

ANÁLISE MULTIVARIADA EM PROGÊNIES DE CAFÉ COM BASE EM CARACTERÍSTICAS DE ANATOMIA FOLIAR¹

Janine Magalhães Guedes²; Harianna Paula Alves de Azevedo³; Dalys Toledo Casatanheira⁴; Tamara Cubiaki Pires Gama⁵; Helbert Rezende de Oliveira Silveira⁶; Rubens José Guimarães⁷; Felipe Guimarães Viana⁸

¹Trabalho financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

² Pós doutoranda PNP/Institucional Capes, INOVA Café/Ufla, Lavras-MG, janine_guedes@yahoo.com.br

³ Graduanda em Agronomia, Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, hariaana_tp@hotmail.com

⁴ Doutoranda em Fitotecnia, Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, dalyscastanheira@hotmail.com

⁵ Doutoranda em Fitotecnia, Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, tcubiaki@hotmail.com

⁶ Pós doutorando Fapemig/Ufla, Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, herosrezende@yahoo.com.br

⁷ Professor Dr. Da Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, rubensjg@dag.ufla

⁸ Graduando em Agronomia, Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG, felipegviana@gmail.com

RESUMO: O objetivo desse trabalho foi avaliar a divergência genética das progênies/cultivares em geração F₅, oriundas do cruzamento das cultivares Catuaí Vermelho e Catuaí Amarelo com Icatu e descendentes de Híbrido de Timor, com base em características de anatomia foliar. Foram avaliadas 20 progênies/cultivares com base nas seguintes características anatômicas: número de vasos do xilema; espessura do floema; espessura da cutícula; espessura da epiderme adaxial; espessura da epiderme abaxial; espessura do parênquima paliçádico; espessura do parênquima esponjoso e funcionalidade estomática. Os resultados indicaram ampla variabilidade genética entre as progênies/cultivares avaliadas, sendo consideradas as mais divergentes entre elas. Houve similaridade entre os métodos de agrupamento utilizado e as características: espessura da epiderme abaxial (24,01%), número de vasos de xilema (19,80%) e espessura da cutícula (17,74%) como as que mais contribuíram para a dissimilaridade genética.

PALAVRAS-CHAVE: divergência genética, métodos de agrupamento, progênies.

MULTIVARIATE ANALYSIS ON COFFEE PROGENIES BASED ON ANATOMY FOLIAR CHARACTERISTICS

ABSTRACT: The objective of this study was to evaluate the genetic divergence of the progenies / cultivars in the F₅ generation, from the cross of Catuaí Red and Yellow Catuaí with Icatu and descendants of Timor Hybrid, based on leaf anatomy characteristics. We evaluated 20 progenies / cultivars based on the following anatomical characteristics: number of xylem vessels; phloem thickness; thickness of the cuticle; thickness of the adaxial epidermis; thickness of abaxial epidermis; thickness of palisade parenchyma; thickness of the spongy parenchyma and stomatal functionality. The results showed great variability among progenies / cultivars, being 'Catuaí Vermelho' - MS cv 01 and H 419-3-4-5-2 MS cv 02 considered the most divergent between them. Similarity between the clustering methods used and the characteristics: thickness of the abaxial epidermis (24.01%), number of xylem vessels (19.80%) and thickness of the cuticle (17.74%) and contributed the most to genetic dissimilarity.

KEYWORDS: genetic divergence, clustering methods, progenies.

INTRODUÇÃO

Diante dos atuais desafios da cafeicultura frente às mudanças climáticas e exigências dos consumidores por produtos de melhor qualidade e sustentabilidade, novos esforços são exigidos dos programas de melhoramento genético do cafeeiro (Carvalho, 2008). Neste cenário, é necessária a utilização de novas tecnologias integradas ao melhoramento genético convencional, visando em menor tempo à obtenção de cultivares com maior potencial produtivo, portadoras de alelos que confirmam resistência às pragas e doenças, além de adaptação e estabilidade em diferentes ambientes de cultivo. E é nesse contexto que os conhecimentos de anatomia vegetal destacam-se frente aos novos desafios da cafeicultura, principalmente quando se trata do controle de patógenos.

Uma das técnicas utilizadas no melhoramento é a utilização de técnicas multivariadas para estimar a divergência genética, sendo que no caso do café, essa variabilidade genética, é o ponto de partida para qualquer programa de melhoramento, podendo ser alcançada por meio da escolha da dissimilaridade dos parentais, associado com média alta e variabilidade para as características de interesse. A população segregante, então, teria alta probabilidade de apresentar média elevada para as características de interesse, reduzindo, deste modo, o tempo e os custos gastos em programas de melhoramento (Cruz et al., 2004).

