

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 21/10/2018.

Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"
Instituto de Biociências
Campus Botucatu

**Mapeamento de QTLs e eQTLs relacionados à resistência à
Phytophthora parasitica (agente causador da gomose dos citros)
em citrandarins**

Rômulo Pedro Macêdo Lima

Botucatu - SP
2016

Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"
Instituto de Biociências
Campus Botucatu

**Mapeamento de QTLs e eQTLs relacionados à resistência à
Phytophthora parasitica (agente causador da gomose dos citros)
em citrandarins**

Rômulo Pedro Macêdo Lima

Orientador: Dr. Marcos Antonio Machado

Coorientador: Dra. Mariângela Cristofani-Yaly

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Genética) do Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", para obtenção do Título de Mestre em Genética.

Botucatu - SP
2016

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Lima, Rômulo Pedro Macêdo.

Mapeamento de QTLs e eQTLs relacionados à resistência à *Phytophthora parasitica* (agente causador da gomose dos citros) em citrandarins / Rômulo Pedro Macêdo Lima. - Botucatu, 2016

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Marcos Antonio Machado
Coorientador: Mariângela Cristofani-Yaly
Capes: 20203004

1. Cítricos - Doenças e pragas - Controle. 2. Expressão gênica. 3. *Phytophthora parasitica*. 4. Mapeamento cromossômico. 5. Fungos.

Palavras-chave: Citros; Expressão gênica; Gomose; Mapas genéticos de ligação; Marcadores DArT-seq.

Agradecimentos

A Deus por minha vida, a de meus familiares e amigos.

Ao meu orientador Dr. Marcos Antonio Machado, pela orientação e confiança.

À minha coorientadora Dra. Mariângela Cristofani-Yaly, pelos ensinamentos passados ao longo desses dois anos e pela imensurável contribuição neste trabalho.

Aos professores Dr. Ivan Maia e Dr. Evandro Schinor, pelas enormes contribuições e sugestões transmitidas no exame geral de qualificação.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pela concessão da bolsa de estudos; à UNESP em Botucatu e ao Programa de Pós-graduação em Genética, pelo acolhimento e oportunidade de ser membro discente do Mestrado; e ao Centro de Citricultura Sylvio Moreira, bem como toda sua equipe de funcionários, pelo apoio e exemplo de dedicação à pesquisa na área da citricultura.

Aos estagiários Natália Coelho, Érika Nascimento e Luiz Henrique, pelo auxílio na coleta de folhas e maceração do material vegetal; à Tatiany Soratto, pela ajuda na inoculação das plantas e discussões sobre o trabalho; à Me. Kelly Aparecida, pelas dicas passadas sobre PCR convencional; ao Dr. Leonardo Boava, pelo desenho dos primers e sugestões sobre a doença gomose dos citros; à Carolina Munari e ao Me. Heros Máximo, pelo auxílio na avaliação de genes normalizadores; ao Dr. Ronaldo Dalio, pelas sugestões e contribuições logo quando iniciei o Mestrado; ao Me. Tiago Oliveira, pelo auxílio nas práticas de laboratório e na extração de RNA; à Me. Gabriella Arena, pela grande ajuda na avaliação dos dados e análises estatísticas de RT-qPCR; e à Me. Maiara Curtolo, pela imensurável contribuição na parte do mapeamento de QTLs e eQTLs.

A todos os meus colegas de laboratório e amigos de alojamento, pelas palavras de incentivo, momentos de desespero e relação de carinho, em especial a Inaiara Pacheco, Tatiane Cunha, Diogo Galdeano, Camila Chabi, Larissa Bonevaes, Letícia Mitre, Reinaldo Rodrigues, Simone Cristina, Fábio Barufaldi, Laura Melissa, César Augusto, Nicholas Vinícius, Karina Salomão, Thamara Azevedo e Cristiano Barbalho.

A toda galera da Biologia e professores da UESB, pelos momentos de descontração, ensinamentos e trocas de motivação à distância.

Ao professor Dr. Antonio Carlos de Oliveira, por ter me iniciado nas pesquisas, enfim, por ser meu “pai científico”.

A todos os meus amigos da minha cidade natal e meus familiares, pelo amor e carinho.

À minha mãe, Vanuza Macêdo, pela paciência e amor incondicional, por sempre ter me dado apoio e incentivo; e ao meu pai Eurípedes Rocha Lima (*in memoriam*), por a cada caminho sempre me transmitir forças e coragem para avançar.

À minha eterna namorada e companheira Jakeline Santos, por a cada devaneio e ansiedade me acalmar, pelo amor e ajuda sobre genética durante esses seis anos.

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

Epígrafe

“Dizem que a vida é para quem sabe viver, mas ninguém nasce pronto. A vida é para quem é corajoso o suficiente para se arriscar e humilde o bastante para aprender.”

Clarice Lispector

Resumo

Phytophthora nicotianae Breda de Haan (*Phytophthora parasitica* Dastur) e *Phytophthora citrophthora* (Smith & Smith), agentes causadores da gomose e podridão radicular, têm trazido graves danos em viveiros e pomares de citros no mundo inteiro. O Centro de Citricultura Sylvio Moreira/IAC vem realizando um amplo programa de melhoramento genético de citros via cruzamentos dirigidos com relação ao patossistema *Phytophthora*-citros, em que já foram verificadas diferenças no nível de resistência na progênie do cruzamento entre tangerina Sunki (*Citrus sunki*) e trifoliata Rubidoux (*Poncirus trifoliata*), a partir da detecção de genes diferencialmente expressos utilizando microarranjos, identificando transcritos envolvidos na resistência à *Phytophthora*, e do mapeamento genético. Este trabalho teve como objetivo principal mapear nos grupos de ligação dos mapas de *P. trifoliata* e *C. sunki* as regiões genômicas associadas à resistência à *Phytophthora parasitica* por meio de análise fenotípica (QTLs) e de expressão (eQTLs). Uma população de 110 híbridos, seus genitores e dois porta-enxertos de referência para a citricultura (limão Cravo e citrumelo Swingle), foi enxertada em limão Cravo e estabelecida em casa de vegetação. Cada híbrido foi conduzido com uma única haste e a inoculação foi realizada pelo método do disco a partir do meio de cultura contendo o micélio de *P. parasitica*, a 10 cm e 15 cm acima da região da enxertia, totalizando duas inoculações por genótipo. As plantas foram mantidas em ambiente com iluminação artificial e fotoperíodo de 16 horas, temperatura de 25°C e umidade relativa (UR) de 85%, com irrigações diárias. As lesões decorrentes foram avaliadas após 60 dias da inoculação, medindo-se o comprimento da área lesionada (CL) após a remoção da casca do ramo. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com duas repetições do mesmo genótipo e uma planta por parcela. Constataram-se diferenças entre os híbridos, com os CL variando de 1,15 a 11,13 mm. A herdabilidade do caráter foi de 65%. Para o mapeamento de QTLs e eQTLs (QTLs de expressão), mapas de ligação foram previamente construídos de *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. cv. Rubidoux e *Citrus sunki* Hort. ex Tan. com o uso de marcadores DArT-seqTM e utilizando a estratégia *pseudo-testcross*. Foram detectados três QTLs associados à resistência à *Phytophthora* presentes nos grupos de ligação 2, 7 e 10 do mapa de *P. trifoliata*, e apenas um QTL no grupo de ligação 2 de *C. sunki*. A proporção da variação fenotípica, explicada pelo QTL, variou de 1,77% a 7,41% para o genitor trifoliata Rubidoux, enquanto que o QTL detectado no mapa da tangerina Sunki, explicou 16,8% do fenótipo. Esses resultados sugerem que há grande possibilidade de sucesso na seleção de híbridos resistentes dentro do experimento. Além disso, 19 genes possivelmente envolvidos em processo de respostas de defesa da planta à infecção do patógeno foram avaliados e validados na população de 51 híbridos selecionados e genitores. As análises dos dados de expressão gênica, bem como as correlações fenotípicas e genotípicas, demonstram uma enorme variação intra e intergrupos quanto à ativação das vias dos fitormônios relacionados à resistência em plantas, sugerindo que os citrandarins possuem diversas estratégias para controlar a infecção do oomiceto. Essas informações possibilitaram localizar regiões genômicas associadas à resistência pela análise dos dados de expressão gênica. Para identificação dos eQTLs, os genes selecionados foram quantificados por meio da técnica de PCR quantitativo em tempo real (RT-qPCR). Foram detectados 74 eQTLs associados à resistência à *Phytophthora* no mapa de *P. trifoliata*, e 90 eQTLs no de *C. sunki*. A proporção da variação genotípica, explicada pelo eQTL, variou de 0 a 13,66% para o genitor trifoliata Rubidoux, enquanto que no mapa da tangerina Sunki, variou de 0 a 18,87%. Os

resultados do mapeamento de QTLs e eQTLs sugerem que a resistência de alguns citrandarins frente à inoculação de *P. parasitica* seja devido a uma combinação favorável de QTLs e eQTLs transmitidos pelos dois genitores, com a tangerina Sunki parecendo ter uma contribuição maior para passar alelos de resistência à progênie.

Palavras-chave: citros, gomose, expressão gênica, marcadores DArT-seq, mapas genéticos.

