

POTENCIAL ADAPTATIVO DE *Coffea canephora* PARA PROJEÇÕES DAS ALTERAÇÕES CLIMÁTICAS¹

Sinara Oliveira de Aquino²; Rémi Tournebize³; Pierre Marraccini⁴; Cédric Mariac⁵; Marie Couderc⁶; Kevin Bethune⁷; Philippe Cubry⁸; Alan Carvalho Andrade⁹; Olivier Darracq¹⁰; Maud Lepelley¹¹; Dominique Crouzillat¹²; Catherine Kiwuka¹³; Niels Anten¹⁴; Stéphanie Manel¹⁵; Olivier François¹⁶; Yves Vigouroux¹⁷; Alexandre de Kochko¹⁸; Valérie Poncet¹⁹

¹Trabalho financiado pela CAPES, EMBRAPA e Fundação Agropolis (França)

²Bolsista Pós-doutorado PNP/Capes, PhD, UFLA, Lavras-MG, Brasil, saquinobiotec@gmail.com

³Bolsista Pós-doutorado, PhD, Universidade da Califórnia, Berkeley, Estados Unidos, remi.tournebize@gmail.com

⁴Pesquisador, PhD-HDR, Cirad, UMR IPME, Institute of Agricultural Genetics, Hanoi, Vietnã, marraccini@cirad.fr

⁵Engenheiro, IRD, UMR DIADE, Montpellier, França, cedric.mariac@ird.fr

⁶Técnica, IRD, UMR DIADE, Montpellier, França, marie.couderc@ird.fr

⁷Técnico, IRD, UMR DIADE, Montpellier França, kevin.bethune@ird.fr

⁸Pesquisador, IRD, UMR DIADE, Montpellier, França, philippe.cubry@ird.fr

⁹Pesquisador, PhD, EMBRAPA Café/ INOVACAFÉ, Lavras-MG, Brasil, alan.andrade@embrapa.br

¹⁰Pesquisador, PhD, Nestlé R&D, Tours, França, olivier.darracq@rdto.nestle.com

¹¹Pesquisador, PhD, Nestlé R&D, Tours, França, maud.lepelley@rdto.nestle.com

¹²Pesquisador, PhD, Nestlé R&D, Tours, França, dominique.crouzillat@rdto.nestle.com

¹³Doutoranda, NARO, Kampala, Uganda, catherine.kiwuka@wur.nl

¹⁴Pesquisador, PhD, Universidade de Wageningen, Wageningen, Holanda, niels.anten@wur.nl

¹⁵Pesquisador, PhD, EPHE, PSL, UMR CEFÉ, Montpellier, França, stephanie.manel@cefe.cnrs.fr

¹⁶Pesquisador, PhD, TIMC-IMAG, UMR 5525, Grenoble-Alpes, olivier.francois@univ-grenoble-alpes.fr

¹⁷Pesquisador, PhD, IRD, UMR DIADE, Montpellier França, yves.vigouroux@ird.fr

¹⁸Pesquisador, PhD, IRD, UMR DIADE, Montpellier França, alexandre.dekochko@ird.fr

¹⁹Pesquisador, PhD, IRD, UMR DIADE, Montpellier França, valerie.poncet@ird.fr

RESUMO: Testar se e como populações naturais são adaptadas ao seu ambiente local e prever suas respostas em função das alterações futuras do habitat é de importância fundamental diante do cenário de mudanças climáticas. Este é o caso dos cafeeiros, em que o ritmo das alterações climáticas pode ser rápido e drástico para a adaptação das populações. Usando a distribuição geográfica de populações selvagens com habitats contrastantes, o objetivo do presente estudo foi identificar polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) em genes candidatos (GCs) identificados como estando envolvidos na adaptação de populações de *Coffea canephora* da Uganda ao seu ambiente local. Em particular, modificações que ocorrem próximos e/ou em genes relacionados à tolerância aos estresses abióticos tornam esses GCs alvos, potenciais determinantes adaptativos das plantas em função das mudanças climáticas. Ao identificar os fatores ambientais que impulsionam esses processos, torna-se possível prever a adaptabilidade esperada das populações para o clima local futuro.

PALAVRAS-CHAVE: mudanças climáticas, genes candidatos, captura de alvos, café selvagem, genômica de paisagem, associação ambiental.

