

ESTUDO DA DIVERGÊNCIA GENÉTICA EM CAFÉ ROBUSTA POR TÉCNICAS MULTIVARIADAS

Antonio C. Baião de OLIVEIRA¹, E-mail: baião@iac.sp.gov.br; Milana G. IVOGLO¹; Luiz Carlos FAZUOLI¹; Júlio C. MISTRO¹; Marcos R. PETEK¹; Masako TOMA-BRAGHINI¹

¹Centro de Café 'Alcides Carvalho', Instituto Agrônomo (IAC/APTA), Campinas, SP

Resumo:

Estudou-se a divergência genética entre e dentro de progênies de *Coffea canephora*, com base em 14 características morfo-agronômicas e em procedimentos multivariados, visando caracterizar os materiais genéticos mais divergentes e com melhor desempenho para integrar os programas de seleção de café Robusta do IAC. Os dados foram obtidos de um experimento instalado no Pólo Regional do Nordeste Paulista (APTA Regional/Mococa, SP), no delineamento de blocos ao acaso, com 21 progênies de meios-irmãos e 24 repetições, no espaçamento de 4,0 x 3,0m, com uma planta útil por parcela. Os métodos de agrupamento empregados foram o de Tocher, UPGMA e dos componentes principais. Das características avaliadas, três não afetaram a formação dos grupos e foram excluídas das análises. O método de Tocher reuniu as 21 progênies em quatro grupos. A partir deste agrupamento, foram selecionadas quatro progênies superiores e mais dissimilares, para estudo da divergência dentro. Nesta etapa do trabalho, os métodos de agrupamento empregados revelaram grande variabilidade genética das plantas, tanto dentro quanto entre progênies, servindo de base na indicação dos melhores genótipos para integrar os planos de cruzamentos e seleção, visando a obtenção de clones e cultivares superiores.

Palavras-chave: *Coffea canephora*, análise de agrupamento, melhoramento genético.

GENETIC DIVERGENCE STUDY IN ROBUSTA COOFFE BY MULTIVARIATE TECHNIQUES

Abstract:

The genetic divergence was studied among and within of *Coffea canephora* progenies based on 14 morpho-agronomic traits and multivariate procedures. The goal was to characterize the more divergent and better performance genetic materials to integrate the selection programs of IAC Robust coffee. The experiment was carried out at Pólo Regional do Nordeste Paulista (APTA Regional/Mococa, SP), in a randomized complete block design with 21 half-sib progenies and 24 replicates, adopting an useful plant per plot. The employed grouping methods were Tocher, UPGMA, and principal components analysis. Three traits were excluded of the analysis because it didn't affect the grouping. The Tocher method gathered the 21 progenies in four groups. The four superior and more dissimilar progenies were selected to study the within divergence. The employed grouping methods showed high genetic variability of the plants so much within as among progenies. This study indicated the best genotypes that could be used as genetic sources in breeding program or be eventually released as cultivars to the growers in the future.

Keywords: *Coffea canephora*, grouping analysis, genetic breeding.

Introdução

O café robusta (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner), segundo em importância no mercado internacional, com cerca de 30% dos negócios com o produto no mundo, tem despertado maior interesse de produtores brasileiros. Este fato tem ocorrido, principalmente, nas regiões marginais para produção do café arábica, em razão de o robusta ser mais resistente aos principais estresses abióticos e pela sua rusticidade (Inácio, 2005). Outro fator que tem contribuído com o aumento do interesse pelo plantio do café robusta é a diminuição do ágio em relação ao arábica, devido principalmente ao aumento da porcentagem do robusta nos *blends* e a participação na indústria de solúveis.

Apesar de ainda não produzir café robusta, o estado de São Paulo concentra a maior parte das indústrias de café torrado e de solúvel produzidos no Brasil, o que tem demandado interesse muito grande por esse tipo de café no estado. Por essas e outras razões o Centro de Café do IAC tem intensificado as pesquisas com o robusta no estado de São Paulo, com o propósito de disponibilizar materiais genéticos superiores, que poderão suprimir a demanda de produtores e da indústria de café.

