

ALEXSANDRA MEDEIROS CORREIA

DIVERSIDADE GENÉTICA E ANÁLISE DIALÉLICA DE
PROGENITORES NO MELHORAMENTO GENÉTICO DE
Coffea arabica

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2016

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

C824d
2016
Correia, Alexsandra Medeiros, 1990-
Diversidade genética e análise dialélica de progenitores no
melhoramento genético de *Coffea arabica* / Alexsandra
Medeiros Correia. – Viçosa, MG, 2016.
ix, 59f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Eveline Teixeira Caixeta.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Café - Melhoramento genético. 2. Marcadores
moleculares. 3. Dialelo . I. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Biologia Geral. Programa de Pós-graduação
em Genética e Melhoramento. II. Título.

CDD 22 ed. 633.733

ALEXSANDRA MEDEIROS CORREIA

DIVERSIDADE GENÉTICA E ANÁLISE DE DIALELO
PARA ESCOLHA DE PROGENITORES NO
MELHORAMENTO DE *Coffea arabica*

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 04 de agosto de 2016.

Antonio Alves Pereira

Cosme Damião Cruz

Eveline Teixeira Caixeta
(Orientadora)

*“A persistência é o menor
caminho do êxito.”*

Charles Chaplin

À Deus, aos meus pais pelo amor e incentivo e a todos que me ajudaram e acreditaram em mim, dedico.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por sempre ter me dado forças para seguir em frente, por ter me concedido tantas oportunidades e por me mostrar que as coisas acontecem no seu devido tempo.

Aos meus pais Dalva e Joselito pelo incentivo, pelo amor e carinho e por nunca medirem esforços para que meus sonhos se realizassem.

Ao meu namorado Deivid pelo incentivo, amizade, companheirismo, amor e carinho e por sempre estar do meu lado.

Aos meus amados irmãos e família por todo amor, carinho e amizade.

Aos meus amigos pela companhia e pelos ótimos momentos, em especial às minhas amigas da Biologia e amigas da república.

Agradeço a Universidade Federal De Viçosa (UFV) e ao Curso de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento pela oportunidade e pelo ensino de excelência.

A Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudo.

À minha orientadora Dra. Eveline Teixeira Caixeta, pela amizade, por toda paciência, pela ajuda, por ser tão acessível e pelos conhecimentos transmitidos.

Aos meus coorientadores Dr. Antonio Carlos Baião de Oliveira e Dr Cosme Damião Cruz pelos ensinamentos, pelas sugestões valiosas e pela disposição em ajudar na realização deste trabalho.

Aos meus colegas Lisandra e Vinicius por serem tão prestativos e pela ajuda na realização deste trabalho.

Aos colegas e amigos do Laboratório BioCafé, pela amizade, pelos conselhos, ensinamentos e pela agradável companhia; em especial a Dani e ao Tiago por sempre estarem dispostos a me ajudar.

Muito obrigada!

BIOGRAFIA

ALEXSANDRA MEDEIROS CORREIA, filha de Joselito Correia e Dalva Aparecida de Medeiros Correia, nasceu no dia 13 de dezembro de 1990, em Visconde do Rio Branco, Estado de Minas Gerais.

Concluiu o ensino fundamental em 2005, no Colégio Municipal Rio Branco, em Visconde do Rio Branco-MG e o ensino médio em 2008, na Escola Rafaela Menicucci, em Visconde do Rio Branco-MG.

Em março de 2009 ingressou-se no curso de Ciências Biológicas na Universidade Federal de Viçosa (UFV). Em março de 2014 diplomou-se em Ciências Biológicas na referida instituição de ensino. Durante a graduação foi bolsista de iniciação científica no Laboratório de Biologia Molecular de Insetos, sob orientação da Dra. Denilce Meneses Lopes.

Em agosto de 2014, iniciou o curso de mestrado no Programa de Pós Graduação em Genética e Melhoramento, área de concentração Genética Vegetal, na Universidade Federal de Viçosa (UFV), sob orientação da Dra. Eveline Teixeira Caixeta, pesquisadora da Embrapa Café, submetendo-se a defesa de dissertação no dia 04 de agosto de 2016.

SUMÁRIO

RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	4
3. REVISÃO DE LITERATURA	4
3.1. Aspectos econômicos da cafeicultura	4
3.2. Melhoramento genético de <i>Coffea arabica</i>	5
3.3. Marcadores moleculares microssatélites	7
3.4. Cruzamentos dialélicos	8
3.5. Marcadores moleculares para análise de dialelo	11
4. MATERIAL E MÉTODOS	13
4.1. Material genético	13
4.2. Avaliações fenotípicas	20
4.3. Extração do DNA	21
4.4. Amplificação com marcadores microssatélites	22
4.5. Análises estatísticas	24
4.5.1. Análise de diversidade genética	24
4.5.2. Análise dialélica	24
4.5.3. Análise de correlação	25
5. RESULTADOS	26
5.1. Diversidade genética	26
5.2. Identificação de híbridos por marcadores moleculares	31
5.3. Análise do dialelo circulante	34
5.4. Análise de correlação	42
6. DISCUSSÃO	44
6.1. Diversidade genética	44
6.2. Identificação de híbridos por marcadores moleculares	46
6.3. Análise do dialelo	47
6.4. Análise de correlação	51
7. CONCLUSÕES	53
REFERÊNCIAS	54

RESUMO

MEDEIROS, Alessandra Correia. M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2016. **Diversidade genética e análise de dialelo para escolha de progenitores no melhoramento de *Coffea arabica***. Orientadora: Eveline Teixeira Caixeta.

Os programas de melhoramento genético do cafeeiro têm como principal objetivo a obtenção de cultivares com características agronômicas e tecnológicas de interesse, qualidade superior de bebida e resistência a pragas e doenças, aliadas a elevado potencial produtivo. Uma ferramenta útil para auxiliar a seleção de progenitores para os programas de melhoramento é o estudo da diversidade genética de cafeeiros, usando marcadores moleculares. Outra metodologia utilizada é o cruzamento dialélico. Dialelos têm sido aplicados para a obtenção de informações sobre o potencial genético de cultivares ou linhagens, bem como suas capacidades de combinação, que resultem em híbridos produtores de populações segregantes promissoras. Assim, o presente trabalho teve como objetivo aplicar essas duas metodologias, a análise da diversidade genética e o estudo de um dialelo circulante, para auxiliar os programas de melhoramento de *Coffea arabica*. Marcadores moleculares também foram utilizados para certificação de cruzamentos de interesse para o melhoramento. Dessa forma, 12 marcadores moleculares do tipo SSR (*Simple Sequence Repeats*) foram utilizados para acessar a diversidade genética de 76 potenciais progenitores e para a certificação de 48 cruzamentos de interesse. A análise da matriz de distância genética obtida e os dendrogramas resultantes permitiram identificar que os cruzamentos Catiguá MG2 x Acauã, Catiguá MG2 x Topázio MG 1190, Catiguá MG2 x Arara, Catiguá MG2 x Bourbon Amarelo MG 0009 e Catiguá MG2 x Tupi Ferrero, são os que otimizam a distância genética entre os progenitores. Com os marcadores moleculares, foi possível identificar sete cafeeiros que não eram híbridos e sim resultantes de autofecundação do progenitor feminino. Na análise do dialelo circulante foram avaliados oito progenitores e 12 híbridos, com base em 10 características morfoagronômicas. Foram estimadas as capacidades gerais e específicas de combinação, bem como as médias dos progenitores, dos híbridos e dos híbridos preditos para cada característica. Para as principais características (Vigor Vegetativo e Produção), os cruzamentos que devem ser priorizados são entre os progenitores Catiguá MG2 e UFV 311-63 e entre Catiguá MG2 e Acauã Novo, com base na estimação dos parâmetros genéticos. Foi realizada uma análise de correlação para estudar a relação entre distância genética com base

nos marcadores moleculares, diversidade genética fenotípica, média fenotípica e capacidade de combinação das plantas avaliadas no dialelo. Verificou-se uma maior correlação entre a distância genética molecular, média fenotípica das características avaliadas e capacidade de combinação quando comparada com a diversidade fenotípica. Além disso, as características mais fortemente correlacionadas com a diversidade genética molecular foram Vigor vegetativo e Produção.

ABSTRACT

MEDEIROS, Alexandra Correia M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, August, 2016. **Genetic diversity and diallel analysis for parent selection in *Coffea arabica* breeding.** Advisor: Eveline Teixeira Caixeta.

The main objectives of coffee breeding programs is to obtain cultivars with good agronomic traits, better cup quality and resistance to pests and diseases combined with high yield potential. A useful tool to assist the selection of promising parents for these programs is the study of genetic diversity using molecular markers. Another method used is the diallel cross. Diallel have been applied to obtain information on the genetic potential of cultivars, as well as its combination capacities that result in hybrids of promising segregating populations. Thus, this study aimed to apply these two methods, the analysis of genetic diversity and circulant diallel to assist *Coffea arabica* breeding programs. Molecular markers were also used for certification of hybrids. Twelve SSR (Simple Sequence Repeats) molecular markers were used to assess the genetic diversity of 76 potential parents and certificate 48 potential hybrids. The analysis of genetic distance matrix and the dendrograms showed that Catiguá MG2 x Acauã, Catiguá MG2 x Topazio MG 1190, Catiguá MG2 x Arara, Catiguá MG2 x Bourbon Amarelo and Catiguá MG2 x Tupi Ferrero are the crosses that optimize the genetic distance between parents. With molecular markers data, seven potential hybrids showed to be result of self-pollination and the remaining 41 plants were identified as true hybrids. The circulant diallel analyses were assessed with eight parents and 12 hybrids, using ten agronomic traits. The general and specific combining abilities were estimated, as well as the means of the parents, hybrids and predicted hybrids for each trait. For the main agronomic trait (vegetative vigor and yield), crossings that should be prioritized are between the parents Catiguá MG2 and UFV 311-63, and between Catiguá MG2 and Acauã Novo based on the genetic parameters estimation. A correlation analysis was performed to study the relationship between molecular genetic distance, phenotypic genetic diversity, phenotypic mean and combining ability of the plants evaluated in diallel. There was a greater correlation between genetic distance and phenotypic mean of the traits evaluated and combining ability, when compared to phenotypic distance. Furthermore, the most strongly correlated traits with genetic diversity were vegetative vigor and yield.

1. INTRODUÇÃO

Desde a introdução do cafeeiro no Brasil, sua cultura tem sido uma das culturas de maior importância econômica e social para o país. Atualmente o Brasil é o principal produtor e exportador, sendo o café a *commodity* mais comercializada no mundo depois do petróleo (CONAB, 2016). O gênero *Coffea* é representado por mais de 100 espécies (DAVIS *et al.*, 2006). Das espécies cultivadas, a *Coffea arabica* L. (café arábica) e a *Coffea canephora* (café robusta) Pierre são as de maior importância econômica. *C. arabica* é uma espécie autógama, alotetraplóide, com $2n = 4x = 44$ cromossomos, sendo atualmente a mais comercializada, em razão de sua superioridade na qualidade da bebida (SONDAHL e LAURITIS, 1992; NEBESNY e BUDRYN, 2006).

Diante da importância da cultura do café para o Brasil, os programas de melhoramento genético do cafeeiro têm como principal objetivo obtenção de cultivares de *C. arabica* com características agrônomicas e tecnológicas de interesse, melhor qualidade de bebida e resistência a pragas e doenças, aliadas a um elevado potencial produtivo. Porém, o programa de melhoramento genético desta espécie é limitado, devido a sua baixa variabilidade genética (SETOTAW *et al.*, 2013). A recente origem da espécie, sua reprodução preferencialmente autógama, e o histórico de limitada dispersão são as principais justificativas para a estreita base genética (MENDES e GUIMARÃES, 1998). Assim, estratégias eficientes para explorar a variabilidade genética são determinantes para o sucesso dos programas de melhoramento genético do cafeeiro. Uma alternativa seria explorar a variabilidade genética por meio da utilização de marcadores moleculares.

Os marcadores moleculares tornaram-se de grande utilidade para o melhoramento genético, pois permitem o acesso a informações precisas ao nível do DNA (FERRÃO *et al.*, 2015) e podem auxiliar em diversos estudos como diversidade genética, direcionamento de cruzamentos e mapeamento genético (MISSIO *et al.*, 2011). Além de não sofrer influência do ambiente como acontece com os marcadores morfológicos, os marcadores moleculares oferecem uma série de vantagens como confiabilidade, estabilidade, redução no número de plantas a serem testadas, quando comparados às seleções fenotípicas e detecção de variabilidade em

todos e qualquer tecido vegetal, independente da fase de desenvolvimento (AGARWAL *et al.*, 2008).

Entre os diversos tipos de marcadores, os microssatélites, ou SSR (*Simple Sequence Repeats*), destacam-se por suas diferentes características, como por exemplo, taxa elevada de polimorfismo, natureza codominante, multialelismo, reprodutibilidade, loco especificidade, facilidade de automação e custo relativamente baixo. Estas características tornam este marcador favorito para estudos de mapeamento genético, seleção assistida por marcadores (SAM), análise de QTL, manutenção de germoplasma e diversidade genética (FERRÃO *et al.*, 2015). Na estimativa da diversidade genética, os marcadores moleculares de transcriptoma, como os EST-SSR disponíveis para o cafeeiro, permitem uma maior precisão na estimação da distância genética (FRISCH *et al.*, 2010). Portanto, se disponíveis esses marcadores devem ser preferidos para esse tipo de estudo.

No melhoramento genético de culturas autógamas, como o café, marcadores moleculares facilitam, também, a certificação de cruzamentos. Para espécie autógama, a hibridação é realizada manualmente e a polinização deve ser feita quando o estigma já estiver maduro e, portanto, próximo à abertura da flor (SAKIYAMA *et al.*, 1999). Nesse momento, já pode ter ocorrido a autofecundação e a progênie resultante não corresponder ao híbrido de interesse. Os marcadores moleculares permitem a identificação dessas plantas oriundas de autofecundação diferenciando-as das plantas híbridas (GUIMARÃES *et al.*, 2016). Essa estratégia gera grande economia de tempo, mão de obra e recursos financeiros, especialmente importantes para o melhoramento genético de espécies perenes e de ciclo longo.

Para auxiliar na escolha de progenitores para o melhoramento de plantas, existem outras metodologias eficientes, além da análise da diversidade genética por meio de marcadores moleculares. Entre as metodologias disponíveis, os cruzamentos dialélicos são os mais utilizados em quase todas as espécies cultivadas (VEIGA *et al.*, 2000). O estudo do dialelo tem como objetivo analisar o delineamento genético, provendo estimativas de parâmetros úteis na seleção de progenitores para hibridação, e entender os efeitos genéticos envolvidos na determinação dos caracteres (CRUZ *et al.*, 2012). Entende-se por cruzamento dialélico completo todos os cruzamentos possíveis entre um conjunto de indivíduos de n linhagens (RAMALHO *et al.*, 2012). Porém, se o número de linhagens for elevado, torna-se inviável a realização de todos os cruzamentos possíveis. Assim, quando se tem um grande número de linhagens a

serem cruzadas, é utilizado o cruzamento dialélico parcial. Esse tipo de dialelo envolve dois grupos de progenitores (I e J) e tem como vantagem a possibilidade de incluir um número muito superior de progenitores (CRUZ *et al.*, 2012). Outra análise de cruzamento utilizado é o dialelo circulante, proposto por Kempthorne e Curnow (1961). O objetivo desse tipo de dialelo é reduzir o número de híbridos a serem avaliados e prever os melhores híbridos não avaliados. Os dialelos circulantes são aqueles em que os progenitores são representados nas combinações híbridas em um número menor de cruzamentos do que nos demais tipos. Assim, o número de vezes em que um genitor participa dos cruzamentos é sempre inferior a $n-1$ (RAMALHO *et al.*, 2012). Nesse sentido, o método de dialelo circulante pode ser muito útil para o melhoramento genético do cafeeiro, principalmente por ser uma cultura perene de ciclo longo e por sua árvore ocupar um grande espaço no campo experimental. Além disso, por ser uma espécie autógama, sua hibridação é trabalhosa e deve ser realizada manualmente (MEDINA FILHO *et al.*, 2008).

Segundo Veiga *et al.* (2000) a metodologia de dialelo circulante possui uma eficiência comparável a dos dialelos completos, tanto na classificação da capacidade geral e específica de combinação dos progenitores, como na magnitude das estimativas desses parâmetros. Assim, os dialelos, dentre outras finalidades, podem ser utilizados na escolha de populações para melhoramento intrapopulacional, em estudos mais detalhados da heterose manifestada nos híbridos, em estudos de efeitos genéticos envolvidos no controle de caracteres e na estimativa de parâmetros úteis na seleção de progenitores para hibridação (MIRANDA FILHO e CHAVES, 1996).

Em alguns estudos tem sido verificada uma alta correlação entre a capacidade de combinação, estimada por cruzamentos dialélicos e a distância genética, por marcadores moleculares, quando o cruzamento é realizado entre materiais aparentados, como dentro de um mesmo grupo heterótico em milho (MAKUMBI *et al.*, 2011) e entre linhagens relacionadas de girassol (REIF *et al.*, 2013). Como a base genética do cafeeiro é muito estreita, pode ser que metodologia de distância seja eficiente para auxiliar na escolha de progenitores. Isso seria de grande utilidade para uma cultura perene de ciclo longo, pois poderia ajudar na seleção de cruzamentos de interesse e na predição de híbridos promissores para a produção de populações segregantes para o melhoramento genético de *C. arabica*.

2. OBJETIVOS

O presente trabalho teve como principal objetivo auxiliar a escolha de progenitores para cruzamentos no melhoramento genético do cafeeiro, com base na análise da diversidade genética e estudo de dialelo.

De forma específica têm-se os seguintes objetivos:

- a) Acessar a diversidade genética de potenciais progenitores utilizando informações de marcadores moleculares microssatélites;
- b) Certificar os cruzamentos de interesse entre os cafeeiros progenitores, por meio de marcadores moleculares microssatélites;
- c) Estimar a Capacidade Geral e Específica de combinação dos progenitores potenciais, por dialelo circulante;
- d) Estudar o controle genético de caracteres importantes do cafeeiro;
- e) Recomendar os cruzamentos entre os genótipos.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Aspectos econômicos da cafeicultura

Ainda existem controversas a respeito da época de ingresso da cultura de café no Brasil, mas é certo que ocorreu no século XVIII e atualmente é uma das commodities agrícolas mais importantes do país. As duas principais espécies de café de importância no mercado econômico internacional são *Coffea arabica* L., conhecida por café arábica e *Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner, que se caracteriza por apresentar plantas de duas variedades botânicas distintas, denominadas conilon e robusta (ROCHA *et al.*, 2014). No contexto da cafeicultura mundial, o Brasil é um país estrategicamente melhor situado por apresentar uma produção em larga escala destas duas espécies (FAZUOLI, 2006).