E é nesse sentido que este trabalho objetivou estudar a divergência genética entre as progênies/cultivares do cruzamento oriundas do cruzamento das cultivares Catuaí Vermelho e Catuaí Amarelo com Icatu e descendentes de Híbrido de

Timor, com base em características de anatomia foliar.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliadas 18 progênies e duas cultivares (testemunhas), pertencentes ao grupo das resistentes à ferrugem, desenvolvidas pelos programas de melhoramento genético do cafeeiro, coordenado pela Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG) em parceria com a Universidade Federal de Lavras (UFLA) e Universidade Federal de Viçosa (UFV). A relação e caracterização dos progênies/cultivares avaliadas no estudo estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1. Relação e caracterização das progênies/cultivares que foram avaliadas em Patrocínio-MG, 2015.

Nº	Identificação	Nº	Identificação
01	'Catucaí Vermelho' - MS cv 01	11	H 516-2-1-1-18 MS cv 03
02	'Catucaí Vermelho' - MS cv 02	12	H 516-2-1-1-18 MS cv 04
03	'Catucaí Vermelho' - MS cv 03	13	H 516-2-1-1-18 MS cv 05
04	'Catucaí Amarelo' - MS cv 01	14	H 419-3-4-5-2 MS cv 01
05	'Catucaí Amarelo' - MS cv 02	15	H 419-3-4-5-2 MS cv 02
06	'Catucaí Amarelo' - MS cv 03	16	H 419-3-4-5-2 MS cv 03
07	'Catucaí Amarelo' - MS cv 04	17	H 419-3-4-5-2 MS cv 04
08	'Catucaí Amarelo' - MS cv 05	18	H 419-3-4-5-2 MS cv 05
09	H 516-2-1-1-18 MS cv 01	19	'Tupi IAC' 1669-33
10	H 516-2-1-1-18 MS cv 02	20	'Obatã IAC' 1669-20

As progênies/cultivares foram implantadas em dezembro de 2005, na cidade de Patrocínio-MG, localizado na fazenda da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG). Foram coletadas oito folhas completamente expandidas do terceiro nó de ramos plagiotrópicos do terço médio das plantas, em setembro de 2014. As folhas foram fixadas em F.A.A. 70 (Johansen, 1940) por 72 horas e posteriormente conservadas em etanol 70%. Para os estudos anatômicos, foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado com três repetições. As secções transversais foram obtidas em micrótomo de mesa tipo LPC e as secções paradérmicas à mão livre com uso de lâmina de aço. Os cortes foram submetidos à clarificação com hipoclorito de sódio (1,25% de cloro ativo) e tríplex lavagem em água destilada. Foi realizada a coloração com solução azul de astra e safranina para as secções transversais e safranina 1% para as secções paradérmicas, sendo posteriormente ambas montadas em lâminas semipermanentes com glicerol 50% (v v⁻¹) (Kraus & Arduin, 1997).

As lâminas foram observadas e fotografadas em microscópio óptico modelo Olympus BX 60 acoplado à câmera digital Canon A630. As imagens foram analisadas em software para análise de imagens UTHSCSA-Imagetool, com a medição de 20 campos para as variáveis das secções transversais e secções paradérmicas. Foram avaliadas: número de vasos do xilema; diâmetro dos vasos do xilema; espessura do floema; espessura da cutícula; espessura da epiderme adaxial; espessura da epiderme abaxial; espessura do parênquima paliádico; espessura do parênquima esponjoso e funcionalidade estomática.

Os dados foram submetidos à análise de variância, para avaliação da existência de variabilidade genética entre os acessos. Em seguida, empregaram-se as análises multivariadas com o objetivo de agrupar os genótipos mais similares e identificação das principais variáveis para determinar a divergência genética entre os acessos, sendo elas: o algoritmo de agrupamento de Tocher citado por Rao (1952), o método hierárquico UPGMA (Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Averages) e análise de variáveis canônicas. Todas as análises foram realizadas utilizando-se o aplicativo computacional Genes (Cruz, 2008).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O coeficiente de variação ambiental, oscilou de 4,59% a 10,71% para funcionalidade estomática e número de vasos de xilema respectivamente, indicando boa precisão experimental, corroborando com Freitas et al. (2013), que encontraram coeficientes de variação experimental variando de 2,0% a 11,4% para características anatômicas em folhas de café (Tabela 2).

Observou-se diferença significativa a 5% de probabilidade pelo teste F, para as seguintes características: número de vasos do xilema, diâmetro dos vasos do xilema, espessura da cutícula, espessura da epiderme abaxial, espessura do parênquima paliádico, espessura do parênquima esponjoso e funcionalidade estomática, indicando ampla variabilidade entre as progênies/cultivares estudadas.

