

ROSA KARLA NOGUEIRA PESTANA

**CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE CAFEIROS DO
GERMOPLASMA BOURBON**

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

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2015

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

T

P476c
2015 Pestana, Rosa Karla Nogueira, 1982-
Caracterização molecular de cafeeiros do germoplasma
Bourbon / Rosa Karla Nogueira Pestana. – Viçosa, MG, 2015.
x, 121f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Ney Sussumu Sakiyama.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Café - Melhoramento genético. 2. Coffea.
3. Germoplasma vegetal. 4. Diversidade genética.
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Fitotecnia.
Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento.
II. Título.

CDD 22. ed. 633.73

ROSA KARLA NOGUEIRA PESTANA

CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE CAFEEIROS DO GERMOPLASMA
BOURBON

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

APROVADA: 09 de março de 2015.

Cosme Damião Cruz

Eveline Teixeira Caixeta
(Coorientadora)

Carlos Nick Gomes

Antonio Alves Pereira

Ney Sussumu Sakiyama

(Orientador)

A Deus,

pelo dom da vida, e por me guiar em todos os momentos SEMPRE...

AGRADEÇO!

Aos meus queridos pais, Antonio e Marinalva, por serem meu porto seguro em todas as horas sempre! Às minhas irmãs Kátia, Renata, Camila e Rafaela, pelo apoio e incentivo e ao meu noivo Israel, pela compreensão e paciência nessa etapa da minha vida.

DEDICO!

À minha mãe, Marinalva pelo incentivo, força e torcida durante toda a minha caminhada acadêmica.

OFEREÇO!

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela a sua presença constante na minha vida e por em muitos momentos difíceis, proporcionar-me a sua paz e a serenidade para enfrentar os obstáculos que me atravessavam e superar os desafios.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento, pela oportunidade de realização do curso.

Ao Conselho de Pesquisa e Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Capes, pela bolsa concedida.

Ao Instituto de Biotecnologia Aplicada a Agropecuária (Bioagro) e o Laboratório de Biotecnologia do Cafeeiro (Biocafé), pela infraestrutura disponibilizada para a realização do trabalho.

Aos meus pais, Antonio e Marinalva; principalmente à minha mãe pelo amor, dedicação, conselhos, incentivo, ensinamentos e compreensão, em todos os momentos desta e de outras caminhadas. Graças a sua presença foi mais fácil transpor os dias de desânimo e cansaço.

As minhas irmãs, Kátia, Renata, Camila e Rafaela pela amizade, pelo apoio e incentivo.

Ao meu noivo Israel, pela compreensão e apoio em cada momento, pela força, pela torcida e, principalmente, pela paciência durante esse período.

Ao professor Ney Sussuma Sakiyama, pela oportunidade e orientação.

À professora Eveline Teixeira Caixeta, pela orientação, pelos valiosos ensinamentos, pela paciência, pela confiança, pela amizade, pelo incentivo e, principalmente, por sempre estar disposta a ouvir, ajudar e tirar as dúvidas.

Ao pesquisador Antonio Carlos Baião de Oliveira, pela disposição em ajudar, pelos aconselhamentos e pelas sugestões valiosas para a concretização deste trabalho.

Ao pesquisador Antonio Alves Pereira, pela disposição em compartilhar seu conhecimento e pelas sugestões valiosas.

Ao professor Cosme Damião Cruz pelas valiosas sugestões, pelos aconselhamentos e contribuições nas análises estatísticas.

Aos membros da banca examinadora, professores Carlos Nick, Cosme, Eveline, Ney e ao pesquisador Antonio, pelas críticas e contribuições para a melhoria do trabalho.

À pesquisadora Eunize Maciel Zambolim e ao professor Laércio Zambolim pelo auxílio na condução dos trabalhos, pela colaboração e pela amizade.

À Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (Epamig) pela disponibilização do material vegetal do seu Banco Ativo de Germoplasma, imprescindíveis para a execução deste trabalho.

Ao Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) pelo fornecimento de material genético do seu Banco Ativo de Germoplasma.

A todos do Laboratório Biocafé pela amizade, pela atenção, pelo incentivo, pelo apoio na realização do trabalho e pelos momentos de descontração.

À amiga Dênia pela amizade, incentivo, companhia, pelas divertidas conversas, pelas risadas e pelos momentos de alegrias que passamos juntas, obrigada!!

À Elyabe Matos pela amizade, pelo incentivo e por sempre estar disposto a me ajudar.

À Vinicius Carneiro pela paciência e pela ajuda nas análises estatísticas.

A todos aqueles que de alguma forma colaboraram com a concretização desse trabalho e cujos nomes não foram citados aqui.

Muito Obrigada!!!

BIOGRAFIA

ROSA KARLA NOGUEIRA PESTANA, filha de Antonio Nunes Pestana e Marinalva Nogueira Pestana, nasceu no dia 25 de outubro de 1982, em Cruz das Almas, BA.

Em 2002, ingressou no curso de Engenharia Agrônômica da Universidade Federal da Bahia (UFBA), graduando-se pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB) em 2007. Durante a graduação foi bolsista de Iniciação Científica na Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, desenvolvendo atividades de pesquisa na área de Melhoramento Genético.

Em 2008, iniciou o curso de mestrado do Programa de Pós-graduação em Recursos Genéticos Vegetais pela Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), concluindo-o em março de 2010.

No período de abril de 2010 a janeiro de 2011 foi bolsista na Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, desenvolvendo atividades na área de Melhoramento Genético.

Em fevereiro de 2011, ingressou no curso de doutorado do Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento da Universidade Federal de Viçosa (UFV), submetendo-se à defesa da Tese em 09 de março de 2015.

SUMÁRIO

RESUMO	viii
ABSTRACT.....	x
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Bancos de Germoplasma	3
2.1.1. Banco de Germoplasma da Epamig	5
2.2. Coleções nucleares	6
2.3. Grupo Bourbon.....	8
2.4. Cafés especiais	10
2.5. Caracterização de germoplasma.....	11
2.5.1. Marcadores moleculares	12
2.5.2. Identificação genética dos acessos	13
2.5.3. Identificação de acessos duplicados.....	15
2.5.4. Diversidade genética.....	17
2.6. Melhoramento genético do cafeeiro e qualidade de bebida	19
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	22
CAPÍTULO 1 - IDENTIFICAÇÃO DE ACESSOS DE CAFEEIROS DO GRUPO BOURBON UTILIZANDO MARCADORES MICROSSATÉLITES.....	34
Resumo	35
1. Introdução.....	36
2. Material e Métodos.....	38
2.1. Material vegetal	38
2.2. Extração de DNA e genotipagem utilizando SSR.....	44
2.3. Análises genético-estatísticas.....	45
3. Resultados e Discussão	47
3.1. Discriminação dos acessos do grupo Bourbon.....	47
3.2. Discriminação dos acessos de Bourbon Vermelho	50
3.3. Discriminação dos acessos de Bourbon Amarelo	52