O Brasil é o maior produtor mundial de café, os principais estados produtores são Minas Gerais, seguido do Espírito Santo e de São Paulo. A segunda estimativa para a produção da safra cafeeira (espécies arábica e canephora) em 2016 indica que o país deverá colher 49,7 milhões de sacas de 60 quilos de café beneficiado. A área total utilizada para a produção deve ser de 1.942,1 mil hectares. O resultado representa um acréscimo de 14,9%, quando comparado com a produção de 43,24 milhões de sacas obtidas no ciclo anterior (CONAB, 2016). As condições

climáticas favoráveis nas principais regiões produtoras de arábica, aliadas ao ciclo de bienalidade positiva, favorecem as lavouras e justificam os ganhos de produtividade na maioria dos estados. Os maiores ganhos são observados na região do Triângulo mineiro, com 49,1%, e em São Paulo, com crescimento de 33,6% (CONAB, 2016).

A área plantada do café arábica no país soma 1.753.100,8 hectares, o que corresponde a 79,35% da área existente com lavouras de café. Neste segundo levantamento estima-se redução de 0,8% (13.818,9 hectares) em relação à safra anterior. Minas Gerais concentra a maior área com a espécie, correspondendo a 67,35% da área ocupada com café arábica, em âmbito nacional. Para o café *canephora*, o levantamento indica redução de 5,4% na área, estimada em 455.996,9 hectares. No Espírito Santo está a maior área, 286.371 hectares, seguido de Rondônia, com 94.561 hectares e logo após a Bahia, com 41.472,9 hectares. Com exceção do estado de Rondônia, região do Cerrado baiano, regiões da Zona da Mata e Norte de Minas, Espírito Santo e do Paraná, todos outros estados apresentam crescimento na produtividade (CONAB, 2016).

3.2. Melhoria genética de *Coffea arabica*

O principal objetivo dos programas de melhoramento genético do cafeeiro é a obtenção de cultivares de *C. arabica* com características agrônomicas de interesse e resistentes às pragas e às doenças, aliadas a um elevado potencial produtivo. Devido ao fato dessa espécie ser suscetível às principais doenças como a ferrugem alaranjada, causada pelo fungo *Hemileia vastatrix* e a antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum kahawae*, vários trabalhos são realizados com objetivo de contribuir no desenvolvimento de cultivares cada vez mais resistentes (FERNANDEZ *et al.*, 2004; ALVARENGA *et al.*, 2011; ALKIMIM, 2013; SOUSA, 2013; CARVALHO, 2014).

Como há uma crescente demanda por café de qualidade superior no mundo, sendo esse o principal fator determinante no valor de mercado, algumas pesquisas têm dado contribuições não só para produtividade, mas também para produção de café de qualidade (MOHAMMED, 2011). Porém, o programa de melhoramento genético desta espécie é limitado, devido a sua susceptibilidade às principais doenças e a baixa variabilidade genética (SETOTAW *et al.*, 2013). Assim, a utilização de ferramentas alternativas que auxiliem nestes programas é de grande importância, visto que podem proporcionar maior direcionamento e eficiência.

A utilização de métodos de melhoramento associados a marcadores moleculares é observada em diversos estudos, pois oferecem uma série de vantagens como estabilidade, direcionamento de cruzamentos, redução no número de plantas testadas em comparação a seleções fenotípicas, detecção de variabilidade em todos os tecidos vegetais, independente da fase de desenvolvimento (AGARWAL *et al.*, 2008). Diversas pesquisas são realizadas utilizando marcadores moleculares, com objetivo de obter mais informações a respeito da diversidade genética de cultivares, buscando contribuições para obtenção de híbridos com maior resistência a doenças, com caracteres agronômicos desejáveis e com qualidade de bebida superior (MISSIO *et al.*, 2011; VIEIRA, 2014; FERRÃO *et al.*, 2015). A utilização de marcadores moleculares pode ser uma ferramenta muito útil para minimizar os problemas de hibridação na cultura, já que existe um grande interesse em identificar linhagens as quais levem a cruzamentos que exibem níveis ótimos de heterose sem a necessidade de realizar todos os possíveis cruzamentos entre os parentais potenciais (MAKUMBI *et al.*, 2011). Quando os grupos heteróticos não são bem estabelecidos, a estimativa de distância genética baseada em marcadores moleculares pode ser utilizada para evitar o cruzamento entre linhagens aparentadas (MELCHINGER, 1999).

Os marcadores moleculares também podem ser utilizados para identificar a ocorrência ou não de cruzamentos de interesse. No melhoramento de plantas autógamas, como é o caso do cafeeiro arábica, para obtenção de plantas híbridas F₁, o cruzamento deve ser feito manualmente, sendo este um trabalho moroso e demorado. A utilização de marcadores morfológicos para certificação de cruzamentos em autógamas é limitada devido ao número reduzido desses marcadores e devido ao fato de grande parte dos parentais desejáveis em cruzamentos não contrastar para as características morfológicas desejáveis (CAIXETA *et al.*, 2016). Nesse sentido, a certificação cruzamentos pode ser feita por meio da utilização de marcadores moleculares. A partir da utilização desses marcadores, é possível identificar as progênies híbridas obtidas de cruzamentos e diferenciá-las dos indivíduos originados de autofecundação. Essa análise proporciona uma grande economia de tempo, mão de obra e recursos financeiros, sendo esses fatores muito importantes para os programas de melhoramento.

3.3. Marcadores moleculares microssatélites

A utilização de marcadores moleculares é considerada uma ferramenta indispensável para auxiliar as pesquisas relacionadas ao melhoramento genético de plantas. O uso desses marcadores é bastante diversificado, destacando-se na identificação e discriminação de genótipos; quantificação da variabilidade genética ao nível de sequências de nucleotídeos no DNA e sua correlação com a expressão fenotípica; identificação de origem parental e testes de paternidade. Além disso, na caracterização de germoplasma; identificação e proteção de cultivares; avaliação de linhagens pela previsão da produtividade de seus híbridos; certificação de pureza de recursos genéticos; monitoramento de cruzamentos; estudos de diversidade e distância genética; construção de mapas genéticos; e auxílio na seleção (GUIMARÃES e MOREIRA, 1999).

Vários marcadores moleculares estão disponíveis atualmente, entre eles os SSR (*Simple Sequence Repeats*) ou microssatélites (BRUNELLI *et al.*, 2002). Esses marcadores apresentam como vantagem o fato de serem codominantes, sendo capazes de diferenciar indivíduos heterozigotos de homozigotos. Os microssatélites correspondem às sequências com 1 a 6 nucleotídeos repetidos em tandem e são distribuídos de maneira aleatória em todos os genomas eucariotos (BRUNELLI *et al.*, 2002; CAIXETA *et al.*, 2016). São considerados uma região “instável” do genoma, no sentido de que estas regiões possuem uma taxa de mutação muito maior do que outros locos no mesmo genoma. Devido a isso, são altamente polimórficos, sendo importantes em estudos de espécies com base genética estreita. Além disso, para o uso em seleção assistida e identificação de genótipos (*fingerprinting*) (FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1998).

As sequências de DNA que flanqueiam os microssatélites são geralmente conservadas entre os indivíduos de uma mesma espécie, permitindo a obtenção de *primers* específicos que amplificam, via PCR, fragmentos contendo o DNA repetitivo em todos os genótipos. O polimorfismo encontrado, em geral, será uma diferença no tamanho dos fragmentos, dessa forma, cada região amplificada que possua um tamanho diferente representa um alelo diferente do mesmo loco (FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1998). Independente da origem da variação e do elemento repetitivo, cada microssatélite constitui um loco genético altamente variável, multialélico, de grande conteúdo informativo. Tudo isso associado à rapidez

e especificidade da tecnologia do PCR, faz desses marcadores uma eficiente ferramenta para estudos de genes eucarióticos (CAIXETA *et al.*, 2016).

3.4. Cruzamentos dialélicos

A partir do desenvolvimento do sistema de endogamia-hibridação proposto por Shull, (1908, 1909), foram desenvolvidas diversas técnicas e métodos de melhoramento visando o desenvolvimento de híbridos cada vez mais produtivos. Dentre essas metodologias, os melhoristas dispõem de diversos tipos de dialelos e métodos de análise para suas combinações híbridas. Os cruzamentos dialélicos são amplamente utilizados em diferentes espécies cultivadas (VEIGA *et al.*, 2000). Esse tipo de cruzamento não só contribui para o processo decisório na escolha de pais e populações segregantes, mas também pode fornecer informações sobre o controle genético dos caracteres. As metodologias de análise dialélica têm como objetivo analisar o delineamento genético, provendo estimativas de parâmetros úteis na seleção de progenitores para hibridação e no entendimento dos efeitos genéticos envolvidos na determinação dos caracteres (CRUZ *et al.*, 2012).

Após a introdução dos conceitos de capacidade geral de combinação (CGC) e capacidade específica de combinação (CEC) proposta por Sprague e Tatum, (1942), os esquemas de cruzamentos dialélicos receberam maior atenção dos pesquisadores. Segundo Griffing, (1956), a CGC é utilizada para designar o desempenho médio de um genitor qualquer em combinações híbridas, e seu efeito é função da ação de genes predominantemente aditivos. Os efeitos aditivos são responsáveis pela proporção da variação fenotípica, que pode ser transmitida para as sucessivas gerações (CRUZ *et al.*, 2012). Já a CEC indica o grau de complementaridade entre os progenitores envolvidos nos cruzamentos e está relacionada com efeitos gênicos não aditivos (SPRAGUE e TATUM, 1942). O efeito da CEC é útil para os melhoristas de plantas autógamas, pois sua magnitude indica a dimensão da variabilidade que pode ser expressa em cada população (BARELLI *et al.*, 2008).

Os tipos de cruzamentos dialélicos variam, entre eles são utilizados os dialelos completos ou balanceados, os dialelos parciais, os dialelos circulantes, os dialelos incompletos e os dialelos desbalanceados. Entende-se por cruzamento dialelo completo, todos os cruzamentos possíveis entre um conjunto de indivíduos de n linhagens, ou seja, um conjunto de híbridos resultante do acasalamento dentro de

um grupo de progenitores em que n progenitores são cruzados dois a dois (RAMALHO *et al.*, 2012). Incluem os híbridos nas gerações F_1 ou F_2 , ou qualquer outra geração entre todos os pares de combinações dos progenitores (CRUZ *et al.*, 2012).

O emprego de dialelos completos restringe-se a um número limitado de progenitores, já que, com o aumento do número destes, ocorre também um aumento do número de cruzamentos a serem realizados. Em adição a isso, há um aumento proporcional da dificuldade de avaliação desses cruzamentos no campo com a precisão experimental desejada. Assim, quando o número de progenitores é elevado ou quando os recursos disponíveis são relativamente escassos, têm-se como opção a utilização de outros tipos de esquemas de dialelo, o dialelo parcial e/ou o dialelo circulante.

O esquema de dialelo parcial envolve dois grupos de progenitores (I e J) e seus respectivos cruzamentos, tem como vantagem a possibilidade de incluir um número muito superior de progenitores quando se comparado ao dialelo completo (RAMALHO *et al.*, 2012). Assim, é possível incluir um número diferente de progenitores em cada grupo. Os dialelos circulantes são aqueles em que os progenitores são representados nas combinações híbridas em um número menor de cruzamentos do que nos demais tipos. Estes dialelos permitem obter informações sobre os progenitores com um número menor de cruzamentos, assim, o número de vezes que um genitor participa dos cruzamentos é sempre inferior a $n-1$ (RAMALHO *et al.*, 2012).

O método de dialelo circulante foi proposto inicialmente por Kempthorne e Curnow, (1961). O objetivo desse esquema de dialelo é reduzir o número de híbridos a serem avaliados e estimar, ou melhor, prever os melhores híbridos não avaliados. A predição de híbridos é de grande utilidade, sendo oriunda das informações geradas pelos cruzamentos em dialelos circulantes. (Miranda Filho e Vencovsky, (1999) propuseram uma adaptação desse método para o caso interpopulacional, em que, para um conjunto aleatório de n linhagens, são obtidos apenas s cruzamentos possíveis. Com n linhagens aleatórias de cada população são avaliados n híbridos, sendo possível prever todos os s híbridos possíveis com base na CGC, bem como fazer a predição de híbridos não amostrados $n(n-s)$. Miranda Filho e Gorgulho, (2001) adaptaram o uso de dialelo parcial circulante ao nível interpopulacional (DPCI) de Miranda Filho e Vencovsky, (1999), em que, utilizam-

se linhagens de duas populações diferentes para obtenção de híbridos, que representam apenas uma amostra do total de híbridos possíveis. O restante dos híbridos não avaliados é chamado de preditos, e seus valores podem ser estimados através do modelo de Miranda Filho e Gorgulho, (2001).

Alguns trabalhos na literatura validam a utilização dos dialelos circulantes em programas de melhoramento (OLIVEIRA JÚNIOR, 1995; VEIGA *et al.*, 2000; FERREIRA, 2003). Em geral, foi observado que os dialelos circulantes possuem uma eficiência comparável a dos dialelos completos, tanto na classificação dos pais quanto à capacidade geral e à capacidade específica de combinação, como na magnitude das estimativas desses parâmetros (VEIGA *et al.*, 2000). O método de dialelo circulante com e sem adaptações, é utilizado em experimentos envolvendo diferentes culturas como o milho (ARAÚJO, 2000; FUZATTO, 2003; GARBUGLIO e ARAÚJO, 2015), o pepino (LIMA e CARDOSO, 2012) e o café (ROCHA *et al.*, 2014), por exemplo. Assim, quando não é possível a obtenção prévia de todas as combinações híbridas, como no caso de se dispor de um número elevado de genótipos para avaliação ou haver dificuldades na prática da hibridação artificial ou da avaliação de todos os híbridos, a utilização do método de dialelo circulante é uma alternativa.

Quando algumas das combinações híbridas que foram programadas não foram obtidas, são utilizados os delineamentos de dialelos incompletos ou de dialelos desbalanceados. Os dialelos incompletos são aqueles em que progenitores são representados por um número variável de cruzamentos. Geralmente esse delineamento é utilizado quando ocorre perda de tratamentos durante a condução de ensaios ou ausência desses por problemas diversos (CRUZ *et al.*, 2012). Os dialelos desbalanceados são aqueles em que todas as combinações híbridas e também as demais gerações são representadas, porém em frequência variável, devido ao número desigual de repetições (CRUZ *et al.*, 2012).

Existem diversos modelos biométricos para as análises dialélicas, a escolha de um deles dependerá dos objetivos do estudo. Entre os modelos mais difundidos estão os de Hayman, (1954), o de Griffing, (1956) e o de Gardner e Eberhart, (1966). O método de Hayman, (1954) dá informações sobre o mecanismo básico de herança do caráter em estudo, dos valores genéticos dos progenitores utilizados e do limite de seleção. O de Gardner e Eberhart, (1966) é útil para se obter informações sobre os efeitos de variedades e heterose varietal. O de Griffing, (1956) é utilizado para a

obtenção das estimativas de efeitos genéticos e das somas de quadrados de efeitos da capacidade geral e específica de combinação (CRUZ *et al.*, 2012; RAMALHO *et al.*, 2012).

3.5 Marcadores moleculares para análise de dialelo

Como já mencionado anteriormente, existem muitas metodologias eficientes para a escolha de cultivares e linhagens a serem utilizadas nos programas de hibridação. Entre as metodologias disponíveis, os cruzamentos dialélicos são amplamente utilizados em diferentes espécies cultivadas (VEIGA *et al.*, 2000). Esse tipo de cruzamento não só contribui para o processo decisório na escolha de pais e populações segregantes, mas também pode fornecer informações sobre o controle genético dos caracteres. Porém, devido ao fato do cafeeiro ser uma cultura perene de ciclo longo e por ser uma espécie autógama, a utilização do dialelo muitas vezes torna-se dispendiosa, já que a hibridação deve ser realizada manualmente.

A utilização de marcadores moleculares pode ser uma ferramenta útil para minimizar os problemas de hibridação na cultura, já que existe um grande interesse em identificar linhagens promissoras sem a necessidade de realizar todos os possíveis cruzamentos entre os parentais potenciais (MAKUMBI *et al.*, 2011). Quando os grupos heteróticos não são bem estabelecidos, a estimativa de distância genética baseada em marcadores moleculares pode ser utilizada para evitar o cruzamento entre linhagens aparentadas (MELCHINGER, 1999). Além disso, métodos que podem prever o desempenho de híbridos F₁ com alguma precisão antes da avaliação de campo são de particular interesse para os melhoristas, reduzindo os custos relacionados com a avaliação de híbridos (MAKUMBI *et al.*, 2011). Segundo Makumbi *et al.* (2011), marcadores moleculares heterozigotos são capazes de prever o desempenho de híbridos quando os efeitos de dominância são fortes, as frequências alélicas são negativamente correlacionadas entre pais, a herdabilidade é alta, e há ligação entre a maioria dos marcadores e locos de características quantitativas. Assim, esses marcadores podem ser utilizados como ferramenta auxiliar na análise de cruzamentos dialélicos, na seleção de genitores, na certificação de cruzamentos e na predição de híbridos, por exemplo.

Ribeiro *et al.* (2011) utilizaram o método de dialelo para a quantificação da capacidade combinatória em oito cultivares de trigo, com a perspectiva de contribuir para a escolha de genótipos superiores em blocos de cruzamentos. Três das

oito cultivares analisadas apresentaram grande CGC para vários caracteres e os maiores valores de CEC foram detectados nos híbridos mais heterozigotos, formados pelo cruzamento de parentais integrantes de grupos diferentes. Além disso, puderam verificar a correspondência entre as estimativas de capacidade combinatória obtidas do dialelo e as distâncias genéticas dos parentais, estimadas por informações de pedigree e de marcadores microssatélites.

Com base em um estudo de diversidade genética utilizando marcadores moleculares, Xie *et al.* (2014) selecionaram 18 pais, que representam populações de arroz híbrido historicamente desenvolvido no International Rice Research Institute (IRRI), para formar cruzamentos dialélicos de híbridos. Esses genitores foram avaliados em ambientes tropicais e foram observadas as características rendimento, heterose e capacidade de combinação. Avaliaram a magnitude da heterose entre os grupos parentais com base em marcadores buscando obter mais informações sobre grupos heteróticos de arroz. Nesse estudo não houve correlação significativa entre rendimento e diversidade genética para cada híbrido. Diferenças significativas de rendimento, heterose e capacidade de combinação foram detectadas entre pais e entre híbridos. Reif *et al.* (2013) buscaram estudar a correlação entre diversidade genética e capacidade de combinação em grupos relacionados e não relacionados de girassol (*Helianthus annuus L.*) e avaliaram a precisão para predição de desempenho de híbridos baseados em dados fenotípicos e de genômica. Foi observada grande correlação entre capacidade geral de combinação e distância genética para linhagens relacionadas, porém, para linhagens não relacionadas não houve correlação.