Nos programas de melhoramento vegetal, o estudo da divergência genética do germoplasma disponível por meio de técnicas multivariadas é de suma importância, principalmente no início dos programas, para auxiliar na definição de estratégias de ação. O estudo da divergência genética é importante na definição de populações-base para seleção e na identificação de genitores adequados para a obtenção de combinações híbridas, que apresentem maior efeito heterótico e que também proporcionem maior segregação em recombinações. Esse tipo de estudo permite ainda agrupar os materiais genéticos similares para a formação de variedades sintéticas e também a caracterização da variabilidade de recursos genéticos em bancos de germoplasma. Segundo Falconer (1989), genitores superiores são aqueles que apresentam variabilidade genética, bom desempenho per se e médias elevadas para as características de interesse, além de alta adaptabilidade e estabilidade de comportamento.

A divergência genética pode ser estudada por meio de vários procedimentos multivariados, como as medidas de dissimilaridade envolvendo a distância generalizada de Mahalanobis e a distância Euclidiana; os métodos de agrupamento hierárquicos, como UPGMA (ligação média entre grupos) e *single linkage*, e os métodos aglomerativos, como o de Tocher;

técnicas de dispersão gráfica envolvendo análise de componentes principais e de variáveis canônicas. A escolha do método mais adequado tem sido determinada pela precisão desejada pelo pesquisador, pela facilidade da análise e pela forma como os dados foram obtidos (Cruz et al., 2004).

Neste trabalho, objetivou-se estudar a divergência genética entre e dentro de progênies de meios-irmãos de *C. canephora*, componentes do Banco de Germoplasma de *Coffea sp.* do Instituto Agronômico de Campinas (IAC), visando identificar os materiais genéticos mais dissimilares e de bom desempenho *per se*, que serão utilizados nos planos de cruzamentos e de seleção do programa de melhoramento de café robusta do IAC.

Material e Métodos

O material genético utilizado neste trabalho foi composto de 21 progênies de meios-irmãos de introduções do germoplasma robusta, presente em campo experimental do Pólo Regional do Nordeste Paulista (APTA Regional/Mococa-SP). Estas introduções estão relacionadas a uma seleção de plantas matrizes efetuada na coleção do CATIE (Centro Agronômico Tropical de investigación y Enseñanza)/Turrialba/Costa Rica. O experimento foi instalado em 05/11/1975, no delineamento de blocos ao acaso, compostos de 21 tratamentos, referentes às 21 progênies, e 24 repetições, no espaçamento de 4,0 x 3,0m, com uma planta útil por parcela. Após a oitava colheita consecutiva, foi realizada uma poda do tipo recepa em todas as plantas do ensaio. Foram avaliadas as seguintes características: área foliar (AF05), comprimento (CF05) e largura da folha (LF05), medidas no ano de 2005; produção média de 15 colheitas (PrMe), sendo oito antes da poda e sete após; altura de planta e diâmetro de copa antes (AltA e DCoA) e depois (AltD e DCoD) da poda; massa de mil grãos (MMil), densidade de grãos (Dens), peneira média (PeMe), porcentagem de grãos do tipo chato (PCha), do tipo Moca (PMoc) e do tipo concha (PCon), avaliados na quinta colheita.

Inicialmente, foi realizada análise de variância individual para cada característica, com o propósito de verificar a existência de variação genética entre progênies. Em seguida, procedeu-se à análise de divergência genética entre progênies, a partir da matriz de dissimilaridades genéticas obtida com base na distância generalizada de Mahalanobis, que serviu de base para a formação dos grupos pelo método de Tocher (Rao, 1952). A importância das características para o agrupamento foi verificada pelo método de Singh (1981), que serviu como base para o descarte de variáveis irrelevantes para o agrupamento. O passo seguinte foi a realização de teste de comparação de médias dentro dos grupos formados pelo método de Tocher, para escolha das progênies com as maiores médias para o estudo da diversidade genética dentro. Nesta etapa do trabalho, foi obtida a matriz de dissimilaridades genéticas com base na distância Euclidiana, que foi utilizada na formação dos grupos pelos métodos de Tocher e UPGMA. No estudo da divergência dentro de progênies foi empregado ainda o método gráfico dos componentes principais, para efeito comparativo. Todas as análises genético-estatísticas foram executadas com o auxílio do aplicativo computacional Genes (Cruz, 2001).