ADAPTIVE POTENTIAL OF *Coffea canephora* TO PROJECTED CLIMATE CHANGE

ABSTRACT: Testing whether and how natural populations are adapted to their local environment and predicting their responses to future habitat alterations is of key importance in the face of climate change. This is particularly the case for coffee trees for which the pace of climate change could be too fast and drastic for adaptation of populations. Using the geographic distribution of wild populations with contrasted habitats, the aim of the present study was to identify single-nucleotide polymorphisms (SNPs) in candidate genes (CGs) as being potentially involved in the adaptation of *Coffea canephora* populations of Uganda to their local environment. In particular, modifications occurring in genes related to abiotic stress tolerance make these genes candidate for enhanced resilience to climate change. By identifying environmental factors driving these processes, we would predict the expected adaptability of the populations to their future local climate.

KEY WORDS: climate change, candidate genes, target capture, wild coffee, landscape genomics, environmental association.

INTRODUÇÃO

O aumento na concentração de dióxido de carbono na atmosfera é um dos principais impulsionadores do aquecimento global e das mudanças climáticas. Dependendo dos cenários de emissão de gases de efeito estufa, as projeções indicam

que, no final deste século, o CO₂ atmosférico pode subir para valores tão altos quanto ~1000 ppm em paralelo com o aumento da temperatura de até 4,8°C (IPCC, 2013; IPCC, 2014).

Para se evitar a extinção local devido a condições de habitat alteradas pelas mudanças climáticas, as espécies de plantas podem responder de diferentes formas, como por exemplo: migrar para um habitat mais adequado, ajustar-se a estas novas condições através da plasticidade fenotípica ou adaptar-se às novas condições ambientais por alterações genéticas (Aitken et al., 2008; Nicotra et al., 2010; Merilä e Hendry, 2014). Os mecanismos de seleção natural e mutações envolvidas no processo de evolução desempenham um papel central na formação das variações das populações naturais necessárias para sua adaptação local a condições adversas.

Por meio do estudo dos padrões e mecanismos de adaptação local em escala genômica é possível se descobrir a assinatura da seleção e identificar os genes, caminhos e fatores ambientais que impulsionam esse importante processo evolutivo (Barrett e Schluter, 2008). Portanto, diante do cenário de mudanças climáticas, é de fundamental importância testar se e como as populações naturais estão adaptadas ao seu ambiente local e prever sua resposta a futuras alterações no habitat (Rellstab et al., 2016).

Para se identificar os fatores ambientais que moldam a variação genética adaptativa e as variantes genéticas que impulsionam a adaptação local (Joost et al., 2007; Li et al., 2017), análises de associação ambiental (EAA - *Environmental Association Analysis*) desenvolvidas no âmbito de pesquisas em genômica de paisagem, identificam variantes genéticas associadas a fatores ambientais específicos e tem o potencial de revelar padrões adaptativos que não são descobertos por testes tradicionais para a detecção de loci discrepantes com base na diferenciação genética populacional (Rellstab et al., 2015).

Entre os vários métodos de EAA Frichot et al. (2013) desenvolveram o “*Latent Factor Mixed Model*” (LFMM), que tem a propriedade de testar as correlações entre a variação ambiental e genética, estimando os efeitos de fatores ocultos (representando níveis residuais da estrutura populacional).

A genômica de paisagem também oferece a capacidade de se avaliar o potencial adaptativo, média das mudanças na composição genotípica (contribuição dos genes de um indivíduo) em SNPs associados ao clima que teoricamente são necessárias para o organismo sobreviver às condições climáticas futuras (Rellstab et al., 2016, Jordan et al., 2017). Tais abordagens podem ajudar a identificar populações vulneráveis às mudanças climáticas e onde intervenções de manejo podem ser necessárias para assegurar a sustentabilidade das populações atuais.

Este estudo usa a genômica da paisagem para avaliar as assinaturas genômicas de adaptação ao clima em *C. canephora* selvagem de sete florestas da Uganda e, em seguida, aplica esses resultados para se determinar como eles poderiam ser usados para se estimar o potencial de adaptação local às mudanças climáticas projetadas. Para alcançar esses objetivos, genes candidatos (GCs) foram capturados, enriquecidos e sequenciados para um total de 207 acessos selvagens da Uganda, a fim de identificar SNPs. Esses SNPs e dados climáticos foram posteriormente avaliados por meio da análise de associação ambiental. Finalmente, os modelos dos dados climáticos projetados das mudanças climáticas futuras foram aproveitados para tentar prever o potencial adaptativo das populações de *C. canephora* da Uganda.

