilidade ampla (%)	65,87
Herdabilidade restrita (%)	-
Heterose	-1,58
Grau médio da dominância (Baseado em variâncias)	-
Grau médio da dominância (Baseado em médias)	1,10
Valor máximo nos pais	5
Valor mínimo nos pais	0
Valor máximo na $F_2$	5
Valor mínimo na $F_2$	0
Número de genes (Baseado em variâncias)	-

**Tabela 3** - Estimativas de efeitos genéticos para a resposta à infecção de *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* no modelo completo, avaliados em plantas das gerações  $P_1$ ,  $P_2$ ,  $F_1$ ,  $F_2$ ,  $RC_1$  e  $RC_2$  a partir do cruzamento Etiópia E 287 x Sarchimor Mococa.

Parâmetro	Efeito ajustado	Variância	Teste t
m	-0.98	0.58	-1.29 ns
a	-1.43	0.01	-13.06**
d	4.34	4.75	1.99*
aa	2.56	0.57	3.39**
ad	-1.10	0.52	-1.52 ns
dd	-3.36	2.04	-2.35*
r (Yobs, Yest)		1	
R <sup>2</sup>		1	

Para o modelo aditivo-dominante, os três parâmetros estimados, m, a e d diferiram significativamente de zero, a 1% de probabilidade pelo teste t, e apesar da pouca



diferença nas médias e variâncias entre os parâmetros, foi novamente observada a maior contribuição dos efeitos de dominância. Através do valor obtido em  $R^2$  (coeficiente de determinação), de 95,1% (Tabela 4) pôde ser confirmado que a resistência do genótipo Etiópia E 287 a *P. syringae* pv. *garcae* ocorre através de efeitos de dominância.

**Tabela 4** - Estimativas dos efeitos genéticos para a resposta à infecção de *Pseudomonas syringae* pv. *garcae*, no modelo aditivo-dominante (m, a, d), avaliados em plantas das gerações P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, RC<sub>1</sub> e RC<sub>2</sub>.

Parâmetro	Efeito ajustado	Variância	Teste t
m	1.29702	0.006725	15.81**
a	-1.29671	0.006725	-15.81**
d	-1.297235	0.00674	-15.80**
r (Yobs, Yest)		0.9752	
R <sup>2</sup>		0.951	

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade

### 3.5.1.1 Número de genes

Pelo método das variâncias não foi possível estimar o número de genes que atuam na resistência, no entanto com o método proposto por Sewall Wright (RAMALHO et al., 2012), podemos estimar o número de genes que atuam na resistência. Ao verificar a frequência entre indivíduos resistentes e suscetíveis, pela análise das médias da população, constata-se que o (s) gene (s) que atuam na resistência à mancha aureolada no cafeeiro da Etiópia apresenta efeito de dominância.

Deste modo, Wright propõe o uso de um estimador específico para genes de efeito dominante, por meio da fórmula:

$$n = \left[ \frac{1/4(3/4 - \mu + \mu^2)D^2}{\sigma_{GF_2}^2} \right], \text{ em que } \mu = \left( \frac{F_1 - P_1}{P_2 - P_1} \right) \text{ e } D = P_2 - P_1.$$

Calculando a fórmula, obtemos o valor 2,77, assim são 3 os genes que controlam o caráter no genótipo Etiópia E 287, no caso de dominância.

### 3.5.2 TESTE DE MODELOS GENÉTICOS POR MEIO DA FUNÇÃO DE MÁXIMA VEROSSIMILHANÇA

O teste de máxima verossimilhança realizado por meio do software estatístico Monogen 1.0 (SILVA, 2003) trabalha com modelos hierarquizados, assim o contraste entre

modelos pode levar a rejeição de um deles. Os possíveis testes de hipótese dos modelos genéticos pelo programa estão apresentados na Tabela 5.

**Tabela 5** - Testes de hipótese para os modelos genéticos hierárquicos da herança de resistência de *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* em *Coffea arabica*. (MODELO 1)

Modelos	GL	$\chi^2$
1 vs 2	3	713.50*
1 vs 3	1	110.94*
1 vs 4	4	1034.71*
1 vs 5	2	(a)
1 vs 6	5	1034.71*
1 vs 7	5	714.01*
1 vs 8	6	1057.56*
1 vs 9	7	1125.45*
2 vs 4	1	321.20*
2 vs 6	2	321.20*
2 vs 7	2	0.50 ns
2 vs 8	3	344.06*
2 vs 9	4	411.95*
3 vs 5	1	(a)
3 vs 6	4	923.76*
3 vs 8	5	946.62*
3 vs 9	6	1014.51*
4 vs 6	1	0.99 ns
4 vs 8	2	22.86*
4 vs 9	3	90.75*
5 vs 6	3	1117.14*
5 vs 9	5	1207.89*
6 vs 9	2	90.75*
7 vs 8	1	343.56*
7 vs 9	2	411.45*
8 vs 9	1	713.51*

\*; ns- Significativo e não significativo a 0.1% de probabilidade pelo teste t.

(a) – Valor negativo devido a problemas de convergência.

De acordo com Silva (2003) a análise deve ser iniciada confrontando o modelo 1, mais completo (gene maior dominante e aditivo + poligenes dominantes e aditivos) com os modelos contrastantes, que apresentam somente poligenes ou somente genes maiores, respectivamente os modelos 5 e 7. A razão de verossimilhança que evidencia a segregação de um gene de efeito maior ocorre confrontando os modelos 1 e 5, porém obteve-se um valor de  $\chi^2$  negativo. Este valor negativo ocorreu por falha na convergência das funções de verossimilhança, ou seja, não foram encontrados valores para os parâmetros que atingissem o

ponto de máxima verossimilhança. Comparando o modelo 1 com o modelo 7,  $H_0$  é rejeitado, logo há evidência de que efeitos poligênicos atuam na resistência.

Assim, infere-se que a presença de gene (s) de efeito maior com ação gênica de dominância e poligenes também com dominância, conferem resistência a *Pseudomonas syringae* pv. *garcae*. Portanto, o modelo selecionado para este cruzamento foi o modelo de herança mista (modelo 1). Esta metodologia não testa a hipótese da existência de mais de um gene de efeito maior, o que não pode ser descartado.

### 3.5.3 TESTE DE SIGNIFICÂNCIA – TESTE $\chi^2$

Pela configuração observada de 138 mudas resistentes (R) e 14 suscetíveis (S) na população segregante  $F_2$ , as estimativas de  $\chi^2$  referentes ao teste de herança monogênica foram significativas ( $P \leq 0,05$ ) para a herança monogênica, indicando que a resistência a Ps<sub>g</sub> é controlada por mais de um gene. A proporção observada foi então submetida ao teste qui-quadrado para 2 e 3 genes possibilitando algumas interpretações. As hipóteses foram estabelecidas com base nas frequências esperadas (Tabela 6).