Abstract

Phytophthora nicotianae Breda de Haan (*Phytophthora parasitica* Dastur) e *Phytophthora citrophthora* (Smith & Smith), causative agents of gummosis and root rot, have brought serious damage in nurseries and citrus groves worldwide. The Citrus Center Sylvio Moreira/IAC has been conducting an extensive citrus breeding program by directing crossings regarding pathosystem *Phytophthora* - citrus, where differences have been observed in the level of resistance in the progeny of the cross between Sunki mandarin (*Citrus sunki*) and trifoliolate Rubidoux (*Poncirus trifoliata*), from the detection of differentially expressed genes using microarray identifying transcripts involved in resistance to *Phytophthora* and genetic mapping. This work aimed to map the binding groups of *P. trifoliata* and *C. sunki* maps the genomic regions related to the resistance of *Phytophthora parasitica* by phenotypic analysis (QTLs) and expression (eQTLs). A population of 110 hybrids, their genitors and two reference rootstocks for citrus (Rangpur lime and Swingle citrumelo) was grafted at Rangpur lime and established in the greenhouse. Each hybrid was conducted with a single rod and the inoculation was performed by the disk method from the culture medium containing the mycelium of *P. Parasitica*, 10 cm and 15 cm above the grafted area, totaling two inoculations per genotype. The plants were kept in a room with artificial light and a 16 hour photoperiod, 25°C and relative humidity (RH) of 85%, with daily irrigations. The resulting lesions were evaluated 60 days after inoculation, by measuring the length of the damaged area (CL) after the branch bark removal. The experimental design was completely randomized with two repetitions of the same genotype and one plant per plot. We observed differences between hybrids, with CL ranging from 1.15 to 11.13 mm. The character's heritability was 65%. For the QTLs and eQTLs (QTL expression) mapping, linkage maps were previously constructed from *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. cv. Rubidoux e *Citrus sunki* Hort. ex Tan. by DArT-seqTM markers and using the pseudo-testcross strategy. Three QTLs were identified associated with resistance to *Phytophthora* in the linking groups 2, 7 and 10 of *P. trifoliata* map, and only one QTL on linkage group 2 of *C. sunki*. The proportion of the phenotypic variation explained by QTL ranged from 1.77% to 7.41 % for the genitor trifoliolate Rubidoux while detected at the Sunki mandarin map explain 16.8% of the phenotype. These results suggest that there is great possibility of success in the selection of resistant hybrids within the experiment. Furthermore, 19 genes possibly involved in the process of plant defense responses to pathogen infection were assessed and validated in the population of 51 selected hybrids and genitors. The analysis of gene expression data and the genotypic and phenotypic correlations show a huge variation within and between groups as the activation of plant hormone pathways related to resistance in plants, suggesting that citrandarins have several strategies to control the oomycete infection. These informations made it possible to locate genomic regions associated with resistance by analysis of gene expression data. To identify eQTLs, selected genes were quantified by quantitative real time PCR (RT- qPCR). Seventy-four eQTLs were detected associated with resistance to *Phytophthora* in *P. trifoliata* map, and 90 eQTLs in *C. sunki*. The proportion of genotype variation explained by eQTL ranged from 0 to 13.66% for the genitor trifoliolate Rubidoux while at the Sunki mandarin map ranged from 0 to 18.87 %. QTLs results and eQTLs suggest that the resistance of some citrandarins front of the inoculation of *P. parasitica* is due to a favorable combination of QTLs and eQTLs transmitted by both genitors, with Sunki mandarin seeming to have a greater contribution to pass alleles resistance to progeny.

Keywords: citrus, gummosis, gene expression, DArT-seq markers, genetic maps.

Sumário

1.	Introdução e Justificativa	12
2.	Revisão bibliográfica.....	16
2.1.	Importância da Citricultura.....	16
2.2.	O melhoramento genético de porta-enxertos dos citros.....	17
2.3.	O gênero <i>Poncirus</i> , a Tangerina Sunki e os citrandarins	19
2.4.	A gomose dos citros	20
2.5.	Controle da gomose dos citros.....	26
2.6.	Mecanismos de defesa dos citros à gomose.....	27
2.6.1.	Imunidade vegetal.....	27
2.6.2.	Resistência sistêmica e fitormônios sinalizadores da resposta imune.....	32
2.6.2.1.	Ácido salicílico (SA)	35
2.6.2.2.	Ácido jasmônico (JA), etileno (ET) e ácido abscísico (ABA).....	40
2.7.	O uso de marcadores moleculares pelos programas de melhoramento genético e expressão gênica global por RT-qPCR	45
2.7.1.	Marcadores DArT-seq	47
2.7.2.	RT-qPCR para estudos de expressão gênica.....	48
2.8.	A construção de mapas genéticos, o mapeamento de QTLs e eQTLs na interação patógeno-hospedeiro.....	51
3.	Objetivos	57
3.1.	Objetivo geral.....	57
3.2.	Objetivos específicos	57
4.	Material e métodos.....	58
4.1.	Multiplicação e manutenção do material vegetal.....	58
4.2.	Isolamento e manutenção de <i>P. parasitica</i>	58
4.3.	Inoculação do patógeno.....	59
4.4.	Fenotipagem – avaliação das lesões	60
4.5.	Análises estatísticas dos dados fenotípicos	60
4.6.	Genotipagem e construção dos mapas genéticos de ligação.....	61
4.7.	Mapeamento de QTLs.....	63
4.8.	Expressão gênica.....	63
4.8.1.	Coleta de folhas, extração de RNA e síntese de cDNA.....	63
4.8.2.	RT-qPCR (PCR Quantitativo em Tempo Real) para validar a expressão gênica....	64
4.8.3.	Normalização dos dados de RT-qPCR e análises de expressão gênica.....	68
4.8.4.	Análises de correlação e perfil de expressão gênica global.....	70
4.9.	Mapeamento de eQTLs	71
5.	Resultados e discussão.....	72
5.1.	Avaliação das lesões causadas por <i>Phytophthora parasitica</i>	72
5.2.	Testes de normalidade dos dados fenotípicos.....	73

5.3.	Análises estatísticas dos dados fenotípicos.....	74
5.4.	Construção dos mapas genéticos	80
5.5.	Análise e Mapeamento de QTLs	82
5.6.	Genotipagem para os ensaios de expressão gênica e o mapeamento de eQTLs ..	88
5.6.1.	Avaliação da extração de RNA das plantas	88
5.6.2.	Validação dos <i>primers</i> específicos para os genes candidatos.....	89
5.6.3.	Normalização dos dados de RT-qPCR pela avaliação de genes endógenos	90
5.6.4.	Avaliação dos padrões de expressão em genes candidatos.....	93
5.6.4.1.	Via do SA.....	96
5.6.4.2.	Vias do JA/ET.....	106
5.6.4.3.	Vias do JA/ABA	112
5.6.5.	Teste de normalidade dos dados de expressão gênica	117
5.6.6.	ANOVA dos dados de expressão gênica entre os grupos fenotípicos.....	118
5.6.7.	Análises de correlação linear de Pearson.....	121
5.6.8.	Perfil de expressão gênica global do experimento e matriz de dissimilaridade entre os genes	124
5.6.9.	Análise e mapeamento de eQTLs.....	128
6.	Considerações Finais.....	141
7.	Referências bibliográficas	144

1. Introdução e Justificativa

A citricultura é uma importante cadeia produtiva do agronegócio brasileiro, em termos econômicos e sociais. Em 2013, a produção mundial de citros situou-se em 121,3 milhões de toneladas, sendo a China (24,4%), Brasil (15,64%) e EUA (7,75%) os principais produtores. O Brasil (24,45%) é o maior produtor de laranja, vindo a seguir a China (11%) e os EUA (9,84%), enquanto que em tangerinas o grande destaque na produção é a China (57,2%) seguindo-se, com parcelas muito inferiores, a Espanha (6,48%) em segundo lugar e o Brasil (3%) em sexto lugar (FAO, 2015).

O plantio de diferentes variedades nos pomares é de extrema importância para a citricultura, pois ganha-se em termos de produtividade, com a estratificação da colheita ao longo do ano, e também em termos fitossanitários, o que faz com que haja um maior controle de doenças e um menor impacto das alterações climáticas. Esse tem sido o enfoque de pesquisas feitas ultimamente em torno da citricultura, com o emprego do melhoramento genético tradicional para diversificar as culturas cítricas, tendo em vista o combate às doenças que as afetam. Assim, São Paulo se destaca nesse sentido, com o Centro de Citricultura Sylvio Moreira desenvolvendo pesquisas em busca de novas variedades copa e porta-enxertos de citros tolerantes e resistentes a diversas doenças, como por exemplo, ao cancro crítico e ao *huanglongbing* (HLB), além de implementar o melhoramento genético em busca de variedades com épocas de maturação diferentes das tradicionais, mais precoces ou mais tardias (Zulian *et al.*, 2013). Híbridos de *Poncirus trifoliata* e *Citrus sunki* foram obtidos e estão sendo estudados no Centro de Citricultura, os quais já se mostram tolerantes à MSC (morte subida dos citros), gomose e seca, e podem ser indicados como porta-enxertos alternativos para a citricultura brasileira (Cristofani-Yaly *et al.*, 2005).

Pertencentes à família Rutaceae, e principalmente ao gênero *Citrus*, as variedades são constituídas pelas laranjas doces, tangerinas, limões, limas ácidas e pomelos, tendo também outros representantes menos importantes, como as toranjas, limas doces, laranjas azedas e cidras (Donadio *et al.*, 1998).

O *Poncirus*, um gênero relacionado ao *Citrus*, se destaca por apresentar resistência ao frio, possui alta resistência à *Phytophthora*, ao vírus da tristeza dos citros e ao nematoide dos citros *Tylenchulus semipenetrans* (Swingle, 1967; Hutchison & O'Bannon, 1972; Hearn *et al.*, 1974; Yelenosky *et al.*, 1974).

As tangerinas ou mandarinas pertencem ao gênero *Citrus*, que apresenta uma enorme variedade de espécies. Muitas são utilizadas em programas de melhoramento genético como porta-enxertos, merecendo destaque e para fins de citação a tangerina Sunki (*C. sunki* Hort. ex Tan.), que faz parte do grupo das microtangerinas (Donadio *et al.*, 1998). A tangerina Sunki apresenta resistência à tristeza, à MSC e tolerância a solos salinos e à seca. Entretanto, possui alta suscetibilidade à *Phytophthora* (Feichtenberger, 2001; Pompeu Junior, 2005; Schinor *et al.*, 2011).

Gomose e podridão de raízes causada por *Phytophthora* estão entre as doenças de maior importância econômica dos citros. *Phytophthora nicotianae* Breda de Haan (*Phytophthora parasitica* Dastur) e *Phytophthora citrophthora* (Smith & Smith) têm causado graves danos em viveiros e pomares de citros no mundo inteiro. No Brasil, *P. parasitica*, oomiceto que pertence ao reino Stramenopila, é a espécie predominante associada com a doença (Medina Filho *et al.*, 2004). Estes patógenos infectam as principais ramificações das plantas, induzindo a formação de cancrios com exsudação de goma, aparecimento de áreas mortas na casca e ressecamento, bem como fendilhamento longitudinal da casca, conjuntura que faz com que as plantas geralmente percam vigor e possam vir a morrer prematuramente (Alvarez *et al.*, 2009; Queiroz & Melo, 2006). No que diz respeito à área interna, a coloração dos tecidos afetados da casca e do lenho apresenta-se logo de início amarela, para depois ficar pardacenta. Com uma ampla gama de fatores que podem intensificar a incidência da doença, entre os quais o clima e a suscetibilidade da variedade, o desenvolvimento da lesão ocorre no sentido longitudinal, com altura variável, e lateral, podendo abranger grande parte da circunferência do tronco afetado, situação em que a planta morre (Gasparotto *et al.*, 1998).