MATERIAL E MÉTODOS

Baseado em estudos moleculares anteriores (EMBRAPA/CIRAD/Nestlé) e utilizando a anotação do sequenciamento do genoma café (Denoeud et al. 2014, Dereeper et al. 2015), foram selecionados um conjunto de 323 GCs, dentre estes, genes que codificam, por exemplo, para desidrina, proteínas de choque térmico, enzimas do metabolismo de açúcar e fatores de transcrição. As sequências desses GCs foram utilizadas para a síntese de 19.360 sondas biotiniladas específicas. Uma matriz de captura direcionada foi projetada para esses GCs e suas regiões de flanqueamento, seguindo os protocolos de Rohland e Reich (2012) e Mariac et al. (2014). Dados do sequenciamento, via Illumina HiSeq 3000, de 207 acessos selvagens de *C. canephora* da Uganda, geolocalizados, foram utilizados para avaliar a relação entre a variação climática (www.worldclim.org/bioclim) e a diversidade nucleotídica dos GCs.

As análises das sequências foram realizadas utilizando scripts publicados por Mariac et al. (2014) e Scarcelli et al. (2016) e disponível gratuitamente no github (<https://github.com/Maillol/demultadapt>; https://github.com/SouthGreenPlatform/arcad-hts/blob/master/scripts/arcad_hts_2_Filter_Fastq_On_Mean_Quality.pl).

A etapa de mapeamento foi realizada utilizando BWA MEM 0.7.5a-r405 (Li e Durbin, 2009) com a opção -B4 e com o genoma de *C. canephora* (<http://coffee-genome.org/coffeacanephora>) como referência.

A chamada de SNPs foi realizada usando *Unified Genotyper* (*Genome Analysis Toolkit* - GATK v3.6). Os SNPs localizados nas sequências dos GCs selecionados foram considerados como “*target*”, os demais como SNPs “*out-target*”.

Dois conjuntos sucessivos de filtros foram aplicados nos SNPs brutos. Primeiramente, variantes de baixa qualidade foram descartadas seguindo os critérios de qualidade recomendados pelo GATK e foram selecionados apenas SNPs bialélicos usando VCFtools v0.1.13 (Danecek et al., 2011). No total, identificamos 4.078.725 SNPs distribuídos por todo o genoma. Os SNPs de baixa qualidade e indivíduos de baixa cobertura foram descartados, resultando em um conjunto final de 41.452 SNPs e 207 indivíduos, com menos de 10% de genótipos ausentes por SNP e menos de 30% de dados perdidos por indivíduo. Posteriormente, para análises populacionais dos dados genômicos, aplicamos filtros adicionais mantendo apenas SNPs bialélicos de alta qualidade. Nós retivemos SNPs sem excesso de heterozigotos (> 0,8) e com uma frequência alélica mínima (MAF) maior que 5%. Estes SNPs foram então processados com Plink

1.90b4 (Purcell et al., 2007) para eliminar marcadores em alto desequilíbrio de ligação. Os SNPs foram considerados correlacionados quando $r^2 > 0,5$. Foi obtido um total de 5.860 SNPs com boa representatividade alélica: 4.753 *on-target* e 1.107 *out-target*.

Aplicamos métodos estatísticos genômicos populacionais e de distribuição alélica para detectar SNPs/GCs correlacionados à parâmetros climáticos. O pacote LFMM (*Latent Factor Mixed Models*, Frichot et al. 2013) foi utilizado para rastrear sequências de assinatura de adaptação ambiental em acessos selvagens de *C. canephora* da Uganda.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A chamada de variantes identificou 16.141 SNPs bialélicos de alta qualidade com uma profundidade de cobertura mínima de 10x (*on-target* e *out-target*) por biblioteca. Filtros adicionais foram aplicados para a realização do estudo de associação, permitindo a identificação de 1 a 81 SNPs por gene candidato com uma profundidade de cobertura média de 90x (*on-target*) e 50x (*out-target*) por biblioteca. No total, 5.860 SNPs foram usados para estudos de associação ambiental: 4.753 SNPs localizados *on-target* distribuídos em 315 GCs e 1.107 SNPs *out-target*.