Resultados e Discussão

Pelos resultados obtidos das análises de variância individuais e do teste F, pode-se constatar diferenças significativas entre progênies a 1% de probabilidade ($P < 0,01$), em todas as características avaliadas, exceto para a característica diâmetro de copa depois da poda (DCoD), que foi significativa a 5%. A constatação da existência de variabilidade genética entre as progênies, possibilitou o emprego de técnicas multivariadas na avaliação da divergência entre o material genético avaliado.

O método de agrupamento de Tocher reuniu as 21 progênies avaliadas em quatro grupos. O grupo I foi composto por 14 progênies, o grupo II por cinco progênies e os grupos III e IV foram constituídos por apenas uma progênie cada. Para verificar a importância das características avaliadas na formação dos grupos, agrupamentos sucessivos, com descarte de variáveis foram executados e verificou-se que as características AF05, DCoA e AltD não afetaram o agrupamento das progênies. Demonstrou-se, dessa forma, que as características descartadas não são relevantes para a análise da divergência genética, nessa situação, provavelmente em função do aspecto redundância, visto que AF05 está indiretamente representada por CF05 e LF05, pois apresentou elevados valores de correlação genotípica com estas características, ou seja, 0,79** e 0,97**, respectivamente. O mesmo ocorreu para as características DCoA, altamente correlacionada com DCoD (1,04**), e AltD, que exibiu correlação genotípica elevada com AltA (0,93**). Esses resultados indicam que seria desnecessários avaliar as características descartadas em futuros estudos de divergência genética em café robusta, nas condições experimentais semelhantes às testadas nesse trabalho.

O estudo da divergência dentro de progênies foi realizado apenas com as onze características que contribuíram efetivamente para o agrupamento entre progênies. Inicialmente, foram realizados testes de comparação de médias dentro do grupo I (Scott-Knott, 5%) e do grupo II (Tukey, 5%), para escolha de uma progênie dentro de cada grupo, que se somaram às outras duas, dos grupos III (IAC 2255) e IV (IAC 2262), perfazendo um total de 96 indivíduos, que foram submetidos à avaliação da divergência entre eles. Com base nos resultados dos testes de médias, foram escolhidas as progênies 14 (IAC 2290), no grupo I, e 9 (IAC 2263), no grupo II, que apresentaram as maiores médias para importantes características agrônomicas, como produção média de 15 colheitas (PrMe), peneira média (PeMe) e porcentagem de grãos do tipo chato (PCha). Portanto, o estudo da divergência dentro de progênies foi realizado com os materiais que se mostraram mais distantes geneticamente e de melhores desempenhos agrônomicos.

A avaliação da divergência dentro de progênies, com base no método de agrupamento de Tocher e na matriz de dissimilaridades obtida a partir da distância Euclidiana, reuniu os 96 indivíduos das quatro progênies escolhidas para o estudo dentro, em sete grupos (Tabela 1). O grupo I, maior de todos, composto por 70 indivíduos, foi representado por plantas de todas as quatro progênies avaliadas. Este grupo foi formado por 18 indivíduos de cada uma das progênies IAC

2255 e IAC 2262, por 13 e 21 indivíduos das progênes IAC 2263 e IAC 2290, respectivamente. Portanto, a maioria dos indivíduos desta última progênie foi alocada no grupo I, com apenas três indivíduos distribuídos em cada dos grupos II, III e IV, indicando que a progênie IAC 2290 parece ser a de menor variabilidade genética entre os indivíduos que a compõe. Por outro lado, a progênie IAC 2263 teve representantes em todos os sete grupos formados, evidenciando maior variabilidade dentro desta. Os grupos II e IV tiveram indivíduos representantes de todas as quatro progênes, enquanto o grupo III não teve representantes da progênie IAC 2255. Por sua vez, os grupos V, VI e VII foram formados apenas por indivíduos da progênie IAC 2263, caracterizando, mais uma vez a grande diversidade presente dentro desta progênie.

