

## SELEÇÃO ASSISTIDA POR MARCADORES ASSOCIADOS AO GENE $S_{H3}$ DE RESISTÊNCIA À FERRUGEM ALARANJADA EM GENÓTIPOS DE CAFÉ ARÁBICADERIVADOS DA SÉRIE BA<sup>1</sup>

Angelita Garbossi da Silva<sup>2</sup>; Caroline Ariyoshi<sup>3</sup>; Luciana Harumi Shigueoka<sup>4</sup>; Fernando C. Carducci<sup>5</sup>; Carlos Theodoro Motta Pereira<sup>6</sup>; Kawana Silva Bortolato<sup>7</sup>; Gustavo Hiroshi Sera<sup>10</sup>

<sup>1</sup> Trabalho financiado pelo Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do Café – Consórcio Pesquisa Café

<sup>2</sup> Bolsista Consórcio Pesquisa Café/ CNPq/ IAPAR. Email bolsista para correspondência: angelita@iapar.br

<sup>3</sup> Bolsista Consórcio Pesquisa Café/ CNPq/ IAPAR.

<sup>4</sup> Bolsista Consórcio Pesquisa Café/ CNPq/ IAPAR.

<sup>5</sup> Bolsista Consórcio Pesquisa Café/ CNPq/ IAPAR.

<sup>6</sup> Bolsista Consórcio Pesquisa Café/ CNPq/ IAPAR.

<sup>7</sup> Bolsista Consórcio Pesquisa Café/ CNPq/ IAPAR.

<sup>8</sup> Bolsista Consórcio Pesquisa Café/ CNPq/ IAPAR.

<sup>9</sup> Bolsista Consórcio Pesquisa Café/ CNPq/ IAPAR.

<sup>10</sup> Pesquisador do IAPAR/ Área de Melhoramento e Genética Vegetal. Email para correspondência: gustavosera@iapar.br

**RESUMO:** A ferrugem alaranjada (FA) é a principal doença do café e causadora de grandes perdas na produtividade e rentabilidade do cafeicultor. Uma das medidas de controle é o uso de cultivares resistentes, porém essas podem perder a resistência devido ao surgimento de novas raças fisiológicas, que até o momento somam mais de 50 raças identificadas no mundo. Cafeeiros arábicos da série BA possuem introgressão da espécie *Coffea liberica* e possuem características favoráveis como alta resistência à ferrugem devido à presença do gene  $S_{H3}$ , que possui grande potencial no desenvolvimento de cultivares com resistência durável. Alguns estudos já identificaram marcadores moleculares associados ao  $S_{H3}$ , porém é necessário validar esses marcadores nos programas de melhoramento. Assim, o objetivo desse estudo foi validar marcadores associados ao  $S_{H3}$  e utilizar esses na seleção assistida em genótipos resultantes do cruzamento de *C. arábica* e cafeeiros derivados da série BA. Foram efetuadas duas validações, sendo a primeira sem avaliação da severidade da FA em campo e utilizando genótipos já conhecidos na literatura como sendo portadores do  $SH3$ , e a segunda com avaliação da FA em campo e utilizando genótipos derivados de cafeeiros da série BA. Na primeira validação foram utilizados genótipos portadores do  $S_{H3}$  denominados CIFC H153/2 ( $SH1,3,5$ ), CIFC H151/1 ( $SH3,4,5$ ), CIFC H147/1 ( $SH2,3,4,5$ ) e CIFC 33/1-S 288-23 ( $SH3,5$ ). Também foram utilizadas as cultivares de café arábica IPR 100 (suscetível) e IPR 105 (resistente), ambas derivadas do cruzamento Catuaí x (Catuaí x BA-10). Como controles suscetíveis foram utilizados as cultivares Catuaí Vermelho IAC 99 e Mundo Novo IAC 376-4. O DNA dessas plantas foi amplificado usando quatro marcadores *SCAR* (SP-M8- $SH3$ , SP-M16- $SH3$ , BA-48-210-f e BA-124-12K-f), que correspondem a marcadores ligados ao gene  $SH3$ . Nessa primeira validação foi possível validar os marcadores SP-M16- $SH3$  e BA-124-12K-f. A segunda validação foi realizada com esses dois marcadores validados e em 26 plantas derivadas de cafeeiros da série BA, as quais estão em diferentes gerações de autofecundação. A avaliação da FA em campo foi em condições de infecção natural com as raças presentes no local, utilizando uma escala de notas de 1 a 5, sendo 1 as plantas mais resistentes e 5 as mais suscetíveis. O DNA genômico das 26 plantas, foi extraído a partir de folhas pelo método CTAB e, posteriormente o DNA foi amplificado. A análise de correlação mostrou associação positiva e significativa da avaliação fenotípica e os marcadores SP-M16- $SH3$  e BA-124-12K-f, e entre esses dois marcadores. Estes marcadores apresentam potencial para serem usados em programas de melhoramento visando identificar genótipos contendo genes de resistência à ferrugem.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Hemileia vastatrix*, *SCAR*, melhoramento.