Análises de agrupamento usadas para inferir a estrutura populacional atual de *C. canephora*, usando os 1.107 SNPs *out-target* (considerados neutros) indicaram uma estrutura genética que reflete a distribuição geográfica da *C. canephora* na Uganda (Fig. 1A). Os métodos sNMF e PCA inferiram que o número mais provável de agrupamentos genéticos foi de cinco ($K = 5$) (Fig. 1B e 1C). A maioria dos indivíduos das florestas de Zoka, Budongo, Itwara e Kibale, localizados nas regiões noroeste e ocidental da Uganda, foram agrupados de acordo com sua floresta original. Os outros indivíduos das florestas de Malabigambo, Mabira e Kalangala, localizados perto do lago Victoria (sul e sudeste da Uganda) agruparam-se em um mesmo grande grupo (Fig. 1B). Essas florestas estão localizadas na parte inferior da Uganda, incluindo a região central e sul.

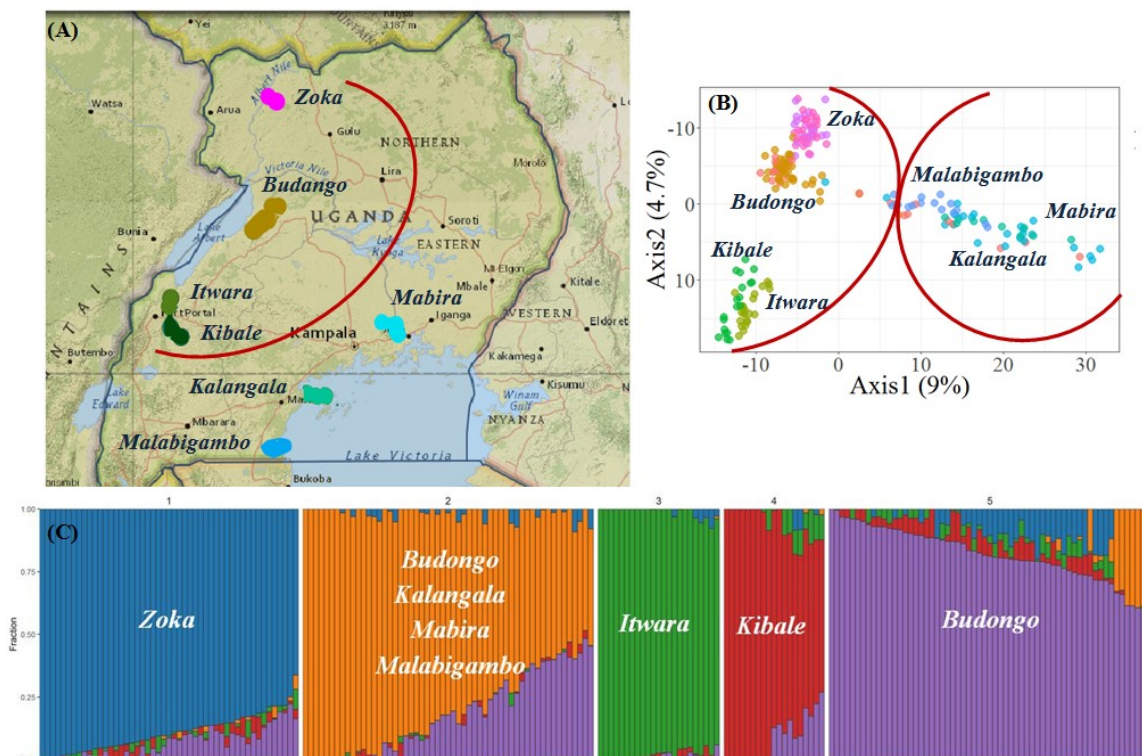


Figura 1. Análise de *C. canephora* da Uganda. A: Mapa da área de estudo. A linha vermelha separa as florestas do noroeste/oeste das do sul/sudeste. B: Projeção dos 207 indivíduos amostrados ao longo dos dois primeiros eixos da PCA explicando 9% (eixo 1) e 4,7% (eixo 2) da variância genômica para o conjunto de SNPs neutros. C: Cinco grupos genéticos (denominados de 1 a 5) detectados com estrutura para a população selvagem. Os coeficientes de ancestralidade dos indivíduos são representados por barras verticais.

Embora essas florestas estejam separadas por causa do intenso desmatamento da Uganda, é provável que essas florestas já tenham sido conectadas, permitindo o fluxo de genes entre as populações agora separadas. Isso explicaria o alto nível de introgressão dos alelos entre essas amostras (Fig. 1C). Para Itwara e Kibale, sabe-se que a divisão definitiva entre as florestas aconteceu em 1920 (cerca de 3 a 5 gerações de café atrás) (Thomas, 1935). A separação dessas populações de *C. canephora* levou à diversificação entre populações como resultado da endogamia e adaptação a ambientes ligeiramente diferentes.