Em milho, as capacidades gerais e específicas de combinação são estimadas pelas análises de cruzamentos dialélicos entre linhagens de grupos heteróticos distintos, ou de linhagens oriundas de um grupo heterótico com testadores elite de outro grupo heterótico. Utilizando linhagens testadoras tropicais de milho (*Zea mays L.*) em um esquema de cruzamento dialélico, Makumbi *et al.* (2011) avaliaram a capacidade de combinação para produção de grãos e a diversidade genética deste conjunto de linhagens, utilizando marcadores RFLP, SSR, AFLP. Assim, foi possível estimar a heterose e avaliar a interação genotípica de linhagens e seus híbridos sob condições de stress e não stress hídrico e de fertilidade. Foi observada uma alta correlação entre capacidade de combinação e distância genética quando o cruzamento é realizado entre materiais aparentados, dentro do mesmo grupo heterótico.

Em geral, tem sido demonstrada uma alta correlação entre a capacidade de combinação estimada pelos cruzamentos dialélicos e a distância genética por marcadores moleculares quando o cruzamento é feito entre materiais aparentados como observado nos estudos de Makumbi *et al.* (2011) em milho e de Reif *et al.* (2013) em girassol. Assim, como o cafeeiro possui uma base genética muito estreita, espera-se que metodologia de distância seja eficiente para auxiliar na escolha de progenitores em *C. arabica*. Isso seria de grande utilidade para uma cultura perene de ciclo longo, pois facilitaria a predição de híbridos visando a produção de populações segregantes para o melhoramento genético da espécie.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Material genético

Para o estudo de diversidade genética foram avaliados 22 progenitores em potencial, que correspondem a cultivares ou acessos do programa de melhoramento genético do cafeeiro desenvolvido pela EPAMIG e instituições parceiras. Para cada cultivar/acesso foram analisadas uma ou mais plantas, totalizando 76 cafeeiros (Tabela 1). Esses progenitores potenciais foram também cruzados (Tabela 2) e os possíveis híbridos obtidos foram analisados com marcadores moleculares para verificar se houve ou não a ocorrência da hibridação propriamente dita, visto que, a maioria dos progenitores envolvidos nos cruzamentos eram desprovidos de efetivos marcadores fenotípicos.

No cruzamento dialélico foram utilizados oito desses progenitores, conforme suas características de interesse agrônômico (Tabela 3). Assim, os progenitores foram cruzados segundo o modelo de dialelo circulante (Tabela 4 e 5). Os 12 híbridos gerados pelo dialelo (Tabela 5) e os oito progenitores foram mantidos no campo experimental do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa (DFT-Fundão). O experimento foi montado seguindo delineamento em blocos casualizados contendo 20 tratamentos, compostos pelos 12 híbridos F₁ e pelos oito progenitores, com quatro repetições e três plantas por parcela. O espaçamento adotado foi de 2,80 x 0,70 m.

Tabela 1. Cafeeiros utilizados na análise de diversidade genética.

Nº	Cultivar/acesso	Planta	Localização
1	Paraíso MG H419-1	Planta 36-Fileira 3-Talhão 6B	CETP ¹
2		Planta 37-Fileira 3-Talhão 6B)	CETP
3		Planta 43-Fileira 3-Talhão 6B	CETP
4		Planta 41-Fileira 3-Talhão 6B	CETP
5		Planta 42-Fileira 3-Talhão 6B)	CETP
6		Planta 35-Fileira 3-Talhão 6B	CETP
7		Planta 39-Fileira 3-Talhão 6B	CETP
8		Planta 4-Fileira 3-Bordad. SH3-PA	CETP
9		Planta 34-Fileira 3-Talhão 6B	CETP
10		Planta 14-Fileira 3-Talhão 6B	CETP
11	Catiguá MG2	Planta 11-Fileira 6-Talhão 2B	CETP
12		Planta 16-Fileira 6-Talhão 2B	CETP
13		Planta 19-Fileira 6-Talhão 2B	CETP
14		Planta 12-Fileira 6-Talhão 2B	CETP
15		Planta 13-Fileira 3-Talhão 2B	CETP
16		Planta 4-Trat.12-Rep.3-ECR/UFV	CETP
17	Oeiras MG 6851	Planta 8 - Vitrine	CETP
18		Planta 3 - Vitrine	CETP
19		Planta 7 - Vitrine	CETP
20		Planta 12 - Vitrine	CETP
21		Planta 5 - Vitrine	CETP
22		Planta 4 - Vitrine	CETP
23	Acauã Novo	Cova 432 - Ensaio 3-45	Fazenda Experimental de Varginha
24	Arara	Sem Identificação	Fazenda Experimental de Varginha
25	H484-2-18-12	Planta 6-B2-Fileira 1-Repetição 2	CETP
26	Siriema	Clone 12	Fazenda Experimental de Varginha
27	UFV 311-63	Planta 6-Trat.20-Rep.1-Fileira 6	Ensaio SH3-PB/CETP
28	Sarchimor MG 8840	Planta 23-Fileira 2-Talhão D4A	CEPC ³
29		Planta 24-Fileira 2-Talhão D4A	CEPC
30		Planta 11-Fileira 2-Talhão D4A	CEPC
31		Planta 21-Fileira 3-Talhão D4A	CEPC
32		Planta 14-Fileira 2-Talhão D4A	CEPC
33		Planta 35-Fileira 2-Talhão D4A	CEPC
34	MGS Paraíso 2	Planta 4-Fileira 5-Talhão D4A	CEPC
35		Planta 2-Fileira 5-Talhão D4A	CEPC

¹CETP: Campo Experimental de Três Pontas/EPAMIG.²Fazenda Experimental de Varginha/Fundação Procafé³CEPC: Campo Experimental de Patrocínio/EPAMIG

Tabela 1. Continuação.

Nº	Cultivar/acesso	Planta	Localização
36	MGS Paraíso 2	Planta 8-Fileira 5-Talhão D4A	CEPC
37		Planta 28-Fileira 5-Talhão D4A	CEPC
38	Catuaí Amarelo IAC62	Planta 10-Fileira 8-Talhão S5	CEPC
39		Planta 2-Fileira 8-Talhão S5	CEPC
40		Planta 22-Fileira 2-Talhão S5	CEPC
41		Planta 4-Fileira 2-Talhão S5	CEPC
42		Planta 26-Fileira 2-Talhão S5	CEPC
43		Planta 5-Fileira 8-Talhão S5	CEPC
44		Planta 24-Fileira 4-Talhão S5	CEPC
45	Bourbon Amarelo MG 0009	Planta 9-Repetição 1	CEPC
46		Planta 7-Repetição 1	CEPC
47		Planta 2-Repetição 1	CEPC
48		Planta 5-Repetição 1	CEPC
49		Planta 6-Repetição 1	CEPC
50	Híbrido de Timor MG 0357	Planta 10-Repetição 1	CEPC
51		Planta 9-Repetição 1	CEPC
52		Planta 5-Repetição 1	CEPC
53		Planta 3-Repetição 1	CEPC
54		Planta 2-Repetição 1	CEPC
55	Ibairi IAC 4761	Planta Talhão Comercial	Fazenda Pântano (Patos de Minas-MG)
56	Tupi Ferrero	Planta Talhão Comercial	Fazenda Pântano (Patos de Minas-MG)
57	Acauã	Planta 3-Trat.8-Rep.1-ECR/UFV	Área experimental do DFT/UFV
58	IPR103	Planta4-Trat.22-Rep.4-ECR/UFV	Área experimental do DFT/UFV
59	Obatã	Planta 2-Elvio Coelho-Varginha	Fazenda Paraíso (Varginha-MG)
60		Planta 1-Elvio Coelho-Varginha	Fazenda Paraíso (Varginha-MG)
61	Obatã Vigoroso	Planta Única Elvio Coelho-Varginha	Fazenda Paraíso (Varginha-MG)
62	Catuaí Vermelho IAC144	Planta 33-Fileira 2-Talhão4A	CETP
63		Planta 9-Fileira 2-Talhão 4A	CETP
64		Planta 27-Fileira 2-Talhão 4A	CETP
65	Topázio MG 1190	Planta 54-Talhão 25A	CETP

¹CETP: Campo Experimental de Três Pontas/EPAMIG.²Fazenda Experimental de Varginha/Fundação Procafé³CEPC: Campo Experimental de Patrocínio/EPAMIG

Tabela 1. Continuação.

Nº	Cultivar/aceso	Planta	Localização
66	IAC125RN	Planta 4 Talhão Comercial	Fazenda Pântano (Patos de Minas-MG)
67		Planta 1	Fazenda Pântano (Patos de Minas-MG)
68		Planta 2	Fazenda Pântano (Patos de Minas-MG)
69		Planta 3	Fazenda Pântano (Patos de Minas-MG)
70		Planta 4	Fazenda Pântano (Patos de Minas-MG)
71		Planta 5	Fazenda Pântano (Patos de Minas-MG)
72		Planta 6	Fazenda Pântano (Patos de Minas-MG)
73		Planta 8	Fazenda Pântano (Patos de Minas-MG)
74		Planta 10	Fazenda Pântano (Patos de Minas-MG)
75		Planta 11	Fazenda Pântano (Patos de Minas-MG)
76		Planta 12	Fazenda Pântano (Patos de Minas-MG)

¹CETP: Campo Experimental de Três Pontas/EPAMIG.

²Fazenda Experimental de Varginha/Fundação Procafé

³CEPC: Campo Experimental de Patrocínio/EPAMIG

Tabela 2. Cruzamentos envolvendo progenitores de cafeeiros arábica e respectivos híbridos potenciais gerados.

Cruzamentos Realizados		
Nº	Genealogia	Código Híbrido*
1	Catiguá MG2 x Acauã Novo	C6T-10-B6-E3
2		C6T-24-B6-E3
3		C6T-25-B6-E3
4		C6T-14-B7-E3
5		C6T-35-B7-E3
6		C6T-17-B8-E3
7	Oeiras MG 6851 x Arara	C7T-1-B1-E1
8		C7T-3-B2-E1
9		C7T-11-B8-E3
10		C7T-2-B9-E3
11		C7T-3-B9-E3
12		C7T-34-B9-E3
13		C7T-35-B9-E3

*Híbrido provável

Tabela 2. Continuação.

Cruzamentos Realizados		
Nº	Genealogia	Código Híbrido*
14	Oeiras MG 6851 x Acauã Novo	C8T-19-B10-E3
15	Oeiras MG 6851 x Siriema	C9T-1-B2-E1
16		C9T-5-B11-E3
17		C9T-20-B11-E3
18	H484-2-18-12 x Siriema	C11T-9-B12-E3
19	Topázio x Obatã Vigoroso	C13T-11-B2-E
20	Catuaí Vermelho IAC 144 x Acauã Novo	C15T-8-B4-E4
21		C15T-23-B5-E4
22	Catuaí Vermelho IAC 144 x Siriema	C16T-7-B6-E4
23	Paraíso MG H419-1 x Catuaí Vermelho IAC 144	C20T-7-B11-E4
24	Paraíso MG H419-1 x H484-2-18-12	C21T-6-B14-E4
25		C21T-20-B14-E4
26	Catuaí Amarelo IAC 62 x Bourbon Amarelo MG0009	C1P-1-B1-E5
27		C1P-5-B2-E5
28		C1P-6-B2-E5
29		C1P-7-B2-E5
30	Sarchimor MG8840 x Híbrido de Timor MG0357	C4P-13-B5-E5
31	Sarchimor MG8840 x IAC 125 RN	C5P-2-B1-E2
32		C5P-28-B8-E5
33		C5P-6-B9-E5
34		C5P-13-B9-E5
35		C5P-19-B9-E5
36		C5P-30-B9-E5
37		C5P-3-B10-E5
38	MGS Paraíso 2 x Tupi Ferrero	C9P-15-B14-E5
39	Bourbon Amarelo MG0009 x Ibairi IAC 4761	C10P-26-B18-E5
40		C10P-28-B18-E5
41	Híbrido de Timor MG 0357 x Tupi Ferrero	C12P-8-B20-E5
42		C12P-22-B20-E5
43		C12P-26-B20-E5
44		C12P-30-B20-E5
45	Catiguá MG2 x IPR 103	C1U-1-B1-E6
46		C1U-2-B1-E6
47		C1U-3-B1-E6
48	Catiguá MG2 x Acauã	C2U-1-B1-E6

*Híbrido provável

Tabela 3. Progenitores utilizados no cruzamento dialélico.

Nº	Genitor	Localização	Características Principais
1	Paraíso MG H 419-1	CETP/Epamig. Três Pontas-MG	Cultivar de porte baixo, resistente à ferrugem e aos nematóides da espécie <i>M. exigua</i> .
2	Catiguá MG2	CETP/Epamig. Três Pontas-MG	Cultivar com alta qualidade de bebida, imune à ferrugem, baixa exigência em nutrientes
3	Oeiras MG 6851	CETP/Epamig. Três Pontas-MG	Cultivar com excelente arquitetura de plantas, grãos graúdos e de maturação muito uniforme
4	H484-2-18-12	CETP/Epamig. Três Pontas-MG	Progênie F3 do cruzamento Mundo Novo x Híbrido Timor, de elevada produtividade, alto vigor vegetativo e imune à ferrugem
5	UFV 311-63	CETP/Epamig. Três Pontas-MG	Planta superior portadora do gene <i>S_{H3}</i> de resistência à ferrugem, selecionada no ensaio instalado no Talhão02C3, no Campo Experimental da EPAMIG de Três Pontas
6	Arara	Faz. Exp. de Varginha/ Fundação Procafé	Cultivar do germoplasma Sarchimor, frutos graúdos e de cor amarela; elevada produtividade; resistente à ferrugem
7	Acauã Novo	Cova 432-Ensaio 3-45. Faz. Exp. de Varginha/Fundação Procafé	Tolerância à seca e resistência à ferrugem
8	Siriema	Faz. Exp. de Varginha/Fundação Procafé	Resistência ao Bicho Mineiro, maturação muito precoce, tolerância à seca, resistência parcial à ferrugem

Tabela 4. Cruzamentos realizados segundo modelo de dialelo circulante.

N° do cruzamento	Código do cruzamento	Genitor Feminino	Genitor Masculino
1	C1T	Paraíso MG H 419-1	H484-2-18-12
2	C2T	Paraíso MG H 419-1	UFV 311-63 (Planta portadora do gene S_{H3} de resistência à ferrugem)
3	C3T	Paraíso MG H 419-1	Arara (Fundação Procafé/Varginha)
4	C4T	Catiguá MG2	UFV 311-63 (Planta portadora do gene S_{H3} de resistência à ferrugem)
5	C5T	Catiguá MG2	Arara (Fundação Procafé/Varginha)
6	C6T	Catiguá MG2	Acauã Novo (broto verde) Ensaio 3-45, cova 432 (Fundação Procafé/Varginha)
7	C7T	Oeiras MG 6851	Arara (Fundação Procafé/Varginha)
8	C8T	Oeiras MG 6851	Acauã Novo (broto verde) Ensaio 3-45, cova 432 (Fundação Procafé/Varginha)
9	C9T	Oeiras MG 6851	Siriema- (Fundação Procafé/Varginha)
10	C10T	H484-2-18-12	Acauã Novo (broto verde) Ensaio 3-45, cova 432 (Fundação Procafé/Varginha)
11	C11T	H484-2-18-12	Siriema (Fundação Procafé/Varginha)
12	C12T	UFV 311-63 (Planta portadora do gene S_{H3} de resistência à ferrugem)	Siriema (Fundação Procafé/Varginha)

Tabela 5. Esquema do dialelo circulante envolvendo oito progenitores de cafeeiros arábica.

	1 ¹	2	3	4	5	6	7	8
1				(C1T) ²	(C2T)	(C3T)		
2					(C4T)	(C5T)	(C6T)	
3						(C7T)	(C8T)	(C9T)
4							(C10T)	(C11T)
5								(C12T)
6								
7								
8								

¹Progenitores: 1=Paraíso MG H419-1, 2=Catiguá MG2, 3=Oeiras MG 6851, 4=H484-2-18-12, 5=UFV 311-63, 6=Arara, 7=Acauã Novo, 8= Siriema.

²Os números (CnT) correspondem aos códigos dos cruzamentos descritos na Tabela 4.

4.2. Avaliações fenotípicas

As análises fenotípicas para o estudo do dialelo circulante foram realizadas a partir da observação e quantificação das características de cada planta (Tabela 6). Foram avaliadas 10 características: Vigor Vegetativo (VIG), Cor do Broto (CB), Cor do Fruto Maduro (CF), Produção (PRO), Ciclo de Maturação dos Frutos (CMT), Uniformidade de Maturação dos Frutos (UMT), Tamanho dos Frutos Maduros (TF), Incidência de Ferrugem (FER), Incidência de Cercosporiose (CER) e Infestação de Bicho mineiro (BM). As avaliações foram realizadas no mês de maio de 2016 em Área Experimental do DFP/UFV.

Tabela 6: Descrição das características fenotípicas avaliadas em oito progenitores de cafeeiros arábica e 12 híbridos F₁ obtidos pelo cruzamento em esquema de dialelo circulante.

Variável	Descrição
VIG	Vigor vegetativo (notas de 1 a 10). 1: Planta totalmente depauperada. 10: Planta considerada com vigor máximo
CB	Cor do Broto (folha nova) (notas de 1 a 4). 1 = verde; 2 = bronze claro; 3 = bronze; 4 = bronze escuro
CF	Cor do fruto maduro (notas de 1 a 3). 1 = vermelho; 2 = amarelo; 3 = alaranjado
PRO	Produção total de frutos de café em litros/planta, estimada subjetivamente (visualmente) na época em que os frutos encontram em sua maioria no estágio designado “cereja”.
CMT	Ciclo de Maturação dos frutos (Notas de 1 a 5). 1 = precoce; 2 = média para precoce; 3 = média; 4 = média para tardia; 5 = tardia
UMT	Uniformidade de Maturação dos frutos (Notas de 1 a 4). 1 = uniforme; 2 = medianamente uniforme; 3 = medianamente desuniforme; 4 = desuniforme.
TF	Tamanho dos Frutos Maduros (Notas de 1 a 3) Nota 1 = pequeno, 2 = médio, 3 = graúdo
FER	Incidência de Ferrugem (Notas de 1 a 5). 1 = ausência de pústulas e reações de hipersensibilidade; 2 = poucas folhas com pústulas sem esporos (“flecks”) e com reações de hipersensibilidade; 3 = poucas pústulas por folha com alta produção de esporos e pouco distribuídas; 4 = média quantidade de pústulas por folha, distribuídas na planta com alta produção de esporos; 5 = alta quantidade de pústulas com alta produção de esporos e alta desfolha da planta. OBS.: Plantas com nota 1 ou 2 = Resistentes; 3 a 5 = Suscetíveis
CER	Incidência de Cercosporiose (Notas de 1 a 5). Nota 1: sem cercóspora; 2 a 5: folhas com cercóspora (2=baixa incidência e 5=alta incidência)
BM	Infestação de Bicho-mineiro (Notas de 1 a 5). 1=Imune: folhas sem nenhuma lesão; 2= Folhas com poucas lesões de forma afilada; 3=Folhas com poucas e pequenas lesões; 4= Folhas com moderada infestação e lesões típicas e com larvas vivas; 5= Folhas com severa infestação e lesões típicas e com larvas vivas.