A hipótese da resistência governada por dois genes dominantes e independentes é indicada pelo padrão de segregação 15:1 ( $\chi^2 = 2,2736$ ;  $P = 0,132$ ) (Tabela 7). Para a resistência governada por três genes, na proporção 57:7 ( $\chi^2 = 0,465$ ;  $P = 0,495$ ) a hipótese é de três genes ( $Ps1$ ,  $Ps2$ ,  $Ps3$ ) com dominância completa e segregação independente, sendo que somente um dos genes sozinho ( $Ps1$  ou  $Ps3$ ) faz com que a planta seja resistente, e dois são epistáticos entre si. Ou seja, as plantas são resistentes quando um dos seus alelos são dominantes nos dois genes ( $Ps1$  e  $Ps2$ ; ou  $Ps2$  e  $Ps3$ ), enquanto que são suscetíveis quando um dos genes apresenta dois alelos recessivos. Outra hipótese para a resistência com três genes com dominância completa e segregação independente 60:4 ( $\chi^2 = 2,274$ ;  $P = 0,132$ ).

**Tabela 6** - Constituições genéticas nas gerações segregantes F<sub>2</sub> e RC<sub>2</sub> provenientes do cruzamento Etiópia E 287 x Sarchimor Mococa, considerando a resistência a *P. syringae* pv *garcae* controlada por dois e três genes.

População	Alelos			Frequência	Hipóteses			
	<i>Ps1</i> __	<i>Ps2</i> __	<i>Ps3</i> __					
F <sub>2</sub> com 3 genes	<i>Ps1</i> __	<i>Ps2</i> __	<i>Ps3</i> __	27	54	57	60	63
	<i>Ps1</i> __	<i>Ps2</i> __	<i>ps3ps3</i>	9				
	<i>Ps1</i> __	<i>ps2ps2</i>	<i>Ps3</i> __	9				
	<i>ps1ps1</i>	<i>Ps2</i> __	<i>Ps3</i> __	9				
	<i>Ps1</i> __	<i>ps2ps2</i>	<i>ps3ps3</i>	3				
	<i>ps1ps1</i>	<i>Ps2</i> __	<i>ps3ps3</i>	3				
	<i>ps1ps1</i>	<i>ps2ps2</i>	<i>Ps3</i> __	3				
	<i>ps1ps1</i>	<i>ps2ps2</i>	<i>ps3ps3</i>	1				
RC <sub>2</sub> com 3 genes	<i>Ps1</i> __	<i>Ps2</i> __	<i>Ps3</i> __	1	5	6		
	<i>Ps1</i> __	<i>Ps2</i> __	<i>ps3ps3</i>	1				
	<i>Ps1</i> __	<i>ps2ps2</i>	<i>Ps3</i> __	1				
	<i>ps1ps1</i>	<i>Ps2</i> __	<i>Ps3</i> __	1				
	<i>Ps1</i> __	<i>ps2ps2</i>	<i>ps3ps3</i>	1				
	<i>ps1ps1</i>	<i>Ps2</i> __	<i>ps3ps3</i>	1				
	<i>ps1ps1</i>	<i>ps2ps2</i>	<i>Ps3</i> __	1				
	<i>ps1ps1</i>	<i>ps2ps2</i>	<i>ps3ps3</i>	1				
F <sub>2</sub> com 2 genes	<i>Ps1</i> __	<i>Ps2</i> __		9	9	12	15	
	<i>Ps1</i> __	<i>ps2ps2</i>		3				
	<i>ps1ps1</i>	<i>Ps2</i> __		3				
	<i>ps1ps1</i>	<i>ps2ps2</i>		1				
RC <sub>2</sub> com 2 genes	<i>Ps1</i> __	<i>Ps2</i> __		1				
	<i>Ps1</i> __	<i>ps2ps2</i>		1				
	<i>ps1ps1</i>	<i>Ps2</i> __		1				
	<i>ps1ps1</i>	<i>ps2ps2</i>		1				

**Tabela 7** - Segregação fenotípica de resistência e suscetibilidade a *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* em gerações P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>, F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub>, RC<sub>1</sub> e RC<sub>2</sub> e qui-quadrados ( $\chi^2$ ) para segregações em F<sub>2</sub> e RC<sub>2</sub>.

Número de genes	Hipótese de resistência	População Avaliada	Frequência observada		Segregação esperada R:S	$\chi^2$	p-valor
			R	S			
-	-	P <sub>1</sub>	20	0	01:00	-	-
-	-	P <sub>2</sub>	0	19	00:01	-	-
-	-	F <sub>1</sub>	15	0	01:00	-	-
1	1 gene dominante	F <sub>2</sub>	138	14	3:1	20.211	0.000**
2	2 genes dominantes	F <sub>2</sub>	138	14	9:7	73.684	0.000**
2	1 gene dominante e independente	F <sub>2</sub>	138	14	12:4	20.211	0.000**
2	2 genes dominantes e independentes	F <sub>2</sub>	138	14	15:1	2.274	0.132
3	3 genes dominantes promovem resistência, mas não são independentes	F <sub>2</sub>	138	14	54:10	4.744	0.029**
3	3 genes de efeito principal com dominância completa e segregação independente em que dois são epistáticos entre si.	F <sub>2</sub>	138	14	57:7	0.465	0.495
3	2 genes dominantes e independentes	F <sub>3</sub>	138	14	60:4	2.274	0.132
3	3 genes dominantes e independentes	F <sub>2</sub>	138	14	63:1	57.805	0.000**
-	-	RC <sub>1</sub>	40	0	01:00	-	-
2	2 genes dominantes e independentes	RC <sub>2</sub>	21	19	3:1	10.800	0.001**
3	3 genes de efeito principal com dominância completa e segregação independente em que dois são epistáticos entre si.	RC <sub>2</sub>	21	19	5:3	1.707	0.191
3	2 genes dominantes e independentes	RC <sub>2</sub>	21	19	6:2	10.800	0.001**

$\chi^2$  tabelado para 1 GL; \*\*: Significativo a ( $p < 0,05$ )

Para confirmar essas hipóteses, 40 plantas da população RC<sub>2</sub> foram inoculadas, e foi observada 21 e 19 plantas resistentes e suscetíveis, respectivamente. Assim, foram testadas as proporções fenotípicas de 3:1, além das proporções 5:3 referente à proporção

esperada de 57:7 em F<sub>2</sub> e de 6:2, para a proporção esperada de 60:4 em F<sub>2</sub>, ambas hipóteses para a herança controlada por três genes.