Ao avaliar a associação entre cada SNP independente e as variáveis climáticas, detectamos SNPs que estão supostamente envolvidos na adaptação local e, inversamente, identificamos alguns fatores ambientais que estão potencialmente conduzindo esse processo.

Setenta e um dos 5.860 SNPs foram significativamente associados com ao menos uma das variáveis climáticas. Um total de quinze variáveis climáticas estavam entre essas associações (Fig. 2), enquanto quatro não foram associadas a nenhum SNP (BIOS 2, 13, 15 e 16). Os fatores ambientais diferiram muito no número de SNPs aos quais eles estavam associados (Fig. 2). As onze variáveis relacionadas à temperatura (BIOS 1-11) apresentaram maior número de associações (74 associações no total), especialmente temperatura média do trimestre úmido (BIO8; 18 SNPs), temperatura mínima do mês mais frio (BIO6; 16 SNPs) e isothermalidade (BIO3; 14 SNPs). Um menor número de associações (60 associações de SNPs no total) foi encontrado para as variáveis relacionadas à precipitação (BIOS 12-19), a maioria dos SNPs foram associados com precipitação do mês mais seco (BIO14; 26 SNPs) ou precipitação anual (BIO 12; 21 SNPs), com pouca ou nenhuma associação com as demais variáveis. Muitos SNPs foram associados a mais de um fator ambiental. Dos 71 SNPs altamente correlacionados com fatores ambientais, 39 SNPs foram localizados nas regiões alvo em um total de 27 genes candidatos e 32 SNPs foram localizados fora do alvo (*out-target*) (Fig. 2).

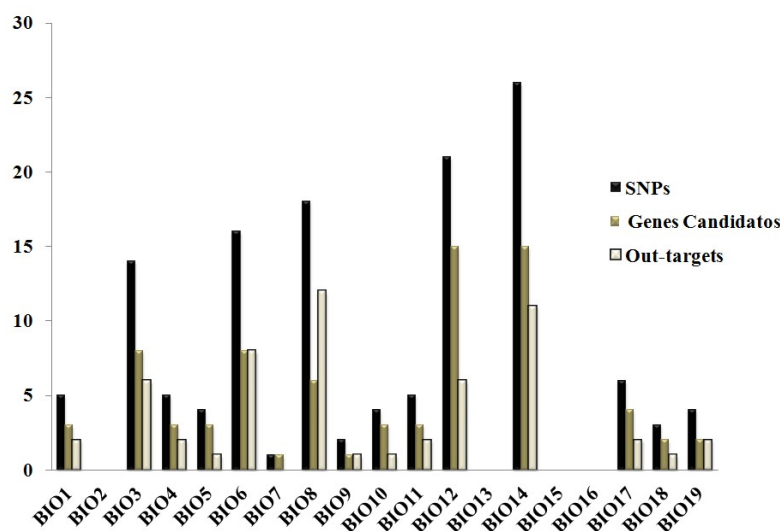


Figura 2. Resultado da análise de associação ambiental usando o pacote LFMM contendo todos os 207 indivíduos de *C. canephora* e os 19 fatores ambientais (BIO, eixo x, de 1 a 19). O eixo y representa o número total de SNPs (barras pretas), os SNPs em GCs (barras cinzas) e os SNPs *out-target* associados aos fatores ambientais (BIO).

SNPs associados a seis ou mais fatores ambientais e localizados em diferentes GCs foram identificados. O SNP na posição chr2. 22074987 foi encontrado no gene *CcERF034* (*Ethylene-Responsive Factor*) associado a dez fatores ambientais, nove dentre eles são fatores ambientais relacionados a temperatura. Da mesma forma, o SNP chr1. 1210203 localizada no gene *CcDXMT* (3,7-dimetilxantina metiltransferase), o SNP chr1. 33303630 localizado no gene *CcC4H1* (cinamato 4-hidroxilase) e o SNP chr10. 6440204 localizado em uma região intergênica, também foram associados principalmente a fatores relacionados à temperatura.

O SNP localizado na posição 29720412 do cromossomo 8 e associado ao fator ambiental isothermalidade (BIO3) está localizado na região promotora do gene *Cc08_g14850* que codifica para uma proteína putativa de aquaporina conhecida como *CcPIPI.2*. Aquaporinas (AQPs) são canais proteicos que facilitam o transporte de água e/ou pequenos solutos e gases neutros através das membranas (Maurel et al., 2008). O papel das AQPs no equilíbrio hídrico das plantas tem sido amplamente discutido, pois algumas isoformas de proteínas intrínsecas da membrana plasmática (também chamadas de PIPs) são abundantemente expressas em raízes, onde podem contribuir para a absorção de água do solo (Postaire et al., 2010).