Tabela 1. Agrupamento pelo método de Tocher, tendo como base a distância Euclidiana, de 96 indivíduos oriundos de quatro progênes de meios-irmãos de *Coffea canephora*, a partir da avaliação de 11 características morfo-agronômicas.

Grupo	Indivíduos ¹
I	1, 21, 22, 2, 24, 16, 62, 20, 7, 15, 8, 26, 95, 11, 23, 6, 14, 88, 19, 96, 18, 10, 84, 63, 53, 74, 75, 92, 80, 86, 85, 32, 94, 93, 13, 82, 33, 90, 35, 71, 78, 37, 50, 41, 34, 28, 29, 31, 25, 77, 51, 60, 65, 72, 70, 49, 39, 59, 44, 45, 56, 89, 76, 87, 67, 38, 91, 27, 42, 83
II	68, 79, 4, 12, 55, 36, 17
III	48, 73, 57, 43, 46, 40, 30, 58
IV	61, 81, 69, 47, 3, 5, 9
V	54, 64
VI	66
VII	52

¹Indivíduos 1 a 24 pertencem à progênie IAC 2255; 25 a 48 = progênie IAC 2262; 49 a 72 = progênie IAC 2263; e 73 a 96 = progênie IAC 2290.

O método UPGMA (Figura 1) agrupou os 96 acessos em nove grupos, adotando-se com o critério, nível de dissimilaridade em torno de 32% no dendrograma. Este critério foi adotado em função de observações de mudanças bruscas de níveis na árvore. Este procedimento é um dos recomendados por Cruz et al. (2004), no estabelecimento dos grupos neste tipo de análise. Os resultados do agrupamento obtidos pelo método UPGMA concordaram apenas parcialmente com aqueles alcançados no método de Tocher. Mas, alguns observações merecem destaque: os acessos 52 e 66 formaram grupos isolados nos dois métodos, se destacando como dos mais dissimilares. Os acessos 54 e 64 formaram um grupo à parte nos dois métodos. Já os acessos 3, 5 e 9, e 48, 57 e 73 que no método UPGMA constituíram grupos únicos (figura 1), no método de Tocher foram parte de outros grupos (tabela 1).

Conforme relatado por Cruz et al. (2004), a análise do dendrograma obtido pelos métodos hierárquicos de agrupamento permite ao pesquisador verificar o grau de similaridade e dissimilaridade entre acessos. Assim, pode-se constatar que os acessos mais similares foram 1, 21, 22 e 2; 49, 70, 51 e 72; e 68 e 79, no grupo I, e 28 e 41; 85 e 86; e 74, 80, 75 e 96 no grupo III. Enquanto, os mais dissimilares foram 17 (grupo II); 52 (grupo IV); 5, 9 e 3 (grupo VI); 48, 73 e 57 (grupo VII); 54 e 64 (grupo VIII); e 66 (grupo IX). Nesse particular, alguns atributos próprios foram responsáveis pela maior dissimilaridade destes acessos. O indivíduo 17 estava entre as dez maiores médias para as características PrMe, AltA, MMil, Dens e PMoc. O acesso 52 exibiu o maior diâmetro de copa após a poda entre todos. Os acessos 54, 64 e 66 mostraram-se como os de maior porcentagem de grãos do tipo moca e menor porcentagem de grãos tipo chato. Essas constituem em características indesejáveis do ponto de vista do melhoramento de café robusta. Portanto, apesar de estarem entre os mais divergentes, estes acessos devem ser evitados em futuros programas de cruzamentos e seleção, por causa dos seus atributos negativos. Os acessos 5, 9 e 3 foram os que apresentaram as maiores médias para as características peneira média e massa de mil sementes, que são altamente desejáveis do ponto de vista dos programas de seleção de café robusta, podendo vir a integrar futuros esquemas de cruzamentos, visando a obtenção de novos clones ou cultivares para plantios comerciais. Finalmente, os acessos 48, 73 e 57, que também formaram um grupo à parte se destacaram como os de menores médias entre todos para a característica massa de mil sementes, que como já comentado, é indesejável nos programas de seleção.