A hipótese de segregação 3:1 ( $\chi^2= 10,800$ ;  $p = 0,001$ ) foi rejeitada, assim como de 6:2 ( $\chi^2=10,800$ ;  $p = 0,001$ ). Portanto a hipótese de três genes controlando o caráter na proporção 57R:7S foi aceita com a confirmação do RC<sub>2</sub> na proporção 5:3 ( $\chi^2= 1,707$ ;  $p = 0,191$ ). Esses resultados indicam que segregação adequada na população F<sub>2</sub> é de 57:7 e não 60:4 ou 15:1, como visualizado apenas pela análise da população F<sub>2</sub>, o que demonstra que somente a inoculação da F<sub>2</sub>, não é suficiente para estudar a herança de caracteres.

### 3.6 CONCLUSÃO

A herança da resistência à mancha aureolada é controlada por três genes de efeito principal ou *major genes* (*Psg1*, *Psg2*, *Psg3*) de caráter qualitativo, com dominância completa e segregação independente. A presença de somente um dos gene faz com que a planta seja resistente, e dois são epistáticos entre si, ou seja, as plantas são resistentes quando um dos seus alelos são dominantes nos dois genes (*Psg1* e *Psg2*; ou *Psg2* e *Psg3*), enquanto que as plantas são suscetíveis quando um dos genes apresenta dois alelos recessivos.

#### 4 REFERÊNCIAS

AGROFIT - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

<[http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)>. Acesso em: 17 de jan. de 2019.

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

AMARAL, J. F.; TEIXEIRA, G. C.; PINHEIRO E. D. O bactério causador da “Mancha Aureolada” do cafeeiro. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 23, p. 151-155, 1956.

ANDREAZI, E.; SERA, G. H.; FARIA, R. T.; SERA, T.; SHIGUEOKA, L. H.; CARVALHO, F. G.; CARDUCCI, F. C.; CHAMLET, D. Desempenho de híbridos F1 de café arábica com resistência simultânea a ferrugem, mancha aureolada e bicho mineiro. **Coffee Science**, Lavras, v. 10, n.3, p. 375-382, 2015.

ANDREAZI, E.; SERA, G. H.; SERA, T., FONSECA, I. C. D. B.; CARDUCCI, F. C.; SHIGUEOKA, L. H.; SANTOS, W.G.; PEREIRA, C. T. M. Resistance to bacterial halo blight in Arabica coffee lines derivative from the genotype C1195-5-6-2 under natural infection conditions. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 18, n. 1, p. 110-115, 2018.

ANTHONY, F.; BERTRAND, B.; QUIROS, O.; WILCHES, A.; LASHERMES, P.; BERTHAUD, J.; CHARRIER, A. Genetic diversity of wild coffee (*Coffea arabica* L.) using molecular markers. **Euphytica**, v. 118, n. 1, p. 53-65, 2001.

ANZUETO, F.; BERTRAND, B.; SARAH, J.L. ESKES, A.B. DECAZ, B. Resistance to *Meloidogyne incognita* in Ethiopian *Coffea arabica* accessions. **Euphytica**, [S. l.], v. 118, p. 1-8. 2001.

BADEL, J. L.; ZAMBOLIM, L. Coffee bacterial diseases: a plethora of scientific opportunities. **Plant Pathology**, v. 68, n. 3, p. 411-425, 2019.

BAI, X.; ZHOU, L.; HU, Y.; JI, G.; LI, J.; ZHANG, H. Isolation and identification of the pathogen of coffee bacterial blight disease. **Chinese Journal of Tropical Crops** 34, 738-42, 2013.

BALDISSERA, J. N. C.; VALENTINI, G.; COAN, M. M. D.; GUIDOLIN, A. F.; COIMBRA, J. L. M. Fatores genéticos relacionados com a herança em populações de plantas autógamas. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 13, n. 2, p. 181-189, 2014.

BARBOSA, R. A.; SANTINI, P. T.; GUILHERME, L. R. G. Kasugamycin influence on bacterial blight of coffee and on green coffee beans physicochemical quality. **Coffee Science**, Lavras, v. 13, n. 1, p. 98 - 103, 2018.

BARTA, T.M.; WILLIS, D.K. Biological and molecular evidence that *Pseudomonas syringae* pathovars *coronafaciens*, *striafaciens* and *garcae* are likely the same pathovar. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v.153, p. 492- 499, 2005.

BELACHEW, B. Arabica coffee breeding for yield and resistance to coffee berry disease (*Colletotrichum kahawae* sp. nov.). 272 p., 2001.

BELAN, L. L.; POZZA, E. A.; FREITAS, M. L. D. O.; DE SOUZA, R. M. Diagrammatic scale for assessment of bacterial blight in coffee leaves. **Journal of Phytopathology**, v. 162, n. 11-12, p. 801-810, 2014.

BELAN, L. L.; POZZA, E. A.; DE OLIVEIRA FREITAS, M. L.; POZZA, A. A. A.; DE ABREU, M. S.; ALVES, E. Nutrients distribution in diseased coffee leaf tissue. **Australasian Plant Pathology**, v. 44, n. 1, p. 105-111, 2015.

BELAN, L. L.; POZZA, E. A.; de OLIVEIRA FREITAS, M. L.; RAIMUNDI, M. K.; de SOUZA, R. M.; da CRUZ MACHADO, J. Occurrence of *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* in coffee seeds. **Australian Journal of Crop Science**, v. 10, n. 7, p. 1015, 2016.

BERIAM, L. O. S.; PATRÍCIO, F. R. A.; MACIEL, K. W.; RODRIGUES, L. M. R.; de ALMEIDA, I. M. G. Diferenciação de bactérias do gênero *Pseudomonas* patogênicas ao cafeeiro por técnicas serológicas. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 84, e0702016, 2017.

BERTRAND, B.; VAAST, P.; ALPIZAR, E.; ETIENNE, H.; DAVRIEUX, F.; CHARMETANT, P. Comparison of bean biochemical composition and beverage quality of Arabica hybrids involving Sudanese-Ethiopian origins with traditional varieties at various elevations in Central America. **Tree Physiol**, v. 26, n. 9, p. 1239-1248, 2006.

BETTENCOURT, A. J. Melhoramento genético do cafeeiro: transferência de fatores de resistência à *Hemileia vastatrix* Berk et Br. para as principais cultivares de *Coffea arabica* L. Lisboa: Centro de Investigação das Ferragens do Cafeeiro, 93 p. 1981

BETTENCOURT, A. J.; NORONHA-WAGNER, M. Genetic factors conditioning resistance of *Coffea arabica* L. to *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. **Agronomia Lusitana**, v. 31, p. 285-292, 1971.

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. London: **Elsevier Applied Science**, v.4. p.199-234, 1988.

BOISSEAU, M.; ARIBI, J.; SOUSA, F.R.; CARNEIRO, R.M.D.G., ANTHONY, F. Resistance to *Meloidogyne paranaensis* in wild *Coffea arabica*. **Trop Plant Pathology**. 34:38-41. 2009.

BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. Herdabilidade. **Melhoramento de plantas**. Viçosa: Editora UFV, p. 98-128, 2013.

BRADBURY, J. F. **Guide to plant pathogenic bacteria**. Slough: C.A.B. Internacional Mycological Institute, 1986.



CAMARGO, R. de; TELLES JUNIOR, A.Q. **O café no Brasil sua aclimação e industrialização**. Rio de Janeiro: Serviço de informação Agrícola do Ministério da Agricultura, 535 p. 1953.

CARVALHO, A. Melhoramento do cafeeiro VI – Estudo e interpretação, para fins de seleção de produção individuais na variedade Bourbon. **Bragantia**, Campinas, v.12, n.4/6, p. 179-200, 1952.

CARVALHO, A. Novas variedades mais produtivas. **Agricultura Hoje**, São Paulo, v.6, n.68, p. 32-34, 1981.

CARVALHO, A. Evolução nos cultivares de café. **O Agrônomo**, Campinas, v.37, n.1, p. 7-11, 1985.

CARVALHO, A. Histórico do desenvolvimento do cultivo do café no Brasil. **Documentos IAC**, v. 34, p. 8, 2007.

CARVALHO, A.; ANTUNES FILHO, H.; MENDES, J. E. T.; LAZZARINI, W., JUNQUEIRA REIS, A.; ALOISI SOBRINHO, J.; MORAES, M. VIEIRA DE, NOGUEIRA., R, KERR.; ROCHA, T. R. Melhoramento do cafeeiro XIII - Café Bourbon Amarelo. **Bragantia**, Campinas, v.16, p. 411-454, 1957.

CARVALHO, A.; KRUG, C. A. Genética de *Coffea*: XII-Hereditariedade da côr amarela da semente. **Bragantia**, v. 9, n. 9-12, p. 193-202, 1949.

CARVALHO, A.; KRUG, C. A. Genética de *Coffea*: XIII-Hereditariedade do caráterístico erecta em *Coffea arabica* L. **Bragantia**, v. 10, n. 11, p. 321-328, 1950.

CARVALHO, A.; KRUG, C. A. Genética de *Coffea*: XV-Hereditariedade dos caráterísticos principais de *Coffea arabica* L. Var. semperflorens KMC. **Bragantia**, v. 12, n. 4-6, p. 163-170, 1952.

CARVALHO, A.; MEDINA FILHO, H. P.; FAZUOLI, L. C.; COSTA, W. M. Genética de *Coffea*: XXVI. Hereditariedade do porte reduzido do cultivar Caturra. **Bragantia**, v. 43, p. 443-458, 1984.

CARVALHO, A.; MEDINA FILHO, H. P.; FAZUOLI, L. C.; GUERREIRO FILHO, O.; LIMA, M. M. Aspectos genéticos do cafeeiro. **Revista Brasil de Genética.**, v. 14, n. 1, p. 135-183. 1991

CARVALHO, A.; FAZUOLI, L.C. Café. In: FURLANI, A.M.C.; VIEGAS, G.P.O. Melhoramento de plantas no Instituto Agrônomo. **Café**, p. 29-76. 1993.

CARVALHO, A.; MÔNACO, L.C. Natural crosspollination in *C. arabica*. In: INTERNATIONAL HORTICULTURA CONGRESS, 16., 1964, Brussels. Proceedings... Brussels: IHC, v. 4, p. 447-449, 1964.

CARVALHO, A.; MONACO, L. C. Transferência do fator caturra para o cultivar Mundo Novo de *Coffea arabica*. **Bragantia**, v. 31 (31) p. 379-399, 1972.

CARVALHO, A.M. de; PEREIRA, A.A.; CARVALHO, G.R.; MENDES, A.N.G.; BOTELHO, C.E. Avaliação de progênies de cafeeiros obtidas do cruzamento entre ‘Catuai’ e ‘Híbrido de Timor’. **Scientia Agraria**, Piracicaba, v. 9, n. 2, p. 249-253, 2008.

CARVALHO, A. M.; MENDES, A. N. G.; BOTELHO, C. E.; OLIVEIRA, A. C. B. Desempenho agrônômico de cultivares de café resistentes à ferrugem no Estado de Minas Gerais, Brasil. **Bragantia**, Campinas, v. 71, p. 481-487, 2012.

CARVALHO, A.; TANGO, J. S.; MONACO, L. C. Genetic control of the caffeine content of coffee. **Nature**, v. 205, n. 4968, p. 314, 1965.

CARVALHO, F. G.; SERA, G. H.; ANDREAZI, E.; SERA, T.; FONSECA, I. C. D. B.; CARDUCCI, F. C.; SHIGUEOKA, L. H.; HOLDERBAUM, M. M.; COSTA, K. C. Tolerância ao déficit hídrico em mudas de genótipos de café portadores de genes de diferentes espécies. **Coffee Science**, v. 12, 2017.

CARVALHO, S.P.; DE CUSTÓDIO, T.N.; BALIZA, D.P.; REZENDE, T.T. Metaanálise para estimativas de herdabilidade de caracteres vegetativos e reprodutivos de *Coffea arabica* L. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33 n.4, p. 1291-1298, 2012.

CARVALHO, V.L.; CUNHA, R.L.; SILVA, N.R.N.; Alternativas de controle de doenças do cafeeiro. **Coffee Science**, v. 7, p. 42–49, 2012.

CECAFÉ: Conselho dos Exportadores de Café do Brasil. **Exportação Anual 2018**. Disponível em: [https://www.cecafe.com.br/site/wp-content/uploads/graficos/CECAFE-ExportacaoAnual\\_TipoCafe.pdf](https://www.cecafe.com.br/site/wp-content/uploads/graficos/CECAFE-ExportacaoAnual_TipoCafe.pdf)

CHALFOUN, S. M.; REIS, P. R. História da cafeicultura no Brasil. In: REIS, P.R.; CUNHA, R.L. da. Café arábica: do plantio à colheita. Lavras: EPAMIG SM, v.1. cap. 1, p. 23-85. 2010.

CHARRIER, A.; BERTHAUD, J. Botanical classification of coffee. In: CLIFFORD, M. N.; WILSON, K.C. (Ed.). **Coffee: botany, biochemistry and production of beans beverage**. Westpost: AVI, p. 13-47, 1985.

CHATAIKA, B. Y. E.; BOKOSI, J. M.; CHIRWA, R. M.; KWAPATA, M. B. Inheritance of halo blight resistance in common bean. **African Crop Sci. J**, v. 19: p. 325-333, 2011.

CHEN, Z. Morphocultural and pathogenic comparisons between *Colletotrichum kahawae* and *C. gloeosporioides* isolated from coffee berries. PhD Thesis. Universidade Técnica de Lisboa. Lisboa. 2002.