Também foram identificados os SNPs chr2. 39762763 e chr10. 833613 associados a precipitação anual (BIO12) e precipitação do mês mais seco (BIO14) e localizados na região promotora do gene *Cc02_g31340* e em um intron do gene *Cc10_g01060* denominados *CcEDR1* e *CcEDR2*, respectivamente. *CcEDR1* codifica uma proteína putativa de 989 aminoácidos contendo o EDR1 conservado comumente encontrado em proteínas ativadas por proteínas quinase (MAPKK) envolvidas na sinalização de resposta ao estresse e na regulação da morte celular (Tang et al., 2005). Por outro lado, *CcEDR2* codifica uma proteína putativa de 565 aminoácidos contendo o domínio catalítico conservado de serina/treonina quinases tipo MAPKKK que são importantes na mediação de respostas celulares a sinais extracelulares (Cowan-Jacob, 2006).

O potencial adaptativo das populações de *C. canephora* a mudanças climáticas futuras foi estimado utilizando os mesmos 71 SNPs putativamente adaptativos (associados as variáveis climáticas) e quatro fatores ambientais representativos: temperatura mínima do mês mais frio (BIO6), precipitação anual (BIO12), precipitação do trimestre mais seco (BIO17) e precipitação do trimestre mais frio (BIO19). O potencial adaptável ou vulnerabilidade às mudanças

climáticas é a mudança média na composição genotípica nos SNPs associados ao clima que é teoricamente necessária para corresponder às condições climáticas futuras. As mudanças esperadas na composição genotípica associada à mudança climática projetada variaram entre os cenários analisados (*Representative Concentration Pathways*: RCP 2.6, RCP 6.0 e RCP 8.5). Os valores médios de vulnerabilidade por floresta são sempre mais altos para RCP 8.5 (0.8-1.2) do que para RCP 2.6 (0.6-0.9) e RCP 6.0 (0.7-1.1), mas para todos os cenários, semelhantes tendências globais de potencial adaptativo foram observados entre as florestas. Sob todas as previsões dos diferentes cenários, a floresta Zoka se destaca das demais florestas com a menor vulnerabilidade, ou seja, maior potencial adaptativo. Ao contrário, a floresta Mabira apresentou o maior valor médio de vulnerabilidade para as previsões de RCP 2.6 e RCP 6.0 e, junto com a floresta Kalangala, os valores de vulnerabilidade média mais altos de acordo com as previsões de RCP 8.5.

Assim, independentemente do cenário e com base na atual composição genotípica das florestas, Zoka parece ser o que tem o maior potencial adaptativo, ou seja, a floresta que provavelmente seria melhor adaptada às mudanças climáticas previstas, enquanto Kalangala e Mabira parecem ser populações menos pré-adaptadas a mudanças futuras.

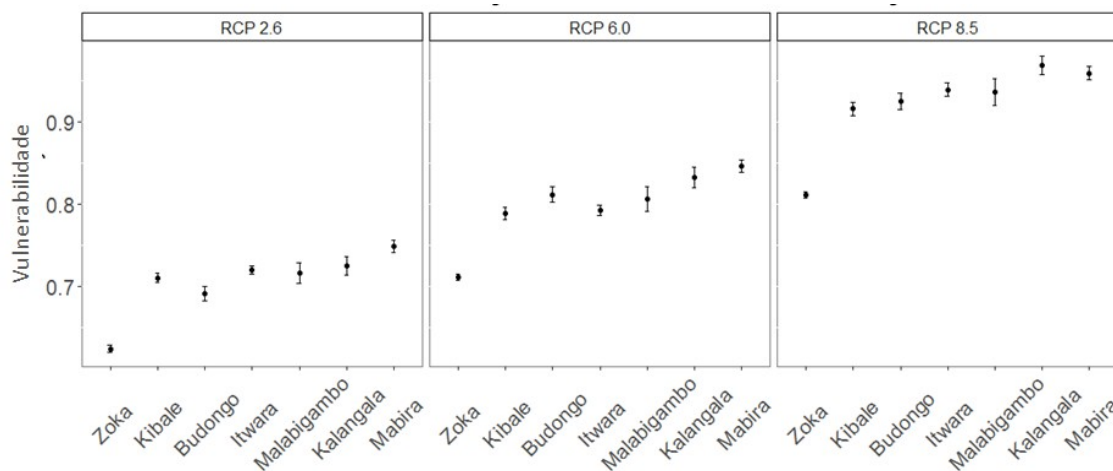


Figura 3. Vulnerabilidade de *C. canephora* a mudanças climáticas futuras, definida como a mudança média nos genótipos que é necessária para corresponder às condições ambientais futuras em um conjunto de loci correlacionados com fatores ambientais específicos.