O emprego de porta-enxertos resistentes a esse patógeno constitui no método mais eficiente para o controle da doença, e isso tem sido feito em programas de melhoramento genético como o desenvolvido pelo Centro de Citricultura Sylvio Moreira - IAC, em Cordeirópolis (SP), de modo a buscar híbridos que tenham características de interesse agrônomo e que ao mesmo tempo, possuam a resistência à *Phytophthora* spp. (Boava *et al.*, 2003; Medina Filho *et al.*, 2003).

Os mecanismos de resistência de citros à *Phytophthora* ainda são mal entendidos. Podem ser divididos em duas categorias, aqueles em que há uma resistência geral (respostas comuns a todas as espécies de plantas afetadas por

fitopatógenos, como as reações de hipersensibilidade, o desenvolvimento de barreiras estruturais e a produção de fitoalexinas) e aqueles que são específicos à planta (respostas específicas a uma dada população de *Phytophthora* e controladas por genes de resistência no hospedeiro) (Hammerschmidt, 1999). Devido às grandes diferenças de tipos de tecido afetado e conseqüentemente, das respostas de diferentes espécies de citros à infecção, sabe-se que há mais de um mecanismo de resistência e/ou tolerância que estão envolvidos. Diversas pesquisas que empregam avaliações quantitativas em genótipos de citros quanto à suscetibilidade para gomose feitas em todo o Brasil, indicam *Poncirus trifoliata* e citrumelo Swingle, um híbrido de trifoliata com pomelo, como tolerantes tanto à podridão do pé quanto ao da raiz, sendo ambos resistentes para conter a infecção (Graham & Timmer, 2003).

Em um estudo sobre o patossistema *Phytophthora*-Citros realizado no Centro de Citricultura Sylvio Moreira, utilizando uma população obtida do cruzamento entre trifoliata Rubidoux (*Poncirus trifoliata*) e tangerina Sunki (*Citrus sunki*), foram verificadas diferenças no nível de sintomas tanto nos genitores quanto na progênie (Siviero *et al.*, 2006).

Existem na literatura científica trabalhos que relatam os últimos esforços feitos por programas de melhoramento genético de citros na busca de resistência à *Phytophthora parasitica* e, conseqüentemente, na tentativa de descrever a base molecular da resposta do hospedeiro à doença da gomose (Boava *et al.*, 2011a; Boava *et al.*, 2011b). Esses estudos relataram sobre as mudanças nos perfis de expressão global de genes e mostraram genes diferencialmente expressos envolvidos em uma série de processos tais como a defesa celular, fotossíntese e metabolismo de carboidratos. Os genes de defesa são ativados em resposta à infecção do patógeno por mecanismos de transdução de sinais regulados pela ação de hormônios vegetais e suas vias bioquímicas, sendo as mais comuns àquelas que pertencem o ácido salicílico (SA), o ácido jasmônico (JA) e o etileno (ET) (Fernandes *et al.*, 2009).

As características agrônômicas quantitativas de culturas vegetais estão submetidas à ação de múltiplos locos, os chamados poligenes, responsáveis por pequenos efeitos no fenótipo, o que ocasiona uma variação contínua dada pela própria segregação genotípica, ao efeito ambiental e também interação entre estes dois fatores: o genótipo e o ambiente. Por esse motivo, os chamados QTLs (Quantitative Trait Loci) têm sido bastante estudados em programas de

melhoramento genético a fim de associá-los a mapas genéticos, os quais, quando construídos, permitem fazer correlações fenotípicas confiáveis a partir da genotipagem de uma progênie. Sendo assim, o estudo da expressão gênica vinculada à interação patógeno-hospedeiro e a identificação, o mapeamento e a quantificação do efeito de QTLs, é de grande importância para a compreensão dos genes potencialmente associados à causa da doença na planta (Siviero *et al.*, 2002b; Boava, 2004b; Toledo *et al.*, 2008).

Entre as várias ferramentas disponíveis de genética molecular para auxílio ao melhoramento, os mapas genéticos baseados na frequência de recombinação entre marcadores polimórficos em uma progênie, tornaram-se ferramentas fundamentais para acelerar o processo de seleção de marcadores associados a caracteres quantitativos (Danan *et al.*, 2011). Dessa forma, o mapeamento genético tem sido empregado em programas de melhoramento de citros, a fim de buscar genes e/ou locos de caracteres quantitativos (QTLs) relacionados à resistência a *Phytophthora*, dentre outros problemas fitossanitários. Além disso, outras técnicas de biologia molecular para análise de expressão gênica diferencial tais como microarranjos, RNA-Seq e RT-qPCR, permitem avaliar junto com os mapas de ligação uma população híbrida e seus genitores, identificando regiões genômicas que, quando acessadas, explicam a variação de transcritos em genes co-regulados quanto à resposta à gomose causada por *Phytophthora* (Oliveira *et al.*, 2014).

A genética genômica surge como uma técnica que engloba o mapeamento de locos quantitativos e análises de expressão gênica para identificar a associação entre o estado alélico de uma região do genoma e a quantificação dos transcritos gênicos (Jansen & Nap, 2001). Tais regiões genômicas são denominadas como QTLs de expressão (eQTLs), e permitem que se mensure a variação da expressão gênica entre populações de indivíduos segregantes, determinando uma região cromossômica que atua no processo de expressão de um gene para uma dada característica (Schadt *et al.*, 2003). Sendo assim, o estudo de eQTLs é de grande importância para o entendimento da interação patógeno-hospedeiro, a fim de compreender os mecanismos de resistência e resposta às doenças.

6. Considerações Finais

1. A análise fenotípica dos 114 genótipos (110 citrandarins, seus genitores, limão Cravo e citrumelo Swingle) frente à inoculação de *P. parasitica*, revelou que oito híbridos, juntamente com o genitor *Citrus sunki* e o porta-enxerto limão Cravo foram suscetíveis ao oomiceto e conseqüentemente, tiveram uma maior lesão, bem como 11 indivíduos formados apenas por citrandarins foram moderadamente suscetíveis, apresentando lesões intermediárias. Por outro lado, a grande maioria, isto é, 91 híbridos se mostraram tolerantes e/ou resistentes à *Phytophthora*, além do genitor *Poncirus trifoliata* e o porta-enxerto citrumelo Swingle. Portanto, mesmo dentro dos citrandarins pertencentes ao grupo T/R, pôde-se constatar grande variabilidade genética que permitiu a discriminação por agrupamento, fato demonstrado pela aplicação das estimativas de ganho genético, com quatro híbridos exibindo um alto comportamento de resistência a *P. parasitica*. Tais citrandarins constituem genótipos promissores para futuras pesquisas relacionadas à gomose. Além disso, a herdabilidade para o caráter CL_R (comprimento real da lesão) é considerada alta, demonstrando que o fator genético exerce maior influência do que o ambiental;
2. A escolha da população segregante para genotipagem e dos genitores contrastantes em relação à resistência de *Phytophthora*; a utilização dos marcadores DArT-seq e o uso da estratégia *pseudo-testcross* a partir da segregação de marcadores na proporção mendeliana 1:1 pelo programa OneMap, possibilitaram a construção de dois mapas de ligação consistentes, um para cada genitor, a fim de detectar QTLs e eQTLs (QTLs de expressão) numa progênie F1 de citrandarins;
3. A análise do mapeamento de QTLs por intervalo composto (CIM) permitiu identificar três QTLs de pequeno efeito associados à resistência a *P. parasitica* nos grupos de ligação 2, 7 e 10 do mapa de *P. trifoliata*, e apenas um QTL de efeito moderado no grupo de ligação 2 de *C. sunki*. O único QTL no mapa da tangerina Sunki chegou a explicar 16,8% da variação fenotípica e apresentou efeito aditivo negativo, o que faz com que atue no sentido de diminuir a expressão do caráter CL_R relacionado à herança da gomose dos citros. Dessa forma, parece haver uma maior contribuição para transmitir alelos de resistência à progênie por parte do genitor suscetível, com a

- atuação dos dois genitores sendo de extrema importância para transmitir uma combinação favorável de QTLs aos citrandarins;
4. A quantificação dos transcritos gênicos 48 horas após a infestação por RT-qPCR de 19 genes candidatos permitiu constatar padrões diferenciais de expressão associados às diferentes vias de fitormônios (SA, JA/ET e JA/ABA) nos citrandarins quando se analisa os grupos fenotípicos formados, de modo a alguns genes terem uma maior participação na resposta de defesa ao agente causador da gomose dos citros, a partir do pressuposto de que genes diferencialmente expressos nos genitores suscetível e resistente, bem como entre os seus híbridos resistentes e suscetíveis, são alvos promissores na resistência a *P. parasitica*. Portanto, mais de uma via parece ser responsável pelo fenótipo da doença, e outros processos inespecíficos, que não medeiam a resistência gene-a-gene, provavelmente associados à ROS e às fitoalexinas, também podem estar sendo ativados na interação *Phytophthora*-citros;
 5. Os dois porta-enxertos de referência para citricultura (limão Cravo e citrumelo Swingle), a partir de seus perfis de expressão para os 19 genes candidatos, ativam diferentes mecanismos de defesa frente à infecção do oomiceto;
 6. Foi demonstrado que grande parte dos híbridos suscetíveis induz os genes-alvo, enquanto outros classificados como tolerantes e/ou resistentes predominantemente os reprimem;
 7. O perfil de expressão gênica global do experimento, bem como a matriz de dissimilaridade entre os genes candidatos permitiram estabelecer análises consistentes de agrupamento entre os genótipos selecionados e os genes candidatos, indicando que a característica comprimento da lesão associada à herança complexa da gomose dos citros é governada pela repressão e indução de genes, envolvendo tanto genética quanto ambiente, e que alguns genes parecem ter uma maior relação na expressão dos diferentes fenótipos frente à infecção de *P. parasitica*;
 8. O estudo da expressão de genes candidatos associados à resistência a fitopatógenos e ao oomiceto *P. parasitica* via RT-qPCR e a análise do mapeamento de eQTLs por intervalo composto (CIM) foi importante para mapear regiões genômicas nos dois mapas parentais que atuam no processo de expressão gênica para a característica fenotípica CL_R relacionada à

herança da gomose dos citros, permitindo identificar 74 eQTLs no mapa de *P. trifoliata* e 90 no de *C. sunki*. Alguns eQTLs nos dois mapas estavam fortemente sobrepostos, havendo a detecção de consistentes *hotspots* (“zonas quentes”) de eQTLs relacionados aos 19 genes-alvo. Além disso, a co-localização de um QTL com um eQTL em um mesmo marcador flanqueador no mapa do trifoliata Rubidoux indicou a formação de uma complexa rede reguladora tanto da expressão gênica quanto do fenótipo;

9. A análise do mapeamento de eQTLs, assim como do mapeamento de QTLs, revelou que o genitor suscetível ao agente causador da gomose dos citros *C. sunki* parece ter uma maior contribuição para transmitir alelos de resistência à progênie, com a ação mútua dos dois genitores sendo indispensável na passagem aos citrandarins de uma combinação favorável de eQTLs, que conferem defesa à *P. parasitica*.