CHENG, C-H. Inheritance of resistance to *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* and genetic correlations with fruit characters in a diploid *Actinidia chinensis* (kiwifruit) population. **Euphytica**, v. 198, n. 2, p. 305-315, 2014.

CLARINDO, W. R.; CARVALHO, C.R. Comparison of the *Coffea canephora* and *C. arabica* karyotype based on chromosomal DNA conten. **Plant Cell Reports**, Berlin, v.28, p. 73-81, 2009.

CONAB: Convênio Ministério da Agricultura – Secretaria da Produção e Comercialização. **Acomp. safra brasileira de café, v. 5– Safra 2018, n. 4 - Quarto levantamento**, Brasília, p. 1-84, dezembro de 2018 - Disponível em: <http://www.conab.gov.br>

CONCEIÇÃO, J. C. P. R. D.; ELLERY JUNIOR, R. G. D.; CONCEIÇÃO, P. H. Z. D. Cadeia agroindustrial do café no Brasil: Uma análise do período recente. **Radar**, v.53. 2017.

CRUZ, C. D. Programa Genes - Biometria. 1. ed. Viçosa, MG: Editora UFV, v. 1. 382 p. 2006.

CRUZ, Cosme Damião. GENES: software para análise de dados em estatística experimental e em genética quantitativa. *Acta Sci., Agron., Maringá*, v. 35, n. 3, p. 271-276, Set. 2013.

DAVIS, A. P.; GOVAERTS, R.; BRIDSON, D.M.; STOFFELEN, P.; An annotated taxonomic conspectus of the genus *Coffea* (*Rubiaceae*). **Botanical Journal of the Linnean Society**. v.152, p. 465-512, 2006.

DAVIS, A. P.; TOSH, J.; RUCH, N.; FAY, M. F. Growing coffee: *Psilanthus* (*Rubiaceae*) subsumed on the basis of molecular and morphological data; implications for the size, morphology, distribution and evolutionary history of *Coffea*. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 167, n. 4, p. 357-377, 2011.

DAMATTA, F.M.; RAMALHO, J.D.C. Impact of drought and temperature stress on coffee physiology and production: a review. **Brazilian Journal of Plant Physiology**. São Paulo, v. 18, p. 55-81, 2006.

DOMINGUES, M. V. P. F.; DEUS, B. C. D.; BERIAM, L. O. S.; BRAGHINI, M. T.; ALMEIDA, I. M. G.; BERNARDO, E. R. D. A.; ARAÚJO, C. F. Q.; PATRICIO, F. R. A. Controle químico e biológico da mancha aureolada em mudas de cafeeiro. IX Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, Curitiba-PR, 2015.

ESKES, A.B.; HOOGSTRATEN, J.G.J.; TOMA-BRAGHINI, M.; CARVALHO, A. Race-specificity and inheritance of incomplete resistance to coffee leaf rust in some Icatu coffee progenies and derivatives of Híbrido de Timor. **Euphytica**, Wageningen, v. 47, p. 11-19, 1990.

ESKES, A. A.; COSTA, W. M. Characterization of incomplete resistance to *Hemileia vastatrix* in Icatu coffee population. **Euphytica**, Wageningen, v. 32, n. 2, p. 649-655, Jun 1983.

FALLIK, E., BASHAN, Y., OKON, Y., CAHANER, A., KEDAR, N. Inheritance and sources of resistance to bacterial speck of tomato caused by *Pseudomonas syringae* pv. tomato. **Annals of Applied Biology**, v. 102 (2), p. 365-371, 1983.

- FATOBENE, B.J.R.; ANDRADE, V.T.; ALOISE, G.S.; SILVAROLLA, M.B.; GONÇALVES, W.; GUERREIRO-FILHO, O. Wild *Coffea arabica* resistant to *Meloidogyne paranaensis* and genetic parameters for resistance. **Euphytica**. 213:196. 2017.
- FAZUOLI, L. C. et al. Cultivares de Café arábica de porte baixo. IN: CARVALHO, C. H. S. **Cultivares de café: origem, características e recomendações**. Brasília: Embrapa Café, p. 227-254, 2008.
- FAZUOLI, L. C.; BRAGHINI, M. T.; SILVAROLLA, M. B.; MISTRO, J. C.; PATRÍCIO, F. R. A. Melhoramento do cafeeiro visando à resistência a doenças. Proceedings of the 9th Curso de Atualização em Café. Campinas, Brasil. **Documentos IAC 91**, 2009.
- FAZUOLI, L. C.; SILVAROLLA, M. B.; SALVA, T. D. J. G.; GUERREIRO FILHO, O.; MEDINA FILHO, H. P.; GONÇALVES, W. Cultivares de café arábica do IAC: Um patrimônio da cafeicultura brasileira. **O Agrônomo**, v. 59: 12-15. 2007
- GONÇALVES, F. L. T.; MASSAMBANI, O. Bacteria and Fungal Spores as Ice Nuclei from *Coffea Arabica*. **Ciência e Natura**, v. 33, n. 2, p. 73-93, 2011.
- GUERREIRO FILHO, O.; RAMALHO, M. A. P.; ANDRADE, V. T. Alcides Carvalho and the selection of Catuaí cultivar: interpreting the past and drawing lessons for the future. **Crop Breed. Appl. Biotechnol.**, Viçosa, v. 18, n. 4, p. 460-466, Dec. 2018.
- GUERREIRO FILHO, O.; SILVAROLLA, M. B.; ESKES, A. B. Expression and mode of inheritance of resistance in coffee to leaf miner *Perileucoptera coffeella*. **Euphytica**, v. 105, n. 1, p. 7-15, 1999.
- ICO: International Coffee Organization. **Exports of all forms of coffee by all exporting countries**. Disponível em: <http://www.ico.org/historical/1990%20onwards/PDF/2a-exports.pdf>. Acesso em: 05 fev. 2019.
- ICO: International Coffee Organization. **Total production by all exporting countries**. Disponível em: <http://www.ico.org/historical/1990%20onwards/PDF/1a-total-production.pdf>. Acesso em: 05 fev. 2019.
- ITO, D. S.; SERA, G. H.; SERA, T.; SANTIAGO, D. C.; KANAYAMA, F. S.; DEL GROSSI, L. Progênies de café com resistência aos nematoídes *Meloidogyne paranaensis* e raça 2 de *Meloidogyne incognita*. **Coffee Science**, Lavras, v. 3, n. 2, p. 156-163. 2008.
- KAIRU, G.M. Biochemical and pathogenic differences between Kenyan and Brazilian isolates of *Pseudomonas syringae* pv *garcae*. **Plant Pathology**, Oxford, v.46, p. 239-246, 1997.
- KIM, Y. J.; LIN, N. C.; MARTIN, G.B. Two distinct *Pseudomonas* effector proteins interact with the Pto kinase and activate plant immunity. **Cell**, v. 109, p. 589–598, 2002.
- KIMURA, O.; ROBBS, C.F.; RIBEIRO, R. L. D. Estudos sobre o agente da “Mancha Aureolada do cafeeiro” (*Pseudomonas garcae* Amaral et al.) Arquivos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Itaquai, v.3, n. 2, p. 15-18, 1973.