## ASSISTED SELECTION BY MARKERS ASSOCIATED TO THE $S_{H3}$ GENE OF RESISTANCE TO LEAF RUST IN ARABICACOFFEE GENOTYPES DERIVATIVES FROM BA SERIES

**ABSTRACT:** Orange rust (FA) is the main coffee disease and causes major losses in coffee grower productivity and profitability. One of the control measures is the use of resistant cultivars, but these may lose resistance due to the emergence of new physiological races, which so far add up to 50 identified races in the world. BA series coffee trees have *Coffea liberica* introgression and have favorable characteristics such as high resistance to rust due to the presence of the  $SH3$  gene, which has great potential in the development of cultivars with durable resistance. Some studies have already identified molecular markers associated with  $SH3$ , but it is necessary to validate these markers in breeding programs. Thus, the objective of this study was to validate markers associated with  $SH3$  and to use these in assisted selection in genotypes resulting from the crossing of *C. arabica* and coffee plants derived from the BA series. Two

validations were performed, the first without field AF severity evaluation and using genotypes already known in the literature as having SH3, and the second with field AF evaluation and using genotypes derived from BA series coffee trees. In the first validation, SH3-bearing genotypes CIFC H153 / 2 (SH1,3,5), CIFC H151 / 1 (SH3,4,5), CIFC H147 / 1 (SH2,3,4,5) and CIFC 33/1-S 288-23 (SH3,5). Also used were the arabica coffee cultivars IPR 100 (susceptible) and IPR 105 (resistant), both derived from the cross Catuaí x (Catuaí x BA-10). As susceptible controls, the cultivars Catuaí Vermelho IAC 99 and Mundo Novo IAC 376-4 were used. The DNA of these plants was amplified using four SCAR markers (SP-M8-SH3, SP-M16-SH3, BA-48-21O-f and BA-124-12K-f), which correspond to markers linked to the SH3 gene. In this first validation it was possible to validate the markers SP-M16-SH3 and BA-124-12K-f. The second validation was performed with these two validated markers and in 26 plants derived from BA series coffee trees, which are in different generations of self-fertilization. . Field evaluation of AF was under conditions of natural infection with the races present on the site, using a scale from 1 to 5, with 1 being the most resistant and 5 the most susceptible plants. The genomic DNA of the 26 plants was extracted from leaves by the CTAB method and later the DNA was amplified. Correlation analysis showed a positive and significant association of phenotypic evaluation and markers SP-M16-SH3 and BA-124-12K-f, and between these two markers. These markers have the potential to be used in breeding programs to identify genotypes containing rust resistance genes.

**KEY WORDS:** *Hemileia vastatrix*, SCAR, breeding.

## INTRODUÇÃO

A cultura do café possui grande importância econômica e social para a economia brasileira, gerando divisas e empregos. O Brasil é o maior produtor e exportador mundial, além de ser o segundo maior consumidor da bebida.

Um dos fatores que reduz a produção brasileira e que diminui a rentabilidade do cafeicultor é a doença ferrugem alaranjada (FA). Existe controle químico por meio do uso de fungicidas, no entanto, essa estratégia aumenta os custos de produção e nem sempre é feito de modo correto, o que leva às perdas na produção. Outro problema é que as cultivares mais plantadas atualmente são as do grupo Catuaí e Mundo Novo (Chalfoun e Reis, 2010), ambas suscetíveis à FA (Andreazi et al., 2015). Outras cultivares como as do grupo Acaiaí, Icatu e Catucaí também são suscetíveis ou possuem baixo nível de resistência. No Brasil estão sendo plantadas novas cultivares com alto nível de resistência à FA, sendo essas derivadas do Híbrido de Timor (Sera et al., 2010). Algumas dessas cultivares perderam o alto nível de resistência devido ao surgimento de novas raças no Brasil (Del Grossi et al., 2013)

Os genes de efeito maior do cafeeiro que controlam a resistência à FA são  $S_{H1}$ ,  $S_{H2}$ ,  $S_{H3}$ ,  $S_{H4}$ ,  $S_{H5}$ ,  $S_{H6}$ ,  $S_{H7}$ ,  $S_{H8}$ ,  $S_{H9}$ ,  $S_{H?}$  os quais podem ser suplantados pelos correspondentes genes de virulência  $v1$  a  $v?$  das raças fisiológicas de *H. vastatrix* (Bettencourt e Rodrigues-Junior, 1988).