7. Referências bibliográficas

- AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. London: Academic Press, 1988, 922 p.;
- ALEXOPOULOS, C.J.; MIMS, C.W. & BLACKWELL, M. Phylum Oomycota: In **Introductory Mycology**. Edited by: ALEXOPOULOS, C.J.; MIMS, C.W. & BLACKWELL, M., ed. John Wiley, 1996, p. 683-737;
- ALVAREZ, L. A. et al. Seasonal susceptibility of citrus scions to *Phytophthora citrophthora* and *P. nicotianae* and the influence of environmental and host-linked factors on infection development. **European Journal of Plant Pathology**, v. 124, n. 4, p. 621-635, 2009;
- AMARA, I. et al. Insights into LATE EMBRYOGENESIS ABUNDANT (LEA) proteins in plants: from structure to the functions. **American J. of Plant Sciences**, v. 5, p. 3440-3445, 2014;
- ANDERSON, J. A.; CHAO, S. & LIU, S. Molecular breeding using a major QTL for *fusarium* head blight resistance in wheat. **Crop Science**, v. 47, p. 112-119, 2007;
- ANDERSON, J. C. et al. Arabidopsis MAP KINASE PHOSPHATASE 1 (AtMKP1) negatively regulates MPK6-mediated PAMP responses and resistance against bacteria. **The Plant Journal**, v. 67, p. 258-268, 2011;
- ARGUESO, C. T.; HANSEN, M. & KIEBER, J. J. Regulation of ethylene biosynthesis. **J. Plant Growth Regul.**, v. 26, p. 92-105, 2007;
- AZEVEDO, C. et al. Role of SGT1 in resistance protein accumulation in plant immunity. **The EMBO Journal**, v. 25, p. 2007-2016, 2006;
- BALLARÉ, C. L. Jasmonate-induced defenses: a tale of intelligence, collaborators and rascals. **Trends in Plant Science**, v. 16, n. 5, p. 249-257, 2011;
- BARROS, F. C. et al. Indução de resistência em plantas contra fitopatógenos. **Biosc. J.**, Uberlândia, v. 26, n. 2, p. 231-239, 2010;
- BARTELS, S. et al. MAP KINASE PHOSPHATASE 1 and PROTEIN TYROSINE PHOSPHATASE 1 are repressors of salicylic acid synthesis and SNC1-mediated responses in Arabidopsis. **The Plant Cell**, v. 21, p. 2884-2897, 2009;
- BENITEZ, Y. Molecular analysis of the interaction between *Olea europaea* and the biotrophic fungus *Spilocaea oleagina*. **Mol. Plant Pathol.**, v. 6, p. 425-438;
- BERED, F.; BARBOSA NETO, J. F. & CARVALHO, F. I. F. de. DNA Marcadores Moleculares e sua aplicação no melhoramento genético de plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 27, n. 3, p. 513-520, 1997;
- BESPALHOK F., J.C.; GUERRA, E.P. & OLIVEIRA, R. Melhoramento para resistência a doenças. In: BESPALHOK F., J.C.; GUERRA, E.P. & OLIVEIRA, R. **Melhoramento de Plantas**, p. 11-18, 2007;
- BLUMER, S. & POMPEU JUNIOR, J. Avaliação de citrandarins e outros híbridos de trifoliata como porta-enxertos para citros em São Paulo. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal-SP, v. 27, n. 2, p. 264-267, 2005;

- BOAVA, L. P. **Estabilidade de QTLs ligados à resistência dos citros a gomose, causada por *Phytophthora parasitica***. 2004. 81 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Proteção de Plantas), Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual “Júlio de Mesquita Filho”, 2004a;
- BOAVA, L. P. et al. Expression of defense-related genes in response to mechanical wounding and *Phytophthora parasitica* infection in *Poncirus trifoliata* and *Citrus sunki*. **Physiol. Mol. Plant Pathol.**, v. 76, p. 119–125, 2011a;
- BOAVA, L. P. et al. Global gene expression of *Poncirus trifoliata*, *Citrus sunki* and their hybrids under infection of *Phytophthora parasitica*. **BMC Genomics**, v. 12, p. 39, 2011b;
- BOAVA, L. P. et al. Mapeamento e estabilidade de QTLs ligados à resistência dos citros a gomose, causada por *Phytophthora parasitica*. In: XXXVII Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 2004, Maringá. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, p. S279, 2004b;
- BOAVA, L. P. et al. Resistência de citrandarins e citranges a *Phytophthora parasitica*. **Laranja**, Cordeirópolis, v. 24, n.1, p. 135-144, 2003;
- BOCCAS, B. & LAVILLE, E. **Les maladies a *Phytophthora* des agrumes**. IRFA, França, ed. SETCO, 162 p.;
- BORÉM, A. & FRITSCHÉ-NETO, R. [ed.] **Biotechnology aplicada ao melhoramento de plantas**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2013, 336 p.;
- BORÉM, A. **Melhoramento de plantas**. Viçosa: Editora UFV, 1997, 547 p.;
- BROWN, G. R. et al. Identification of quantitative trait loci influencing wood property traits in loblolly pine (*Pinus taeda* L.): QTL verification and candidate gene mapping. **Genetics**, v. 164, p. 1537-1546, 2003;
- BRUN, M.; JOHNSON, C. D. & RAMOS, K. S. Clustering: revealing intrinsic dependencies in microarray data. In: DOUGHERTY, E. R. et al. (Ed.). **Genomic signal processing and statistics**. New York: Hindawi Publishing Corporation, 2005, p. 129-162;
- CAIXETA, M. P. et al. Espécies de *Phytophthora* associadas à gomose em pomares de citros no Estado do Paraná, Brasil. **Summa Phytopathol.**, Botucatu, v. 39, n. 4, p. 242-247, 2013;
- CALSA JUNIOR, T.; BENEDITO, V. A. & FIGUEIRA, A. V. de O. Análise serial da expressão gênica. **Rev. Biotec. Ciência & Desenvolvimento**, n. 33, p. 88-100, 2004;
- CANTERI, M. G. et al. SASM-AGRI: Sistema para análise e separação de médias em experimentos agrícolas pelos métodos Scott-Knott, Tukey e Duncan. **Rev. Brasileira de Agrocomputação**, v.1, n.2, p. 18-24, 2001;
- CARNEIRO, M. S. & VIEIRA, M. L. C. Mapas genéticos em plantas. **Bragantia**, Campinas, v. 61, n. 2, p. 89-100, 2002;

- CARNEIRO, M. S. et al. RAPD-based genetic linkage maps of Yellow Passion Fruit (*Passiflora edulis* Sims. f. *flavicarpa* Deg.). **Genome**, v. 45, p. 670-678, 2002;
- CARNEIRO, N. P.; GUIMARÃES, C. T. & MAGALHÃES, J. P. Tipo de marcadores e genômica de plantas. **Biosc. J.**, Uberlândia, v. 20, p. 119-132, 2004;
- CARVALHO, M. L. T. **Reação de porta-enxertos híbridos de citros à infecção de tronco e raízes por *Phytophthora parasitica***. 2000. 87 p. Tese (Doutorado – Genética e Melhoramento), Universidade Estadual de Campinas, 2000;
- CARVALHO, N. L. Resistência genética induzida em plantas cultivadas. **Rev. Elet. em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 7, n. 7, p. 1379-1390, 2012;
- CASER, D. V. & AMARO, A. A. Evolução da produtividade na citricultura paulista. **Informações econômicas**. Instituto de Economia Agrícola, São Paulo, v. 34, p. 7-12, 2004;
- CAVALCANTE et al. Interação patógeno planta: respostas frente ao ataque. **SaBios: Rev. Saúde e Biol.**, v. 8, n. 3, p. 90-97, 2013;
- CHAN, Z. Expression profiling of ABA pathway transcripts indicates crosstalk between abiotic and biotic stress responses in Arabidopsis. **Genomics**, v. 100, p. 110-115, 2012;
- CHANG, S.; PURYEAR, J. & CAIRNEY, J. A simple and efficient method for isolating RNA from pine trees. *Plant Molecular Biology Reporter*, Athens, v. 11, n. 2, p. 113-116, 1993;
- CHAO, Q et al. Activation of the Ethylene Gas Response Pathway in Arabidopsis by the Nuclear Protein Ethylene-insensitive3 and Related Proteins. **Cell**, v. 89, p. 1133-1144, 1997;
- CHISHOLM, S. T. Et al. Host-microbe interactions: shaping the evolution of the plant immune response. **Cell**, Massachusetts, v.124, n. 4, p. 803-814, 2006;
- CHOI, H. et al. ABFs, a family of ABA-responsive element binding factors. **The J. of Biol. Chemistry**, v. 275, n. 3, p. 1723-1730, 2000;
- CHURCHILL, G.A. & DODGE, R.W. Empirical threshold values for quantitative values for quantitative trait mapping. **Genetics**, v.138, p. 963-971, 1994;
- COERINI, L. F. **Expressão de genes das vias de jasmonato e etileno na resposta de plantas a citros às bactérias *Candidatus Liberibacter spp.*, causadoras do *Huanglongbing***. 2014. 100 p. Dissertação (Mestrado em Ciências – Microbiologia Agrícola), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiros”, Universidade de São Paulo, 2014;
- CORDEIRO, M. C. R. & SÁ, M. F. G de. Biotecnologia e resistência a patógenos. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, v. 2, n. 10, p. 34-39, 1999;
- CRISTOFANI-YALY, M. et al. Programa de Melhoramento de Citros por hibridação controlada no Centro APTA Citros Sylvio Moreira em 1997-2005. **Laranja**, Cordeirópolis, v. 26, n. 1, p. 121-134, 2005;