KING, E.O.; WARD, M.K.; RANEY, D.E. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescein. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, Saint Louis, v. 44, p. 301-307, 1954.

KOROBKO, A. WONDINAGEGNE, E. Bacterial blight of coffee (*Pseudomonas syringae* pv. *garcae*) in Ethiopia. In Rudoldh, K.; Burr, T.J.; Mansfield, J.W.; Stead, D.; Vivian, A.; Von Kietzele, J. *Pseudomonas syringae* and related pathogens. **Netherlands Springer**, p. 538-541, 1997.

KOZIK, E. U. Studies on resistance to bacterial speck (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*) in tomato cv. Ontario 7710. **Plant Breeding**, v. 121, p. 526-530, 2002.

KRUG, C. A.; MENDES, J. E. T.; CARVALHO, A. Taxonomia de *Coffea arábica* L.: descrição das variedades e formas encontradas no Estado de São Paulo. Campinas: Instituto Agrônômico. **Boletim Técnico**, v. 62, p. 57p, 1939.

KRUG, C. A.; CARVALHO, A. Genética de *Coffea* III. Hereditariedade da cor amarela dos frutos. Campinas, Instituto Agrônômico, 1940. 16p. **Boletim técnico**, v. 82.

KRUG, C. A.; CARVALHO, A. Genética de *Coffea* V: hereditariedade da coloração bronzeada das folhas novas de *coffea arabica* L. **Bragantia**, v. 2, n. 6, p. 199-220, 1942.

KRUG, C. A.; CARVALHO, A.; ANTUNES FILHO, H. Genética de *Coffea* XXI. Hereditariedade dos característicos de *Coffea arabica* L. var. *laurina*. **Bragantia**, v. 13, p. 247-255, 1954.

LASHERMES, P.; COMBES, M. C.; ROBERT, J.; TROUSLOT, P.; D'HONT, A.; ANTHONY, F.; CHARRIER, A. Molecular characterisation and origin of the *Coffea arabica* L. genome. **Molecular and General Genetics**, New York, v. 261, p. 259-266, 1999.

LELLIOTT R.A.; BILLING E.; HAYWARD A.C. A determinative scheme for the fluorescent plant pathogenic Pseudomonads. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 29, p. 470-489, 1966

LOBO, VL da S.; GIORDANO, L. de B.; LOPES, Carlos A. Herança da Resistência à mancha-bacteriana em tomateiro. **Embrapa Hortaliças-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2005.

MARTIN, G. B.; BROMMONSCHENKEL, S.H.; CHUNWONGSE, J.; FRARY, A.; GANAL, M.W.; SPIVEY, R.; WU, T.; EARLE, E.D.; TANKSLEY, S.D. Map-based cloning of a protein kinase gene conferring disease resistance in tomato. **Science**, v. 262, p. 1432-1436, 1993

MATHER, F.R.S.; JINKS, J.L. **Introdução à genética biométrica**. Ribeirão Preto, Sociedade Brasileira de Genética, 242p. 1984.

MATIELLO, J. B.; ALMEIDA, S. R.; SILVA, M. B. DA; FERREIRA, IRAN B.; CARVALHO, C. H. S. Siriema VC 4, cultivar clonal de cafeeiros com resistência

múltipla, à ferrugem e ao bicho mineiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS, 41, Poços de Caldas. Trabalhos apresentados, 417 p., 2015.

MATIELLO, J. B.; SANTINATO, R.; GARCIA, A. W. R.; ALMEIDA, S. R. **Cultura de café no Brasil: Manual de recomendações**. Varginha, MG. Futurama Editora, 2015.

MEDINA-FILHO, H. P.; CARVALHO, A.; MEDINA, D. M. Germoplasma de *Coffea racemosa* e seu potencial no melhoramento do cafeeiro. **Bragantia**, Campinas, v.36, n.11, p. 43-46, 1977.

MEDINA FILHO, H. P.; BORDIGNON, R.; CARVALHO, C. H. S. de. Desenvolvimento de novas cultivares de café arábica. In: CARVALHO, C. H. S. de. (Ed.). Cultivares de café: origem características e recomendações. Brasília: Embrapa Café. v. 1, p. 79-101, 2008.

MENDES, J. E., BRIEGER, F. G., KRUG, C. A., & CARVALHO, A. Melhoramento de *Coffea arabica* L. var Bourbon: estudo das produções individuais de 1107 cafeeiros no período 1933 a 1939 e resultados parciais de algumas de suas progênes. **Bragantia**, v. 1, n. 1, p. 3-176, 1941.

MENDES, A.N.G.; GUIMARÃES, R.J.; SOUZA, C.A.S. Classificação botânica, origem e distribuição geográfica do cafeeiro. In: GUIMARÃES, A.N.G.; GUIMARÃES, R.J.; SOUZA, C.A.S. (Eds.). **Cafeicultura**. Lavras: UFLA/FAEPE, p. 39-99, 2002.

MEYER, F. G.; FERNIE, L. M.; NARASIMHASWAMY, R. L.; MONACO, L. C.; GREATHEAD, D. J. FAO coffee mission to Ethiopia 1964–1965. FAO, Rome, 1968.

MIKLAS, P. N.; FOURIE, D.; WAGNER, J.; LARSEN, R. C.; MIENIE, C. M. S. Tagging and mapping *Pse-1* gene for resistance to halo blight in common bean differential cultivar UI-3. **Crop Sci**, v. **49**, p. 41-48, 2009.

MOHAN, S. K.; CARDOSO, R. M. L.; PAIVA, M.A. Resistência em germoplasma de *Coffea* ao cretamento bacteriano incitado por *Pseudomonas garcae* Amaral et al. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.13, n.1, p. 53-64, 1978.

MOHAN, S. K.; PAVAN, M. A. Resistencia em cultivares e espécies de *Coffea* a *Pseudomonas garcae* Amaral et al. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 2, p. 91, 1977.

MÔNACO, L. C. Melhoramento do cafeeiro: XVII - Seleção do café maragogipe A. D. **Bragantia**, Campinas, v. 19, n. unico, p. 458-492, 1960.

MORAES, S. A.; TOMAZELLO FILHO, M. H.; CARVALHO, M. Resistência de cafeeiros a *Pseudomonas garcae*. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v.1, p. 105-110, 1975.

NOIR, S.; ANTHONY, F.; BERTRAND, B.; COMBES, M. C.; LASHERMES, P. Identification of major gene (Mex-1) from *Coffea canephora* conferring resistance to *M. exigua* in *Coffea arabica*. **Plant Pathology**, v. 52, p. 97-103, 2003.