3.4. Redes neurais artificiais	53
3.5. Classificação dos acessos do grupo Bourbon com base nas análises discriminante e redes neurais artificiais.....	57
3.6. Diversidade alélica dos locos microssatélites	58
3.7. Diversidade genética entre e dentro dos acessos do grupo Bourbon	60
4. Conclusões.....	61
5. Referências Bibliográficas.....	62
CAPÍTULO 2 - DIVERSIDADE GENÉTICA E <i>FINGERPRINTING</i> MOLECULAR EM UMA COLEÇÃO DE GERMOPLASMA DE CAFEEIROS BOURBON	80
Resumo	81
1. Introdução.....	82
2. Material e Métodos.....	84
2.1. Material vegetal	84
2.2. Genotipagem com marcadores moleculares.....	90
2.3. Análise dos dados	92
3. Resultados e discussão.....	94
3.1. Diversidade genética.....	94
3.2. <i>Fingerprinting</i> molecular da coleção de germoplasma de cafeeiros Bourbon.....	103
4. Conclusões	104
5. Referências Bibliográficas.....	117
CONCLUSÕES GERAIS	121

RESUMO

PESTANA, Rosa Karla Nogueira, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2015. **Caracterização molecular de cafeeiros do germoplasma Bourbon.** Orientador: Ney Sussumu Sakiyama. Coorientadores: Eveline Teixeira Caixeta e Antonio Carlos Baião de Oliveira.

Com a crescente demanda do mercado mundial de cafés especiais, os produtores brasileiros têm demonstrado interesse em retomar o cultivo do Bourbon, principalmente devido a seu potencial para produzir cafés de qualidade superior de bebida. Dessa forma, os melhoristas têm buscado incorporar acessos de Bourbon nos programas de melhoramento, a fim de obter cultivares para a produção de cafés especiais. Visando dar suporte aos programas de melhoramento da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (Epamig), foi instalado em Patrocínio, MG, um Banco Ativo de Germoplasma (BAG) com 1594 acessos, destes, 140 correspondem a Bourbon. Entretanto, a coleção de germoplasma de Bourbon ainda não foi devidamente caracterizada, fato que interfere no seu aproveitamento para fins comerciais e uso no melhoramento. Deste modo, a caracterização molecular desses genótipos é essencial para ampliar o conhecimento dos materiais genéticos disponíveis e, assim, incorporar os mais adequados nos programas de melhoramento genético do cafeeiro. Nesse sentido, o presente trabalho teve como objetivo caracterizar, por meio de marcadores SSR e AFLP, a coleção de Bourbon da Epamig, como uma ferramenta auxiliar na identificação dos acessos, avaliação da diversidade genética e do perfil molecular (*Fingerprinting*) dos genótipos. Na identificação dos acessos, apresentado no capítulo 1, os marcadores SSR foram utilizados para discriminar os genótipos de Bourbon juntamente com as técnicas de análise discriminante e redes neurais artificiais. Os locos SSR analisados foram adequados para diferenciar os acessos. Observou-se que as redes neurais artificiais apresentaram maior eficiência na classificação dos acessos de Bourbon do que a análise discriminante e foi possível identificar acessos que apresentaram misturas ou problemas na identificação inicial. Na avaliação da diversidade genética e do perfil molecular (*Fingerprinting*) dos acessos, apresentados no capítulo 2, os marcadores SSR e AFLP utilizados permitiram separar a maioria dos indivíduos analisados. Esses dados moleculares sugerem que, apesar da reconhecida base genética estreita de *C. arabica*, o germoplasma de Bourbon pertencente a Epamig apresenta

variabilidade genética que pode ser explorada nos programas de melhoramento. A análise de *fingerprinting* permitiu identificar os perfis moleculares de cada acesso de Bourbon avaliado, os quais podem ser utilizados na identificação dos cafeeiros no banco. Dessa forma, os resultados obtidos nesse estudo fornecem subsídios para a manutenção e conservação da coleção de germoplasma de Bourbon. Além disso, deve auxiliar os melhoristas na escolha de genitores para possíveis hibridações em programas de melhoramento que buscam o desenvolvimento de cultivares com potencial para qualidade de bebida.

ABSTRACT

PESTANA, Rosa Karla Nogueira, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, March, 2015. **Molecular characterization of Bourbon germplasm**. Advisor: Ney Sussumu Sakiyama. Co-Advisor: Eveline Teixeira Caixeta and Antonio Carlos Baião de Oliveira.

With the increasing demand of specialty coffee in the world, the Brazilian coffee producer have demonstrated interest to retake cultivating Bourbon due to its potential of producing high cup quality. So, the breeders are working to incorporate the Bourbon in the breeding programs to develop coffee cultivars with special cup quality. To support the breeding programs, the Agricultural Research Company of Minas Gerais (Epamig) established the active germplasm bank in Patrocínio, MG. This germplasm comprises of 1594 coffee accessions, among these 140 are Bourbons. However, the collection of Bourbon is not well characterized, which interferes with its efficient use for commercial purpose and genetic improvement. This shows the importance of molecular characterization of these genotypes to increase the knowledge about the genetic materials available and incorporated adequately in the genetic improvement of coffee. Thus, the present work was done with the objective of characterizing the Bourbon collections of Epamig using SSR and AFLP molecular markers as a tool to identify the accessions, genetic diversity study and Fingerprinting of the genotypes. In chapter 1, SSR molecular marker combined with discriminant analysis and artificial neural network were used to discriminate the genotypes of Bourbon. The result showed that the artificial neural network is more efficient to classify the accessions of Bourbon than discriminant analysis. It was possible to identify accessions with mixture or with identification problem. In the genetic diversity and fingerprinting analysis presented in chapter 2, SSR and AFLP markers used permitted to separate most of the individuals analyzed. These data suggested that despite the known narrow genetic base of *C. arabica*, the Bourbon germplasm belonging to Epamig has enough genetic variability that can be exploited in breeding programs. The fingerprinting analysis allowed identifying molecular profile for each accession of Bourbon evaluated that can be used in identification of coffee plants of the germoplasm. Besides this, it can aid the breeders to select the parents for possible hybridization in the breeding programs to develop cultivars with high cup quality potential.

1. INTRODUÇÃO GERAL

A demanda por cafés especiais no mercado mundial tem crescido significativamente nos últimos anos, indicando que os consumidores estão mais exigentes quanto à qualidade da bebida (GIOMO & BORÉM, 2011; CHAGAS et al., 2013). Em vista desse mercado, os produtores brasileiros têm demonstrado interesse por cultivares com potencial para produção de cafés especiais. Dessa forma, verifica-se a necessidade de incentivos ao estudo de cultivares que apresentem elevado potencial para qualidade de bebida, visando à busca por novas características sensoriais e, sobretudo, a possibilidade de agregar valor aos cafés especiais brasileiros (CARVALHO et al., 2011).