Outro parâmetro de importância é a herdabilidade. Para se obter sucesso com a seleção, é interessante que a herdabilidade do caráter em questão seja alta, ou seja, quanto maior o nível de expressão da variabilidade genética em relação ao ambiente, maiores serão os ganhos estimados para a geração seguinte. Segundo Bueno, Mendes e Carvalho (2006), valores iguais ou superiores a 50%, para herdabilidade são considerados altos.

Considerando a herdabilidade no sentido amplo (\hat{h}_a^2), verificou-se que sete características obtiveram bons coeficientes de herdabilidade. Essa constatação indica a predominância dos componentes genéticos em detrimento dos ambientais, refletindo situação bastante favorável à seleção para essas sete características.

Tabela 2. Resumo da análise de variância para as características anatômicas relativas às 20 progênes/cultivares de café, Patrocínio, 2015.

	GL	Quadrados médios								
		NVX	DVF	FLO	CTA	EAD	EAB	PPA	PEP	FET
Progênes	19	1751,79*	4,52*	63,60	0,20*	6,14	2,32*	231,31*	729,75*	0,01*
Resíduo	40	349,88	0,82	45,56	0,94	3,47	1,03	40,94	158,78	0,02
Média		174,61	15,32	64,16	4,11	24,09	17,65	63,54	180,84	1,51
\hat{h}_a^2		80,03	81,76	28,37	53,83	43,37	55,61	82,30	78,23	64,97
CV _e (%)		10,71	5,82	10,52	7,49	7,74	5,75	10,07	6,96	4,59

CV_e (%) - Coeficiente de variação ambiental; \hat{h}_a^2 - herdabilidade; NVX - número de vasos do xilema; DVF diâmetro dos vasos do xilema; FLO - espessura do floema; CTA - Espessura da cutícula; EAD - espessura da epiderme adaxial; EAB - espessura da epiderme abaxial; PPA - espessura do parênquima paliçádico; PEP - espessura do parênquima esponjoso; FET - funcionalidade estomática.

As medidas de dissimilaridade genética, estimadas pela distância generalizada de Mahalanobis (D^2_{ii}), entre os pares das progênes/cultivares estudados (dados não apresentados), apresentaram uma elevada magnitude (0,49 a 56,6), indicando a ampla variabilidade genética entre os acessos. A combinação entre as progênes/cultivares um e quinze foi a mais divergente ($D^2 = 56,6$), fato confirmado com o resultado do agrupamento de Tocher (Tabela 3), que separou essas duas progênes em grupos distintos.

Observa-se a formação de cinco grupos (Tabela 3), sendo que a maior parte das progênes/cultivares ficaram alocadas no grupo I, sendo este grupo constituído por 65% do total das progênes/cultivares avaliadas. As progênes H 419-3-4-5-2 MS cv 02 (15) e 'Catucaí Vermelho' - MS cv 01 (1) foram as mais divergentes entre elas, permanecendo em grupos isolados.

Tabela 3. Grupos formados de acordo com o método de Tocher baseado na distância de Mahalanobis (D^2_{ii}), das 20 progênes/cultivares avaliadas no município de Patrocínio-MG, 2015.

Grupos	Progênes/cultivares												
I	4	5	7	16	6	9	10	18	19	11	12	13	3
II	8	14	20										
III	17	2											
IV	15												
V	1												

O método UPGMA (Figura 1) permitiu a formação de cinco grupos entre as 20 progênes/cultivares avaliadas, similar aos resultados observados no método de Tocher, quando efetuou-se um corte na posição 45 do eixo horizontal do dendrograma. Observou-se que as progênes H 419-3-4-5-2 MS cv 02 (15) e 'Catucaí Vermelho' - MS cv 01 (1) permaneceram em grupos isolados, corroborando com o resultado encontrado no agrupamento de Tocher (Tabela 3).

Vale ressaltar que a distribuição dos indivíduos no dendrograma não segue um critério de formação de grupos, uma vez que o principal aspecto desse método consiste nas ramificações que são obtidas. Os indivíduos são agrupados aos pares, utilizando-se médias aritméticas da dissimilaridade, sendo que o dendrograma prioriza os genótipos com maior similaridade.

A formação destes grupos representa valiosa informação na escolha de genitores dentro dos programas de melhoramento, pois as novas populações híbridas a serem estabelecidas devem ser baseadas na magnitude de suas distâncias e no potencial por si só dos genitores.