NORONHA-WAGNER, M.; BETTENCOURT, A. J. Genetic study of the resistance of *Coffea* sp to leaf rust 1: identification and behavior of four factors conditioning disease

reaction in *Coffea arabica* to twelve physiologic races of *Hemileia vastatrix*. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 45, p. 2021-2031, 1967

OLCZAK-WOLTMAN, H.; BARTOSZEWSKI, G.; MADRY, W.; NIEMIROWICZ-SZCZYTT, K. Inheritance of resistance to angular leaf spot (*Pseudomonas syringae* pv. lachrymans) in cucumber and identification of molecular markers linked to resistance. **Plant pathology**, v. 58, n. 1, p. 145-151, 2009.

OLIVEIRA, A. C. B.; SAKIYAMA, N. S.; CAIXETA, E. T.; ZAMBOLIM, E. M.; RUFINO, R. J. N.; ZAMBOLIM, L. Partial map of *Coffea arabica* L. and recovery of the recurrent parent in backcross progenies. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 7, p. 196-203, 2007.

OLIVEIRA, J.R.; ROMEIRO, R.S. Compostos fenólicos, idade da folha e resistência do cafeeiro a *Pseudomonas cichorii* e *Pseudomonas syringae* pv. *garcae*. **Revista Ceres**, Viçosa, v.38, n. 220, p. 445-452, 1991.

PAIVA, R.N.; CARVALHO, C.H.S.; MENDES, A.N.G.; ALMEIDA, S.R.; MATIELLO, J.B.; FERREIRA, R.A. Comportamento agrônomico de progênies de cafeeiro (*Coffea arabica* L.) em Varginha-MG. **Coffee Science**, Lavras, v.5, p. 49-58, 2010.

PARKINSON, N.; BRYANT, R.; BEW, J.; ELPHINSTONE, J. et al. Rapid phylogenetic identification of members of the *Pseudomonas syringae* species complex using the rpoD locus. **Plant Pathology**, v. 60, n. 2, p. 338-344, 2011.

PATRÍCIO, F.R.A.; ALMEIDA, I.M.G.; BARROS, B.C.; SANTOS, A.S.; FRARE, P.M. Effectiveness of acibenzolar-S-methyl, fungicides and antibiotics for the control of brown eye spot, bacterial blight, brown leaf spot and coffee rust in coffee. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v.152, p. 29-39, 2008.

PATRÍCIO, F.R.A.; BERIAM, L.O.S.; ROSSI, A.; MORAES, A.; ALMEIDA, I.M.G. Controle químico da mancha aureolada em uma região montanhosa. **Tropical Plant Pathology**, Lavras, v. 35, supl., p. S119, 2010.

PEREIRA, A. A. Cultivares: origem e suas características. In: REIS, P. R.; CUNHA, R. L. da (Eds.). **Café arábica do plantio à colheita**. Lavras: U. R. EPAMIG SM, v. 1.. p. 167-221. 2010.

PEREIRA, A.A.; BAIÃO, A.C. Cultivares. In: SAKIYAMA. Ney et al. **Café arábica do plantio à colheita**. Viçosa: FUNEP, p. 24-45. 2015.

PEREIRA, A. A.; OLIVEIRA, Antônio Carlos Baião de ; BOTELHO, C. E. ; CARVALHO, G. R. ; REZENDE, J.C. . Cultivares de café arábica desenvolvidas pela EPAMIG e instituições parceiras. **Informe Agropecuário** (Belo Horizonte), v. 34, p. 44-53, 2013.

PETEK, M. R.; SERA, T.; SERA, G. H.; FONSECA, I. C. B.; ITO, D. S. Selection of progenies of *Coffea arabica* with simultaneous resistance to bacterial blight and leaf rust. **Bragantia**, Campinas, v. 65, n.1, p. 65-73, 2006.

PILOVSKY M., ZUTRA D. Screening wild tomatoes for resistance to bacterial speck pathogen (*Pseudomonas tomato*). *Plant Dis.* v. 66, p. 46–47, 1982.

PINTO-MAGLIO, C.A.F.; CRUZ, N.D. Pachytene chromosome morphology in *Coffea* L. I. Nucleolar chromosomes. *Caryologia*, Firenze, Italia, v. 40, n.1-2, p.7-23, 1987.

PITBLADO, R.E.; MACNEILL, B.H. Genetic basis of resistance to *Pseudomonas syringae* pathovar tomato in field tomatoes. *Can. J. Plant Pathol*, v. 5, p. 251–255, 1983.

POZZA, E.A.; CARVALHO, V.L.; CHALFOUN, S. M. Sintomas de injúrias causadas por doenças em cafeeiro. In: GUIMARÃES, R.J.; MENDES, A. N. G.; BALIZA, D. P. (Ed). *Semiologia do cafeeiro: sintomas de desordem nutricionais, fitossanitários*. Lavras: UFLA, 2010. p. 69-101.

QUEIROZ-VOLTAN, R.B.; NARDIN, C. F.; FAZUOLI, L. C.; BRAGHINI, M. T. Caracterização da anatomia foliar de cafeeiros arábica em diferentes períodos sazonais. *Biotemas*, Florianópolis, v. 27, n. 4, p. 1-10, 2014.

RAIMUNDI, M. K. **Identificação bioquímica, molecular e patogenicidade de isolados de *Pseudomonas* spp. provenientes de cafeeiros em Minas Gerais**. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Federal de Lavras, 2017.

RAMALHO, M.A.P.; SANTOS, J.B.; PINTO, C.A.B.P.; SOUZA, E. A.; GONÇALVES, F. M. A.; SOUZA, J. C. **Genética na agropecuária**. Lavras: Ufla, 566 p. 2012

RAMOS, A.H.; SHAVDIA, L.D. A dieback of coffee in Kenya. *Plant Disease Reporter*, Washington, v.60, n.10, p.831-835, 1976.

RODRIGUES, L. M. R.; ALMEIDA, I. M. G.; PATRÍCIO, F. R. A.; BERIAM, L. O. S.; MACIEL, K. W.; BRAGHINI, M. T.; GUERREIRO FILHO, O. Mancha aureolada do cafeeiro causada por *Pseudomonas syringae* pv. *garcae*. *Boletim Técnico IAC*, v. 212, p. 24, 2013.

RODRIGUES, L. M. R.; CARNEIRO, M. G.; DESTÉFANO, S. A. L.; BRAGHINI, M. T.; PATRÍCIO, F. R. A. Reação de novas cultivares e seleções de café arábica à infecção por *Pseudomonas syringae* pv. *garcae*, agente causal da mancha-aureolada. *Embrapa Café*, 2018.