- CRISTOFANI-YALY, M. et al. Seleção de citrandarins (Tangerina 'Sunki' vs. *Poncirus trifoliata*) para porta-enxertos de citros. **Laranja**, Cordeirópolis, v. 28, n. 1-2, p. 71-79, 2007;
- CRISTOFANI-YALY, M.; MACHADO, M. A. & GATTAPAGLIA, D. Genetic linkage maps of *Citrus sunki* Hort. ex. Tan. and *Poncirus trifoliata* (L.) Raf. and mapping of citrus tristeza virus resistance gene. **Euphytica**, v. 109, p. 25-32, 1999;
- CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. & CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: ed. UFV, v. 1, 2004, 480 p.;
- CRUZ, E. M. **Efeito da saturação e do tamanho da população F2 e de retrocruzamento sobre a acurácia de mapeamento genético**. 2006. 133 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento), Universidade Federal de Viçosa, 2006;
- CRUZ, V. M. V.; KILLIAN, A. & DIERIG, D. A. Development of DArT marker platforms and genetic diversity assessment of the U.S. collection of the new oilseed crop *Lesquerella* and related species. **Plos One**, v. 8, n. 5, p. 1-13, 2013;
- CUBILLOS, F. A.; COUSTHAM, V. & LOUDET, O. Lessons from eQTL mapping studies: non-coding regions and their role behind natural phenotypic variation in plants. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 15, p. 192-198, 2012;
- DALIO R. J. D. **Deciphering mechanisms of pathogenicity and resistance induction in the interaction between *Phytophthora* spp. and European beech (*Fagus sylvatica* L.)**. Ph.D. Thesis. Technische Universitaet Muenchen (TUM), Freising, Germany, 2013;
- DALIO, R. J. D. et al. Efeitos na interação planta-patógeno. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 22, p. 25-68, 2014;
- DANAN, S.; VEYRIERAS, J. B. & LEFEBVRE, V. Construction of a potato consensus map and QTL meta-analysis offer new insights into the genetic architecture of late blight resistance and plant maturity traits. **BMC Plant Biol.**, p. 11-16, 2011;
- DANGL, J. L. & JONES, J. D. G. Plant pathogens and integrated defense responses to infection. **Nature**, v. 411, p. 826-833, 2001;
- DAVIES, F.S. & ALBRIGO, L.C. **Citrus**. Crop Production Science in Horticulture. 2ª ed., Inglaterra: Cab International, 1994, 254p.;
- DEAN, J.V., MOHAMMED, L.A. & FITZPATRICK, T. The formation, vacuolar localization, and tonoplast transport of salicylic acid glucose conjugates in tobacco cell suspension cultures. **Planta**, v. 221, p. 287-296, 2005;
- DEMPSEY, D'M. A. et al. **Salicylic acid biosynthesis and metabolism**. The Arabidopsis Book 9, 2011, 24 p.;
- DIAZ-PUENTES, L-N. Resistencia sistémica adquirida mediada por él ácido salicílico. **Biotechnology en el Sector Agropecuario y Agroindustrial**, v. 10, n. 2, p. 257-267, 2012;

DODDS, P. N. & RATHJEN, J. P. Plant immunity: towards an integrated view of plant-pathogen interactions. **Nature Reviews – Genetics**, London, v. 11, n. 8, p. 539-548, 2010;

DOERGE, R. Constructing genetic maps by rapid chain delineation. **Journal of Quantitative Trait Loci**, v. 2, n. 6, p. 121-132, 1996;

DONADIO, L. C.; STUCHI, E. S. & CYRILLO, F. L. de L. **Tangerinas ou mandarinas**. Jaboticabal: Funep, 1998, n. 5, 40 p.;

DROST, D. R. et al. Diversification in the genetic architecture of gene expression and transcriptional networks in organ differentiation of *Populus*. **Proc. Natl. Acad. Sci., USA**, v. 107, p. 8492-8497, 2010;

FAO, Food and agriculture organization of the United Nations. 2015. Disponível em: <<http://www.fao.org/economic/est/est-commodities/citrus/en/>>. Acesso em: 16 agosto 2016;

FEHR, W. R. **Principles of cultivar development**. New York: McMillian Publishing Company, 1993, 527 p.;

FEICHTENBERGER, E. Doenças incitadas por *Phytophthora* em citros. In: LUZ, E. D. M. N.; SANTOS, A. F. dos; MATSUOKA, K.; BEZERRA, J. L. (Eds.). **Doenças causadas por *Phytophthora* no Brasil**. Campinas: Livraria e Editora Rural, p. 283-342, 2001;

FEICHTENBERGER, E. et al. Doenças dos citros. In: BERGAMIN FILHO, A. et al. **Manual de Fitopatologia – doenças das plantas cultivadas**. São Paulo, Ed. Agron. Ceres, v. 2, p. 239-269. 2005;

FEICHTENBERGER, E. **Manejo ecológico de gomose de *Phytophthora* dos citros**. São Paulo, Rhodia Agro Ltda., 1996, 42p.;

FEICHTENBERGER, E. Manejo integrado das principais doenças fúngicas dos citros no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, p. 76-86, 2003;

FERNANDES, C. de F. et al. **Mecanismos de defesa de plantas contra o ataque de agentes fitopatogênicos**. Porto Velho, RO: Embrapa Rondônia, 2009, 14 p.;

FERREIRA, M.E. & GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao Uso de Marcadores Moleculares em Análise Genética**. 3ª ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 1998;

FONSECA, S. et al. (+)-7-iso-Jasmonoyl-L-isoleucine is the endogenous bioactive jasmonate. **Nat. Chem. Biol.**, v. 5, p. 344-350, 2009;

FRADIN, E.F. & THOMMA, B. Physiology and molecular aspects of Verticillium wilt diseases caused by *V-dahliae* and *V-albo-atrum*. **Mol. Plant Pathol.**, v. 7, n. 2, p. 71-86, 2006;

FU, Z. Q. et al. NPR3 and NPR4 are receptors for the immune signal salicylic acid in plants. **Nature**, v. 486, p. 228-232, 2012;

FUNDECITRUS. Fundo de Defesa da Citricultura. **Manual de morte súbita dos citros**. Araraquara: Fundecitrus, 2006, 12 p.;

GARCIA, C. H. & NOGUEIRA, M. C. S. Utilização da metodologia REML/BLUP na seleção de clones de eucalipto. **Scientia Forestalis**, n. 68, p. 107-112, 2005;

GARCIÓN, C. et al. Characterization and biological function of the ISOCHORISMATE SYNTHASE 2 gene of *Arabidopsis thaliana*. **Plant Physiol.**, v. 147, p. 1279-1287, 2008;

GASPAROTTO, L.; JUNQUEIRA, N. T. V. & PEREIRA, J. C. R. **Doenças dos Citros no Estado do Amazonas**. Manaus: EMBRAPA-CPAA, 1998, 20 p.;

GAZAFFI, R. **Desenvolvimento de modelo genético-estatístico para mapeamento de QTLs em progênie de irmãos completos, com aplicação em cana-de-açúcar**. 2009. 103 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 2009;

GAZAFFI, R. et al. A model for quantitative trait loci mapping, linkage phase and segregation pattern estimation for a full-sib progeny. **Tree Genetics & Genomics**, v. 10, n. 4, p. 791-801, 2014;

GION, J. M. et al. Mapping candidate genes in *Eucalyptus* with emphasis on lignification genes. **Mol. Breed.**, v. 6, p. 441-449, 2000;

GLAZEBROOK, J. Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens. **Annu. Rev. Phytopathol.**, v. 43, p. 205-227, 2005;

GLAZEBROOK, J. Genes controlling expression of defense responses in *Arabidopsis*. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 4, p. 301-308, 2001;

GRAHAM, J. H. & TIMMER, L. W. Phytophthora Diseases of Citrus. Soil and Water Science Department, **Institute of Food and Agricultural Sciences**, University of Florida, 2003, 11 p.;

GRATTAPAGLIA, D. & SEDEROFF, R. Genetic linkage maps of *Eucalyptus grandis* and *Eucalyptus urophylla* using a pseudo-testcross: Mapping strategy and RAPD Markers. **Genetics**, v. 137, p. 1121-1137, 1994;

GRATTAPAGLIA, D. Integrating genomics into *Eucalyptus* breeding. **Genetics and Molecular Research**, v. 3, n. 3, p. 369-379, 2004;

GRENVILLE-BRIGGS, L.J. & WEST, P. V. The biotrophic stages of oomycete-plant interactions. **Advances in Applied Microbiology**, v. 57, p. 217-243, 2005;

GRIMM, G. R. & ALEXANDER, A. F. Citrus leaf pieces as traps of *Phytophthora parasitica* from slurries. **Phytopathology**, St. Paul, v. 63, n. 6, p. 669-673, 1973;

HAMMERSCHMIDT, R. Phytoalexins: What have we learned after 60 years? **Ann. Rev. Phytopathol**, v. 37, p. 285-306, 1999;

He, Y. et al. Selection and validation of reference genes for quantitative real time PCR in *Gentiana macrophylla*. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 1-13, 2016;

HEARN, C.J.; HUTCHISON, D.J. & BARRET, H.C. Breeding citrus rootstocks. **HortScience**, Mount Vernon, v. 9, n. 4, p. 357-358, 1974;