Os cafeeiros do grupo Bourbon são reconhecidos internacionalmente por apresentar elevado potencial de qualidade de bebida, sendo por isso, altamente valorizados nos mercados de cafés especiais (GIOMO & BORÉM, 2011). Este grupo vem sendo bastante utilizado para a produção de cafés especiais em diversas regiões do mundo, devido às suas características sensoriais diferenciadas, como elevada doçura natural, sabor achocolatado, aroma intenso e agradável acidez (CARVALHO et al., 2011; CHAGAS et al., 2013).

Considerando estas características e o crescente interesse pelo uso dessa cultivar, os melhoristas têm buscado incorporar acessos de Bourbon nos programas de melhoramento, visando obter cultivares que combinem características agronômicas de interesse e elevada qualidade de bebida, tendo em vista atender a demanda do mercado de cafés especiais. No entanto, no Brasil, existe um número considerável de genótipos de Bourbon, cultivados e mantidos em Bancos de Germoplasma, que podem variar quanto à qualidade de bebida, bem como outras características agronômicas.

Visando dar suporte aos programas de melhoramento da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (Epamig), foi instalado na Fazenda Experimental de Patrocínio, em Patrocínio, MG, um Banco Ativo de Germoplasma (BAG) com 1594 acessos, sendo 140 acessos coletados com a designação Bourbon Vermelho ou Bourbon Amarelo. Para tanto, a caracterização e avaliação da diversidade genética desses genótipos é essencial para ampliar o conhecimento dos materiais genéticos disponíveis e, assim, incorporar os mais adequados nos programas de melhoramento

genético do cafeeiro. Esse conhecimento pode ser acessado por caracterização morfológica ou molecular.

A caracterização molecular é extremamente importante para a avaliação da variabilidade genética e identificação genética de acessos conservados em Bancos de Germoplasma (AZEVEDO, 2010). Essa estratégia permite o melhor manejo dos acessos e fornece subsídios para a conservação do germoplasma, bem como para a utilização em programas de melhoramento (DANTAS, et al., 2012), como escolha eficiente dos parentais e definição das estratégias adequadas de melhoramento (FALEIRO, 2007). A identificação de acessos duplicados e incorporação de novos materiais genéticos para ampliar a diversidade permitem o estabelecimento de uma coleção nuclear que represente a variabilidade genética disponível, com um mínimo de redundância, possibilitando aos melhoristas melhor condução dos trabalhos (FERREIRA et al., 2011). Essa identificação reduz o desperdício de tempo e de recursos para a conservação e caracterização do germoplasma (VALLS, 2007).

Neste contexto, a caracterização molecular de germoplasma do grupo Bourbon fornecerá aos melhoristas e curadores de Bancos de Germoplasma, subsídios para o aumento na eficiência na condução dos programas de melhoramento e no manejo dos recursos genéticos do cafeeiro. Desse modo, o presente trabalho, teve como objetivo caracterizar, por meio de marcadores moleculares, acessos de Bourbon da coleção de germoplasma de café da Epamig. Para tanto, foram propostos os seguintes objetivos específicos: i) Identificar possíveis equívocos no registro de acessos catalogados como Bourbon na coleção da Epamig; ii) Estudar a diversidade genética entre e dentro dos acessos de Bourbon, com base na análise de marcadores AFLP e SSR; iii) Analisar o perfil molecular (*Fingerprinting*) dos acessos de Bourbon; iv) Identificar possíveis acessos duplicados ou redundantes presentes na coleção de Bourbon da Epamig.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Bancos de Germoplasma

Bancos de Germoplasma são locais onde são mantidas, em condições adequadas, amostras da variabilidade genética de uma determinada espécie de interesse, todas denominadas de acessos (ZIMMERMAN et al., 1996). Estes bancos têm como objetivo principal preservar a variabilidade genética disponível, visando evitar a erosão genética ou perda de alelos. A perda de alelos reduz a variabilidade de uma determinada espécie, tornando o processo de seleção menos eficiente e aumentando a vulnerabilidade a pragas, doenças e condições abióticas adversas (YORINORI & KIIHL, 2001).

Por reunirem acessos de constituições genéticas de diferentes origens e diferentes níveis de melhoramento, os Bancos de Germoplasma constituem-se em fontes de genes essenciais aos programas de melhoramento (VIEIRA et al., 2008). Nesse sentido, são considerados repositórios de material genético e representam a variabilidade genética parcial ou total de uma determinada espécie, contribuindo para a manutenção da biodiversidade, além de servirem como matéria prima utilizada pelos melhoristas para o desenvolvimento de novas cultivares (BORÉM, 1999). Dessa forma, os recursos genéticos têm sido utilizados nos programas de melhoramento visando a introgressão de genes de interesse nas cultivares comerciais, com o intuito de ampliar a variabilidade intra e interespecífica, o que contribuirá para a sustentabilidade, preservação da variabilidade genética existente e redução da vulnerabilidade.

Para a conservação do germoplasma são utilizados métodos de coleta visando capturar o máximo da variação genética, bem como, técnicas que minimizem as perdas ao longo do tempo (ASHLEY, 1992). Dessa forma, a conservação dos recursos genéticos envolve atividades de coleta e introdução do germoplasma para enriquecimento e resgate da variabilidade; multiplicação para atender a demanda do material genético pelos melhoristas e regeneração para manutenção da integridade genética das amostras; caracterização e avaliação, que permitem conhecer a variabilidade existente na coleção; intercâmbio para atender as solicitações de germoplasma; conservação por meio de diferentes métodos e; utilização e

manutenção dos bancos de dados, contendo os dados de passaporte e caracterização do germoplasma (RAMALHO et al., 2008).

A conservação dos recursos genéticos vegetais pode ser realizada por duas estratégias, *in situ* ou *ex situ*. A conservação *in situ* consiste na manutenção dos recursos genéticos em seu ambiente natural, onde a espécie evoluiu. A conservação *ex situ* envolve a conservação do germoplasma fora do seu habitat natural, incluindo métodos como o armazenamento de sementes, Bancos de Germoplasma no campo, coleções *in vitro* e em jardins botânicos (RAO, 2004). Dentro da definição de conservação *in situ*, pode-se citar a conservação *on farm* que corresponde o cultivo e manejo contínuo de populações de plantas no sistema tradicional realizado por comunidades locais e povos indígenas. Por permitir a conservação dos processos evolutivos e de adaptação, fornece novos materiais genéticos, sendo uma estratégia complementar a conservação *in situ* (CLEMENT et al., 2007). Os Bancos de Germoplasma podem ser, ainda, mantidos na forma de sementes, propágulos, meristemas e plantas, em câmaras frias ou no campo de acordo com a característica da espécie (WETZEL et al., 2007).