RODRIGUES, L. M. R.; QUEIROZ-VOLTAN, R. B.; GUERREIRO FILHO, O. Anatomical changes on coffee leaves infected by *Pseudomonas syringae* pv. *garcae*. *Summa Phytopathologica*, v. 41, n. 4, p. 256-261, 2015.

RODRIGUES, L. M. R.; BRAGHINI, M.T.; GUERREIRO FILHO, O. SH1 leaf rust and bacterial halo blight coffee resistances are genetically independent. *Bragantia*, Campinas, v. 76, n. 2, p. 209-213, Apr. 2017.

RODRIGUES, W. P.; VIEIRA, H. D.; BARBOSA, D. H.; SOUZA FILHO, G. R.; CANDIDO, L. S. Adaptability and genotypic stability of *Coffea arabica* genotypes based on



- REML/BLUP analysis in Rio de Janeiro State, Brazil. **Genet. Mol. Res.** v. 12, p. 2391-2399, 2014.
- ROMERO, G.; VÁSQUEZ, L. M.; LASHERMES, P.; & HERRERA, J. C. Identification of a major QTL for adult plant resistance to coffee leaf rust (*Hemileia vastatrix*) in the natural Timor hybrid (*Coffea arabica* x *C. canephora*). **Plant Breeding**, v. 133, n. 1, p. 121-129, 2014
- SAKIYAMA, N.S. O café arábica. In: SAKIYAMA, N. S. et al. **Café arábica do plantio à colheita**. Viçosa: UFV, p. 9-23. 2015
- SANTOS, T. B et al. Caracterização nutricional de acessos provenientes da Etiópia de café arábica. **Coffee Science**, Lavras, v. 10, n. 1, p. 10 - 19, 2015.
- SERA, G.H.; SERA, T.; ALTÉIA, M.Z.; ANDROCIOLI FILHO, A.; AZEVEDO, J.A.; PETEK, M.R.; ITO, D.S. Associação de *Pseudomonas syringae* pv. *garcae* com algumas características agronômicas em cafeeiros F2 segregantes para o gene *erecta*. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.28, n.5, p. 974- 977, 2004.
- SERA, G. H.; SERA, T.; FAZUOLI, L. C. Dwarf *Arabica coffee* cultivar with resistance to bacterial halo blight. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 17, n. 4, p. 403-407, 2017.
- SERA, T. Coffee genetic breeding at IAPAR. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 1, n. 2, 2001.
- SERA T.; CARDOSO, R.M.L.; MOHAN, S.K. Resistência ao crestamento bacteriano (*Pseudomonas garcae*) em materiais segregantes para resistência à ferrugem (*Hemileia vastatrix*). In Proceedings of the 7th Congresso brasileiro de pesquisas cafeeiras, Araxá, Brazil, p. 60-61, 1980
- SERA, T.; ALTEIA, M. Z.; PETEK, M.R. Melhoramento do Cafeeiro: Variedades Melhoradas no Instituto Agrônômico do Paraná (IAPAR). In: ZAMBOLIM L (Ed.). O estado da arte de tecnologias na produção de café. Viçosa: UFV. p. 217-251. 2002.
- SCHOLZ, M.B.S.; KITZBERGER, C.S.G.; PAGIATTO, N.F.; PEREIRA, L.F.P.; DAVRIEUX, F.; POT, D.; CHARMETANT, P.; LEROY, T. Chemical composition in wild ethiopian Arabica coffee accessions. **Euphytica**. V. 209, n. 2, p. 429-438, 2016.
- SILVA, W. P. **Estimadores de máxima verossimilhança em misturas de densidades normais: uma aplicação em genética**. 60f. Dissertação (Mestrado em Estatística e Experimentação Agropecuária) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2003.
- SILVAROLLA, M.B.; MAZZAFERA, P.; FAZUOLI, L.C. A naturally decaffeinated arabica coffee. **Nature**, p. 429-826, 2004
- SILVESTRINI, S.; JUNQUEIRA, M. G.; FAVARIN, A. C.; GUERREIRO-FILHO, O.; MALUF, M. P.; SILVAROLLA, M. B.; COLOMBO, C. A. Genetic diversity and structure of

Ethiopian, Yemen and Brazilian *Coffea arabica* L. accessions using microsatellites markers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v. 54, n. 6, p. 1367-1379, 2007.

TAHIR, J.; GARDINER, S.E.; HOYTE, S.; BASSETT, H.; BRENDOLISE, C.; CHATTERJEE, A.; TEMPLETON, K.; DENG, C.; CROWHURST, R.; MONTEFIORI, M.; ET AL. Multiple quantitative trait loci contribute tolerance to bacterial canker incited by *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* in kiwifruit (*Actinidia chinensis*). **BioRxiv**, 2019.

TEIXEIRA-CABRAL, T. A.; SAKIYAMA, N. S.; ZAMBOLIM, L.; PEREIRA, A. A.; SCHUSTER, I. Single-locus inheritance and partial linkage map of *Coffea arabica* L. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 4, p. 416-421, 2014.

TOMIYAMA, A. L. M. R.; RODRIGUES, L. M. R.; ANDRADE, V. T.; BERIAM, L. O. S.; DESTÉFANO, S. A. L.; GUERREIRO FILHO, O. Can the leaf age influence the susceptibility to bacterial-leaf-spot and bacterial-halo-blight on coffee seedlings? **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 85, 2018.

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.

VOSSSEN, H. A. M. Van der; WALYARO, D. J. A. Breeding for resistance to coffee berry disease in *Coffea arabica* L. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 29, p. 777-791, 1980.

VOSSSEN, H. A. M. van der; WALYARO, D. J. A. 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, 2009.

WOODEND, J. J.; MUDZENGERERE, E. Inheritance of resistance to wildfire and angular leaf spot derived from *Nicotiana rustica* var. *Brasilea*. **Euphytica**, v. 64, n. 1-2, p. 149-156, 1992.

XIN, X-F; KVITKO, B; HE, S. Y. *Pseudomonas syringae*: what it takes to be a pathogen. **Nature Reviews Microbiology**, v. 16, n. 5, p. 316, 2018.

YOUNG, J. M.; DYE, D. W.; BRADBURY, J. F.; PANAGOPOULOS, C. G.; ROBBS, C. F. Taxonomy of *Pseudomonas syringae*. **Journal of Plant Pathology**, p. S5-S14, 2010.

ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R.; ZAMBOLIM, E. M.; Doenças do cafeeiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. (Ed.). **Manual de fitopatologia**. São Paulo: Agronômica Ceres, v. 2, p. 165-180. 2005.

ZOCCOLI, D. M.; TAKATSU, A.; UESUGI, C. H. Ocorrência de mancha aureolada em cafeeiros na Região do Triângulo Mineiro e Alto Paranaíba. **Bragantia**, Campinas, v.70, n.4, p. 843-849, 2011.