- HENRY, G. et al. PAMPs, MAMPs, DAMPs and others: an update on the diversity of plant immune elicitors. **Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement**, Gembloux, v. 16, p. 257-268, 2012;
- HOLLOWAY, B. et al. Genome-wide expression quantitative trait loci (eQTL) analysis in maize. **BMC Genomics**, v. 12, p. 336-343, 2011;
- HU, Y.; DONG, Q. & YU, D. Arabidopsis WRKY46 coordinates with WRKY70 and WRKY53 in basal resistance against pathogen *Pseudomonas syringae*. **Plant Science**, v. 186, p. 288-297, 2012;
- HUBNER, N.; WALLACE, C. A. & ZIMBAHL, H. et al. Integrated transcriptional profiling and linkage analysis for identification of genes underlying disease. **Nature Genetics**, v. 37, p. 243-253, 2005;
- HUTCHISON, D.J. & O'BANNON, J.O. Evaluating the reaction of citrus selections to *Tylenchulus semipenetrans*. **Plant Disease Reporter**, Washington, DC, v. 56, n. 9, p. 747-751, 1972;
- IQBAL, M. J. et al. Microsatellite markers identify three additional quantitative trait loci for resistance to soybean sudden-death-syndrome (SDS) in Essex x Forrest RILs. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 102, p. 187-192, 2001;
- JACCOUD, D. et al. Diversity arrays: a solid state technology for sequence information independent genotyping. **Nucleic Acids Research**, v. 29, n. 4, p. 1-7, 2001;
- JANSEN, R.C. & NAP, J.P. Genetical genomics: the added value from segregation. **Trends in Genetics**, v. 17, n. 7, p. 388-391, 2001;
- JISHA, V. et al. Overexpression of an AP2/ERF type transcription factor OsEREBP1 confers biotic and abiotic stress tolerance in rice. **Plos One**, v. 10, n. 6, p. 1-24, 2015;
- JONES, J. D. & DANGLE, J. L. The plant immune system. **Nature**, New York, v. 444, p. 323-329, 2006;
- JUDELSON, H. S. & MESSENGER-ROUTH, B. Quantitation of *P. cinnamomi* in avocado roots using a species-specific DNA probe. **Phytopathology**, v. 86, p. 763-768, 1996;
- KAOSIRI, T.; ZENTMYER, G.A. & ERWIN, D.C. Stalk length as a taxonomic criterion for *Phytophthora palmivora* isolates from cacao. **Canadian Journal of Botany**, v.56, p.1730-1738, 1978;
- KATSIR, L. et al. Jasmonate signaling: a conserved mechanism of hormone sensing. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 11, n. 4, p. 428-435, 2008;
- KAZAN, K. et al. DNA microarrays: new tools in the analysis of plant defense responses. **Molecular Plant Pathology**, v. 2, p. 177-185, 2001;
- KENDE, H. Ethylene biosynthesis. **Annual Rev. of Plant Physiol.**, v. 44, p. 283-307, 1993;

- KIM, Kang-C. et al. Arabidopsis WRKY38 and WRKY62 transcription factors interact with histone deacetylase 19 in basal defense. **The Plant Cell**, v. 20, p. 2357-2371, 2008;
- KIRST, M. et al. Coordinated genetic regulation of growth and lignin revealed by quantitative trait locus analysis of cDNA microarray data in an interspecific backcross of *Eucalyptus*. **Plant Physiol.**, v. 135, p. 2368-2378, 2004;
- KIRST, M. et al. Genetic architecture of transcript-level variation in differentiating xylem of a eucalyptus hybrid. **Genetics**, v. 169, p. 2295-2303, 2005;
- KOLLER, O. L. (Org.) **Citricultura catarinense**. Florianópolis: ed. Epagri, 2013, 319 p.;
- KONISHI, M. & YANAGISAWA, S. Two different mechanisms control ethylene sensitivity in Arabidopsis via the regulation of EBF2 expression. **Plant Signaling & Behavior**, v. 9, n. 3, p. 749-751, 2008;
- KOO, Y. J. et al. Overexpression of SALICYLIC ACID CARBOXYL METHYLTRANSFERASE reduces salicylic acid-mediated pathogen resistance in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Mol. Biol.**, v. 64, p. 1-15, 2007;
- KOORNNEEF, A. & PIETERSE, C. M. J. Cross talk in defense signaling. **Plant Physiology**, Rockville, v. 146, p. 839-844, 2008;
- KOSAMBI, D. D. The estimation of map distance from recombination values. **Ann. Eugen.**, v. 12, p. 172-175, 1944;
- KUJUR, A. et al. Integrated genomics and molecular breeding approaches for dissecting the complex quantitative traits in crop plants. **J. Biosc.**, v. 38, n. 5, p. 971-987, 2013;
- KUMAR, D. Salicylic acid signaling in disease resistance. **Plant Science**, v. 228, p. 127-134, 2014;
- KUSNIERZK, A. et al. Testing the importance of jasmonate signalling in induction of plant defences upon cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae*) attack. **BMC Genomics**, v. 12, n. 423, p. 1-16, 2011;
- LADEIRA, P. R. S. de; ISAAC, C. & FERREIRA, M. C. Reação em cadeia da polimerase da transcrição reversa em tempo real. **Rev. Med.**, São Paulo, v. 90, n. 1, p. 47-51, 2011;
- LANTERI, S. et al. A first linkage map of globe artichoke (*Cynara cardunculus* var. scolymus L.) based on AFLP, S-SAP, M-AFLP and microsatellite markers. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 112, p. 1532-1542, 2006;
- LARANJEIRA, F. F. et al. Fungos, procariotos e doenças abióticas. In: MATTOS JUNIOR, D.; DE NEGRI, J.D.; PIO, R.M.; POMPEU JUNIOR, J. (Ed.). **Citros**. Campinas: Instituto Agrônômico e Fundag, p. 61-104, 2005;
- LI, D. et al. Arabidopsis ABA receptor RCAR1/PYL9 interacts with an R2R3-Type MYB transcription factor, AtMYB44. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 15, p. 8743-8490, 2014;

LI, J.; BRADER, G. & PALVA, E. T. The WRKY70 Transcription Factor: A node of convergence for jasmonate-mediated and salicylate-mediated signals in plant defense. **The Plant Cell**, v. 16, p. 319-331, 2004;

LILLY, S. T. et al. Identification and validation of reference genes for normalization of transcripts from virus-infected *Arabidopsis thaliana*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 24, n. 3, p. 294-304, 2011;

LIMA, R. P. M. et al. Genetic linkage maps of Sunki mandarin and Poncirus trifoliata with DArT-seq markers. 2015, Foz do Iguaçu. In: **Anais...** Foz do Iguaçu, Brasil, n. 619, 2015;

LIU, B. H. **Statistical Genomics: Linkage, Mapping, and QTL Analysis**. ed. CRC Press: Flórida, 1997, 648 p.;

LIU, B.H. **Statistical genomics**. New York: CRC, 1998, 610 p.;

LIU, D. et al. Validation of reference genes for gene expression studies in virus-infected *Nicotiana benthamiana* using Quantitative Real-Time PCR. **Plos One**, v. 7, n. 9, p. 1-14, 2012;

LIVAK, K.J. & SCHMITTGEN, T.D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. **Methods**, v. 25, p. 402-408, 2001;

LOBO, A. M. B. O. & LOBO, R. N. B. **Considerações estatísticas na análise de expressão gênica gerados pela técnica de RT-qPCR**. Sobral: Embrapa Caprinos e Ovinos, 2014, 32 p.;

LORENZO, O. & SOLANO, R. Molecular players regulating the jasmonate signaling network. **Current Opinion Plant Biology**, v. 8, p. 532-540, 2005;

LORENZO, O. et al. ETHYLENE RESPONSE FACTOR1 integrates signals from ethylene and jasmonate pathways in plant defense. **Plant Cell**, v. 15, p. 165-178, 2003;

LORENZO, O. et al. JASMONATE-INSENSITIVE1 encodes a MYC transcription factor essential to discriminate between different jasmonate-regulated defense responses in Arabidopsis. **Plant Cell**, v. 16, p. 1938-1950, 2004;

LUKENS, L. & DOWNS, G. Bioinformatics techniques for understanding and analyzing tree gene expression data. **Genomics of Tree Crops**, p. 17-38, 2012;

LYONS, R.; MANNERS, J. M. & KAZAN, K. Jasmonate biosynthesis and signaling in monocots: a comparative overview. **Plant Cell**, v. 32, p. 815-827, 2013;

MACHADO, M. A.; CRISTOFANI-YALY, M. & BASTIANEL, M. Breeding, genetic and genomic of citrus for disease resistance. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, p. 158-172, 2011;

MAFRA, V. et al. Reference genes for accurate transcript normalization in citrus genotypes under different experimental conditions. **Plos One**, v. 7, n. 2, p. 1-11, 2012;

MALUF, M. P. GUERREIRO FILHO, O. **Avaliação fenológica de frutos de café a partir da quantificação da expressão de genes marcadores: proposta de uma ferramenta complementar**. Brasília: Embrapa Café, 2011, 30 p.;

MANG, Hyung-G. et al. Abscisic acid deficiency antagonizes high-temperature inhibition of disease resistance through enhancing nuclear accumulation of resistance proteins SNC1 and RPS4 in Arabidopsis. **The Plant Cell**, v. 24, p. 1271-1284, 2012;

MARGARIDO, G. R. A., SOUZA, A.P. & GARCIA, A. A. F. OneMap: software for genetic mapping in outcrossing species. **Hereditas**, v. 144, p. 78-79, 2007;

MARTIN, R. R.; JAMES, D. & LÉVESQUE, C. A. Impact of molecular diagnostic technologies on plant diseases management. **Annual Rev. Phytopathology**, v. 38, p. 207-239, 2000;

MASAGO, H. et al. Selective inhibition of *Pythium* spp. on a medium for direct isolation of *Phytophthora* spp. from soil and plants. **Phytopathology**, v. 67, p. 425-428, 1977;

MATIELLO, R. R. **Patossistema milho x *Colletotrichum graminicola*: Estudo de herança, mapeamento de genes de resistência e estimativas de danos de produção**. 2004. 128 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 2004;

MATIELLO, R. R.; BARBIERI, R. L. & CARVALHO, F. I. F. de. Resistência de plantas a moléstias fúngicas [Revisão Bibliográfica]. Santa Maria: **Ciência Rural**, v. 27, n. 1, p. 161-168, 1997;