Em café, a conservação do germoplasma é realizada em Bancos de Germoplasma no campo, devido à rápida perda de viabilidade das sementes no armazenamento (OLIVEIRA & MALUF, 2007).

No Brasil, as principais coleções de germoplasma de café são mantidas pelo Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (Incaper), Instituto Agrônomo do Paraná (Iapar), Universidade Federal de Viçosa (UFV), Fundação Procafé, Embrapa Rondônia e Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (Epamig) (EIRAS et al., 2007). Estas instituições conservam aproximadamente 20% das espécies conhecidas do gênero *Coffea* e de espécies afins, como por exemplo, *Psylanthus*. No entanto, apenas as espécies *C. arabica* e *C. canephora* estão melhor representadas, o mesmo não ocorrendo com as demais espécies do gênero, que são pouco estudadas (EIRAS & OLIVEIRA, 2007).

2.1.1. Banco de Germoplasma da Epamig

O Banco de Germoplasma da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (Epamig) instalado na Fazenda Experimental de Patrocínio, em Patrocínio, MG, é considerado um dos mais importantes bancos de café do país. A coleção conta, atualmente, com 1594 acessos, sendo estes, principalmente de *C. arabica*. Destes, aproximadamente 140 acessos correspondem a genótipos de Bourbon, os quais apresentam elevado potencial para a produção de cafés com qualidade superior de bebida. Além dos acessos de Bourbon, destacam-se alguns materiais genéticos dos grupos Caturra, Híbrido de Timor, Mundo Novo, Catuaí, Catimor, Sarchimor, Sumatra, Pacamara, Cera e Guatenano e acessos portadores do fator S_H3. Para a formação desse banco, os acessos foram coletados em instituições públicas, empresas privadas nacionais e internacionais e em lavouras de café em fazendas particulares nos Estados de Minas Gerais, São Paulo, Paraná e Espírito Santo. A coleta do material genético foi realizada na forma de sementes, em plantas individuais ou em várias plantas da população. Os acessos coletados apresentavam idades variadas, merecendo destaque as seleções de Bourbon, contando com exemplares coletados em lavouras centenárias.

Segundo Pereira et al. (2011), o germoplasma conservado no banco da Epamig inclui cafeeiros com ampla variabilidade para várias características de interesse agrônomo, constituindo-se em uma excelente matéria prima para os programas de melhoramento genético do cafeeiro. Dessa forma, esse germoplasma pode ser utilizado para o desenvolvimento de cultivares com elevado potencial produtivo, aliado a outras características de interesse agrônomo e tecnológico para o agronegócio café, como produção de cafés com qualidade superior de bebida. No entanto, para que toda essa variabilidade seja utilizada com frequência e eficiência nos programas de melhoramento, torna-se necessário à caracterização do germoplasma disponível.

Os acessos de Bourbon conservados no Banco foram caracterizados por meio da avaliação de caracteres morfoagronômicos, baseados em descritores de cultivares de café arábica para a caracterização de cultivares registradas ou protegidas, passíveis de comercialização, conforme estabelecido pelo Serviço Nacional de Proteção de Cultivares (SNPC).

Com base nos dados de caracterização morfoagronômica foram selecionados setenta acessos de Bourbon para o estabelecimento de uma coleção nuclear (GUEDES, 2012). O tamanho da coleção nuclear foi definido conforme metodologia proposta por Brown (1989), o qual estimou que uma amostragem de 10% retém cerca de 70% da diversidade genética presente na coleção base. Para a seleção dos acessos de Bourbon, utilizou-se a técnica de agrupamento de *Tocher* com critério de aglomeração inverso proposto por Vasconcelos et al. (2007). Esse método consiste em agrupar acessos com maior dissimilaridade, formando um único grupo, que corresponde à coleção nuclear.

2.2. Coleções nucleares

Uma coleção nuclear pode ser definida como um pequeno conjunto de acessos representativos da variabilidade genética de uma coleção de germoplasma, com um mínimo de redundância (BROWN & SPILLANE, 1999; CORDEIRO & ABADIE, 2007). Em geral, as coleções nucleares são estabelecidas com tamanho em torno de 10% a 15% dos acessos e representa mais de 70% da variabilidade genética disponível da coleção original (BROWN & SPILLANE, 1999; FALEIRO, 2007), no entanto, na prática as proporções variam de 5% a 20% das subamostras e de 70% a 90% da diversidade (ARAÚJO, 2008).

A formação de coleções nucleares constitui-se em uma estratégia que visa priorizar e concentrar atividades de caracterização e avaliação, o que possibilita formar uma base de dados mais completa das subamostras, melhorando de forma efetiva a conservação e utilização dos recursos genéticos. Desse modo, essa estratégia torna-se uma alternativa para se concentrar recursos, esforços, se aprofundar conhecimento e cruzar informações para promover o uso eficiente da coleção de germoplasma (CORDEIRO & ABADIE, 2007). Como se trata de um pequeno número de acessos, seu manuseio tem menor custo e os acessos podem ser melhor caracterizados (VASCONCELOS et al., 2010).

Várias coleções nucleares têm sido desenvolvidas para diversas espécies cultivadas, com o intuito de aumentar a utilização dos acessos mantidos nos bancos e sua incorporação nos programas de melhoramento. Diferentes tipos de características

e estratégias de amostragem têm sido utilizadas para o desenvolvimento de coleções nucleares. Entre as características utilizadas, estão as morfológicas, agronômicas, fisiológicas, bioquímicas e moleculares (LI et al., 2004). Dentre estas, os marcadores moleculares têm sido utilizados tanto para a composição quanto para a validação de coleções nucleares. Estudos realizados por Emanuelli et al. (2013) visando o desenvolvimento de uma coleção nuclear, avaliaram a diversidade, estrutura e diferenciação genética em acessos de uma coleção de germoplasma de uva, por meio de marcadores SSR e SNP. Os resultados obtidos mostraram que apesar do grande número de acessos duplicados, observou-se um alto nível de variação genética entre os acessos e que a diversidade genética média foi maior para os SSR (0,81) do que para os SNPs (0,34). Estes autores concluíram que a caracterização molecular contribui para o conhecimento sobre os níveis e distribuição da diversidade genética entre os acessos de videira, facilitando a sua utilização nos programas de melhoramento.