O  $S_{H3}$  vem sendo utilizado em vários programas de melhoramento do Brasil, pois esse gene ainda não foi suplantado pelas raças presentes nesse país (Sera et al., 2007). O  $S_{H3}$  foi identificado em cafeeiros derivados de *C. liberica*, como as seleções indianas S.288, S.333, S.353 4/5 e Séries BA derivadas dos cafeeiros tetraplóides S.26 e S.31 (*C. arabica* x *C. liberica*) (Noronha-Wagner e Bettencourt, 1967; Bettencourt e Noronha-Wagner, 1971).

Uma das formas de introgridir o gene  $S_{H3}$  nas cultivares em desenvolvimento é por meio da seleção assistida por marcadores moleculares associados a esse gene. A identificação de marcadores moleculares ligados aos genes de resistência à ferrugem é uma importante ferramenta para melhorar a eficiência da seleção em programas de melhoramento de café e diminuir as dificuldades de inocular raças fisiológicas com muitos genes de virulência. Já existem estudos que identificaram marcadores associados ao  $S_{H3}$  (Mahé et al., 2008), porém é necessário que se confirme a sua eficiência. O programa de melhoramento do Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR) possui várias linhagens de café arábica com introgressão de *C. liberica*, porém não se sabe quais possuem o gene  $S_{H3}$ .

Sendo assim, o objetivo desse estudo foi validar marcadores associados ao  $S_{H3}$  e utilizar esses na seleção assistida em genótipos resultante do cruzamento de *C. arabica* e cafeeiros da série BA pertencentes ao Banco de Germoplasma do IAPAR.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram efetuadas duas validações, sendo a primeira sem avaliação da severidade da FA em campo e utilizando genótipos já conhecidos na literatura como sendo portadores do  $S_{H3}$ , e a segunda com avaliação da severidade da FA em campo e utilizando genótipos derivados de cafeeiros da série BA.

Na primeira validação foram utilizados genótipos portadores do  $S_{H3}$  denominados CIFC H153/2 ( $S_{H1}$ , 3,5), CIFC H151/1 ( $S_{H3}$ ,4,5), CIFC H147/1 ( $S_{H2}$ ,3,4,5) e CIFC 33/1-S 288-23 ( $S_{H3}$ ,5). Também foram utilizadas as cultivares de café arábica IPR 100 (suscetível) e IPR 105 (resistente), ambas derivadas do cruzamento Catuaí x (Catuaí x BA-10), são cultivares sabidamente com suscetibilidade e resistência à ferrugem respectivamente. Também como controle suscetível foi utilizado a cultivar Catuaí Vermelho IAC 99. O DNA dessas plantas foi amplificado usando quatro marcadores SCAR (SP-M8-SH3, SP-M16-SH3, BA-48-21O-f e BA-124-12K-f), que correspondem a marcadores ligados ao gene  $S_{H3}$  (Alkimim et al., 2017). A amplificação por PCR foi realizada em um volume final de 25  $\mu$ L contendo 50 ng de DNA genômico, 1  $\times$  Taq DNA tampão polimerase; 2,0 mM  $MgCl_2$ ; 0,1 mM dNTPs; 0,4  $\mu$ M de cada *primer* e 0,5

unidades de Taq DNA polimerase. As reações foram realizadas utilizando termociclador Veriti (Applied Biosystems), com as seguintes condições: desnaturação inicial por 5 min a 95 °C; 35 ciclos de 45 seg a 94 °C; anelamento por 45 seg a temperaturas específicas para cada *primer*, extensão por 45 seg a 72 °C e uma extensão final de 10 minutos a 72 °C. Polimorfismos foram detectados em géis denaturantes de poli(acrilamida) a 6%, corados com nitrato de prata, de acordo com o protocolo descrito por Brito et al. (2010).

A segunda validação foi realizada com dois marcadores validados no primeiro teste (**Tabela 1**) e em 28 plantas derivadas de cafeeiros da série BA, as quais estão em diferentes gerações de autofecundação. Nessas 28 plantas e nos controles suscetíveis Catuaí Vermelho IAC 99 e Mundo Novo IAC 376-4, a severidade da FA foi avaliada em junho de 2014 e dezembro de 2018, em condições de infecção natural em campo, com as raças fisiológicas presentes no local. Foi utilizada uma escala de notas variando de 1 a 5, onde: nota 1 = plantas sem lesões cloróticas nas folhas; 2 = plantas com lesões que variam de “flecks” a cloroses na área infectada, mas sem a formação de uredosporos; nota 3 = pústulas uredospóricas em pequenas quantidades (1-25% das folhas), geralmente no terço inferior, com menor severidade no terço médio; nota 4 = pústulas uredospóricas em 26 - 50% das folhas, geralmente no terço inferior e médio, com início de queda de folhas; nota 5 = pústulas uredospóricas em mais de 50% das folhas, desde o terço inferior até o terço superior, com elevada intensidade de queda de folhas. Plantas com notas 1 e 2 foram classificadas como resistentes, enquanto que as com notas 3, 4 e 5 como suscetíveis (Shigueoka et al., 2014). Como a severidade da FA foi avaliada em dois anos e levando em conta que raças com diferentes genes de virulência ocorreram em diferentes anos, para classificar as plantas foi considerada a nota do ano em que ocorreu a maior severidade.