MAUCH-MANI, B. & MAUCH, F. The role of abscisic acid in plant-pathogen interactions. **Current Opinion Plant Biology**, v. 8, p. 409-414, 2005;

MEDINA FILHO, H. P. et al. Resistência de clones e híbridos de porta-enxertos de citros à gomose de tronco causada por *Phytophthora parasitica*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 5, p. 534-540, 2003;

MEDINA FILHO, H. P. et al. Resistência de híbridos e de clones de porta-enxertos de citros à infecção de raízes por *Phytophthora nicotianae*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 2, p. 169-178, 2004;

MENEZES, H. Imunidade inata e específica em plantas. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 195-212, 2009;

MENG, X. & ZHANG, S. MAPK cascades in plant disease resistance signaling. **Annual Rev. Phytopathol.**, v. 51, n. 12, p. 1-22, 2013;

MEYERS, B. C. et al. Genome wide analysis of NBS-LRR-encoding genes in Arabidopsis. **Plant Cell**, Rockville, v. 15, p. 809-834, 2003;

MINGOTI, S. A. **Análise de dados através de métodos de estatística multivariada**. Belo Horizonte: UFMG, 2005, 297p.;

MOORE, D. S. **The Basic Practice of Statistics**. New York: W. H. Freeman & Company, 2007, 721 p.;

MORAES, M. L. T. et al. Demonstração da utilização do software SELEGEN para o melhoramento de espécies perenes. **Revista Científica Eletrônica de Engenharia Florestal**, v. 7, n. 12, 2008;

MOREAU, M.; TIAN, M. & Klessig, D. F. Salicylic acid binds NPR3 and NPR4 to regulate NPR1-dependent defense responses. **Cell Research**, v. 22, n. 12, p. 1631-1633, 2012;

NEVES, M. F. et al. **O retrato da citricultura brasileira**. 1. ed. Ribeirão Preto: 2010, v. 1, 137 p.;

NEVES, M. F.; JANK, M. S. & LOPES, F. F. **Perspectivas da cadeia produtiva da laranja no Brasil: A Agenda 2015**. Agroanalysis (FGV), v. 27, p. 3-5, 2007;

NOVAIS, C. M. & PIRES-JUNIOR, M. PCR em Tempo Real. **Rev. Biotec. Ciência & Desenvolvimento**, n. 33, p. 10-13, 2004;

NURNBERGER, T. et al. Innate immunity in plants and animals: striking similarities and obvious differences. **Immunological Reviews**, v. 198, p. 249-266; 2004;

O'DONNELL, P. J. et al. Susceptible to intolerance – a range of hormonal actions in a susceptible Arabidopsis pathogen response. **Plant J.**, v. 33, p. 245-257, 2003;

OLIVEIRA, R. P. de et al. Melhoramento genético de plantas cítricas. Belo Horizonte: **Informe Agropecuário**, v. 35, n. 281, p. 22-29, 2014;

OLIVEIRA, R. P. de. Biologia molecular. In: CUNHA SOBRINHO, A. P. da et al. (Ed.). **Cultura dos citros**. Brasília: Embrapa Mandioca e Fruticultura, v. 1, n. 6, p. 161-172, 2013;

OLIVEIRA, R. P. do et al. **Porta-enxertos para citros**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2008, 45 p.;

OSTENDOORP, M. et al. Induced disease resistance in plants by chemicals. **European Journal of Plant Pathology**, v. 107, p. 19-28, 2001;

Paran, I. & Zamir, D. Quantitative traits in plants: beyond QTL. **Trends In Genetics**, v. 19, n. 6, p. 303-306, 2003;

PARK, S. W. et al. Methyl salicylate is a critical mobile signal for plant systemic acquired resistance. **Science**, Washington, v. 318, p. 113-116, 2007;

PARMENTIER, I. et al. Candidate gene markers associated with somatotropic axis and milk selection. **Domest. Anim. Endocrinol.**, v. 17, p. 139-148, 1999;

PASCHOLATI, S. F. **Potencial de *Saccharomyces cerevisiae* e outros agenes bióticos na proteção de plantas contra patógenos**. 1998. 123 p. Tese (Livre-Docência), Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 1998;

PEREIRA, T. B. **Seleção de progênies F₄ de cafeeiros utilizando o procedimento REML/BLUP**. 2012. 60 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia – Produção Vegetal), Universidade Federal de Lavras, 2012;

PIETERSE, C. M. J. et al. A novel signaling pathway controlling induced systemic resistance in Arabidopsis. **Plant Cell**, Rockville, v. 10, p. 1571-1580, 1998;

PIETERSE, C. M. J. et al. Hormonal modulation of plant immunity. **Annual Review of Cell and Development Biology**, v. 28, p. 489-521, 2012;

PIETERSE, C. M. J. et al. Indução de resistência sistêmica por rizobactérias e comunicação na rota de sinalização para uma defesa refinada. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 13, p. 277-295, 2005;

PIETERSE, C. M. J. et al. Networking by small-molecules hormones in plant immunity. **Nature Chemical Biology**, New York, v. 5, p. 308-316, 2009;

POMPEU JUNIOR, J. & BLUMER, S. Híbridos de trifoliata como porta-enxertos para laranjeira Pêra. **Pesq. Agropec. Trop.**, v. 44, n. 1, p. 9-14, 2014;

POMPEU JUNIOR, J. Porta-enxertos. In: MATTOS JUNIOR, D.; DE NEGRI, J.D.; PIO, R.M.; POMPEU JUNIOR, J. (Ed.). **Citros**. Campinas: Instituto Agrônômico e Fundag, p. 61-104, 2005;

POMPEU JUNIOR, J. Porta-enxertos. In: RODRIGUEZ, O.; VIÉGAS, F.C.P.; POMPEU JUNIOR, P.; AMARO, A.A. (Ed.). **Citricultura brasileira**. 2. ed. Campinas: Fundação Cargill, v. 1, p. 265-280., 1991;

PUNJA, Z. K & ZHANG, Y. Y. Plant chitinases and their roles in resistance to fungal diseases. **Journal of Nematology**, v. 25, n. 4, p. 526-540, 1993;

QUEIROZ, B. P. V. & MELO, I. S. Antagonism of *Serratia marcescens* towards *Phytophthora parasitica* and its effects in promoting the growth of citrus. **Braz. J. Microbiol.**, v. 37, p. 448-450, 2006;

RAPPA, C. (Ed.). Busca da qualidade é destaque no VII Dia da Tangerina. **Informativo Centro de Citricultura**, Cordeirópolis, n. 108, 2004;

RESENDE, M. L. V.; SALGADO, S. M. L. & CHAVES, Z. M. Espécies ativas de oxigênio na resposta de defesa de plantas a patógenos. **Fitopatol. bras.**, v. 28, n. 2, p. 123-130, 2003;

RESENDE, M.D.V. Software SELEGEN–REML/BLUP. Curitiba: **Embrapa Florestas**, 2002, 67p (Documentos 77);

ROBB, J. et al. Arsenal of elevated defense proteins fails to protect tomato against *Verticillium dahliae*. **Planta**, v. 236, n. 2, p. 623-633, 2012;

ROBB, J.; LEE, B. & NAZAR, R.N. Gene suppression in a tolerant tomato-vascular pathogen interaction. **Planta**, v. 226, n. 2, p. 299-309, 2007;

ROSA, G. J. de M. Delineamento de experimentos em genética genômica. **Rev. Bras. Zootec.**, v. 36, p. 211-218, 2007;

- Salvi, S. & Tuberosa, R. To clone or not to clone plant QTLs: present and future challenges. **Trends in Plant Science**, v. 10, n. 6, p. 297-304, 2005;
- SAMBROOK, J. E. & RUSSEL, D. W. Molecular cloning: a laboratory manual. 3 ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2002, 2700 p.;
- SÁNCHESES-SEVILLA, J. F. et al. Diversity Arrays Technology (DArT) marker platforms for diversity analysis and linkage mapping in a complex crop, the octoploid cultivated strawberry (*Fragaria x ananassa*). **Plos One**, v. 10, n. 12, p. 1-22, 2015;
- SANSALONI, C. Diversity Arrays Technology (DArT) and next-generation sequencing combined: genome-wide, high throughput, highly informative genotyping for molecular breeding of Eucalyptus. **BMC Proceedings**, v. 5, n. 7, p. 1-2, 2011;
- SANTOS, A. F. dos & LUZ, E. D. M. N. A gomose da acácia-negra no Brasil. **Summa Phytopathol.**, Botucatu, v. 33, n. 2, p. 113-118, 2007;
- SCHADT, E. E. Genetics of gene expression surveyed in maize, mouse and man. **Nature**, v. 422, p. 297-301, 2003;
- SCHENK, P. M. et al. Coordinated plant defense responses in Arabidopsis revealed by microarray analysis. **PNAS**, v. 97, p. 11655-11660, 2000;
- SCHINOR, E. H. et al. Caracterização agrônômica e molecular de acessos de *Citrus sunki* do Banco de Germoplasma de Citros do Centro APTA Citros Sylvio Moreira. **Citrus Research & Technology**, Cordeirópolis, v. 32, n. 1, p. 27-37, 2011;
- SCHMITTGEN, T. D. & LIVAK, K. J. Analyzing real-time PCR data by the comparative C_T method. **Nature Protocols**, v. 3, n. 6, p. 1101-1108, 2008;
- SCHWESSINGER, B. & ZIPFEL, C. News from the frontline: recent insights into PAMP-triggered immunity in plants. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 11, n. 4, p. 389-395, 2008;
- SELS, J. et al. Plant pathogenesis-related (PR) proteins: A focus on PR peptides. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 46, p. 941-950, 2008;
- SEMPIONATO, O. R.; STUCHI, E. S. & DONADIO, L. C. **Viveiro de citros**. Jaboticabal: Funep, 1997, n. 2, 37 p.;
- SHAH, J. & ZEIER, J. Long-distance communication and signal amplification in systemic acquired resistance. **Frontiers in Plant Science**, v. 4, n. 30, p. 1-16, 2013;
- SHI, C. et al. Identification of candidate genes associated with cell wall digestibility and eQTL (expression quantitative trait loci) analysis in a Flint x Flint maize recombinant inbred line population. **BMC Genomics**, v. 8, n. 22, p. 1-16, 2007;
- SILVA, J. F. V. Resistência genética de soja a nematoides do gênero *Meloidogyne*. In: FERRAZ, L. C. C. B. et al. **Relações parasito-hospedeiro nas meloidoginoses da soja**. Londrina: Embrapa Soja, 2001, p. 95-127;
- SILVA, R. A. da et al. **Defesa de plantas contra o ataque a fitopatógenos**. Seropédica: Embrapa Agrícola, 2008, 49 p.;