Outro método de agrupamento utilizado neste trabalho foi a análise de componentes principais. Esta é uma técnica estatística de análise multivariada que transforma linearmente um grupo de variáveis em um conjunto substancialmente menor, de variáveis não correlacionadas, responsável pela maior parte da informação do conjunto original (Silva e Padovani, 2006). Os componentes principais são apresentados por ordem decrescente de importância, isto é, o primeiro explica o máximo possível da variabilidade dos dados originais, já o segundo, o máximo possível da variabilidade ainda não explicada após o efeito do primeiro componente, e assim por diante. O último componente será o que menor contribuição dará para explicação da variabilidade total dos dados originais.

Na prática, a análise de componentes principais é utilizada com o objetivo de redução do espaço paramétrico. Quanto maior for a retenção da variação total em um número menor de combinações lineares, melhor será a aplicação prática desse procedimento aos dados experimentais. Assim, recomenda-se (Cruz, 2006) que a variância acumulada nos dois ou três primeiros componentes principais seja de no mínimo 80%, para que o espaço paramétrico seja bem representado no plano bi ou tri-dimensional. Neste trabalho, os dois primeiros componentes principais acumularam 96,88%

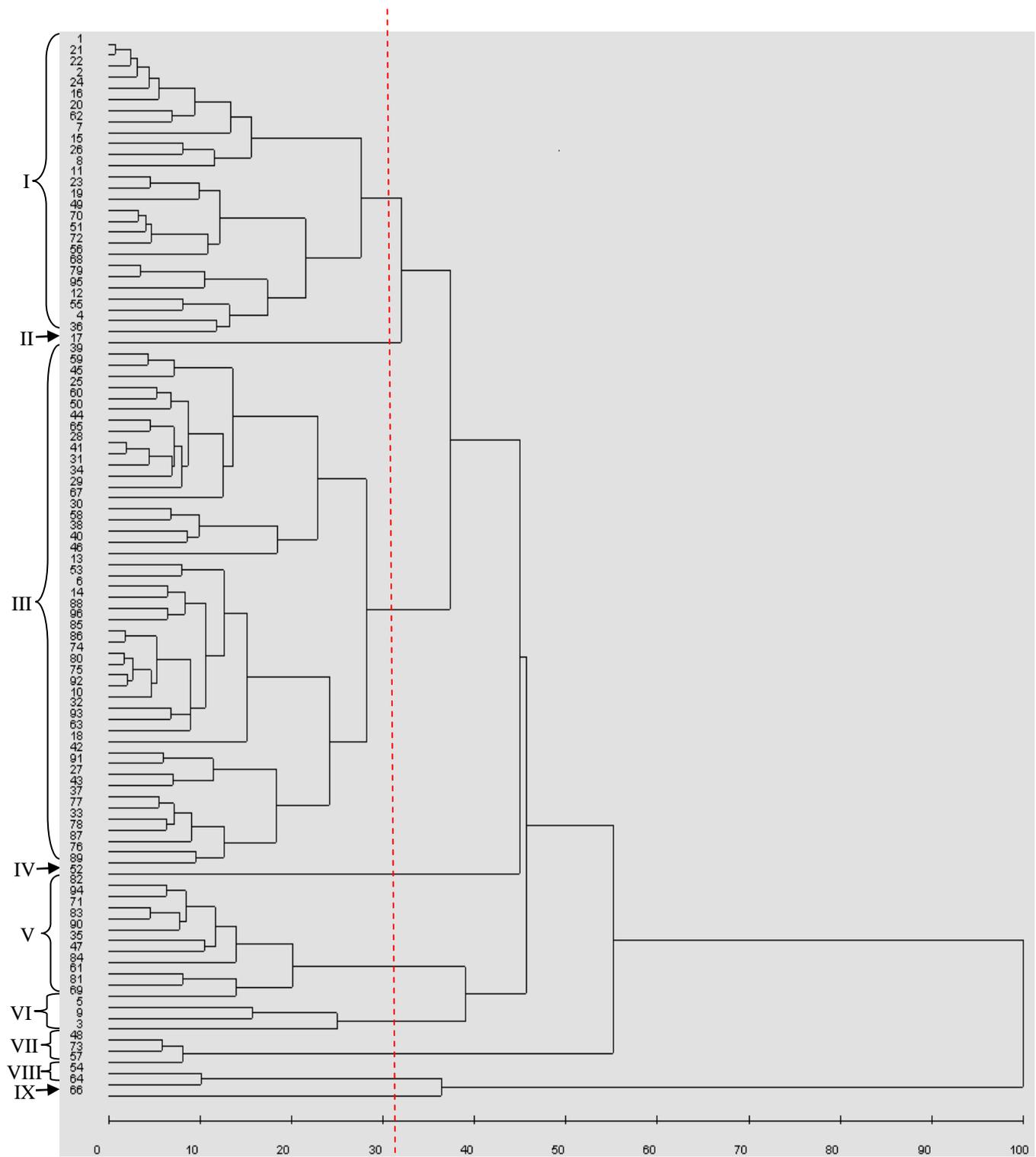


Figura 1 - Dendrograma ilustrativo mostrando o agrupamento entre 96 plantas de quatro progênies de meios-irmãos de *C. canephora*, a partir da avaliação de 11 características morfo-agronômicas, tendo como base o método UPGMA e a matriz de dissimilaridade estimada pela distância Euclidiana.

da variância total, refletindo muito bem a dispersão gráfica dos genótipos avaliados no plano cartesiano (Figura 2). Alguns genótipos foram destacados na dispersão gráfica pelas seguintes razões: os de número 52; 66; e 54 e 64 formaram grupos isolados nos outros métodos de agrupamento avaliados. Os genótipos 48, 73 e 57 correspondem exatamente ao grupo VII caracterizado no método UPGMA. Os indivíduos 61, 81, 69, 47, 3, 5 e 9 formaram o grupo III no método de Tocher, o grupo VI e parte do V no método UPGMA. Na figura 1, estão destacados ainda os indivíduos 71 e 83, por terem apresentado excelentes qualidades agrônômicas, como alta produtividade, peneira média elevada e grande porcentagem de grãos chatos, podendo ser incluídos em esquemas de cruzamentos no programa de melhoramento do café robusta do IAC,

ou multiplicados vegetativamente para utilização *per se*. Esses resultados são indicativos de que houve coerência no agrupamento dos indivíduos pelos três métodos de análise empregados.