As folhas das 28 plantas derivadas da série BA, além dos controles suscetíveis (Catuaí Vermelho IAC-99, Mundo Novo IAC 376-4 e IPR 100) e do controle resistente (IPR 105), foram coletadas e imediatamente congeladas em nitrogênio líquido (N<sub>2</sub>). Esse elemento paralisa a atividade das células e evita a oxidação de compostos fenólicos. O DNA genômico das 28 plantas foi isolado a partir de folhas preservadas à -80°C de plantas adultas pelo método descrito por Pereira, et al. (2009) (protocolo adaptado de Ferreira, & Gratapaglia, 1998). Aproximadamente 5g de folhas de café foram maceradas em nitrogênio líquido, sendo pesados 200mg desse pó, e adicionados 700µL do tampão de extração CTAB 2% (CTAB 2%; 100mM Tris-HCl pH 7,5; 20mM de EDTA pH 8,0; 1,4M NaCl; 1% de PVP) com adição de 2% de β-mercaptoetanol seguida de incubação a 65°C por 30 minutos. Ao final deste período, as amostras foram resfriadas a temperatura ambiente e foram adicionados 600µL de clorofórmio-álcool isoamílico (24:1), que foram invertidos gentilmente por 5 minutos, e então centrifugadas a 14000 rpm por 5 minutos. O sobrenadante foi retirado, e foram adicionados 400µL de isopropanol a -20° C. As amostras foram colocadas a -20° C por aproximadamente 15 minutos, para precipitação dos ácidos nucleicos. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 7500 rpm durante 5 minutos. O pellet foi lavado por 2 vezes com 500µL de etanol 70%, e em seguida lavado com 1000µL de etanol absoluto durante 5 minutos. O pellet foi secado e ressuspendido com 30µL de água deionizada autoclavada. Após a extração verificou-se a qualidade do DNA através de um gel de agarose 1% e a quantificação foi feita no NanoDrop 1000 (Termo Scientific). As amostras foram diluídas para 50ng. µL<sup>-1</sup>. Para a PCR, foram utilizadas as mesmas etapas da validação e os géis denaturantes de poli(acrilamida) a 6%, foram corados com nitrato de prata.

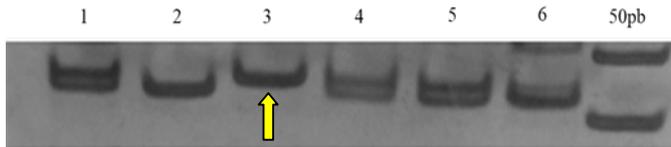
Para verificar se existe associação entre as avaliações de campo e os padrões de bandas dos marcadores, além da associação entre os dois marcadores, a correlação de Spearman foi analisada pelo programa R versão 3.3.0 (R Core Team, 2016), pacote psych (Revelle, 2016).

**Tabela 1.** Marcadores validados, suas sequências, temperaturas de anelamento T (°C), e distância entre o gene e o marcador molecular estimada no estudo de Mahé et al. (2008).

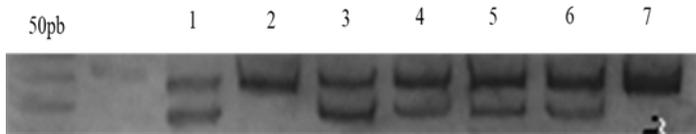
Marcador	Sequencia	T (°C)	Distancia (cM)
SP-M16-SH3	R: ATCTAGCTTTGGAACATCGT	49	1.8
	F: TTAAGTGGAAACTTGGCTTG		
BA-124-12KF	R: TGCAGATTGATGGCACGTTA	56	0
	F: TGATTCGCTTGTTGTCGAG		

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos quatro marcadores *SCAR* (SP-M8-*SH3*, SP-M16-*SH3*, BA-48-21O-f e BA-124-12K-f) utilizados na primeira validação foi possível validar os marcadores SP-M16-*SH3* e BA-124-12K-f, com 100% de associação com a presença do gene *S<sub>H3</sub>* e 0% para os demais marcadores. (**Figuras 1 e 2** respectivamente). A seta amarela indica o alelo de resistência.