4.3. Extração do DNA

Para cada planta, foram coletadas folhas saudáveis, com coloração verde claro, jovens e esse material foi conduzido ao Laboratório de Biotecnologia do Cafeeiro- BioCafé/UFV. No laboratório, as folhas foram lavadas em água corrente, secas com auxílio de folhas de papel toalha, acondicionadas em tubos Falcon previamente identificados e armazenadas em freezer a temperatura de -80°C por 12 horas. As amostras congeladas foram liofilizadas, maceradas em cadinhos com auxílio de pistilo e armazenadas em microtubos de 2,0 mL em temperatura ambiente.

O DNA genômico das folhas maceradas foi extraído utilizando-se o método proposto por Diniz *et al.* (2005), com adaptações. Em microtubos de 2,0 mL, previamente identificados, foi adicionado aproximadamente 50 mg de tecido vegetal macerado de cada amostra. Dois tampões foram preparados, o primeiro denominado tampão de lise (Sorbitol 0,35 M, Tris-HCl 0,10 M pH 8,0, EDTA 5 mM) e o segundo de extração (NaCl 2 M, CTAB 2%, Tris-HCl 0,2 M, EDTA 0,05 M). Os dois tampões foram misturados e acrescidos de sarcosil (5%), bissulfito de sódio (1%), carvão ativo (0,1%) e PVP-40 (2%). Após esse preparo, a solução de extração foi pré-aquecida a 65°C, e adicionado 1,5 mL dessa solução em cada microtubo de 2,0 mL contendo os 50 mg de tecido vegetal macerado de cada amostra.

Os tubos foram deixados em banho-maria a 65°C por 40 min. As amostras foram centrifugadas por 10 minutos a 14000 rpm e o sobrenadante transferido para novos tubos, com a adição de 600 µL de clorofórmio-álcool isoamílico (24:1). Os tubos foram delicadamente agitados por 10 minutos e depois centrifugados durante 10 minutos a 14000 rpm. Um volume de 800 µL do sobrenadante foi transferido para outro microtubo contendo 600 µL de isopropanol e mantido por 2 horas a -20°C. Após este período o material foi centrifugado por 20 minutos a 14000 rpm, o sobrenadante descartado e o pellet lavado com etanol 70% e 95%. O DNA foi ressuscitado em 200 µL de TE (Tris-HCl 10 mM pH 8,0, EDTA 0,1 mM pH 8,0), contendo RNase na concentração final de 80 µg/µL e incubado em *thermomixer* a 37°C por 30 minutos.

O DNA foi precipitado com 40 µL de NaCl 5M e 500 µL de isopropanol 100% e incubado por 2 horas a -20°C. Depois dessa etapa foi recolhido por centrifugação durante 20 minutos a 14000 rpm. O sobrenadante foi novamente descartado, o pellet lavado com etanol 70% e 95% e ressuscitado em 200 µL de TE. A qualidade e quantidade do DNA foram avaliadas em *NanoDrop 2000*. O DNA foi diluído para a concentração de 25 ng/µL e armazenado a -20°C até o uso.

4.4. Amplificação com marcadores microsatélites

Foram utilizados 12 *primers* microsatélites (Tabela 7), selecionados por serem polimórficos em cultivares de cafeeiros (SOUSA, 2013). A amplificação por PCR foi realizada em um volume final de 20 µL, contendo: 50 ng de DNA, 1 U de Taq DNA polimerase, tampão 1X da enzima, 1 mM de MgCl₂, 150 µM de cada dNTP e 0,1 µM de cada *primer*, completando o volume com água milli-Q estéril. As

reações de amplificação foram realizadas em termocicladores PTC-200 (*MJ Research*) e Veriti (*Applied Biosystems*). Após desnaturação inicial a 94°C por 2 min foram realizados 10 ciclos de *touchdown* PCR, a 94°C por 30 seg, temperatura de anelamento decrescendo 1°C a cada ciclo (de 66°C até 57°C), durante 30 seg, e extensão a 72°C por 30 seg, seguidos por mais 30 ciclos de desnaturação a 94°C, anelamento a 57°C e extensão a 72°C, com 30 seg cada etapa. A extensão final realizada a 72°C, por 8 min.

Os produtos resultantes da reação de PCR foram separados por eletroforese em gel de poliacrilamida desnaturante 6% e visualizados por meio de coloração com nitrato de prata, conforme protocolo descrito por Brito *et al.* (2010).

Tabela 7. *Primers* microssatélites utilizados na amplificação do DNA genômico.

Nº	Nome	pb ¹	Sequência ²	Publicação
1	CaEST- 006	227	F: CAGAATTGTTGTGGAGGGAAC R: ATGAAGCCAAACCAGAGACA	Ferrão <i>et al.</i> (2015)
2	CaEST- 022	207	F: GCCATTTACAAATCTCACCTC R: AGACCCAGCAGACAACAACA	Ferrão <i>et al.</i> (2015)
3	CaEST- 029	199	F: AGGAGATGCCTGTGACGAAC R: GGACGGAAAGATTCTGGCTTT	Ferrão <i>et al.</i> (2015)
4	CaEST- 031	109	F: CGGAGCAAGTGAATTGAACAGA R: AAAGGGAAAGGAAGAAGGAG	Ferrão <i>et al.</i> (2015)
5	CaEST- 040	101	F: TGAGCTAACCAAGACCAGTTCC R: CAACAGGAAATCACCGCCTA	Ferrão <i>et al.</i> (2015)
6	CaEST- 045	259	F: GCATCCTACCGAGTACATACAA R: TCCATCAACAACAACCGAAG	Ferrão <i>et al.</i> (2015)
7	CaEST- 048	151	F: TGAGACAAGCTATGGAGGAGGA R: AACCAGATCAACAGGGTAGGG	Ferrão <i>et al.</i> (2015)
8	CaEST- 071	155	F: ATGGAGAGGAAGACGCAACA R: CCTTATTGAAGACGCCAAA	Ferrão <i>et al.</i> (2015)
9	CaEST- 072	197	F: TTGCTTGCTCCGCATCCTAC R: ATCGCTTCCAAGAGGCTTTC	Ferrão <i>et al.</i> (2015)
10	CaEST- 089	152	F: GTGAACCTCCCTTTCCCTTG R: ACTGGTCTCTCGTCTGTGAA	Ferrão <i>et al.</i> (2015)
11	SSR016	140	F: ACCCGAAAGAAAGAAGAACCAAG R: CCACACAACCTCTCCTCATTC	Combes <i>et al.</i> (2000)
12	SSR095	352	F: TAAGAAGCCACGTGACAAGTAAGG R: TATGGCCCTTCTCGCTTTAGTT	Moncada e McCouch, (2004)

¹pb = tamanho do fragmento amplificado em pares de base

²F= *Foward primer*; R=*Reverse primer*

4.5. Análises estatísticas

4.5.1. Análise de diversidade genética

Para as análises de diversidade, os dados obtidos de marcadores moleculares foram codificados como codominantes. Todas as análises estatísticas foram realizadas com o auxílio dos recursos computacionais do programa GENES (CRUZ, 2013). Os dendrogramas para as análises de diversidade foram construídos no programa MEGA (KUMAR *et al.*, 2016), utilizando a técnica de agrupamento UPGMA, a partir dos valores da matriz de distância gerada pelo complemento aritmético do índice ponderado obtidos pelo programa GENES (CRUZ, 2013).

4.5.2. Análise dialélica

Inicialmente, foi realizada uma análise de variância individual com os dados dos pais e dos F₁'s, quanto à avaliação das 10 características apresentadas na Tabela 6 (VIG, CB, CF, PRO, CMT, UMT, TF, FER, CER, BM). Para estas análises, foram utilizados os recursos computacionais do programa GENES (CRUZ, 2013), adotando-se o seguinte modelo:

$$Y_{(ij)k} = m + g_{(ij)} + b_k + \epsilon_{ijk}$$

Em que:

$Y_{(ij)k}$ = valor fenotípico da ij-ésima observação referente ao i-ésimo genótipo no j-ésimo bloco

m = média geral;

$g_{(ij)}$ = efeito do ij-ésimo genótipo (genitor ou híbrido);

b_k = efeito do k-ésimo bloco;

ϵ_{ijk} = erro experimental.

Existindo efeito significativo de tratamentos para cada característica estudada foi realizado teste de comparação de médias pelo critério de Tukey a 5 % de probabilidade, a fim de se constatar a superioridade de algum dos híbridos sobre os demais híbridos e/ou pais. Para estas análises também foi utilizado o programa GENES (CRUZ, 2013).

Posteriormente foi realizada a análise do dialelo com os dados de pais e F₁'s segundo o modelo de Kempthorne e Curnow (1961), que permitiu estimar os parâmetros genéticos, a capacidade geral e específica de combinação. Para esta análise dialélica foi adotado o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ij} = \mu + g_i + g_j + s_{ij} + \bar{\varepsilon}_{ij}$$

Em que:

Y_{ij} = média da observação associada à combinação híbrida ij ($i \neq j$) ou ao i-ésimo progenitor ($i = j$);

μ = média geral;

g_i, g_j = efeitos da capacidade geral de combinação;

s_{ij} = efeito da capacidade específica de combinação; e

$\bar{\varepsilon}_{ij}$ = erro experimental médio.

Uma vez identificado que o componente aditivo é relativamente de maior importância, foi satisfatório prever o potencial das combinações híbridas que não foram avaliadas, por meio do estimador:

$$\hat{Y}_{ij} = \mu + \hat{g}_i + \hat{g}_j$$

Em que:

\hat{Y}_{ij} = valor predito do híbrido ij;

μ = média geral;

\hat{g}_i e \hat{g}_j = estimativas das capacidades gerais de combinação

Toda a análise dialélica foi realizada com o auxílio computacional do programa GENES (CRUZ, 2013).

4.5.3. Análise de correlação

Foi realizada uma análise de correlação entre diversidade genética molecular, diversidade fenotípica e capacidades específicas de combinação dos progenitores e médias fenotípicas dos híbridos avaliados no dialelo circulante. A análise foi realizada com o auxílio dos recursos computacionais do programa GENES (CRUZ, 2013) utilizando o coeficiente de correlação de Pearson. Para a diversidade molecular foram utilizados os valores da matriz de distância genética dos progenitores analisados com marcadores microssatélites. A diversidade fenotípica foi obtida por meio da comparação dos valores das médias de cada uma das 10 características avaliadas nos progenitores (VIG, CB, CF, PRO, CMT, UMT, TF, FER, CER e BM). As médias fenotípicas foram obtidas por meio dos valores das médias de cada uma das 10 características fenotípicas avaliadas nos híbridos e os valores de capacidade específica de combinação foram obtidos por meio da análise dialélica.

5. RESULTADOS

5.1. Diversidade genética

Na análise de diversidade genética com base nos marcadores SSR, inicialmente foi utilizada apenas uma planta por variedade/acesso. As plantas utilizadas para a análise foram as que apresentavam as marcas mais frequentes para cada *primer* SSR (Tabela 8).

Tabela 8. Plantas selecionadas com as marcas representativas para análise de grupamento.

Nº	Plantas selecionadas
1	Paraíso MG H419-1 (Planta 36-Fileira 3-Talhão 6B)
2	Catiguá MG2 (Planta 4-Trat.12-Rep.3-ECR/UFV)
3	Oeiras MG 6851 (Planta 4-Vitrine)
4	Acauã Novo (Cova 432- Ensaio 3-45)
5	Arara (Sem identificação)
6	H484-2-18-12 (Planta 6-B2-Fileira 1-Rep.2)
7	Siriema (Clone 12)
8	UFV 311-63 (Planta 6-Trat.20-Rep.1-Fileira 6)
9	Sarchimor MG 8840 (Planta 24-Fileira 2-Talhão D4A)
10	MGS Paraíso 2 (Planta 28-Fileira 5-Talhão D4A)
11	Catuaí Amarelo IAC62 (Planta 24-Fileira 4-Talhão S5)
12	Bourbon Amarelo MG 0009 (Planta 6-Repetição 1)
13	Híbrido de Timor MG 0357 (Planta 3-Repetição 1)
14	Ibairi IAC 4761(Planta Talhão Comercial)
15	Tupi Ferrero (Planta Talhão Comercial)
16	Acauã (Planta 3-Trat.8-Rep.1-ECR/UFV)
17	IPR 103 (Planta4-Trat.22-Rep.4-ECR/UFV)
18	Obatã (Planta 1-Elvio Coelho-Varginha)
19	Obatã Vigoroso (Planta Única Elvio Coelho-Varginha)
20	Catuaí Vermelho IAC 144 (Planta 27-Fileira 2-Talhão 4A)
21	Topazio MG 1190 (Planta 54-Talhão 25A)
22	IAC 125 RN (Planta 6)

Um total de 28 alelos foram obtidos entre as 22 plantas selecionadas. O número de alelos amplificados por marcador variou entre dois para os marcadores CaEST- 006, 029, 031, 071, 072, 045, 048 e SSR16 e três para CaEST- 022, 040, 089 e SSR95, com uma média de 2,3 alelos por loco.

As menores estimativas de distância genética obtidas foram entre os pares de cultivares/aceessos: Oeiras MG 6851 e Obatã; Oeiras MG 6851 e Obatã Vigoroso; UFV 311-63 e Catuaí Amarelo IAC 62; UFV 311-63 e Ibairi IAC 4761; UFV 311-63 e Catuaí Vermelho IAC 144; Catuaí Amarelo IAC 62 e Ibairi IAC 4761; Catuaí Amarelo IAC 62 e Catuaí Vermelho IAC 144; Obatã e Obatã Vigoroso (distância=0) (Tabela 9). As maiores estimativas de distância genéticas foram observadas entre Catiguá MG2 e Acauã (0,750); Catiguá MG2 e Topázio MG 1190 (0,696); Catiguá MG2 e Arara (0,643); Catiguá MG2 e Bourbon Amarelo MG 0009 (0,643) e Catiguá MG2 e Tupi Ferrero (0,643) (Tabela 9).

Tabela 9. Matriz de distância genética gerada pelo complemento aritmético do índice ponderado obtida pelo programa GENES (CRUZ, 2013).

	1 ¹	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	
1		0,482	0,286	0,429	0,286	0,232	0,268	0,286	0,250	0,214	0,286	0,339	0,268	0,286	0,161	0,464	0,214	0,286	0,286	0,286	0,393	0,125	
2			0,589	0,589	0,643	0,571	0,571	0,589	0,554	0,518	0,589	0,643	0,214	0,589	0,643	0,750	0,518	0,589	0,589	0,589	0,696	0,464	
3				0,214	0,196	0,268	0,125	0,143	0,036	0,071	0,143	0,250	0,482	0,143	0,196	0,232	0,143	0,000	0,000	0,143	0,250	0,304	
4					0,339	0,268	0,214	0,286	0,250	0,214	0,286	0,393	0,482	0,286	0,339	0,161	0,286	0,214	0,214	0,286	0,286	0,304	
5						0,268	0,179	0,054	0,232	0,125	0,054	0,161	0,482	0,054	0,196	0,321	0,196	0,196	0,196	0,054	0,161	0,304	
6							0,250	0,268	0,304	0,196	0,268	0,375	0,357	0,268	0,071	0,375	0,268	0,268	0,268	0,268	0,375	0,107	
7								0,125	0,161	0,054	0,125	0,232	0,464	0,125	0,179	0,304	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,286	
8									0,179	0,071	0,000	0,107	0,482	0,000	0,196	0,375	0,143	0,143	0,143	0,000	0,107	0,304	
9										0,107	0,179	0,286	0,446	0,179	0,232	0,268	0,143	0,036	0,036	0,179	0,286	0,268	
10											0,071	0,179	0,411	0,071	0,125	0,304	0,071	0,071	0,071	0,071	0,179	0,232	
11												0,107	0,482	0,000	0,196	0,375	0,143	0,143	0,143	0,000	0,107	0,304	
12													0,536	0,107	0,304	0,482	0,250	0,250	0,250	0,107	0,214	0,411	
13														0,482	0,429	0,589	0,411	0,482	0,482	0,482	0,589	0,250	
14															0,196	0,375	0,143	0,143	0,143	0,000	0,107	0,304	
15																0,375	0,196	0,196	0,196	0,196	0,304	0,179	
16																	0,375	0,232	0,232	0,375	0,375	0,411	
17																		0,143	0,143	0,143	0,250	0,232	
18																			0,000	0,143	0,250	0,304	
19																					0,143	0,304	
20																						0,107	0,304
21																							0,411
22																							0,411

¹ Os números de 1 à 22 correspondem às plantas descritas na tabela 8.

Obs: Os números destacados em negrito correspondem às menores e às maiores estimativas de distância genética estimadas entre os pares de cultivares/acessos.

A análise de grupamento das 22 plantas com base nos 12 marcadores SSR e com base nas estimativas de distância genética resultou na formação de um dendrograma constituído de quatro grupos: I, II, III e IV. O grupo I foi subdividido em dois subgrupos: I.a e I.b (Figura 1).