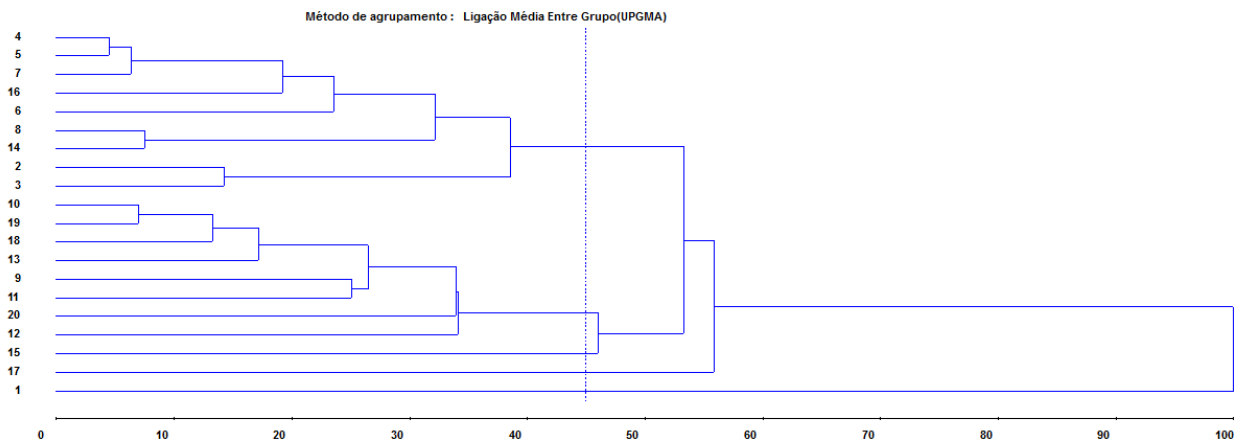


Figura 1 - Dendrograma representativo da dissimilaridade genética entre as 20 progênies/cultivares obtidas pela técnica UPGMA, utilizando a distância generalizada de Mahalanobis como medida de dissimilaridade, sendo a linha vermelha indicativo do corte a 45%.

O estudo da importância relativa das características fornece estimativas para o descarte daquelas de menor importância para discriminação dos genótipos. As características que mais contribuíram para a divergência genética (Tabela 4) foram: epiderme abaxial (24,01%), número de vasos do xilema (19,80%) e espessura da cutícula (17,74%). A característica que apresentou menor contribuição foi espessura do parênquima esponjoso (2,975%).

Alguns autores relatam a viabilidade de descarte de variáveis pela utilização de análises multivariadas, destacando-se entre eles Ivoglo et al. (2008) em café conilon e Bento et al. (2007) em pimenta. Porém quando se descartou a característica de menor importância relativa (espessura do parênquima esponjoso) pelo método de SINGH (1981), o número de agrupamentos, estabelecidos pelo método de otimização de Tocher, passou de 5 para 3 e as posições das progênies/cultivares também foram modificadas. Isso indica que apesar dessa característica, explicar uma fração pequena da variância total, ela não pode ser descartada.

Tabela 4. Contribuição relativa de nove características anatômicas para a divergência das 20 progênies/cultivares de café, pelo método de Singh (1981), Patrocínio, 2015.

Características	Valor em %
Epiderme abaxial	24,01
Número de vasos do xilema	19,80
Espessura da cutícula	17,74
Diâmetro dos vasos do xilema	11,91
Espessura do parênquima paliçádico	7,40
Epiderme adaxial	7,29
Funcionalidade estomática	5,07
Espessura do floema	3,81
Espessura do parênquima esponjoso	2,98

CONCLUSÕES

1. Existe variabilidade genética entre as progênies/cultivares avaliadas em relação as características anatômicas foliares.
2. As progênies/cultivares H 419-3-4-5-2 MS cv 02 e Catucaí Vermelho⁷ - MS cv 01 foram consideradas as mais dissimilares entre elas.
3. Houve similaridade entre os métodos de agrupamento utilizado.
4. As características epiderme abaxial e número de vasos do xilema foram as que mais contribuíram para a divergência genética.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BENTO, C. S. et al. Descritores qualitativos e multicategóricos na estimativa da variabilidade fenotípica entre acessos de pimentas. *Scientia Agraria*, Piracicaba, v. 8, n. 2, p. 149-156, 2007.
- CARVALHO, C. H .S. de. Cultivares de café: origem, características e recomendações. Brasília: Embrapa Café, 2008. 334p.
- CRUZ, C. D. Programa Genes: Aplicativo computacional em genética estatística. Versão Windows, Viçosa: Editora UFV, 2008.
- CRUZ, C. D.; CARVALHO, S.P.; VENCOVSKY, R. Estudo sobre divergência genética. I. Fatores que afetam a predição do comportamento de híbridos. *Revista Ceres*, v.41, p.178-182, 2004.
- IVOGLO, M. G. et al. Divergência genética entre progênies de café robusta. *Bragantia*, v.67, p.823-831, 2008.
- JOHANSEN, D. A. *Plant microtechnique*. Mc Graw Hill, New York. 523 p. 1940.
- KRAUS, J. E. & ARDUIN, M. *Manual básico de métodos em morfologia vegetal*. Rio de Janeiro: EDUR. 198 p. 1997.
- RAO, C.R. *Advanced statistical methods in biometric research*. New York: Willey, 1952. 390p.