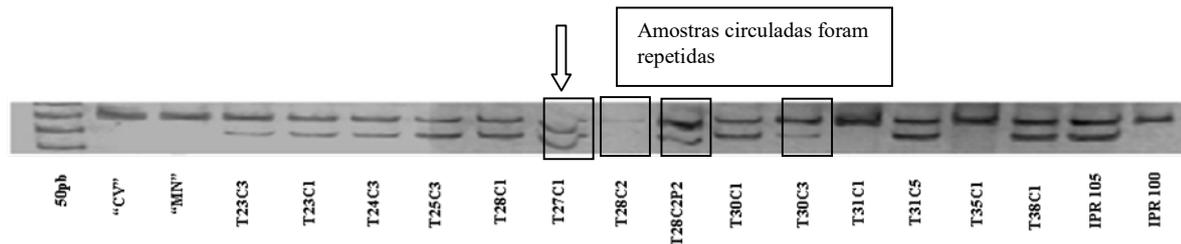


**Figura 1.** Validação do marcador molecular SPM-16-Sh3 ligado ao gene *S<sub>H3</sub>*, que confere resistência à ferrugem nos genótipos IPR105 (1), IPR100 (2), C1FC 33/1 S288-23 (3), C1FC H153/2 (4), C1FC H151/1(5) e Catuaí Vermelho IAC 99 (6).

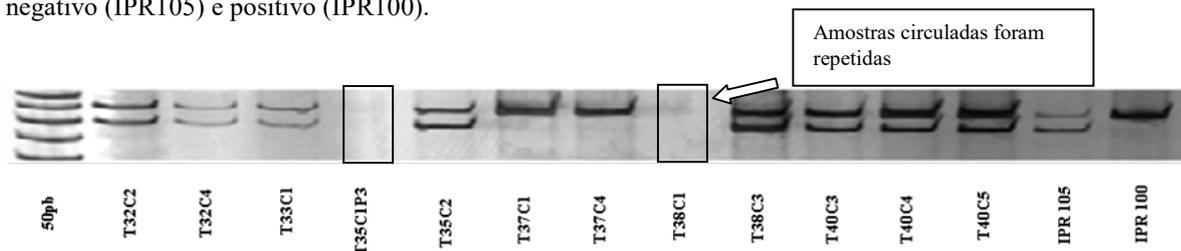


**Figura 2.** Validação do marcador molecular BA-124-12K-f ligado ao gene *S<sub>H3</sub>*, que confere resistência à ferrugem nos genótipos IPR105 (1), IPR100 (2), C1FC 33/1 S288-23 (3), C1FC H147/1 (4), C1FC H151/1 (5), C1FC H153/2 (6) e Catuaí Vermelho IAC99 (7).

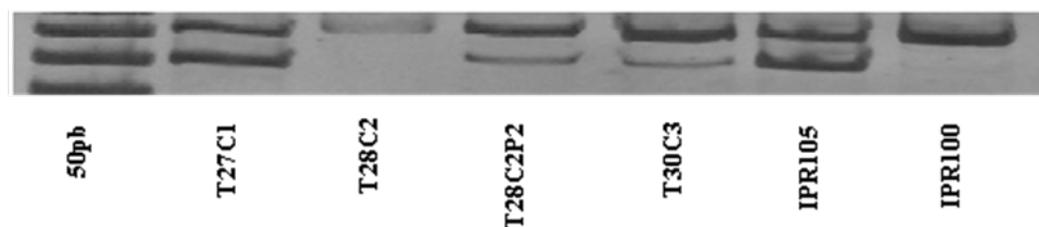
Na segunda validação, o marcador BA-124-12K-f apresentou um padrão de dominante, assim como no trabalho de Alckiminet al. (2017). Os controles suscetíveis (Catuaí Vermelho, Mundo Novo e IPR100) apresentaram padrões de suscetibilidade conforme o esperado, enquanto que o controle resistente IPR105 apresentaram bandas para resistência (**Figuras 3,4,5**). Para o marcador BA-124-12K-f, de 26 amostras, oito apresentaram resultado diferente da avaliação de campo. A planta T37C4 foi a única a não possuir o marcador do gene de resistência, no entanto, na avaliação fenotípica foi considerado resistente, sugerindo que pode ter ocorrido algum escape na avaliação da severidade em campo. As plantas T24C1, T28C2P2, T30C3, T32C2P3, T38C1, T40C4 e T40C5 foram suscetíveis na avaliação de campo, porém apresentaram bandas com padrões de resistentes (**Tabela 2**), indicando que nem sempre o BA-124-12K-f está associado com alta resistência à ferrugem promovida pelo gene *S<sub>H3</sub>*.