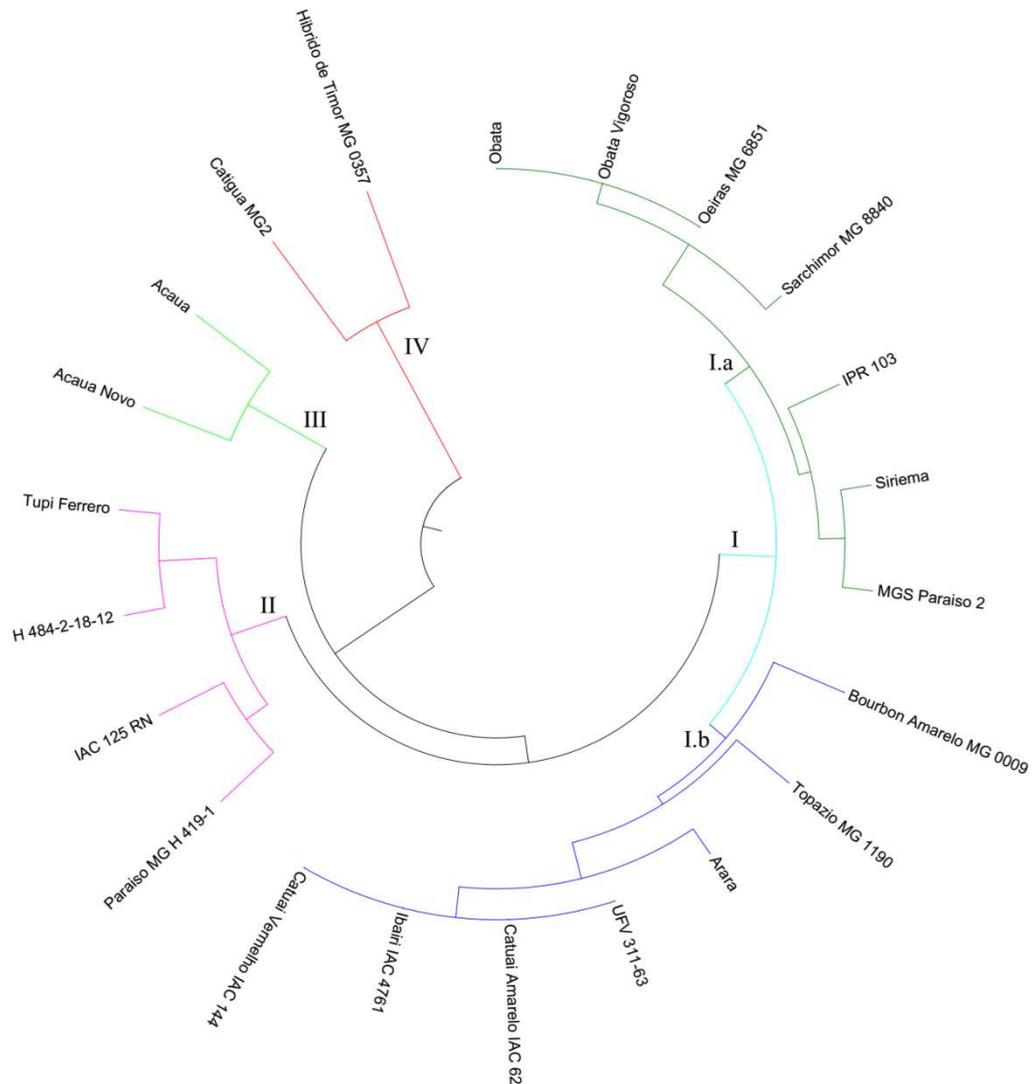


Figura 1. Dendrograma baseado na análise de 12 marcadores microssatélites em 22 cultivares/aceessos de *Coffea arabica*, obtido pela técnica UPGMA com base na matriz de dissimilaridade do complemento aritmético do índice ponderado.

Foi realizada ainda uma segunda análise considerando os dados genotípicos de todos os 76 cafeeiros, incluindo uma ou mais plantas por cultivar/aceeso. A análise de grupamento das 76 plantas com base nos dados obtidos dos 12 marcadores SSR e com base nas estimativas de distância genética resultou na formação de um dendrograma constituído de três grupos: grupo I, II e III. O grupo I foi subdividido em oito subgrupos: Ia, Ib, Ic, Id, Ie, If, Ig e Ih (Figura 2).

5.2. Identificação de híbridos por marcadores moleculares

Com o objetivo de testar combinações híbridas e, portanto, auxiliar na escolha de progenitores, foram realizadas hibridações entre algumas variedades/acessos de interesse do programa de melhoramento genético do cafeeiro (Tabela 2). Como a espécie *C. arabica* é autógama, mesmo tomando todos os cuidados na hibridação, algumas sementes podem ser resultantes de autofecundação do genitor feminino, ocorrida antes da realização da hibridação. Dessa forma, marcadores moleculares foram usados para certificar que as plantas supostamente híbridas, eram realmente oriundas de hibridação e não de autofecundação.

Para a identificação dos híbridos, todos os potenciais progenitores foram genotipados com 12 marcadores SSR (Tabela 7). Para cada híbrido, foram selecionados os marcadores polimórficos entre os seus potenciais progenitores. Assim, as amostras F₁ que apresentaram as marcas que estavam presentes em ambos os progenitores foram considerados híbridos (Figura 3, 4 e 5) e os indivíduos que apresentaram as marcas presentes apenas no genitor feminino foram considerados produtos de autofecundação (Figura 6). Dos 48 indivíduos F₁ analisados, 41 foram originados de hibridização e sete foram oriundos de autofecundação (Tabela 10). Do cruzamento entre Catuaí Amarelo IAC 62 x Bourbon Amarelo MG 0009, todas as quatro plantas analisadas foram resultantes de autofecundação.

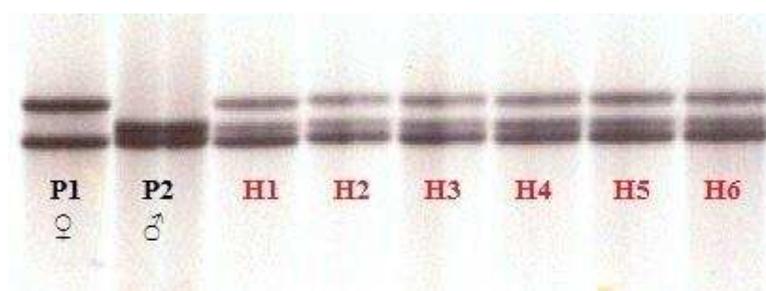


Figura 3. Progenitores: P1= Catiguá MG2 e P2= Acauã Novo. Híbridos H1 a H6 pertencentes ao cruzamento C6T. Bandas obtidas através da amplificação utilizando *primer* CaEST- 045.

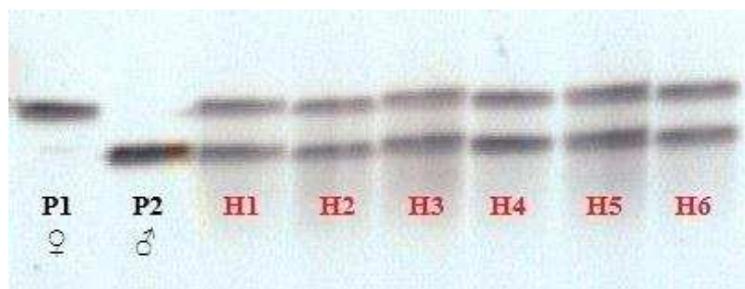


Figura 4. Progenitores: P1= Catiguá MG2 e P2= Acauã Novo. Híbridos= H1 a H6, pertencentes ao cruzamento C6T. Bandas obtidas através da amplificação utilizando *primer* CaEST- 089.

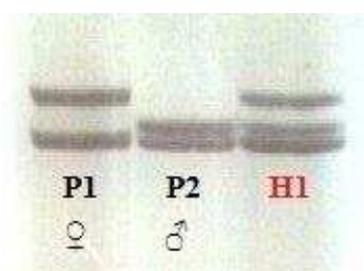


Figura 5. Progenitores: P1= Catiguá MG2 e P2= Acauã. Híbrido= H1, pertencente ao cruzamento C2U. Bandas obtidas através da amplificação utilizando *primer* CaEST- 045.

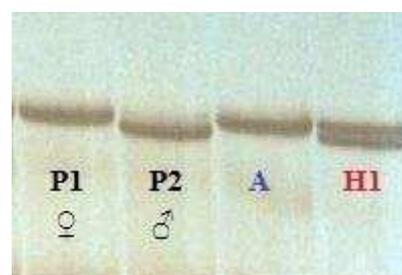


Figura 6. Progenitores: P1= Catuaí Vermelho IAC 144 e P2= Acauã Novo. Híbrido= H1 e não híbrido (autofecundação)= A, pertencentes ao cruzamento C15T. Bandas obtidas através da amplificação utilizando *primer* SSR95.

Tabela 10. Resultado da certificação de cruzamento dos potenciais híbridos F₁ de interesse para o melhoramento genético do cafeeiro, utilizando marcadores SSR.

Híbrido	Descrição	Genealogia	Cruzamento ¹
1	C6T-10-B6-E3	C6T = Catiguá MG2 x Acauã Novo	X
2	C6T-24-B6-E3		X
3	C6T-25-B6-E3		X
4	C6T-14-B7-E3		X
5	C6T-35-B7-E3		X
6	C6T-17-B8-E3		X
7	C7T-1-B1-E1	C7T = Oeiras MG 6851 x Arara	X
8	C7T-3-B2-E1		X
9	C7T-11-B8-E3		X
10	C7T-2-B9-E3		X
11	C7T-3-B9-E3		X

¹X = hibridação, A= autofecundação.

Tabela 10. Continuação.

Híbrido	Descrição	Genealogia	Cruzamento ¹
12	C7T-34-B9-E3	C7T = Oeiras MG 6851 x Arara	X
13	C7T-35-B9-E3		X
14	C8T-19-B10-E3	C8T = Oeiras MG 6851 x Acauã Novo	X
15	C9T-1-B2-E1	C9T = Oeiras MG 6851 x Siriema	X
16	C9T-5-B11-E3		X
17	C9T-20-B11-E3		X
18	C11T-9-B12-E3	C11T = H484-2-18-12 x Siriema	X
19	C13T-11-B2-E4	C13T = Topázio MG 1190 x Obatã Vigoroso	X
20	C15T-8-B4-E4	C15T = Catuaí Vermelho IAC 144 x Acauã Novo	A
21	C15T-23-B5-E4		X
22	C16T-7-B6-E4	C16T = Catuaí Vermelho. IAC 144 x Siriema	X
23	C20T-7-B11-E4	C20T = Paraíso MG H419-1 x C.Vermelho IAC144	X
24	C21T-6-B14-E4	C21T = Paraíso MG H419-1 x H484-2-18-12	X
25	C21T-20-B14-E4		A
26	C1P-1-B1-E5	C1P = C. Amarelo IAC 62 x B. Amarelo MG 0009	A
27	C1P-5-B2-E5		A
28	C1P-6-B2-E5		A
29	C1P-7-B2-E5		A
30	C4P-13-B5-E5	C4P = Sarchimor MG8840 x H. Timor MG 0357	X
31	C5P-2-B1-E2	C5P = Sarchimor MG8840 x IAC 125 RN	X
32	C5P-28-B8-E5		X
33	C5P-6-B9-E5		X
34	C5P-13-B9-E5		X
35	C5P-19-B9-E5		X
36	C5P-30-B9-E5		X
37	C5P-3-B10-E5		X
38	C9P-15-B14-E5	C9P = MGS Paraíso 2 x Tupi Ferrero	X
39	C10P-26-B18-E5	C10P = B. Amarelo MG 0009 x Ibairi IAC 4761	A
40	C10P-28-B18-E5		X
41	C12P-8-B20-E5	C12P = Híbrido de Timor MG 0357 x Tupi Ferrero	X
42	C12P-22-B20-E5		X
43	C12P-26-B20-E5		X
44	C12P-30-B20-E5		X
45	C1U-1-B1-E6	C1U = Catiguá MG2 x IPR 103	X
46	C1U-2-B1-E6		X
47	C1U-3-B1-E6		X
48	C2U-1-B1-E6	C2U = Catiguá MG2 x Acauã	X

¹X = hibridação, A= autofecundação.

5.3. Análise do dialelo circulante

Oito progenitores selecionados foram cruzados segundo modelo de dialelo circulante com objetivo de se obter híbridos de interesse para a produção de populações segregantes para o melhoramento genético do cafeeiro. Essa análise permitiu obter informações sobre os progenitores com um número menor de cruzamentos, não havendo perda de informações a respeito de certas combinações híbridas, já que estas podem ser estimadas no modelo.

O resumo da análise de variância para as dez características avaliadas (Vigor Vegetativo (VIG), Cor do Broto (CB), Cor do Fruto maduro (CF), Produção (PRO), Ciclo de Maturação dos frutos (CMT), Uniformidade de Maturação dos frutos (UMT), Tamanho dos Frutos maduros (TF), Incidência de Ferrugem (FER), Incidência de Cercosporiose (CER) e Infestação de Bicho mineiro (BM)), bem como as médias dos efeitos fixos para CGC e CEC, estão apresentados na Tabela 11. Houve diferenças significativas entre os tratamentos para as características VIG, CF, PRO, CMT, UMT e CER. Para os valores estimados de CGC dos progenitores houve diferenças significativas entre os cafeeiros avaliados para as características VIG, CF, PRO, CMT, UMT, FER, CER. Para os valores de CEC estimados houve diferenças significativas somente para as características VIG, CF, PRO e CMT. Para as outras características não citadas não houve diferenças significativas.

Foram estimados os efeitos das capacidades gerais de combinação (CGC) para cada progenitor (Tabela 12). Os dois melhores valores das CGC, para as principais características (VIG, PRO, FER, CER) que obtiveram valores significativos para esse parâmetro, encontram-se em **negrito** na Tabela 12. Considerando a característica VIG, os progenitores 2 (Catiguá MG2) e 6 (Arara) foram os que apresentaram os maiores valores de CGC (0,494 e 0,229, respectivamente). Para a característica PRO, os progenitores 7 (Acauã Novo) e 2 (Catiguá MG2) foram os que apresentaram os maiores valores de CGC (0,603 e 0,581). Para as características FER e CER os melhores valores de CGC foram apresentados pelos progenitores 6 (Arara) (-0,072) e 5 (UFV 311-63) (-0,070) e para 5 (UFV 311-63) (-0,268) e 4 (H484-2-18-12) (-0,178), respectivamente. Ressalta-se que para essas características os melhores valores são os maiores valores negativos, já que as plantas que receberam as notas mais baixas são mais resistentes.

As estimativas das capacidades específicas de combinação (CEC) dos híbridos estão apresentadas na Tabela 13. Os melhores cruzamentos estimados com

base nas CEC, que envolvem pelo menos um genitor com alta CGC, para as principais características significativas (VIG e PRO) encontram-se em negrito na Tabela 13. Considerando a característica VIG, o melhor cruzamento estimado foi entre os progenitores 2 (Catiguá MG2) e 5 (UFV 311-63), com o valor de CEC igual a 0,894. Já para a característica PRO, sendo essa de grande interesse para os melhoristas, o cruzamento mais importante estimado foi entre os progenitores 2 (Catiguá MG2) e 7 (Acauã Novo), com o valor de CEC igual a 0,324.

Foram estimados os valores das médias dos híbridos e os valores médios preditos, para cada característica (Tabela 14). As melhores médias para as principais características que foram significativas encontram-se em negrito na Tabela 14. Para a característica VIG os híbridos oriundos dos cruzamentos entre os progenitores 2 (Catiguá MG2) e 5 (UFV 311-63) e entre 1 (Paraíso MG H419-1) e 6 (Arara) foram os que obtiveram as maiores médias (8,085 e 7,750, respectivamente) Os híbridos oriundos dos cruzamentos entre 2 (Catiguá MG2) e 7 (Acauã Novo) e entre 1 (Paraíso MG H419-1) e 5 (UFV 311-63) foram os que se destacaram com os maiores valores de médias para a característica PRO (5,250 e 4,960).

Das 10 características avaliadas, cinco apresentaram diferenças significativas entre as médias dos tratamentos de acordo com o teste Tukey a 5% de probabilidade (Tabela 15). As características VIG, CF, PRO, CMT e FER apresentaram diferenças significativas entre as médias dos tratamentos (Tabela 15). Para as outras cinco características (CB, UMT, TF, CER, BM) não houve diferenças significativas entre as médias dos tratamentos.

Tabela 11. Análise de variância para dez características, avaliadas em oito progenitores de cafeeiros arábica e de seus híbridos obtidos em esquema de dialelo circulante.

FV	GL	QM ¹									
		VIG	CB	CF	PRO	CMT	UMT	TF	FER	CER	BM
Tratam.	19	3,020**	0,098 ^{ns}	1,459**	5,168**	1,481**	0,379**	0,200 ^{ns}	0,150 ^{ns}	0,721**	0,134 ^{ns}
CGC	7	3,041**	0,099 ^{ns}	1,987**	5,802**	2,882**	0,614**	0,349 ^{ns}	0,313**	1,254**	0,061 ^{ns}
CEC	12	3,008**	0,097 ^{ns}	1,151**	4,797**	0,664**	0,241 ^{ns}	0,113 ^{ns}	0,056 ^{ns}	0,411 ^{ns}	0,177 ^{ns}
Resíduo	57	0,542	0,071	0,267	1,669	0,332	0,200	0,167	0,114	0,299	0,125
Média		6,652	1,191	1,865	3,743	3,396	2,842	2,217	1,840	2,733	1,235
CV (%)		11,064	22,303	27,735	34,516	16,960	15,740	18,422	18,371	19,990	28,678

¹:QM= Quadrado Médio, VIG=Vigor vegetativo, CB=Cor do broto, CF=Cor do fruto maduro, PRO=Produção, CMT=Ciclo de Maturação, UMT=Uniformidade de maturação dos frutos, TF=Tamanho dos fruto maduros, FER=Incidência de ferrugem, CER=Incidência de cercosporiose, BM=Infestação de bicho mineiro.

** significativo pelo teste F, ao nível de 5%.

^{ns}= não significativo.

Tabela 12. Valores estimados dos efeitos da capacidade geral de combinação (CGC) de oito progenitores de cafeeiros arábica, com base nas médias de dez características agrônômicas.

Progenitores ¹	Estimativas dos efeitos da C.G.C									
	VIG ²	CB	CF	PRO	CMT	UMT	TF	FER	CER	BM
1	-0,409	0,000	0,215	-0,204	0,013	0,222	-0,155	-0,056	0,215	0,003
2	0,494	0,074	0,236	0,581	0,116	-0,052	-0,164	-0,046	-0,131	-0,004
3	-0,537	-0,015	-0,143	-0,334	-0,270	-0,179	0,076	0,243	0,302	-0,031
4	-0,088	0,045	0,004	-0,308	0,423	-0,041	-0,036	0,088	-0,178	-0,034
5	0,045	0,085	-0,241	-0,650	-0,363	-0,241	0,147	-0,070	-0,268	0,110
6	0,229	-0,085	0,327	0,350	0,369	0,020	0,141	-0,072	-0,056	-0,021
7	0,172	-0,056	-0,477	0,603	0,119	0,211	-0,054	-0,069	0,238	0,009
8	0,093	-0,046	0,079	-0,036	-0,407	0,060	0,045	-0,018	-0,122	-0,032

¹ 1=Paraíso MG H419-1, 2=Catiguá MG2, 3=Oeiras MG 6851, 4=H484-2-18-12, 5=UFV 311-63, 6=Arara, 7=Acauã Novo, 8= Siriema.

²VIG=Vigor vegetativo, CB=Cor do broto, CF=Cor do fruto maduro, PRO=Produção, CMT=Ciclo de Maturação, UMT=Uniformidade de maturação dos frutos, TF=Tamanho dos frutos maduros, FER=Incidência de ferrugem, CER=Incidência de cercosporiose, BM=Infestação de bicho mineiro.