Kaga et al. (2012) avaliaram a variação genética e estrutura genética de 1603 acessos de soja japonesa e exótica por meio de marcadores SNPs, visando selecionar acessos que representassem a diversidade genética de toda a coleção para formar uma coleção nuclear. Neste estudo, verificou-se que a diversidade genética nos acessos de soja japonesa foi menor que na soja exótica e que a análise de agrupamento permitiu a diferenciação genética entre os acessos de soja japonesa e exótica. Foram selecionados acessos para o estabelecimento de coleções nucleares que representassem a variabilidade genética de toda a coleção. Estas coleções nucleares fornecerão uma plataforma eficaz para melhorar os estudos de diversidade em soja e ajudar a encontrar novas características para o melhoramento da cultura.

A diversidade genética e a estrutura populacional de acessos de leguminosas forrageiras foram avaliadas por Santos-Garcia et al. (2012) utilizando marcadores SSR, a fim de desenvolver uma coleção nuclear. Neste trabalho, foram estabelecidas coleções nucleares para duas espécies de leguminosas forrageiras, *S. macrocephala* e *S. capitata*. A diversidade genética para *S. macrocephala* foi representada por 23 acessos, enquanto que apenas 13 acessos eram necessários para representar toda a diversidade genética para *S. capitata*. Os dados obtidos demonstraram que a estrutura populacional da coleção de germoplasma pode ser útil para programas de melhoramento e conservação de germoplasma.

Esses resultados demonstram que marcadores moleculares podem ser utilizados no estabelecimento de uma coleção nuclear de Bourbon, o que facilitará as atividades de avaliação e caracterização desses acessos no banco, sendo fundamental para a sua utilização em programas de melhoramento.

2.3. Grupo Bourbon

As cultivares do grupo Bourbon são reconhecidas internacionalmente por apresentar elevado potencial de qualidade de bebida, sendo por isso altamente valorizado nos mercados de cafés especiais (GIOMO & BORÉM, 2011). Este grupo vem sendo bastante utilizado para a produção de cafés especiais em diversas regiões do mundo, devido às suas características sensoriais diferenciadas, como elevada doçura natural, sabor achocolatado, aroma intenso e agradável acidez (CARVALHO et al., 2011; CHAGAS et al., 2013).

No Brasil, plantas de Bourbon foram introduzidas em 1859, com o intuito de aumentar a produtividade dos cafeeiros, tendo em vista que eram de melhor qualidade e mais produtiva que a cultivar Típica. Podem apresentar frutos vermelhos ou amarelos e por isso, são chamadas de Bourbon Vermelho e Bourbon Amarelo (FAZUOLI et al., 2008). O Bourbon Vermelho é originado da Ilha da Reunião (Antiga Ilha de Bourbon) e o Bourbon Amarelo tem a sua origem pouco conhecida, acredita-se que pode ter sido originado de uma mutação do Bourbon Vermelho ou surgido do cruzamento natural entre o Bourbon Vermelho e Amarelo de Botucatu (CARVALHO et al., 2011).

Apesar de ser altamente suscetível a ferrugem, o Bourbon foi amplamente cultivado no Brasil, pois sua precocidade de maturação favoreceu o seu cultivo em locais de maior altitude, situações em que, além de ser menos atacada pela ferrugem, apresenta maior potencial para produção de cafés de qualidade superior. Apresenta menor produtividade em relação às demais cultivares, e por isso, atualmente, é recomendada somente para cafeicultores que desejam obter um produto diferenciado em relação à qualidade de bebida e que possa agregar valor ao seu café na venda de cafés especiais (FAZUOLI et al., 2008).

Medina Filho et al. (2008) relataram que cultivares modernas e mais produtivas que os Bourbons podem, em condições comerciais, também produzir bebidas de excelente qualidade. Entretanto, parte dessa boa qualidade das cultivares modernas pode ser devido à própria constituição genética do Bourbon, que está presente em considerável proporção da composição genética das novas cultivares.

Alguns trabalhos têm sido realizados para avaliar o potencial de qualidade do Bourbon para a produção de cafés especiais (GIOMO et al., 2010; FERREIRA et al., 2012; FERREIRA et al., 2013 e FIGUEIREDO et al., 2013). Giomo et al. (2010) avaliaram o perfil sensorial de linhagens de Bourbon e cultivares comerciais a fim de verificar a existência de diferenças na sua qualidade de bebida. Estes autores encontraram em algumas linhagens de Bourbon Amarelo e Caturra Vermelho, aromas e sabores complementares, com nuances de chocolate, baunilha, caramelo, floral, avinhada e frutada, confirmando a alta qualidade sensorial dessas cultivares. Esses resultados indicam a possibilidade de selecionar genótipos superiores para qualidade da bebida visando atender a demanda do mercado de cafés especiais.

Ferreira et al. (2012) realizaram a análise sensorial de genótipos de Bourbon cultivados em duas regiões do Estado de Minas Gerais a fim de selecionar genótipos para a produção de cafés especiais. Os resultados obtidos por estes autores permitiram concluir que os genótipos de Bourbon possuem elevado potencial para a produção de cafés especiais e que existe diferença entre os genótipos de Bourbon estudados quanto à qualidade de bebida. Também a adaptabilidade e estabilidade fenotípica e outras características de interesse agrônômico de genótipos de Bourbon Vermelho e Bourbon Amarelo foram avaliados por Ferreira et al. (2013), visando selecionar os de melhor desempenho no Estado de Minas Gerais. Os autores verificaram que existe variabilidade genética dentro do grupo de Bourbon estudado e que os mesmos apresentaram produtividades satisfatórias em todos os locais avaliados.

Em estudos realizados por Figueiredo et al. (2013), foi avaliada a interação de genótipos de Bourbon e cultivares comerciais em diferentes ambientes. Neste trabalho, foram identificados grupos de genótipos de Bourbon mais promissores para a produção de cafés especiais em cada ambiente avaliado, comprovando o seu elevado potencial de qualidade de bebida.

Esses resultados evidenciam a necessidade de estudos genéticos e caracterização de genótipos de Bourbon em bancos de germoplasma visando à identificação de materiais genéticos com potencial para a produção de cafés especiais.

2.4. Cafés especiais

Os cafés especiais são caracterizados pela qualidade diferenciada, o qual é tanto mais valorizado quanto mais raras e exóticas forem suas características sensoriais (GIOMO & BORÉM, 2011). Estes cafés se destacam por algum atributo específico, processo de produção ou serviço a ele associado e diferenciam-se dos cafés comuns por características como qualidade superior da bebida, aspecto dos grãos, forma de colheita, tipo de preparo, história, origem dos plantios, cultivares e certificações, entre outras (SAES et al., 2001).