**Figura 3.** Amplificação do marcador molecular BA-124-12-K-f. Na foto, o ladder de 50pb seguido dos controles positivos (Catuaí Vermelho IAC 99 = CV; Mundo Novo IAC 376-4 = MN), as plantas derivadas da série BA, o controle negativo (IPR105) e positivo (IPR100).



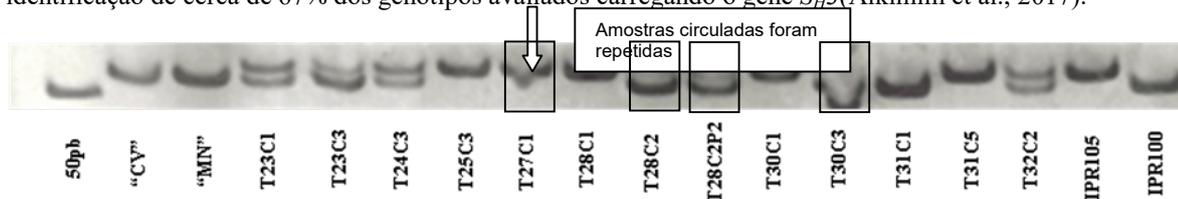
**Figura 4.** Amplificação do marcador molecular BA-124-12-K-f. Na foto, o ladder de 50pb seguido das plantas derivadas da série BA, o controle negativo (IPR105) e positivo (IPR100).



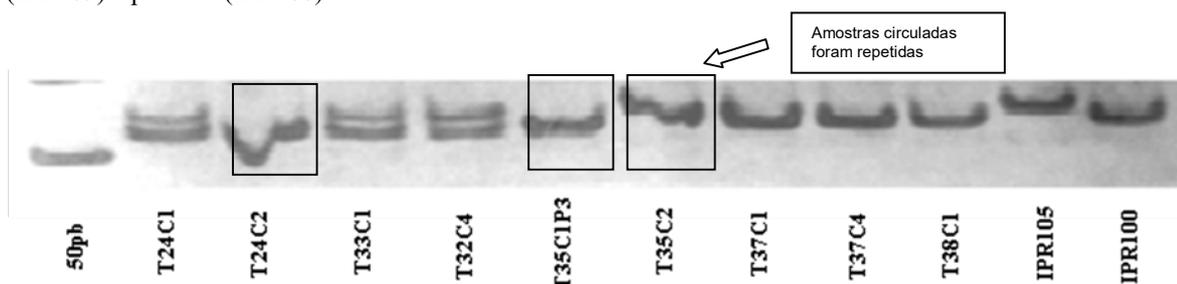
**Figura 5.** Amplificação do marcador molecular BA-124-12-K-f. Na foto, o ladder de 50pb seguidodas plantas derivadas da série BA, o controle negativo (IPR105) e positivo (IPR100).

Para o marcador Sp-MH16, os controles suscetíveis (Catuaí Vermelho, Mundo Novo e IPR100) também apresentaram bandas padrões de suscetibilidade conforme o esperado, enquanto que o controle resistente IPR105 apresentou bandas para resistência. O marcador Sp-MH16 é considerado co-dominante, assim como verificado por Mahé et al. (2008), sendo que das 26 amostras, somente seis apresentaram resultado diferente da avaliação de campo (**Figuras 6, 7, 8, 9**). Da mesma forma que no marcador BA-124-12K-f, a planta T37C4 foi resistente em campo, porém apresentou banda para suscetibilidade, confirmando a hipótese de escape. As plantas T24C1, T28C2P2, T32C2P3, T40C4 e T40C5 foram suscetíveis em campo, porém apresentaram bandas para resistência, do mesmo modo que os resultados do BA-124-12K-f.(Tabela 2).