CONCLUSÕES

A associação genótipo-ambiente (GxE) sugere adaptação local com ambientes variados. Mais especificamente, encontramos sinais de seleção fortemente ligados a vários GCs envolvidos em resposta a estresses abióticos. Os sinais de seleção detectados suportam a hipótese do gradiente ecológico contribuir para estruturar a diversidade genética das populações Ugandense de *C. canephora*. A quantidade e o caráter das variações genéticas observadas em regiões genômicas associadas a variáveis climáticas tem ajudado a prever se as espécies de *Cc* serão capazes de se adaptar com rapidez suficiente para rastrear as mudanças climáticas globais. Para estimar a adaptação das populações de café às futuras condições locais, indo além da caracterização da variação, exploramos como a informação genômica poderia ser usada para inferir o potencial de adaptação local de populações sob mudanças climáticas. Nós analisamos em que extensão a composição genotípica atual, relacionada ao clima, pode diferir em média daquelas esperadas sob o clima futuro modelado, dado o modelo linear de associação ambiental. Esta mudança média requerida na composição genotípica foi aqui definida como o potencial adaptativo ou vulnerabilidade das florestas diante de mudanças climáticas futuras. O modelo linear usado neste estudo não prevê qual será a composição genotípica da população, mas quantifica a mudança teórica na composição genotípica “necessária” sob mudanças climáticas projetadas e usa esse resultado para considerar a viabilidade da adaptação local.

Qualquer que seja a previsão de RCP usada, a hierarquia de vulnerabilidade dessas populações às mudanças climáticas sempre foi conservada, com a população Zoka mostrando-se menos vulnerável, enquanto que as populações de Kalangala e Mabira aparentam ser menos adaptadas. Uma maneira de verificar esses resultados seria testar plantas de cada uma dessas populações, por exemplo, sob condições controladas (estufa), para analisar suas respostas (fisiológicas e transcriptômicas) a estresses abióticos (seca, choque de temperatura). Como o modelo para se estimar a vulnerabilidade é um modelo que não será possível verificar antes de várias décadas, é necessário ser cauteloso em relação às suas conclusões. No entanto, vale ressaltar que este estudo levou à identificação de vários SNPs em diferentes GCs já pré-identificados como envolvidos nos mecanismos de resposta do cafeeiro quanto a estresses abióticos. Mesmo assim, isso não constitui uma evidência para validar esse modelo, mas ajuda a fortalecer sua credibilidade.

Os resultados dos testes de vulnerabilidade apresentados aqui também destacaram a importância de estudar as populações selvagens de café para garantir sua proteção particularmente contra o desmatamento intensivo, porque suas plantas constituem um precioso reservatório genético que poderia ser útil e necessário no futuro. Estes resultados