Segundo Giomo e Borém (2011), tais cafés apresentam alto padrão de qualidade e elevado potencial de expressão de aroma e sabor, não possuem qualquer tipo de defeito, obtendo no mínimo 80 pontos na escala de classificação de cafés especiais da Associação Americana de Cafés Especiais (SCAA), por apresentar um caráter distinto na xícara e ser notavelmente superior. Estes autores ainda relatam que a qualidade diferenciada dos cafés especiais está relacionada com a qualidade intrínseca dos grãos, a qual é determinada pela interação dos fatores genéticos, ambientais e do processamento, além da preferência do consumidor. Para Paiva (2005), um café é considerado especial quando apresenta alguma característica que os diferencie dos outros, como sabor remanescente floral, cítrico, achocolatado, entre outros, o que contribui para agregar valor ao produto.

De acordo com dados da BSCA (2013), o segmento de cafés especiais representa cerca de 12% do mercado internacional de café e a demanda por estes cafés cresce em torno de 15% ao ano, principalmente no exterior. O valor de venda atual para alguns cafés diferenciados tem um sobrepreço que varia entre 30% e 40% a mais em relação ao café cultivado de modo convencional, podendo chegar a 100% em alguns casos.

A demanda por cafés especiais no mercado mundial tem crescido significativamente nos últimos anos, indicando que os consumidores estão mais exigentes quanto à qualidade da bebida e, que são capazes de discernir as diferenças entre os tipos de café, incluindo origem, certificação e características sensoriais (GIOMO & BORÉM, 2011; CHAGAS et al., 2013). Em vista desse mercado, os produtores brasileiros têm demonstrado interesse por cultivares com potencial para produção de cafés especiais. Dessa forma, verifica-se a necessidade de um incentivo ao estudo de cultivares que apresentem elevado potencial para qualidade de bebida, visando à busca por novas características sensoriais e, sobretudo, a possibilidade de agregar valor aos cafés especiais brasileiros (CARVALHO et al., 2011).

2.5. Caracterização de germoplasma

A caracterização de germoplasma permite quantificar e utilizar a variabilidade genética disponível de forma eficiente. De modo geral, caracterizar um germoplasma significa basicamente identificar diferenças entre os acessos da coleção e estimular a utilização desses acessos em programas de melhoramento (FERREIRA et al., 2007). Desse modo, a caracterização busca avaliar a diversidade genética do germoplasma disponível, sendo uma ferramenta poderosa para acessar esse conhecimento. Assim, a caracterização permite o melhor manejo dos acessos e fornece subsídios para a conservação do germoplasma, bem como para a utilização em programas de melhoramento (DANTAS et al., 2012), como escolha eficiente dos parentais e definição das estratégias mais adequadas de melhoramento (FALEIRO, 2007). Além disso, permite verificar a necessidade de se coletar mais acessos ou incluir novos acessos oriundos de outros Bancos de Germoplasma, visando aumentar a variabilidade genética disponível (CUNHA, 2012). Também possibilita a identificação de duplicatas, estabelecimento de coleções nucleares e identificação do modo de reprodução predominante em determinada espécie (VALLS, 2007).

Para a caracterização de germoplasma são utilizados descritores morfológicos, bioquímicos e moleculares. Estes descritores devem ser de alta herdabilidade e de fácil mensuração. Tradicionalmente, a caracterização baseia-se em descritores morfológicos, os quais têm proporcionado grandes avanços no

conhecimento e organização das coleções de germoplasma (FERREIRA et al., 2007). No entanto, a caracterização morfológica é um processo demorado, baseia-se em características que podem ser influenciadas pelo ambiente, e geralmente não permite diferenciar genótipos muito próximos ou prever a identidade genética dos acessos com alta precisão (CERVERA et al., 1998). Além dessas limitações, vale ressaltar o baixo polimorfismo detectado e necessidade de tempo e recursos financeiros (FERREIRA et al., 2007). Deste modo, os marcadores moleculares vêm sendo utilizados como uma alternativa para auxiliar na caracterização e avaliação de germoplasma.

2.5.1. Marcadores moleculares

Marcadores moleculares são ferramentas úteis para detectar variações diretamente no genoma (CAIXETA et al., 2009), sendo amplamente utilizados na resolução de várias questões biológicas, operacionais e logísticas que afetam os bancos de germoplasma (FRANKEL et al., 1995).

Em Bancos de Germoplasma, os marcadores moleculares são comumente utilizados para identificar acessos duplicados, analisar a representatividade, avaliar a similaridade genética dos acessos e a riqueza alélica da coleção. Por fim, a utilização dos marcadores moleculares na caracterização molecular de germoplasma visa analisar a identidade genética dos acessos, verificando se cada acesso da coleção pode ser geneticamente diferenciado dos outros acessos (FERREIRA et al., 2007).

Existem vários tipos de marcadores moleculares e quase todos podem ser utilizados para a caracterização molecular de germoplasma, sendo os mais utilizados os RAPD, RFLP, AFLP, SSR e ISSR (WÜNSCH & HORMAZA, 2002). A escolha do tipo de marcador mais adequado para o estudo genético ou melhoramento depende de vários fatores, relacionados aos objetivos da pesquisa, recursos financeiros e infra-estrutura disponível (CIAMPI et al., 2007).

Dentre os vários tipos de marcadores moleculares utilizados para a caracterização molecular de germoplasma em diversas espécies cultivadas, merecem destaque os marcadores AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) e SSR (*Simple Sequence Repeats*). A técnica de AFLP permite a detecção de um maior

número de locos por ensaio, possibilitando uma ampla cobertura do genoma. Suas principais características são a alta especificidade, a boa reprodutibilidade e alto poder discriminatório, sendo possível a resolução de um grande número de fragmentos em um único gel (VOS et al., 1995; FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1995; CAIXETA et al., 2009). Além disso, essa metodologia pode ser usada em organismos para os quais não existem informações genéticas prévias. Os marcadores microssatélites, em geral, são codominantes, ou seja, todos os alelos de um indivíduo heterozigoto são visualizados, além de apresentarem natureza multialélica, alto nível de polimorfismo, alta reprodutibilidade e de serem bastante estáveis. Apesar das vantagens desse tipo de marcador, o seu uso ainda é restrito a algumas espécies, pois o desenvolvimento dos *primers* é um processo muito trabalhoso, caro, que exige pessoal especializado e equipamentos sofisticados (FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1995).

Estudos realizados por Ferrão et al. (2013) compararam a informatividade e eficiência de marcadores RAPD, SSR e AFLP na análise de 94 acessos de *C. Canephora*. Estes autores indicaram que os marcadores SSR e AFLP são os mais adequados para estudos genéticos de *C. canephora*. No entanto, para espécies intimamente relacionadas que apresentam base genética estreita e baixos níveis de polimorfismo, como é o caso da espécie *C. arabica*, recomendam os marcadores AFLP. Por este marcador molecular apresentar alta reprodutibilidade e ser capaz de detectar um grande número de locos polimórficos simultaneamente, com uma única combinação de *primers* e em um único gel. Estas características permitem a redução de custo e tempo para a realização do trabalho, principalmente quando se utiliza grande número de amostras.