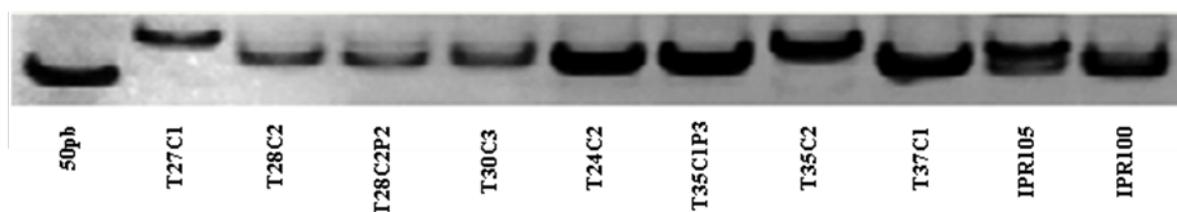
Portanto, da mesma forma que o BA-124-12K-f, o marcador Sp-MH16 não está 100% associado com presença do  $S_H3$ . As plantas T30C3 e T38C1 foram suscetíveis em campo, apresentaram bandas para resistência pelo marcador BA-124-12K-f e bandas para suscetibilidade pelo Sp-MH16, indicando que esse último possui maior associação com o  $S_H3$  do que o primeiro. Utilizando os marcadores BA-124-12K-f e Sp-MH16 a porcentagem de acerto com as avaliações de campo foram, respectivamente, 69,2% e 76,9%. Em outro estudo, foi verificado que para os quatro marcadores, houve identificação de cerca de 67% dos genótipos avaliados carregando o gene  $S_H3$ (Alkimim et al., 2017).



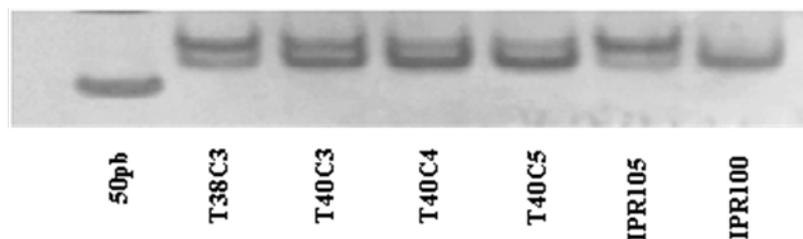
**Figura 6.** Amplificação do marcador molecular SPM-16-Sh3. Na foto, o ladder de 50pb seguido dos controles positivos (Catuaí Vermelho IAC 99 = CV; Mundo Novo IAC 376-4 = MN), as plantas derivadas da série BA, o controle negativo (IPR105) e positivo (IPR100).



**Figura 7.** Amplificação do marcador molecular SPM-16-Sh3. Na foto, o ladder de 50pb seguido das plantas derivadas da série BA, o controle negativo (IPR105) e positivo (IPR100).



**Figura 8.** Amplificação do marcador molecular SPM-16-Sh3. Na foto, o ladder de 50pb seguido das plantas derivadas da série BA, o controle negativo (IPR105) e positivo (IPR100).



**Figura 9.** Amplificação do marcador molecular SPM-16-Sh3. Na foto, o ladder de 50pb seguido das plantas derivadas da série BA, o controle negativo (IPR105) e positivo (IPR100).

**Tabela 2.** Avaliações da severidade da ferrugem alaranjada em junho de 2014 e dezembro de 2018, em condições de infecção natural em campo, com as raças fisiológicas presentes no IAPAR (Londrina, PR) e padrões de bandas resistentes (R), heterozigotos resistentes (RCod) e suscetíveis (S) dos marcadores moleculares BA-124-12k-F e Sp-M16-SH3.

Planta	Classificação da resistência à FA <sup>(1)</sup>	BA-124-12k-F	Sp-M16-SH3
T23C1	R	R	R
T23C3	R	R	R
T24C1	S	R	RCod
T24C2	S	S	S
T24C3	R	R	RCod
T25C3	R	R	R
T27C1	R	R	R
T28C1	R	R	R
T28C2	S	S	S
T28C2P2	S	R	RCod
T30C1	R	R	R
T30C3	S	R	S
T31C1	S	S	S
T31C5	R	R	R
T32C2P3	S	R	RCod
T32C4	R	R	RCod
T33C1	R	R	RCod
T35C1P3	S	S	S
T35C2	R	R	R
T37C1	S	S	S
T37C4	R	S	S
T38C1	S	R	S
T38C3	R	R	RCod
T40C3	R	R	RCod
T40C4	S	R	RCod
T40C5	S	R	RCod
Catuaí <sup>(2)</sup>	S	S	S
Mundo Novo <sup>(2)</sup>	S	S	S
IPR 100 <sup>(2)</sup>	S	S	S
IPR 105 <sup>(3)</sup>	R	R	R

<sup>(1)</sup>Baseado nas avaliações da severidade da FA em condições de campo, em junho de 2014 e dezembro de 2018. Resistentes (R) = notas 1 e 2; Suscetíveis (S) = notas 3, 4 e 5 (Shigueoka et al., 2014).

<sup>(2)</sup> Controles suscetíveis.

<sup>(3)</sup> Controle resistente.

Foi observada correlação positiva e significativa da avaliação fenotípica e os marcadores BA-124-12-K-f e SPM-16-Sh3, respectivamente, com valores de correlação de 0,60 e 0,73, confirmando que esses marcadores estão associados com a presença do gene *S<sub>H</sub>3*. A correlação entre os marcadores foi de 0,86.