Tabela 13. Valores estimados dos efeitos da capacidade específica de combinação (CEC) de 12 híbridos (entre parênteses) e de 8 genitores com base nas médias de dez características agrônômicas avaliadas.

Cruzam ¹	Estimativas dos efeitos da C.E.C									
	VIG ²	CB	CF	PRO	CMT	UMT	TF	FER	CER	BM
1x1	-1,377	0,017	-0,295	-1,777	-0,214	-0,078	0,094	-0,020	-0,163	-0,116
2x2	-0,434	0,162	-0,337	-0,467	-0,420	-0,238	0,112	0,044	-0,097	-0,060
3x3	-0,579	0,004	-0,578	-0,657	-0,106	-0,235	-0,036	0,171	-0,001	-0,174
4x4	-0,434	-0,030	0,128	-0,822	-0,118	-0,260	0,022	-0,015	0,040	-0,167
5x5	-0,909	0,138	-0,383	-1,400	-0,505	-0,028	0,240	0,051	-0,029	-0,038
6x6	-0,778	-0,021	-0,518	-0,402	-0,384	0,037	0,000	0,139	0,293	-0,111
7x7	-0,371	0,046	0,214	-0,573	-0,259	-0,222	0,140	0,048	-0,002	-0,252
8x8	-0,213	-0,099	-0,190	-0,295	-0,164	0,038	-0,057	0,070	0,093	0,079
(1x4)	0,262	-0,153	0,249	0,871	-0,332	0,392	-0,026	0,129	0,397	0,046
(1x5)	1,214	-0,026	0,746	2,072	0,202	0,012	-0,041	0,037	0,405	-0,016
(1x6)	1,278	0,145	-0,406	0,612	0,550	-0,248	-0,121	-0,127	-0,477	0,201
(2x5)	0,894	-0,185	-0,025	0,909	0,684	0,286	-0,281	-0,139	-0,169	0,241
(2x6)	-0,126	-0,180	0,490	-0,299	-0,046	0,108	0,139	0,028	0,038	0,037
(2x7)	0,099	0,042	0,209	0,324	0,202	0,081	-0,081	0,025	0,324	-0,158
(3x6)	0,403	0,077	0,952	0,492	0,258	0,067	-0,019	-0,179	-0,147	-0,016
(3x7)	0,213	-0,037	-0,245	0,361	-0,080	0,293	-0,157	-0,097	0,227	0,372
(3x8)	0,542	-0,047	0,450	0,460	0,034	0,109	0,248	-0,066	-0,078	-0,008
(4x7)	0,431	-0,970	-0,391	0,462	0,397	0,070	-0,043	-0,024	-0,546	0,290
(4x8)	0,175	0,310	-0,115	0,311	0,170	0,057	0,024	-0,075	0,069	-0,002
(5x8)	-0,290	-0,065	0,045	-0,181	0,124	-0,243	-0,158	0,001	-0,178	-0,149

¹ 1=Paraíso MG H419-1, 2=Catiguá MG2, 3=Oeiras MG 6851, 4=H484-2-18-12, 5=UFV 311-63, 6=Arara, 7=Acauã Novo, 8= Siriema.

²VIG=Vigor vegetativo, CB=Cor do broto, CF=Cor do fruto maduro, PRO=Produção, CMT=Ciclo de Maturação, UMT=Uniformidade de maturação dos frutos, TF=Tamanho dos frutos maduros, FER=Incidência de ferrugem, CER=Incidência de cercosporiose, BM=Infestação de bicho mineiro.

Tabela 14. Médias de híbridos (entre parênteses) e valores médios preditos para combinações híbridas não avaliadas no dialelo circulante com base nas dez características agrônômicas avaliadas.

VIG²								
Progenitores ¹	1	2	3	4	5	6	7	8
1	-	6,738	5,707	(6,418)	(7,503)	(7,750)	6,415	6,335
2		-	6,610	7,059	(8,085)	(7,250)	(7,418)	7,240
3			-	6,028	6,160	(6,748)	(6,500)	(6,750)
4				-	6,609	6,793	(7,168)	(6,833)
5					-	6,926	6,869	(6,500)
6						-	7,053	6,974
7							-	6,917
8								-
CB								
Progenitores	1	2	3	4	5	6	7	8
1	-	1,264	1,176	(1,083)	(1,250)	(1,250)	1,134	1,145
2		-	1,250	1,309	(1,165)	(1,000)	(1,250)	1,219
3			-	1,221	1,261	(1,168)	(1,083)	(1,083)
4				-	1,321	1,151	(1,083)	(1,500)
5					-	1,191	1,220	(1,165)
6						-	1,050	1,060
7							-	1,089
8								-
CF								
Progenitores	1	2	3	4	5	6	7	8
1	-	2,316	1,936	(2,333)	(2,585)	(2,000)	1,603	2,159
2		-	1,958	2,104	(1,835)	(2,918)	(1,833)	2,180
3			-	1,725	1,481	(3,000)	(1,000)	(2,250)
4				-	1,627	2,195	(1,000)	(1,833)
5					-	1,950	1,147	(1,748)
6						-	1,715	2,270
7							-	1,467
8								-
8								-

¹ 1=Paraíso MG H419-1, 2=Catiguá MG2, 3=Oeiras MG 6851, 4=H484-2-18-12, 5=UFV 311-63, 6=Arara, 7=Acauã Novo, 8= Siriema.

²VIG=Vigor vegetativo, CB=Cor do broto, CF=Cor do fruto maduro, PRO=Produção, CMT=Ciclo de Maturação, UMT=Uniformidade de maturação dos frutos, TF=Tamanho dos frutos maduros, FER=Incidência de ferrugem, CER=Incidência de cercosporiose, BM=Infestação de bicho mineiro.

Tabela 14. Continuação

PRO								
Progenitores	1	2	3	4	5	6	7	8
1	-	4,120	3,204	(4,103)	(4,960)	(4,500)	4,142	3,502
2		-	3,989	4,016	(4,583)	(4,375)	(5,250)	4,287
3			-	3,101	2,758	(4,250)	(4,373)	(3,833)
4				-	2,785	3,785	(4,500)	(3,710)
5					-	3,442	3,695	(2,875)
6						-	4,695	4,056
7							-	4,309
CMT								
Progenitores	1	2	3	4	5	6	7	8
1	-	3,524	3,138	(3,500)	(3,248)	(4,335)	3,528	3,001
2		-	3,242	3,935	(3,833)	(3,835)	(3,833)	3,105
3			-	3,549	2,763	(3,753)	(3,165)	(2,753)
4				-	3,456	4,188	(4,335)	(3,583)
5					-	3,402	3,152	(2,750)
6						-	3,884	3,358
7							-	3,108
8								-
UMT								
Progenitores	1	2	3	4	5	6	7	8
1	-	3,012	2,885	(3,415)	(2,835)	(2,835)	3,275	3,124
2		-	2,611	2,749	(2,835)	(2,918)	(3,083)	2,850
3			-	2,622	2,422	(2,750)	(3,168)	(2,833)
4				-	2,560	2,820	(3,083)	(2,918)
5					-	2,621	2,812	(2,418)
6						-	3,073	2,921
7							-	3,113
8								-
TF								
Progenitores	1	2	3	4	5	6	7	8
1		1,897	2,137	(2,000)	(2,168)	(2,083)	2,008	2,107
2			2,128	2,017	(1,918)	(2,333)	(1,918)	2,097
3				2,257	2,439	(2,415)	(2,083)	(2,585)
4					2,328	2,322	(2,085)	(2,250)
5						2,505	2,310	(2,250)
6							2,330	2,403
7								2,208
8								

¹ 1=Paraíso MG H419-1, 2=Catiguá MG2, 3=Oeiras MG 6851, 4=H484-2-18-12, 5=UFV 311-63, 6=Arara, 7=Acauã Novo, 8= Siriema.

²VIG=Vigor vegetativo, CB=Cor do broto, CF=Cor do fruto maduro, PRO=Produção, CMT=Ciclo de Maturação, UMT=Uniformidade de maturação dos frutos, TF=Tamanho dos frutos maduros, FER=Incidência de ferrugem, CER=Incidência de cercosporiose, BM=Infestação de bicho mineiro.

Tabela 14. Continuação

FER								
Progenitores	1	2	3	4	5	6	7	8
1	-	1,738	2,027	(2,000)	(1,750)	(1,585)	1,715	1,766
2		-	2,038	1,882	(1,585)	(1,750)	(1,750)	1,777
3			-	2,171	2,013	(1,833)	(1,918)	(2,000)
4				-	1,857	1,856	(1,835)	(1,835)
5					-	1,698	1,701	(1,753)
6						-	1,699	1,750
7							-	1,753
8								-
CER								
Progenitores	1	2	3	4	5	6	7	8
1	-	2,817	3,249	(3,168)	(3,085)	(2,415)	3,186	2,826
2		-	2,904	2,425	(2,165)	(2,585)	(3,165)	2,480
3			-	2,857	2,766	(2,833)	(3,500)	(2,835)
4				-	2,287	2,500	(2,248)	(2,503)
5					-	2,409	2,703	(2,165)
6						-	2,916	2,556
7							-	2,850
8								-
BM								
Progenitores	1	2	3	4	5	6	7	8
1		1,234	1,207	(1,250)	(1,333)	(1,418)	1,246	1,206
2			1,201	1,197	(1,583)	(1,248)	(1,083)	1,199
3				1,171	1,315	(1,168)	(1,585)	(1,165)
4					1,312	1,180	(1,500)	(1,182)
5						1,325	1,354	(1,165)
6							1,223	1,182
7								1,212
8								

¹ 1=Paraíso MG H419-1, 2=Catiguá MG2, 3=Oeiras MG 6851, 4=H484-2-18-12, 5=UFV 311-63, 6=Arara, 7=Acauã Novo, 8= Siriema.

²VIG=Vigor vegetativo, CB=Cor do broto, CF=Cor do fruto maduro, PRO=Produção, CMT=Ciclo de Maturação, UMT=Uniformidade de maturação dos frutos, TF=Tamanho dos frutos maduros, FER=Incidência de ferrugem, CER=Incidência de cercosporiose, BM=Infestação de bicho mineiro.

Tabela 15. Médias de cinco características agronômicas, avaliadas em híbridos F₁ (tratamento 1 a 12) obtidos em esquema de dialelo circulante e dos respectivos progenitores (tratamento 13 a 20) de cafeeiros arábica.

Tratam. ¹	VIG ²		CF		PRO		CMT		FER	
1	6,418	abc ³	2,333	ab	4,103	abc	3,500	abcd	2,000	ab
2	7,503	ab	2,585	b	4,960	a	3,248	abcd	1,750	ab
3	7,750	ab	2,000	ab	4,500	ab	4,335	a	1,585	b
4	8,085	a	1,835	ab	4,583	ab	3,833	abc	1,585	b
5	7,250	ab	2,918	a	4,375	abc	3,835	abc	1,750	ab
6	7,418	ab	1,833	ab	5,250	a	3,833	abc	1,750	ab
7	6,748	abc	3,000	a	4,250	abc	3,753	abc	1,833	ab
8	6,500	abc	1,000	b	4,373	abc	3,165	abcd	1,918	ab
9	6,750	abc	2,250	ab	3,833	abc	2,753	acd	2,000	ab
10	7,168	ab	1,000	b	4,500	ab	4,335	a	1,835	ab
11	6,833	abc	1,833	ab	3,710	abc	3,583	abcd	1,835	ab
12	6,500	abc	1,748	ab	2,875	abc	2,750	bcd	1,753	ab
Média	7,077		2,028		4,276		3,577		1,800	
13	4,458	d	2,000	ab	1,558	bc	3,208	abcd	1,708	ab
14	7,208	ab	2,000	ab	4,438	ab	3,208	abcd	1,793	ab
15	5,000	cd	1,000	b	2,418	abc	2,750	bcd	2,498	a
16	6,043	bcd	2,000	ab	2,305	abc	4,125	ab	2,000	ab
17	5,833	bcd	1,000	b	1,043	c	2,165	d	1,750	ab
18	6,333	abcd	2,000	ab	4,040	abc	3,750	abc	1,835	ab
19	6,625	abc	1,125	b	4,375	abc	3,375	abcd	1,750	ab
20	6,625	abc	1,833	ab	3,375	abc	2,418	cd	1,875	ab
Média	6,016		1,620		2,944		3,125		1,901	

¹Híbridos: 1= Genitor 13x16, 2= 13x17, 3= 13x18, 4= 14x17, 5= 14x18, 6= 14x19, 7= 15x18, 8= 15x19, 9= 15x20, 10= 16x19, 11= 16x20, 12= 17x20. Progenitores: 13=Paraíso MG H419-1, 14=Catiguá MG2, 15=Oeiras MG 6851, 16=H484-2-18-12, 17=UFV 311-63, 18=Arara, 19=Acauã Novo, 20= Siriema.

²VIG= Vigor Vegetativo, CB= Cor do Broto, CF= Cor do Fruto Maduro, PRO= Produção, CMT= Ciclo de Maturação, UMT= Uniformidade de Maturação, TF= Tamanho do Fruto Maduro, FER= Incidência de Ferrugem, CER= Incidência de Cercosporiose, BM= Infestação de Bicho Mineiro.

³Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey, a 5,0% de probabilidade.

5.4. Análise de correlação

Por meio da análise de correlação foi possível verificar a relação entre a média dos híbridos envolvidos no dialelo, considerando cada uma das 10 características avaliadas (VIG, CB, CF, PRO, CMT, UMT, TF, FER, CER e BM), a capacidade específica de combinação, a diversidade fenotípica e distância genética obtida utilizando marcadores moleculares SSR, dos progenitores.

O valor máximo obtido do índice de correlação foi de 0,93 (Figura 7). Em geral, como pode ser observado na Figura 7, a diversidade fenotípica (dfn) não se mostrou correlacionada linearmente com a distância genética molecular (dml). A distância fenotípica (dfn) também foi pouco correlacionada com as capacidades específicas de combinação (Sij) e com as médias das características avaliadas (Média). Os valores das médias das características avaliadas (VIG= Vigor Vegetativo, CB= Cor do Broto, CF= Cor do Fruto Maduro, PRO= Produção, CMT= Ciclo de Maturação, UMT= Uniformidade de Maturação, TF= Tamanho do Fruto Maduro, FER= Incidência de Ferrugem, CER= Incidência de Cercosporiose, BM= Infestação de Bicho Mineiro.) se mostraram mais intimamente correlacionados com a distância molecular (dml) do que com a distância fenotípica (dfn). As características Vigor vegetativo (VIG) e Produção (PRO), tanto para capacidade específica de combinação quanto para média dos híbridos, foram as que obtiveram maior correlação positiva com a diversidade molecular (dml). Além disso, a característica Incidência de ferrugem (FER) se mostrou altamente correlacionada negativamente com a característica Vigor vegetativo (VIG).

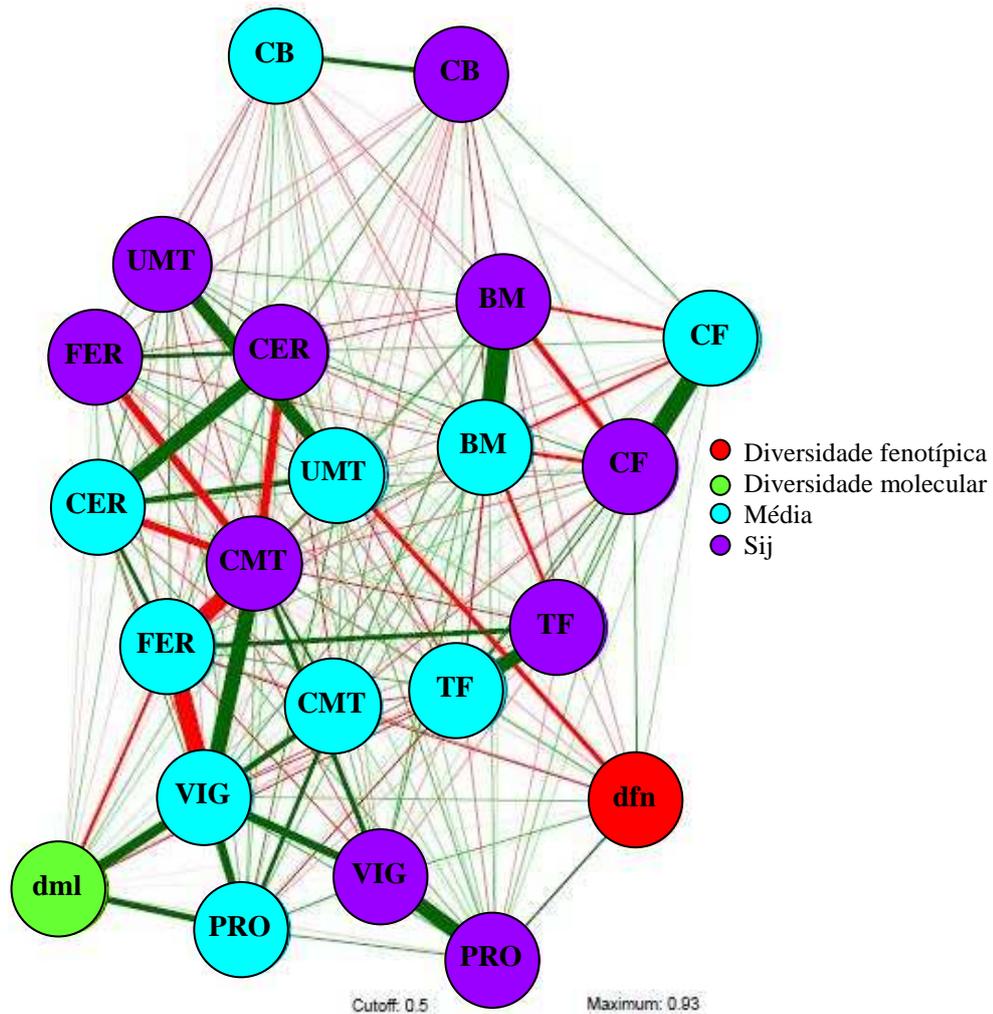


Figura 7. Rede de correlações mostrando a relação entre a diversidade fenotípica (dfn) dos progenitores do dialelo, a diversidade genética molecular (dml) dos progenitores, a média das características avaliadas (Média) dos híbridos e a capacidade específica de combinação (Sij). A diversidade genética molecular (dml) foi obtida por meio da matriz de distância gerada pela análise de diversidade genética por marcadores microssatélites. Os valores de diversidade fenotípica (dfn) foram obtidos por meio da comparação das médias de cada uma das 10 características avaliadas (VIG= Vigor Vegetativo, CB= Cor do Broto, CF= Cor do Fruto Maduro, PRO= Produção, CMT= Ciclo de Maturação, UMT= Uniformidade de Maturação, TF= Tamanho do Fruto Maduro, FER= Incidência de Ferrugem, CER= Incidência de Cercosporiose, BM= Infestação de Bicho Mineiro). Os valores de Média correspondem aos valores das médias dos híbridos para cada uma das 10 características avaliadas. Os valores das capacidades específicas de combinação (Sij) foram obtidos por meio da análise dialélica. As linhas em verde correspondem às correlações positivas, as linhas em vermelho correspondem às correlações negativas. Quanto maior a espessura das linhas maior o índice de correlação tanto positiva quanto negativa.