2.5.2. Identificação genética dos acessos

Em Bancos de Germoplasma a correta identificação dos acessos é essencial para a sua conservação e utilização. Erros de identificação dificulta a troca de informações entre diferentes programas de melhoramento e aumenta o gasto de tempo e de recursos para a conservação e avaliação do potencial genético dos acessos (FALEIRO, 2007). Deste modo, a análise de *fingerprinting* usando marcadores

moleculares torna-se uma ferramenta poderosa para a identificação e correção de sinonímias, homonímias e erros na denominação de cultivares, além de possibilitar a identificação de acessos duplicados nas coleções.

A identificação genética dos acessos em bancos de germoplasma usando marcadores moleculares tem sido realizada em diversas espécies cultivadas, principalmente devido aos benefícios trazidos, como facilidade no gerenciamento e redução dos custos de manutenção. Em batata, McGregor et al. (2000) realizaram análise de *fingerprinting* em 39 acessos, com marcadores RAPD, ISSR, AFLP e SSR, os quais permitiram identificar individualmente cada acesso. Este trabalho comprovou a eficiência da técnica AFLP para análise de *fingerprinting*, evidenciando que esta técnica é a única que poderia distinguir todos os 39 acessos estudados. Em estudo com 20 acessos de batata conservados *in vitro*, analisou-se o polimorfismo de DNA com base em marcadores SSR (PERAZZO et al., 2000). O *fingerprinting* de DNA desses acessos foi comparado com o observado nos clones originais mantidos no campo. Os resultados mostraram que cinco acessos apresentaram diferenças em nível do DNA, revelando possíveis erros de identificação. Dentre estes, quatro acessos mostraram-se diferentes dos clones com base em dados morfológicos e moleculares e, um acesso apresentou diferenças no nível molecular, embora não mostraram diferenças morfológicas.

Faleiro et al. (2002) analisaram a identidade genética de acessos de cacau com marcadores RAPD, em diferentes bancos de germoplasma. Nesse trabalho, foi observada uma frequência de erros na identificação de acessos de 16,7%, sendo considerada elevada e maior do que o esperado.

Em mamoeiro, Ratchadaporn et al. (2007) realizaram análise de DNA *fingerprinting* em 30 cultivares de mamão coletadas em seis diferentes centros de pesquisa na Tailândia com marcadores AFLP. Os resultados obtidos mostraram que, apesar de terem sido formados seis grupos na análise de agrupamento, todas as cultivares foram geneticamente relacionadas e que a diversidade entre as cultivares não foi significativa.

Estudos realizados por Chakravarthi et al. (2006) objetivaram avaliar a diversidade genética e DNA *fingerprinting* em 15 genótipos elites de arroz utilizando 30 *primers* SSR. Neste estudo, as informações obtidas a partir da análise de DNA *fingerprinting* permitiu identificar e caracterizar nove variedades de arroz.

Leão (2008), utilizando marcadores SSR para gerar perfis genéticos (DNA *fingerprinting*) em 221 acessos de videira mantidos pela Embrapa Semi-Árido, identificou acessos cujos perfis alélicos coincidiam com referências de mesmo nome, acessos cujos perfis corresponderam ao de referência de nomes diferentes e acessos cujos perfis não corresponderam a nenhum perfil de referência disponível. Os resultados obtidos permitiram integrar os dados dos perfis moleculares às características morfo-agronômicas dos acessos. Dessa forma, foi possível estabelecer a correta identificação dos cultivares, reconhecer erros na denominação e identificar um grupo de acessos únicos cujos perfis não apresentaram correspondência com nenhuma referência das bases de dados internacionais.

Sorkheh et al. (2007) realizaram estudos para avaliar a diversidade genética e analisar o *fingerprinting* de DNA em cultivares de amêndoa e espécies selvagens, utilizando marcadores AFLP. Os resultados permitiram a identificação genética de todos os genótipos estudados e a análise de agrupamento permitiu diferenciar as cultivares e espécies selvagens de acordo com a sua origem.

Vieira et al. (2011) avaliaram 14 acessos de mandioca açúcaradas e não açúcaradas por meio de marcadores RAPD, revelando a existência de elevada variabilidade genética entre os acessos avaliados. Foi possível diferenciar os acessos açúcarados das cultivares locais não açúcaradas e das cultivares comerciais não açúcaradas.

A diversidade genética de genótipos de feijão carioca foi avaliada por Perseguini et al. (2011) utilizando marcadores SSR e AFLP. Os resultados obtidos mostraram que ambos os marcadores foram adequados. No entanto, os perfis de *fingerprinting* gerados com AFLPs foram mais rápidos, tornando-os a melhor escolha para avaliar a diversidade genética no germoplasma de feijão carioca.

2.5.3. Identificação de acessos duplicados

A identificação de duplicatas em coleções de germoplasma é uma atividade que permite realizar os trabalhos de forma racional, evitando a perda de tempo e de recursos financeiros para a manutenção e conservação dos recursos genéticos (VALLS, 2007). Essa identificação é necessária para facilitar a preservação da

coleção, evitar conclusões erradas nos trabalhos de pesquisa e possibilitar a troca de informações entre diferentes instituições de pesquisa (YAMADA et al., 2004). Por outro lado, a ocorrência de acessos duplicados em bancos de germoplasma encarece e dificulta a manutenção adequada dos materiais genéticos, gerando problemas relacionados à organização e acesso ao recurso genético (BEUSELINCK & STEINER, 1992). É importante ressaltar que, a identificação de duplicatas é considerada uma importante etapa para o estabelecimento de uma coleção nuclear que represente, com confiabilidade, a variabilidade genética disponível de uma determinada espécie, com o mínimo de redundância, possibilitando aos melhoristas melhor condução dos trabalhos e tornando o germoplasma mais acessível (FERREIRA, et al., 2011).

Vários trabalhos de caracterização molecular têm sido realizados em diversas espécies, com o intuito de eliminar acessos duplicados em banco de germoplasma. Em arroz, a identificação de acessos duplicados em uma coleção de germoplasma foi realizada por Virk et al. (1995), utilizando marcadores RAPD. Estes autores verificaram que 86 marcadores RAPD podem ser suficientes para designar dois acessos de arroz como geneticamente idênticos com 99% de confiabilidade. Estudos realizados por Ferreira et al. (2011) demonstraram a eficiência de marcadores RAPD e SSR na identificação de acessos duplicados de mandioca. Os autores utilizaram estes marcadores de forma a permitir a manutenção dos acessos representativos do banco e com isso facilitar as tarefas de armazenamento e intercâmbio de materiais entre instituições nacionais e internacionais. Também Moura et al. (2013) identificaram acessos duplicados em germoplasma de mandioca utilizando marcadores SSR. Estes autores verificaram que, entre os acessos duplicados, existem acessos coletados em diferentes anos e lugares, mas com nomes diferentes e acessos com o mesmo nome coletados em diferentes locais e anos.