## CONCLUSÕES

Os marcadores moleculares BA-124-12-K-f e SPM-16-Sh3 apresentaram associação com plantas resistentes à ferrugem alaranjada derivadas de cafeeiros da série BA, porém não foram 100% com a presença do gene *S<sub>H</sub>3*.

Esses dois marcadores podem ser utilizados em programas de melhoramento, porém o marcador BA-124-12-K-f não complementa a análise molecular do marcador SPM-16-Sh3, por esse motivo, a utilização somente do marcador SPM-16-Sh3 seria suficiente para a seleção assistida molecular.

## AGRADECIMENTOS

A CAPES e ao Consórcio Pesquisa Café pelo apoio financeiro.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alkimim, E.R., Caixeta E.T., Sousa T.V. et al (2017) Marker-assisted selection provides arabica coffee with genes from other *Coffea* species targeting on multiple resistance to rust and coffee berry disease. *Mol Breeding* 37:6. <https://doi.org/10.1007/s11032-016-0609-1>.

- Andreazi, E.; Sera, G. H.; Faria, R. T. de; 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*, 10: 375 - 382, 2015.
- Bettencourt, A. J.; Noronha-Wagner, M. (1971) Genetic factors conditioning resistance of *Coffea arabica* L. to *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. *Agronomia Lusitana*, 31: 285- 292.
- Bettencourt, A. J.; Rodrigues-Junior, C. J. (1988) Principles and practice of coffee breeding for resistance to rust and other disease. Elsevier Applied Science In: Clarke, R. J.; Macrae, R. (Eds) *Coffee Agronomy*, v. 4, p. 199–234.
- Brito, G.G. de; Caixeta, E.T.; Gallina, A.P.; Maciel-Zambolim, E.; Zambolim, L.; Diola, V.; Loureiro, M.E. (2010). Inheritance of coffee leaf rust resistance and identification of AFLP markers linked to the resistance gene. *Euphytica*, v.173, p.255-264.
- Chalfoun, S. M.; Reis, P. R. História da cafeicultura no Brasil. In: Reis, P. R.; Cunha, R. L. (eds) *Café arábica: do plantio à colheita*. U. R. EPAMIG SM, Lavras, 2010. p. 21-85.
- Del Grossi, L.; Sera, T.; Sera, G. H.; Fonseca, I. C. de B.; Ito, D. S.; Shigueoka, L. H.; Andreazi, E.; Carvalho, F. G. Rust resistance in arabic coffee cultivars in northern Paraná. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 56: 27-33, 2013.
- Ferreira, M. E.; Grattapaglia, D. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. 3. ed. Brasília: Embrapa-Cenargen, p.220, 1998.
- Mahé, I.; Combes, M. C.; Várzea, V. M. P.; Guilhaumon, C.; Lashermes, P. Development of sequence characterized DNA markers linked to leaf rust (*Hemileia vastatrix*) resistance in coffee (*Coffea arabica*). *Molecular Breeding*. v. 21, p.105– 113, 2008.
- Noronha-Wagner, M.; Bettencourt, A. J. (1967) Genetic study of resistance of *Coffea* sp. to leaf rust. I. Identification and behaviour of four factors conditioning disease reaction in *Coffea arabica* to twelve physiologic races of *Hemileia vastatrix*. *Canadian Journal of Botany*, 45: 2021-2031.
- Pereira, G.S., Pinho, E. V. R. V., Padilha, L., Vilela, L. R., Carvalho, L. Pinho, I. V. V. Coleta de folhas do cafeeiro e extração de DNA genômico de alta qualidade. VI Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, 2009.
- R Core Team (2016) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Comput Vienna.
- Revelle W (2016) Psych: procedures for personality and psychological research. Northwest Univ. Evanston. Illinois. USA. <http://CRAN.R-project.org/package=psych> Version = 1.6.4.
- Sera, G. H.; Sera, T.; Fonseca, I. C. de B.; Ito, D. S. Resistência à ferrugem alaranjada em cultivares de café. *Coffee Science*, 5: 59-66, 2010.
- Sera, G. H.; Sera, T.; Ito, D. S.; Azevedo, J. A. de; Mata, J. S. da; Doi, D. S.; Ribeiro-Filho, C. (2007) Resistência a ferrugem em café cultivar *SH3* e outros genes *SH*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 50:753-757.
- Shigueoka, L. H.; Sera, G. H.; Sera, T.; Fonseca, I. C. de B.; Mariucci Júnior, V.; Andreazi, E.; Carvalho, F. G.; Gardiano, C. G.; Carducci, F. C. Selection of Arabic coffee progenies with rust resistance. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 14: 88-93, 2014.