6. DISCUSSÃO

6.1. Diversidade genética

A média de bandas obtida por *primer* (2,3), através da amplificação do DNA dos cultivares/acessos utilizando 12 *primers* SSR polimórficos, indica baixa variabilidade genética entre esses cafeeiros analisados, que pode ser decorrente da estreita base genética de *C. arabica*. A estreita base genética pode ser explicada pelo baixo número de plantas que foram introduzidas no Brasil (TEIXEIRA *et al.*, 1999), sendo essas a base genética das cultivares atuais. Setotaw *et al.*, (2013) demonstraram que as cultivares brasileiras de *C. arabica* são originadas de poucos progenitores.

Mesmo com a reconhecida base genética estreita dos cafeeiros disponíveis para serem progenitores dos programas de melhoramento genético, foi possível obter dados informativos de diversidade por meio dos marcadores moleculares, da análise da matriz de distância genética e dos dendrogramas. Os cafeeiros da cultivar Topázio MG 1190, da Bourbon Amarelo MG 0009, da Catuaí Vermelho IAC 144, da Ibairi IAC 4761 e da Catuaí Amarelo IAC 62 ficaram em um mesmo subgrupo (Figura 1- subgrupo I.b). Todas essas cultivares/acessos são suscetíveis à ferrugem do cafeeiro (CARVALHO *et al.*, 2008; FAZOULI *et al.*, 2008).

Os cultivares resistentes à ferrugem são derivados de Híbrido de Timor ou de Icatu (SOUZA, 2013), que constituem híbridos interespecíficos entre *C. arabica* e *C. canephora*, sendo que os genes de resistência são originados da espécie *C. canephora*. Dessa forma, os cafeeiros resistentes possuem introgressão do genoma de *C. canephora*. As cultivares/acessos suscetíveis agrupados no I.b (Figura 1) não são derivados desses híbridos, justificando a separação desses em um mesmo grupo, que corresponderia ao grupo de cafeeiros sem introgressão de *C. canephora*. O acesso UFV 311-63, que também ficou no grupo I.b (Figura 1), apesar de ser resistente, foi originado de cruzamento com híbrido interespecífico entre *C. arabica* e *C. liberica*. Portanto, também não tem introgressão de *C. canephora* em seu genoma, a resistência é oriunda da espécie *C. liberica*. Os outros cultivares/acessos resistentes à ferrugem (IAC 125 RN, Tupi Ferrero, Obatã Vigoroso, Obatã, Acauã Novo, Acauã, H 484-2-18-12, MGS Paraíso 2, Paraíso MG H 419-1, Catiguá MG2, Sarchimor MG 8840, Híbrido de Timor MG 0357, Oeiras MG 6851, IPR 103,

Siriema e Arara) e com exceção de Arara que ficou entre os cultivares/acessos suscetíveis, foram distribuídos nos outros grupos dentro do dendrograma.

Por meio da análise das distâncias genéticas (Tabela 9) e do dendrograma (Figura 1) não foi possível distinguir os cafeeiros Catuaí Vermelho IAC 144, Catuaí Amarelo IAC 62, Ibairi IAC 4761 e UFV 311-63, e as cultivares Obatã, Obatã Vigoroso e Oeiras MG 6851, pois a distância entre elas foi zero (similaridade = 100%). Para discriminar esses cafeeiros deve-se utilizar um número maior de *primers* polimórficos ou outro tipo de marcador molecular. A dissimilaridade máxima foi verificada entre as cultivares Catiguá MG2 e Acauã, sendo igual a 0,750, seguido de Catiguá MG2 e Topázio MG 1190 (0,696). Esses valores de dissimilaridade podem ser devido aos progenitores que deram origem a essas cultivares. Catiguá MG2 é oriundo do cruzamento entre Catuaí Amarelo IAC 86 e Híbrido de Timor UFV 440-10. Acauã foi originado do cruzamento entre Mundo Novo IAC 388-17 e Sarchimor 1688. Topázio MG 1190 foi originado do cruzamento entre Catuaí Amarelo e Mundo Novo, e, portanto, não apresenta introgressão de *C. canephora* no genoma (CARVALHO *et al.*, 2008).

A cultivar Catiguá MG2 apresentou valores de distância genética relativamente altos (acima de 0,464) com todas as cultivares/acessos analisados (Tabela 9). A exceção foi quando comparado com o Híbrido de Timor MG 0357 (0,214). Esse Híbrido de Timor corresponde à semente retirada do acesso UFV 441. A cultivar Catiguá MG2 foi desenvolvida a partir do cruzamento de Catuaí Amarelo IAC 86 com o acesso de Híbrido de Timor UFV 440. Esses dois acessos de Híbrido de Timor apresentam grande similaridade genética (SETOTAW *et al.*, 2010), o que pode explicar a menor dissimilaridade entre eles, observada no presente trabalho.

Analisando mais de uma planta por cultivar/acesso (Figura 2), foi possível obter informações mais detalhadas não só entre os cultivares/acessos, mas também dentro deles. Houve polimorfismo dentro da maioria dos cultivares/acessos analisados. Esse resultado demonstra que o polimorfismo dentro do cultivar deve ser levado em consideração para a seleção dessas plantas como progenitores para cruzamentos de interesse. Essa observação é principalmente importante para cultivares/acessos que foram alocadas em grupos diferentes no dendrograma (Figura 2), como Paraíso MG H419-1, Híbrido de Timor MG 0357, Oeiras MG 6851 e IAC 125 RN.

Como no melhoramento genético busca-se, normalmente, o cruzamento entre materiais divergentes e complementares, a análise individual das plantas dentro dos acessos/cultivares auxilia na recomendação de cruzamentos. Por exemplo, se um cruzamento entre IAC 125 RN e Híbrido de Timor MG 0357 for de interesse, a planta Híbrido de Timor MG 0357 (50) não deveria ser selecionada, já que foi alocada com algumas plantas de IAC 125 RN (Figura 2- subgrupo Ih). Nesse caso, outra planta de Híbrido de Timor MG 0357, como a n° 51, deveria ser escolhida (Figura 2- grupo III), que está em outro grupo totalmente distinto. Dessa forma, é possível selecionar melhor as plantas dentro de cada cultivar/acesso para a obtenção de híbridos, evitando que sejam efetuados cruzamentos entre plantas muito próximas geneticamente.

6.2. Identificação de híbridos por marcadores moleculares

Para a identificação de híbridos foram selecionados os *primers* SSR que eram informativos para cada cruzamento. Marcadores informativos são aqueles que apresentam polimorfismos entre os progenitores, ou seja, cada genitor deve amplificar pelo menos um alelo diferente, e a descendência híbrida deve apresentar os dois alelos (GUIMARÃES *et al.*, 2016). Como foi observado, a grande maioria das progênes analisadas foram identificadas como produtos de hibridação, ou seja, foi obtido o cruzamento de interesse (Tabela 10). No caso das plantas que foram originadas de autofecundação, certamente ocorreu uma falha durante processo de cruzamento, já que, como a espécie *C. arabica* é autógama, a hibridização é realizada manualmente. Quando essa foi realizada, já havia ocorrido a autofecundação antes da emasculação da flor usada para a referida hibridação.

A hibridação em plantas autógamas em geral consiste na emasculação das flores, retirando-lhes as anteras, alguns dias antes de polinizá-las com o pólen proveniente de outro cultivar ou linhagem de interesse (SAKIYAMA *et al.*, 1999). A autogamia no cafeeiro é muito elevada em virtude do fenômeno da cleistogamia, ou seja, a polinização antes da abertura da flor. Nesse caso, para promover a hibridação, a emasculação deve ocorrer antes da abertura da flor e antes que ela tenha sido autopolinizada, no entanto o estigma precisa já está maduro (SAKIYAMA *et al.*, 1999). Assim, para essas plantas F₁ originadas de autofecundação, provavelmente a emasculação ou o cruzamento foram realizados após a autofecundação da flor usada na hibridação.

As progênies originadas de hibridação foram identificadas e assim continuarão no programa de melhoramento genético. As plantas oriundas de autofecundação serão idênticas ao progenitor feminino, dessa forma poderão ser mantidas no campo para a realização de outros cruzamentos de interesse. Ressaltando que o café é uma cultura perene e de ciclo e período juvenil longos, a metodologia de certificação de cruzamentos por meio da utilização de marcadores moleculares, pode ser considerada de grande utilidade para o melhoramento genético da espécie, já que as plantas híbridas e as plantas originadas de autofecundação podem ser identificadas ainda no início do processo de melhoramento resultando em uma economia de tempo, recursos financeiros e mão de obra.

6.3. Análise do dialelo

Por meio dos resultados obtidos na análise dialélica foi possível estimar os parâmetros genéticos, observar as melhores combinações híbridas a partir da observação das capacidades geral (CGC) e específica (CEC) de combinação e prever o potencial das combinações híbridas que não foram avaliadas. Pela análise de variância foi evidenciada a existência de variabilidade genética aditiva e não-aditiva significativa entre as constituições genéticas avaliadas por meio dos quadrados médios da CGC e CEC, respectivamente. Para todas as 10 características avaliadas, as CGC foram maiores do que as CEC, indicando uma maior participação da ação gênica aditiva no controle dos caracteres. Nos programas de melhoramento, as seleções são praticadas em gerações segregantes avançadas visando à obtenção de um maior progresso genético tendo em vista a ocorrência, nessas gerações, de diversas linhas puras na população com efeitos aditivos dos genes. Assim, por esse motivo a CGC é mais importante para os melhoristas uma vez que depende da variância aditiva (KUREK *et al.*, 2001).

A obtenção de uma estimativa para g_i , positiva ou negativa, muito baixa, indica que a CGC do genitor com base em seus cruzamentos não difere da média geral. Porém, quando essas estimativas são elevadas, o genitor em questão é superior ou inferior aos demais genitores do dialelo (CRUZ *et al.*, 2012). Assim, com relação à discriminação híbrida, as melhores combinações devem ser aquelas com maior s_{ij} , cujos genitores apresentam alta CGC (CRUZ *et al.*, 2012). Para a característica Vigor vegetativo (VIG), os progenitores Catiguá MG2 (2) e Arara (6) foram os que obtiveram maiores estimativas de CGC (0,494 e 0,229) (Tabela 12). Assim, dentre os

progenitores usados nos cruzamentos, esses são os mais recomendados para a formação de populações-base para fins de melhoramento. Como o cruzamento entre esses dois progenitores resultou em um híbrido com valor estimado negativo de CEC (Tabela 13), o cruzamento entre os progenitores Catiguá MG2 (2) e UFV 311-63 (5) é o mais recomendado para essa característica. Nesse cruzamento observa-se elevado valor de CEC (Tabela 13) e está envolvido o progenitor com mais alto valor de CGC (Catiguá MG2) e o outro progenitor (UFV 311-63) com valor positivo para CGC. Assim, esse híbrido certamente tem potencial genético superior para formar população de melhoramento, em relação aos demais considerando essa característica. Outro híbrido, oriundo do cruzamento entre Paraíso MG H 419-1 (1) e Arara (6), apresentou maior valor estimado de CEC (1,278) (Tabela 13) e também envolve um dos progenitores com elevado CGC (Arara). O cruzamento entre esses genitores pode ser uma segunda opção para a obtenção de híbridos segregantes para alto vigor vegetativo. Ambos os cruzamentos já foram realizados no dialelo circulante, cruzamento C4T e C3T, respectivamente (Tabela 4).

Para a característica Produção (PRO), os progenitores Acauã Novo (7) e novamente Catiguá MG2 (2) foram os que apresentaram maior CGC (0,603 e 0,581, respectivamente). O híbrido oriundo do cruzamento entre esses dois progenitores apresentou um valor estimado de CEC igual a 0,324 (Tabela 13). Assim, como o valor estimado de CEC para esse híbrido foi alto e positivo e envolve os dois progenitores com maiores valores de CGC, o cruzamento entre Catiguá MG2 e Acauã Novo é mais recomendado. Esse cruzamento já foi realizado no dialelo, cruzamento C6T (Tabela 4). Considerando que cultivares mais produtivas são de grande interesse para os melhoristas, o cruzamento entre estes acessos deve ser destacado. Uma segunda opção de cruzamento seria novamente entre os progenitores 2 (Catiguá MG2) e 5 (UFV 311-63), pois o híbrido resultante do cruzamento entre esses acessos apresentou o maior valor estimado para CEC (0,909) (Tabela 13) e envolve um dos progenitores com maior valor estimado de CGC.

Considerando a característica Uniformidade de Maturação dos frutos (UMT), os progenitores com melhores valores estimados de CGC foram UFV 311-63 (5) e Oeiras MG 6851 (3) (-0,241 e -0,179, respectivamente). Os valores de CEC não apresentaram diferenças significativas estatisticamente, então são recomendados cruzamentos envolvendo esses progenitores. Para essa característica, os maiores resultados negativos são mais interessantes, visto que os acessos que receberam as

menores notas são os de maturação dos frutos mais uniforme (Tabela 6). Em geral, essa característica é altamente desejável na cultura do cafeeiro, pois proporciona produtos de qualidade superior de bebida, além de contribuir para redução da mão de obra na etapa de colheita. Segundo Guerreiro Filho *et al.* (2008), a uniformidade de maturação está relacionada com a época em que as floradas ocorrem em cada cultivar e com característica Ciclo de Maturação (CMT). Esta se trata de uma característica poligênica que tem importante efeito ambiental, como disponibilidade de nutrientes, região de cultivo, face de exposição do terreno, incidência de agentes abióticos, dentre outros (GUERREIRO FILHO *et.al.*, 2008). Porém, quando se considera apenas a componente genética da variação, o ciclo de maturação pode ser precoce, médio, tardio ou muito tardio. Assim, a seleção de cultivares para essa característica depende do interesse de cada melhorista.

Outra característica de extrema importância é a Incidência de Ferrugem (FER) no cafeeiro. Para essa característica os progenitores Arara (6) e UFV 311-63 (5) foram os que apresentaram os melhores valores de CGC (-0,072 e -0,070, respectivamente). Para os valores de CEC não houve diferença significativa. Lembrando que para essa característica, assim como para CER e BM, os maiores valores negativos são os mais interessantes, já que as plantas que receberam as notas mais baixas são as mais resistentes. Assim, cruzamentos envolvendo os progenitores 5 e 6 são os mais recomendados, quando o interesse principal for a resistência à ferrugem. Para a Incidência de Cercosporiose (CER), os progenitores que apresentaram os melhores valores de CGC foram UFV 311-63 (5) e H 484-2-18-12 (4) (-0,268 e -0,178, respectivamente). Para essa característica, não houve diferença significativa para os valores de CEC. Assim, cruzamentos envolvendo pelo menos um desses progenitores são recomendados, visando à obtenção de recombinantes com menor incidência de cercosporiose.

Para as características Cor do Broto (CB), Tamanho dos Frutos maduros (TF) e Infestação de Bicho mineiro (BM) não houve diferença significativa para os valores das capacidades geral e específica de combinação e entre os tratamentos (Tabela 11). Como foi observado, para as características Uniformidade de Maturação dos frutos (UMT), Incidência de Cercosporiose (CER) e Incidência de Ferrugem (FER), também não houve diferença significativa para os valores de CEC (Tabela 11). Como a base genética do cafeeiro arábica é estreita, mesmo que sejam cruzadas plantas de diferentes cultivares/acessos, ainda assim possuem um alto grau de

parentesco e certamente por isso não houve diferenças estatisticamente significativas entre os valores dos parâmetros genéticos.

De acordo com Guerreiro Filho *et al.*(2008), a característica Cor do Fruto maduro (CF) é controlada pela ação de um par de alelos. A cor amarela é controlada por um par de alelos recessivos $x_c x_c$. Plantas homozigotas $X_c X_c$ possuem frutos com exocarpo vermelho e sendo a dominância parcial. Plantas com exocarpo $X_c x_c$ têm frutos com exocarpo de cor alaranjada, às vezes com pequenas estrias vermelhas. Assim, como essa característica é variável entre os acessos, dependendo do cruzamento realizado, a progênie irá apresentar a coloração do fruto de acordo com o genótipo dos progenitores. Como a característica é muito variável, houve diferença significativa entre as médias dos tratamentos e entre os valores estimados de CGC e CEC (Tabela 11).

Na Tabela 14 estão os valores médios estimados para os híbridos avaliados no dialelo circulante e os valores médios preditos para cada característica avaliada. Os híbridos que obtiveram os maiores valores para as principais características (VIG, PRO) e que apresentaram diferenças significativas nos valores de médias, de acordo com o teste Tukey a 5% de probabilidade, estão destacados em negrito na Tabela 14. Para essas características, os híbridos com os mais altos valores de média também foram aqueles oriundos dos cruzamentos recomendados com base na avaliação das capacidades gerais e específicas de combinação (Catiguá MG2 x UFV311-63 para a característica VIG e Catiguá MG2 x Acauã Novo para a característica PRO). Além disso, a média desses híbridos foi superior a de seus progenitores (Tabela 15). Esse resultado mostra que a predição de híbridos com base na avaliação das capacidades de combinação é uma metodologia eficaz e pode ser muito útil para os programas de melhoramento, visto que a seleção dos cruzamentos no esquema de dialelo não ocorreu de forma aleatória.

Em geral, de acordo com os resultados obtidos, os cruzamentos envolvendo os progenitores Catiguá MG2, UFV 311-63 e Arara foram os mais promissores. Os cruzamentos envolvendo o progenitor Catiguá MG2 foram recomendados para as principais características (VIG e PRO). Além disso, Catiguá MG2 também apresentou maiores distâncias com quase todos os demais cafeeiros analisados segundo a análise de diversidade genética molecular (Tabela 9). Esse resultado sugere uma possível relação entre a diversidade genética, média fenotípica e capacidade de combinação quando se considera os cafeeiros analisados.