também mostram que plantas de algumas populações poderiam ser usadas como pais em programas de melhoramento de *C. canephora* para gerar novos clones melhor adaptados às mudanças climáticas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AITKEN, S. N. et al. Adaptation, migration or extirpation: climate change outcomes for tree populations. *Evolutionary Applications*, [S.l.], v. 1, n. 1, p. 95-111, 2008.
- BARRETT, R. D. H., SCHLUTER, D. Adaptation from standing genetic variation. *Trends in Ecology & Evolution*, [S.l.], v. 23, n. 1, p. 38-44, 2008.
- COWAN-JACOB, S. W. et al. Structural biology of protein tyrosine kinases. In: FABBRO, D. and MCCORMICK, F. (Ed.). *Protein Tyrosine Kinases: From Inhibitors to Useful Drugs*. Totowa, NJ: Humana Press, 2006. p.187-230.
- DANECEK, P. et al. The variant call format and VCFtools. *Bioinformatics*, [S.l.], v. 27, n. 15, p. 2156-2158, 2011.
- DENOEUDE, F. et al. The coffee genome provides insight into the convergent evolution of caffeine biosynthesis. *Science*, [S.l.], v. 345, n. 6201, p. 1181-1184, Sep 5 2014.
- DEREEPER A, et al. The coffee genome hub: a resource for coffee genomes. *Nucleic Acids Research*, [S.l.], v. 43, n. D1, p. D1028-D35, 2014
- FRICHOT, E. et al. Testing for associations between loci and environmental gradients using latent factor mixed models. *Molecular Biology and Evolution*, [S.l.], v. 30, n. 7, p. 1687-1699, 2013.
- IPCC. *Climate Change 2013: The Physical Science Basis*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA 2013. Available on the IPCC website at http://www.climatechange2013.org/images/report/WG1AR5_SPM_FINAL.pdf. Access in: January, 2019.
- IPCC. *Climate Change 2014: impacts, adaptation, and vulnerability 2014*. Available on the IPCC website at https://www.ipcc.ch/pdf/assessment-report/ar5/wg2/WGIIAR5-Chap22_FINAL.pdf. Access in: January, 2019.
- JOOST, S. et al. A spatial analysis method (SAM) to detect candidate loci for selection: towards a landscape genomics approach to adaptation. *Molecular Ecology*, [S.l.], v. 16, n. 18, p. 3955-3969, 2007.
- JORDAN, R. et al. Evidence of genomic adaptation to climate in *Eucalyptus microcarpa*: Implications for adaptive potential to projected climate change. *Molecular Ecology*, [S.l.], v. 26, n. 21, p. 6002-6020, 2017.
- LI, H. et al. An efficient unified model for genome-wide association studies and genomic selection. *Genetics, Selection, Evolution*, [S.l.], v. 49, n. 1, p. 64, 2017.
- LI, H.; DURBIN, R. Fast and accurate short read alignment with Burrows–Wheeler transform. *Bioinformatics*, [S.l.], v. 25, n. 14, p. 1754-1760, 2009.
- MARIAC, C. et al. Cost-effective enrichment hybridization capture of chloroplast genomes at deep multiplexing levels for population genetics and phylogeography studies. *Molecular Ecology Resources*, [S.l.], v. 14, n. 6, p. 1103-1113, 2014.
- MAUREL, C. et al. Plant aquaporins: membrane channels with multiple integrated functions. *Annual Review of Plant Biology*, [S.l.], v. 59, n. 1, p. 595-624, 2008.
- MERILÄ, J.; HENDRY, A. P. Climate change, adaptation, and phenotypic plasticity: the problem and the evidence. *Evolutionary Applications*, [S.l.], v. 7, n. 1, p. 1-14, 2014.
- NICOTRA, A. B. et al. Adaptive plasticity and epigenetic variation in response to warming in an Alpine plant. *Ecology and evolution*, v. 5, n. 3, p. 634-647, 2015.
- POSTAIRE, O. et al. A *PIP1* aquaporin contributes to hydrostatic pressure-induced water transport in both the root and rosette of *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, [S.l.], v. 152, n. 3, p. 1418-1430, 2010.
- PURCELL, S. et al. PLINK: A Tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *The American Journal of Human Genetics*, [S.l.], v. 81, n. 3, p. 559-575, 2007.
- RELLSTAB, C. et al. A practical guide to environmental association analysis in landscape genomics. *Molecular Ecology*, [S.l.], v. 24, n. 17, p. 4348-4370, 2015.
- RELLSTAB, C. et al. Signatures of local adaptation in candidate genes of oaks (*Quercus* spp.) with respect to present and future climatic conditions. *Molecular Ecology*, [S.l.], v. 25, n. 23, p. 5907-5924, 2016.
- ROHLAND, N.; REICH, D. Cost-effective, high-throughput DNA sequencing libraries for multiplexed target capture. *Genome Research*, [S.l.], v. 22, n. 5, p. 939-946, 2012.
- SCARCELLI, N. et al. Intra-individual polymorphism in chloroplasts from NGS data: where does it come from and how to handle it? *Molecular Ecology Resources*, [S.l.], v. 16, n. 2, p. 434-445, 2016.
- TANG, D.; CHRISTIANSEN, K. M.; INNES, R. W. Regulation of plant disease resistance, stress responses, cell death, and ethylene signaling in *Arabidopsis* by the *EDR1* protein kinase. *Plant Physiology*, [S.l.], v. 138, n. 2, p. 1018-1026, 2005.
- THOMAS, A. S. Types of Robusta coffee and their selection in Uganda. *The East African Agricultural Journal*, [S.l.], v. 1, n. 3, p. 193-197, 1935.