- SIVIERO, A. **Avaliação de métodos de inoculação de *Phytophthora parasitica* e mapeamento de QTLs de resistência em híbridos de *Citrus sunki* x *Poncirus trifoliata* à gomose.** 2001. 125 p. Tese (Doutorado em Agronomia – Proteção de Plantas), Faculdade de Ciências Agronômicas, Universidade Estadual “Júlio de Mesquita Filho”, 2001;
- SIVIERO, A. et al. Avaliação de métodos de inoculação de *Phytophthora parasitica* em plântulas e plantas jovens de citros. **Fitopatol. bras.**, v. 27, n. 6, p. 1-7, 2002a;
- SIVIERO, A. et al. Identification of QTLs associated with citrus resistance to *Phytophthora* gummosis. **Journal of Applied Genetics**, v.47, n.1, p. 23-38, 2006;
- SIVIERO, A. et al. Mapeamento de QTLs associados à produção de frutos e sementes em híbridos de *Citrus sunki* vs. *Poncirus trifoliata*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 3, p. 741-743, 2002b;
- SIVIERO, A.; FURTADO, E. L. & MACHADO, M. A. Métodos de inoculação e avaliação de doenças causadas por *Phytophthora* em citros. **Laranja**, Cordeirópolis, v. 23, n. 1, p. 203-219, 2002c;
- SNUSTAD, D. P. & SIMMONS, M. J. **Fundamentos de genética.** 6 ed. - Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013, 739 p.;
- SONG, J. T. et al. Overexpression of AtSGT1, an Arabidopsis salicylic acid glucosyltransferase, leads to increased susceptibility to *Pseudomonas syringae*. **Phytochemistry**, v. 69, p. 1128-1134, 2008;
- SPIEGELAERE, W. D. et al. Reference gene validation for RT-qPCR, a note on different available software packages. **Plos One**, v. 10, n. 3, p. 1-13, 2015;
- SPOEL, S. H. & DONG, X. How do plants achieve immunity? Defense without specialized immune cells. **Nature Reviews Immunology**, New York, v. 12, p. 89-100, 2012;
- STAM, P. Construction of integrated genetic maps by means of a new computer package: JoinMap. **Plant Journal**, v. 3, p. 739-744, 1993;
- STANGARLIN, J. R. et al. A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 10, n. 1, p. 18-46, 2011;
- STAUB, J.E; SERQUEN, F.C. & GUPTA, M. Genetic markers, map construction, and their application in plant breeding. **HortScience**, Alexandria, v. 31, n. 5, p. 729-740, 1996;
- STICHER, L.; MAUCH-MANI, B. & MÉTRAUX, J. P. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, v. 35, p. 235-270, 1997;
- SWINGLE, W.T. The botany of *Citrus* and its relatives. Revisão de Philip C. Reece. In: REUTHER, W.; WEBBER, H.J. & BATCHELOR, L.D. (eds.). **The citrus industry.** Berkeley, California: University of California, v. 1, n. 3, p. 190-430, 1967;
- TALON, M. & GMITTER Jr., F. G. Citrus Genomics [Review Article]. **International Journal of Plant Genomics**, 2008, 17 p.;

- TANKSLEY, S. D. Mapping polygenes. **Annual Review of Genetics**, Palo Alto, v. 27, p. 205-233, 1993;
- TAO, Y. Quantitative nature of Arabidopsis responses during compatible and incompatible interactions with the bacterial pathogen *Pseudomonas syringae*. **Plant Cell**, v. 15, p. 317-330;
- TEIXEIRA, J. E. C. **Genes de defesa de Citrus sunki e Poncirus trifoliata: expressão constitutiva e induzida por Phytophthora parasítica**. 2005. 119 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Genética e Melhoramento de Plantas), Universidade Federal de Lavras, 2005;
- THOMMA, B. P. H. J.; NURNBERGER, T. & JOOSTEN, M. H. A. J. Of PAMPs and effectors: the blurred PTI-ETI dichotomy. **Plant Cell**, Rockville, v. 23, p. 4-15, 2011;
- TIMMER, L. W. et al. Comparison of ELISA techniques and standard isolation methods for *Phytophthora* detection in citrus orchards in Florida and California. **Plant Disease**, v. 77, p. 791-796, 1993;
- TOLEDO, E. R. de et al. Mapeamento de QTLs: uma abordagem Bayesiana. **Revista Brasileira de Biometria**, São Paulo, v. 26, n. 2, p. 117-114, 2008;
- TON, J. et al. Differential effectiveness of salicylate-dependent and jasmonate/ethylene-dependent induced resistance in Arabidopsis. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 15, n. 1, p. 27-34, 2002;
- TRUDGILL, D. L. Resistance to and tolerance of parasitic nematodes in plants. **Annual Review of Phytopathology**, v. 29, 167-192, 1991;
- TYLER, B. M. Molecular basis of recognition between *Phytophthora* pathogens and their hosts. **Annual Review Phytopathology**, v. 40, p. 137-167, 2002;
- VALLE, M. G. do. Impactos na citricultura paulista decorrentes da implantação de técnicas de implantação de borbulhas e mudas sadias de citros. **Laranja**, Cordeirópolis, v. 23, n. 2, p. 271-280, 2002;
- VAN ESSE, H.P. et al. Tomato transcriptional responses to a foliar and a vascular fungal pathogen are distinct. **Mol. Plant-Microbe Interact**, v. 22, n. 3, p. 245-258, 2009;
- VAN LOON, L. C. & VAN STRIEN, E. A. The families of pathogenesis-related proteins, their activities and comparative analysis of PR-1 type proteins. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 55, p. 85-97, 1999;
- VAN WEES, S. C. M. et al. Enhancement of induced disease resistance by simultaneous activation of salicylate- and jasmonate-dependent defense pathways in *Arabidopsis thaliana*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 97, p. 8711-8716, 2000;
- VAN WEES, S. C. M.; VAN DER ENT, S. & PIETERSE, C. M. J. Plant immune responses triggered by beneficial microbes. **Current Opinion in Plant Biology**, London, v. 11, p. 443-448, 2008;

- VIVANCO, J. M. et al. Mecanismos químicos de defensa en las plantas. **Investigación y Ciencia**, v. 1, p. 68-75, 2005;
- VLOT, A.C et al. Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease. **Ann. Rev. Phytopathol.**, v. 47, p. 177-206, 2009;
- WANG, K. et al. SGT1 positively regulates the process of plant cell death during both compatible and incompatible plant–pathogen interactions. **Molecular Plant Pathology**, v. 11, n. 5, p. 597-611, 2010;
- WASTERNAK, C. & HAUSE, B. Jasmonates: Biosynthesis, perception, signal transduction and action in plant stress response, growth and development. **Annals of Botany**, London, v. 111, p. 1021-1058, 2013;
- WASTERNAK, C. Jasmonates: an update on biosynthesis, signal transduction and action in plant stress response, growth and development. **Annali di Botanica**, Roma, v. 100, p. 681-697, 2007;
- WENZL, P. et al. Diversity Arrays Technology (DArT) for whole-genome profiling of barley. **Proceedings of the National Academy Sciences**, v. 101, n. 26, p. 9915-9920, 2004;
- WEST, M. A. et al. Global eQTL mapping reveals the complex genetic architecture of transcript-level variation in Arabidopsis. **Genetics**, v. 175, p. 1441-1450, 2007;
- WHITESIDE, J.O.; GARNSEY, S.M. & TIMMER, L.W. **Compendium of citrus diseases**. St. Paul: APS Press., 2000, 80p.
- WIT, E. & MCCLURE, J. **Statistics for microarrays; design, analysis and inference**. Hoboken, EUA: John Wiley, 2004, 265 p.;
- XIA, L. et al. DArT for high-throughput genotyping of Cassava (*Manihot esculenta*) and its wild relatives. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 110, p. 1092-1098, 2005;
- YAN, A. et al. General Method for QTL mapping in multiple related populations derived from multiple parents. **Rice Science**, v. 16, n. 1, 2009;
- YELENOSKY, G.; BROWN, R.T. & HEARN, C.J. Tolerance of trifoliata orange selection and hybrids to freezes and flooding. **Proceedings of the Florida State Horticultural Society**, Orlando, Florida, v. 86, p. 99-104, 1974;
- YOUNG, N. D. Construction a plant genetic linkage map with DNA markers. In: PHILIPS, P. L. & VASIL, I. K. **DNA-based markers in plants**. Dordrecht: Kluwer Academic Publisher, p. 39-57, 1994;
- ZARPELON, T. G. et al. Genetic mapping and validation of QTLs associated with resistance to *Calonectria* leaf blight caused by *Calonectria pteridis* in *Eucalyptus*. **Tree Genetics & Genomes**, v. 11, p. 803-811, 2015;
- ZENG, Z. B. Precision mapping of quantitative trait loci. **Genetics**, v. 136, p. 1457-1468, 1994;

ZENTMYER, G. A. & MITCHELL, D. J. *Phytophthora* diseases of fruit trees in the tropics. **Rev. Trop. Plant Path.**, v. 2, p. 287-309, 1986;

ZHANG, Y. et al. Expression of RPS4 in tobacco induces an AvrRps4-independent HR that requires EDS1, SGT1 and HSP90. **Plant J.**, v. 40, p. 213-224, 2004;

ZULIAN, A.; DORR, A. C. & ALMEIDA, S. C. Citricultura e agronegócio cooperativo no Brasil. **Rev. Elet. em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 11, p. 2290-2306, 2013;

ZURBRIGGEN, M. D.; CARRILLO, N. & HAJIREZAEI, M. R. ROS signaling in the hypersensitive response. When, where and what for? **Plant Signaling & Behavior**, v. 5, p. 393-396, 2010.