6.4. Análise de correlação

Levando em consideração que, nos programas de melhoramento, normalmente os cruzamentos mais indicados são aqueles entre as cultivares/acessos de grupos diferentes para a obtenção de híbridos com valores de médias superiores aos dos progenitores, seria importante avaliar a relação entre diversidade genética, diversidade fenotípica, média fenotípica e capacidade de combinação dos cafeeiros. Nesse sentido, caso seja encontrada alguma correlação entre esses valores, a observação da distância genética obtida por meio de dados de marcadores moleculares poderia auxiliar na seleção das plantas mais divergentes para realização de cruzamentos. Para as características Vigor vegetativo (VIG) e Produção (PRO), por exemplo, foi recomendado o cruzamento entre Catiguá MG2 e UFV 311-63, com base nos valores das capacidades gerais e específicas de combinação obtidos através da análise dialélica. A partir da análise da matriz de distância genética (Tabela 9), é possível observar que esses dois genótipos também possuem um valor alto de dissimilaridade genética (distância = 0,589) o que poderia indicar alguma relação entre ambos os resultados.

Com base em um estudo de diversidade genética, utilizando marcadores moleculares, Reif *et al.* (2013) buscaram estudar a correlação entre diversidade genética e capacidade de combinação em grupos relacionados e não relacionados de girassol (*Helianthus annuus L.*). Foi observada uma alta correlação entre capacidade geral de combinação e distância genética para linhagens relacionadas, porém, para linhagens não relacionadas não houve correlação. Utilizando linhagens testadoras tropicais de milho (*Zea mays L.*) em um esquema de cruzamento dialélico, Makumbi *et al.* (2011) avaliaram a capacidade de combinação para produção de grãos e a diversidade genética deste conjunto de linhagens, utilizando marcadores RFLP, SSR, AFLP. Foi observada uma alta correlação entre capacidade de combinação e distância genética, quando o cruzamento foi realizado entre materiais genéticos aparentados, dentro do mesmo grupo heterótico. Em geral, tem sido demonstrada uma alta correlação entre a capacidade de combinação estimada pelos cruzamentos dialélicos e a distância genética por marcadores moleculares, quando o cruzamento é feito entre materiais genéticos aparentados, como observado nos estudos de Makumbi *et al.* (2011) em milho e de Reif *et al.* (2013), em girassol.

Para os cafeeiros avaliados no dialelo circulante a distância fenotípica (dfn) não se mostrou correlacionada linearmente com a distância molecular (dml)

(Figura 7). A distância fenotípica (dfn) também foi pouco correlacionada com as capacidades específicas de combinação e com as médias fenotípica para todas as características avaliadas. Porém, os valores das médias das características fenotípicas e os valores de capacidade específica de combinação se mostraram intimamente correlacionados com a distância molecular (dml). Esses resultados corroboram com aqueles obtidos por Makumbi *et al.* (2011) e por Reif *et al.* (2013). Como os cafeeiros arábica possuem uma base genética estreita e são muito aparentados entre si, essa correlação encontrada entre diversidade genética molecular, média fenotípica e capacidade específica de combinação pode auxiliar na escolha de cultivares para o melhoramento genético de *C. arabica*.

As características Vigor vegetativo e Produção foram as que obtiveram maior correlação positiva com a distância molecular (dml). Além disso, a característica Incidência de ferrugem (FER) se mostrou altamente correlacionada negativamente com a característica Vigor vegetativo (VIG). Esses resultados também são interessantes, já que essas características são consideradas de grande importância para o cafeeiro. Como os 12 marcadores SSR utilizados para avaliar a diversidade genética molecular foram pré selecionados em outros estudos e são altamente polimórficos, levando em consideração a estreita base genética de *C. arabica*, apresentam um alto grau de confiabilidade. Assim, pode-se inferir que a seleção de progenitores para o melhoramento genético de *C. arabica*, com base na avaliação da diversidade genética, é uma metodologia eficiente, já que a distância molecular foi altamente correlacionada com as médias fenotípicas e com a capacidade de combinação.

7. CONCLUSÕES

1- A análise de diversidade genética baseada em marcadores moleculares permite uma avaliação detalhada da distância genética entre as cultivares/acessos, auxiliando na escolha dos melhores progenitores para a obtenção de híbridos produtores de populações segregantes de interesse para os programas de melhoramento genético de *C. arabica*.

2- Com base na análise de diversidade, os cruzamentos que otimizam as distâncias genéticas são Catiguá MG2 x Acauã, Catiguá MG2 x Topazio MG 1190, Catiguá MG2 x Arara, Catiguá MG2 x Bourbon Amarelo MG 0009 e Catiguá MG2 x Tupi Ferrero.

3- A certificação de cruzamentos por marcadores moleculares é uma metodologia útil e permitiu identificar sete cafeeiros originados de autofecundação. A identificação de plantas autofecundadas e de plantas híbridas ainda no início do processo de melhoramento economiza recursos financeiros, mão de obra e tempo.

4- A metodologia de dialelo circulante demonstrou-se eficaz para o melhoramento genético de *C. arabica* e a seleção de cruzamentos com base nas capacidades gerais e específicas de combinação pode ser muito útil para obtenção das populações promissoras de melhoramento.

5- Com base na análise do dialelo circulante, para as principais características (Vigor vegetativo e Produção) recomendam-se os cruzamentos entre Catiguá MG2 e UFV 311-63 para a característica Vigor vegetativo e entre Catiguá MG2 e Acauã Novo para a variável Produção.

6- A análise de correlação mostrou que a avaliação da diversidade genética molecular pode ser uma metodologia eficiente e complementar para seleção de progenitores no melhoramento genético de *C. arabica*.

REFERÊNCIAS

AGARWAL, M.; SHRIVASTAVA, N.; PADH, H. Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences. **Plant Cell Reports**, v. 27, n. 4, p. 617–631, 2008.

ALKIMIM, E. R. **Seleção assistida por marcadores moleculares para resistência múltipla à ferrugem e à antracnose dos frutos do cafeeiro**, 2013. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG.

ALVARENGA, S. M.; CAIXETA, E. T.; HUFNAGEL, B.; et al. Marcadores moleculares derivados de sequências expressas do genoma café potencialmente envolvidas na resistência à ferrugem. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 8, p. 890–898, 2011.

ARAÚJO, P. M. **Dialelo parcial circulante interpopulacional e cruzamento “Top-cross” na avaliação de linhagens parcialmente endogâmicas de milho (*Zea mays* L.)**, 2000. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba- SP.

BARELLI, M. A. A.; VIDIGAL, M. C. G.; JUNIOR, A. T. A.; et al. Análise dialélica para produção de grãos e componentes de produção em *Phaseolus vulgaris* L. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 22, p. 883–887, 2008.

BRITO, G. G.; CAIXETA, E. T.; GALLINA, A. P.; et al. Inheritance of coffee leaf rust resistance and identification of AFLP markers linked to the resistance gene. **Euphytica**, v. 173, n. 2, p. 255–264, 2010.

BRUNELLI, K. R.; SILVA, H. P.; CAMARGO, L. E. A. Mapeamento de genes de resistência quantitativa a *Puccinia polysora* em milho. **Fitopatologia Brasileira**, v. 27, n. 2, p. 134–140, 2002.

CAIXETA, E. T.; OLIVEIRA, A. C. B.; BRITO, G. G.; SAKIYAMA, N. S. Tipos de marcadores moleculares. In: A. BORÉM; E. CAIXETA (Eds.); **Marcadores Moleculares**. p.9–93, 2016. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa.

CARVALHO, C. D.; FAZOULI, L. C.; CARVALHO, G. R.; et al. Cultivares de café arábica de porte baixo. In: C. H. S. CARVALHO (Ed.); **Cultivares de café: origem, características e recomendações**. p.157–226, 2008. Brasília: Embrapa Café.

CARVALHO, E. D. **Melhoramento genético do cafeeiro (*Coffea arabica* L.) visando resistência durável à ferrugem e estabilidade fenotípica por meio de seleção recorrente**, 2014. Universidade Federal de Lavras, Lavras- MG.

COMBES, M. C.; ANDRZEJEWSKI, S.; ANTHONY, F.; et al. Characterization of microsatellite loci in *Coffea arabica* and related coffee species. **Molecular Ecology**, v. 9, n. 8, p. 1178–1180, 2000.

CONAB. Acompanhamento da safra brasileira - Safra 2016. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 28/6/2016.

CRUZ, C. D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 35, n. 3, 2013.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 4ª ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2012.

DAVIS, A. P.; GOVAERTS, R.; BRIDSON, D. M.; STOFFELEN, P. An annotated taxonomic conspectus of the genus *Coffea* (Rubiaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 152, n. 4, p. 465–512, 2006.

DINIZ, L. E. C.; SAKIYAMA, N. S.; LASHERMES, P.; et al. Analysis of AFLP markers associated to the Mex-1 resistance locus in Icatu progenies. **Cropp Breeding and Applied Biotechnology**, v. 5, n. 4, p. 387–393, 2005.

FAZOULI, L. C.; CARVALHO, C. H. S.; CARVALHO, G. R.; et al. Cultivares de café arábica de porte alto. In: C. H. S. CARVALHO (Ed.); **Cultivares de café: origem, características e recomendações**. p.227–254, 2008. Brasília: Embrapa Café.

FAZUOLI, L. C. Experiências em pré-melhoramento de café. In: **Curso internacional de pré-melhoramento de plantas**. Brasília: Empresa de Pesquisa Agropecuária. p. 75-87. ISSN 0102-0110. (Documento 185), 2006.

FERNANDEZ, D.; SANTOS, P.; AGOSTINI, C.; et al. Coffee (*Coffea arabica* L.) genes early expressed during infection by the rust fungus (*Hemileia vastatrix*). **Molecular Plant Pathology**, v. 5, n. 6, p. 527–536, 2004.

FERRÃO, L. F. V.; CAIXETA, E. T.; PENA, G.; et al. New EST–SSR markers of *Coffea arabica*: transferability and application to studies of molecular characterization and genetic mapping. **Molecular Breeding**, v. 35, n. 1, p. 31, 2015.

FERREIRA, F. M. **Eficiência de dialelos circulantes via simulação por reamostragem de um dialelo completo**, 2003. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa- MG.

FERREIRA, M. E.; GRATAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3ª ed. Brasília: Embrapa-Cenargen, 1998.

FRISCH, M.; THIEMANN, A.; FU, J.; et al. Transcriptome-based distance measures for grouping of germplasm and prediction of hybrid performance in maize. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 120, n. 2, p. 441–450, 2010.

FUZATTO, S. R. **Dialelo parcial circulante interpopulacional em milho (*Zea mays* L.): efeito do número (s) de cruzamentos**, 2003. Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba- SP.

GARBUGLIO, D. D.; ARAÚJO, P. M. Potencial genético de linhagens parcialmente endogâmicas e híbridos comerciais. **Journal of Health Sciences**, v. 5, n. 1, 2015.

GARDNER, C. O.; EBERHART, S. A. Analysis and Interpretation of the Variety Cross Diallel and Related Populations. **Biometrics**, v. 22, n. 3, p. 439, 1966.

GRIFFING, B. Concept of General and Specific Combining Ability in Relation to Diallel Crossing Systems. **Australian Journal of Biological Sciences**, v. 9, n. 4, p. 463, 1956.

GUERREIRO FILHO, O.; SILVAROLLA, M. B.; CARVALHO, C. H. S.; FAZUOLI, L. Características utilizadas para a identificação de cultivares de café. In: C. H. S. CARVALHO (Ed.); **Cultivares de café: origem, características e recomendações**. p.141–155, 2008. Brasília: Embrapa Café.

GUIMARÃES, C. T.; MOREIRA, M. . Genética Molecular aplicada ao melhoramento de plantas. In: A. BORÉM (Ed.); **Melhoramento de espécies cultivadas**. 1ª ed., p.715–740, 1999. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa.

GUIMARÃES, C. T.; SCHUSTER, I.; MAGALHÃES, J. V.; SOUZA JÚNIOR, C. L. Marcadores Moleculares no Melhoramento de Plantas. In: A. BORÉM; E. . CAIXETA (Eds.); **Marcadores Moleculares**. p.129–177, 2016. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa.

HAYMAN, B. I. The Theory and Analysis of Diallel Crosses. **Genetics**, v. 39, n. 6, p. 789–809, 1954.

KEMPTHORNE, O.; CURNOW, R. N. The Partial Diallel Cross. **Biometrics**, v. 17, n. 2, p. 229, 1961.

KUMAR, S.; STECHER, G.; TAMURA, K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. **Molecular biology and evolution**, v. 33, n. 7, p. 1870–4, 2016.

KUREK, A. J.; CARVALHO, F. I. F. DE; ASSMANN, I. C.; CRUZ, P. J. Capacidade combinatória como critério de eficiência na seleção de genitores em feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n. 4, p. 645–651, 2001.

LIMA, A. T. S.; CARDOSO, A. I. I. Produção e heterose de híbridos experimentais de pepino do tipo japonês. **Revista Ceres**, v. 59, n. 4, p. 484–492, 2012.

MAKUMBI, D.; BETRÁN, J. F.; BÄNZIGER, M.; RIBAUT, J. M. Combining ability, heterosis and genetic diversity in tropical maize (*Zea mays* L.) under stress and non-stress conditions. **Euphytica**, v. 180, n. 2, p. 143–162, 2011.

MEDINA FILHO, H. P.; BORDIGNON, R.; CARVALHO, C. H. S. Desenvolvimento de novas cultivares de café arábica. In: C. H. S. CARVALHO (Ed.); **Cultivares de café: origem, características e recomendações**. p.79–102, 2008. Brasília: Embrapa Café

MELCHINGER, A. E. Genetic Diversity and Heterosis. In: J. G. COORS; S. PANDEY (Eds.); **The Genetics and Exploitation of Heterosis in Crops**. p.99–118, 1999. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America.

MENDES, A. N. G.; GUIMARÃES, R. J. **Genética e Melhoramento do Cafeeiro**. Lavras: Universidade Federal de Lavras/FAEPE, 1998.

MIRANDA FILHO, J. B.; CHAVES, L. Analysis of diallel cross with F2 generations. **Revista Brasileira de Genética**, v. 19, p. 127–132, 1996.

MIRANDA FILHO, J. B.; GORGULHO, E. P. Cruzamentos com testadores e dialelos. In: L. L. NAS; A. C. C. VALOIS; I. S. MELO; M. C. VALADARES (Eds.); **Recursos genéticos e melhoramento: plantas**. p.650–671, 2001. Rondonópolis: Fundação MT.

MIRANDA FILHO, J. B.; VENCOSKY, R. The partial circulant diallel cross at the interpopulation level. **Genetics and Molecular Biology**, v. 22, n. 2, p. 249–255, 1999.

MISSIO, R. F.; CAIXETA, E. T.; RIBEIRO, A. P.; et al. **Diversidade Genética de cafeeiro por meio de marcadores EST-SSR**. 2011.

MOHAMMED, W. Heterosis and Combining Ability Analysis for Coffee Quality in Diallel Crosses of Diverse Coffee (*Coffea arabica* L.) Parents in Origin. **East African Journal of Science**, v. 5, n. 1, p. 12–21, 2011.

MONCADA, P.; MCCOUCH, S. Simple sequence repeat diversity in diploid and tetraploid *Coffea* species. **Genome**, v. 47, n. 3, p. 501–509, 2004.

NEBESNY, E.; BUDRYN, G. Evaluation of sensory attributes of coffee brews from robusta coffee roasted under different conditions. **European Food Research and Technology**, v. 224, n. 2, p. 159–165, 2006.

OLIVEIRA JÚNIOR, A. **Metodologias de dialelos circulantes e de meia tabela desbalanceados e correlações inter e intrapopulacionais: exemplo com a cultura do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)**, 1995. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG.

RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B.; SANTOS, J. D.; NUNES, J. A. R. **Aplicações da genética quantitativa no melhoramento de plantas autógamas**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2012.

REIF, J. C.; ZHAO, Y.; WÜRSCHUM, T.; GOWDA, M.; HAHN, V. Genomic prediction of sunflower hybrid performance. **Plant Breeding**, v. 132, n. 1, p. 107–114, 2013.

RIBEIRO, C. Z.; PINTO, R. J. B.; FRANCO, F. A.; et al. Análise dialélica e uso de marcadores microssatélites na avaliação de cultivares de trigo. **Ciência Rural**, v. 41, n. 10, p. 1732–1737, 2011.

ROCHA, R.; ROCHA, R. B.; SANTOS, D. V.; RAMALHO, A. R.; TEIXEIRA, A. L. Caracterização e uso da variabilidade genética de banco ativo de germoplasma de *Coffea canephora* Pierre ex Froehner. **Coffee Science**, v. 8, n. 4, p. 478–485, 2014.

SAKIYAMA, N. S.; PEREIRA, T. N. S.; PEREIRA, A. A. Hibridação em Café. In: A. BORÉM (Ed.); **Hibridação artificial de plantas**. p.175–189, 1999. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa.

SETOTAW, T. A.; CAIXETA, E. T.; PENA, G. F.; et al. Breeding potential and genetic diversity of “Híbrido do Timor” coffee evaluated by molecular markers. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 10, n. 4, p. 298–304, 2010.

SETOTAW, T. A.; CAIXETA, E. T.; PEREIRA, A. A.; et al. Coefficient of Parentage in *Coffea arabica* L. Cultivars Grown in Brazil. **Crop Science**, v. 53, n. 4, p. 1237, 2013.

SHULL, G. H. The Composition of a Field of Maize. **Journal of Heredity**, v. os-4, n. 1, p. 296–301, 1908.

SHULL, G. H. A Pure-Line Method in Corn Breeding. **Journal of Heredity**, v. os-5, n. 1, p. 51–58, 1909.

SONDAHL, M. R.; LAURITIS, J. A. Coffee. In: F. A. HAMMERSCHLAG; R. E. LITZ (Eds.); **Biotechnology of perennial fruit crops**. p.401–420, 1992. Cambridge, UK. C. A. B. International.

SOUSA, T. V. **Caracterização molecular de cultivares de café resistentes à ferrugem**, 2013. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa- MG.

SPRAGUE, G. F.; TATUM, L. A. General vs. Specific Combining Ability in Single Crosses of Corn. **Agronomy Journal**, v. 34, n. 10, p. 923, 1942.

TEIXEIRA, T. A.; SAKIYAMA, N. S.; ZAMBOLIM, L.; PEREIRA, A. A.; SAKIYAMA, C. C. H. Caracterização de acessos de Coffea por marcadores RAPD. **Anais do III SIBAC**, p. 177-180, 1999.

VEIGA, R. D.; FERREIRA, D. F.; RAMALHO, M. A. P. Eficiência dos dialelos circulantes na escolha de genitores. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 7, p. 1395–1406, 2000.

VIEIRA, E. S. N. **Marcadores morfológicos, bioquímicos e moleculares na caracterização de cultivares de soja e café**, 2014. Universidade Federal de Lavras, Lavras-MG.

XIE, F.; HE, Z.; ESGUERRA, M. Q.; QIU, F.; RAMANATHAN, V. Determination of heterotic groups for tropical Indica hybrid rice germplasm. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 127, n. 2, p. 407–417, 2014.