C 2

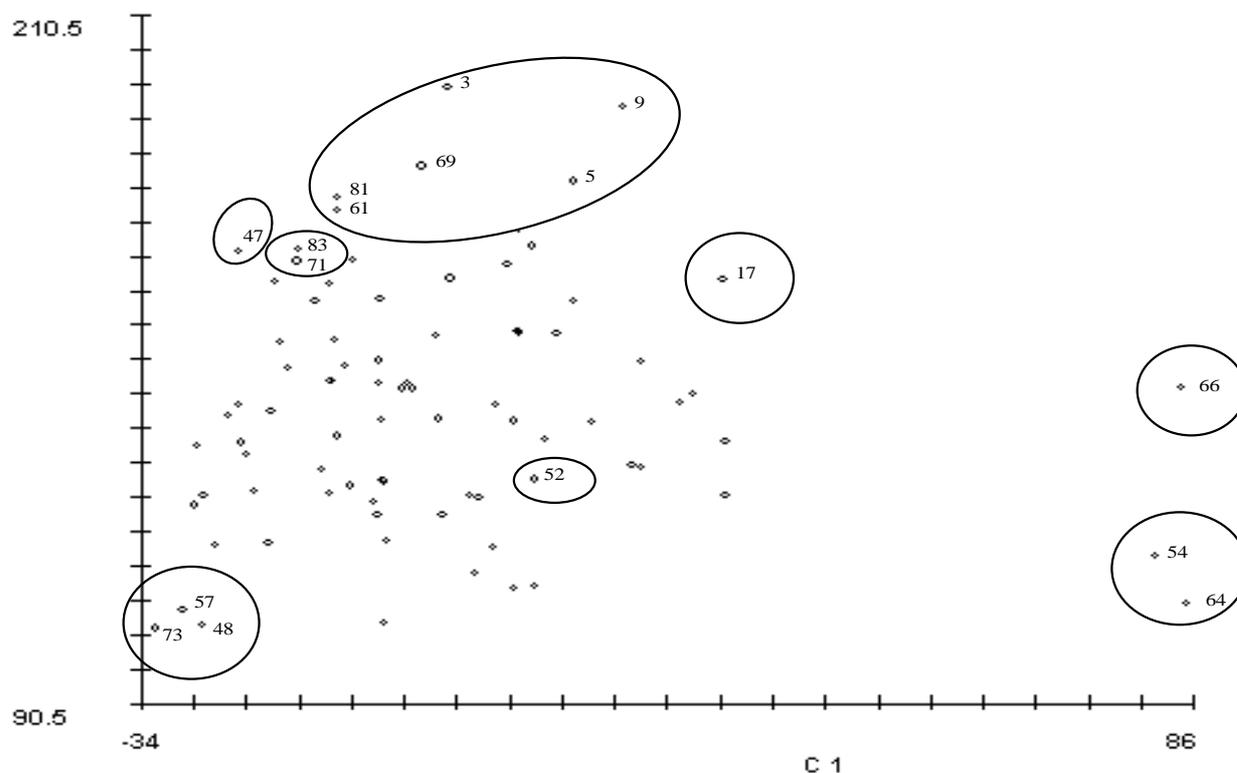


Figura 2 - Dispersão gráfica dos escores de 96 plantas de quatro progênies de meios-irmãos de *C. canephora*, em relação aos dois primeiros componentes principais, estimados a partir da avaliação de 11 características morfo-agronômicas.

Conclusões

Com base na análise de divergência, pode-se concluir que existe considerável variabilidade genética entre e principalmente dentro das progênies avaliadas, constituindo excelente material genético para cruzamentos e seleção.

Considerando-se tanto a distância genética entre as plantas avaliadas quanto o desempenho *per se* das mesmas, no estudo da divergência dentro, as mais indicadas para integrar futuros programas de melhoramento, visando a obtenção de novas cultivares ou clones de café robusta são as de número 5, 17, 18, 52, 71, 73, 83.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do Café e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pelo apoio financeiro a esta pesquisa.

Referências Bibliográficas

- Cruz, C.D. (2001) *Programa GENES: versão Windows*. Aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: Editora UFV, 2001. 648p.
- Cruz, C.D. (2006) *Programa Genes: Análise multivariada e simulação*. Viçosa: Editora UFV, 175p.
- Cruz, C.D.; Regazzi, A.J; Carneiro, P.C.S. (2004). *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. Viçosa: UFV, v1, 3.ed., 480p.
- Falconer, D.S. (1989) *Introduction to quantitative genetics*. London: Longman, 438p.
- Inácio, A. (2005) Fronteiras agrícolas apostam no robusta. *Gazeta Mercantil*. <http://www.gazetamercantil.com.br> (28 de março de 2005).
- Rao, C.R. (1952) *Advanced statistical methods in biometric research*. New York: John Wiley & Sons.
- Silva, N.R.; Padovani, C.R. (2006) Utilização de componentes principais em experimentação agrônômica. *Energia na Agricultura*, 21(4): 98-113.
- Singh, D. (1981) The relative importance of characters affecting genetic divergence. *Indian Journal Genetics and Plant Breeding*, 41: 237-245.