Dean et al. (1999) identificaram redundância genética em coleções de germoplasma de sorgo, utilizando marcadores SSR. Foram encontrados dois grupos de acessos redundantes entre os genótipos de sorgo avaliados. Este estudo demonstrou que marcadores microssatélites podem ser utilizados de forma eficiente na avaliação da variação de acessos de sorgo.

Trabalhos realizados por McGregor et al. (2002) comprovaram a eficiência dos marcadores AFLP na verificação da classificação taxonômica e identificação de

redundâncias em germoplasma selvagem de batata. Também trabalhos realizados por Favoretto et al. (2011) identificaram duas possíveis duplicatas em 38 acessos de batata por meio de marcadores SSR.

2.5.4. Diversidade genética

A caracterização molecular oferece tecnologias capazes de amostrar a diversidade genética em diferentes regiões do genoma de interesse, sem influência do ambiente e, dessa forma, gerar informações precisas sobre a variabilidade genética (FERREIRA et al., 2007). Essas informações são fundamentais nas diversas etapas da conservação de germoplasma, como coleta, conservação, manutenção e manejo das coleções, além de facilitar a utilização dos recursos genéticos em programas de melhoramento (FALEIRO, 2007).

Em café, alguns trabalhos de caracterização molecular têm sido realizados visando à detecção da variabilidade genética para o melhoramento. A diversidade genética de cultivares de café arábica e espécies diplóides (*C. canephora* e *C. liberica*) foi avaliada por Steiger et al. (2002), por meio de marcadores AFLP. Estes autores verificaram que as diferenças entre as cultivares em nível de DNA foram pequenas. No entanto, trabalhos realizados por Ruggiero et al. (2005) também utilizando marcadores AFLP, permitiram diferenciar cultivares de café arábica em pelo menos 10% do total de bandas polimórficas utilizadas para as análises. Dessalegn et al. (2008) avaliaram o nível de relações genéticas entre genótipos de café arábica da Etiópia, utilizando marcadores AFLP. Estes autores verificaram que todos os genótipos foram distinguidos e que estes não foram agrupados de acordo com a região de coleta, demonstrando a diversidade de recursos genéticos dentro de cada região.

A confiabilidade de três tipos de marcadores moleculares, RAPD, AFLP e SSR, foi comparada por Maluf et al. (2005) para a caracterização da variabilidade genética e uma possível identificação de linhagens comerciais de *Coffea*. Apesar das técnicas avaliadas permitirem identificar polimorfismos entre as cultivares, a variabilidade genética detectada por esses marcadores foi muito semelhante e reduzida. Verificou-se também, que nenhum dos métodos testados foi capaz de

identificar individualmente as linhagens. No entanto, Missio et al. (2011) estudando a diversidade genética de acessos de café arábica por meio de marcadores gSSR (SSR oriundos de região genômica) e EST-SSR (SSR oriundos de sequências expressas), conseguiram diferenciar todos os genótipos incluindo acessos de café arábica geneticamente relacionados. Estes autores identificaram alelos exclusivos indicando-os para discriminação de acessos e *fingerprinting* de variedades de café. Também trabalhos realizados por Anthony et al. (2002) demonstraram que marcadores AFLP e SSR foram capazes de diferenciar cultivares de café arábica derivadas de Típica e Bourbon. No entanto, os resultados confirmaram a baixa variação genética dentro desse grupo. Hue (2005) analisou a variação genética entre e dentro de variedades de café arábica utilizando marcadores RAPD, ISSR, SSR e AFLP. Os resultados obtidos permitiram verificar que os marcadores RAPD e ISSR não fizeram distinção intra-varietal, enquanto que os SSR e AFLP revelaram o grau de variabilidade genética e da relação entre os indivíduos entre e dentro das variedades de café.

Geleta et al. (2012), avaliando germoplasma da Nicarágua por meio de marcadores SSR, verificaram maior diversidade genética em cafeeiros do grupo Catimor. Cerca de 87% da variação genética total foi observada dentro das populações, considerando 260 plantas individuais de 26 populações. A variação entre populações também foi significativa, o que demonstra a necessidade de incorporação de cafeeiro do grupo Catimor em programas de melhoramento.

Trabalhos realizados por Missio et al. (2009) demonstraram a eficiência de marcadores EST-SSR na avaliação da diversidade genética de acessos e cultivares aparentadas de *C. arabica* e híbridos interespecíficos como Híbrido de Timor (*C. arabica* e *C. canephora*). Estes autores identificaram acessos de Híbrido de Timor mais distantes de *C. arabica*, os quais podem ser utilizados para ampliar a base genética nos programas de melhoramento. Também Setotaw et al. (2010), estudando a diversidade genética e estrutura genética de acessos de Híbrido de Timor por meio de marcadores AFLP, RAPD e SSR, verificaram alta variabilidade genética entre os acessos, sendo determinada a estrutura genética dos mesmos. Os resultados obtidos podem ser utilizados na escolha de genitores e para a manutenção do germoplasma disponível.

Em *C. canephora*, a diversidade genética foi analisada por Prakash et al. (2005) por meio de marcadores AFLP e SSR. Os resultados obtidos demonstraram que ambos os marcadores foram capazes de gerar *fingerprinting* para cada um dos acessos analisados. A informatividade e eficiência de marcadores RAPD, SSR e AFLP na análise de 94 acessos de *C. canephora* foram comparadas por Ferrão et al. (2013). Estes autores indicaram que os marcadores SSR e AFLP são os mais adequados para estudos genéticos de *C. canephora*.

Estes resultados demonstram que os marcadores moleculares são úteis na identificação e caracterização de acessos em Bancos de Germoplasma de café, permitindo aos programas de melhoramento elaborar um banco de dados moleculares. Este banco será de grande utilidade para intercâmbio de informações entre germoplasma e ações de melhoramento.

2.6. Melhoramento genético do cafeeiro e qualidade de bebida

O cafeeiro foi introduzido no Brasil, em 1727, as primeiras plantas introduzidas foram da espécie *C. arabica*, sendo posteriormente denominada de Típica. Essa cultivar foi responsável pelo grande desenvolvimento inicial da cafeicultura brasileira. Algumas mutações na cultivar Típica deram origem as cultivares Amarelo de Botucatu e Maragogipe. Com a necessidade de ampliar as opções de cultivares com maior produtividade, foi introduzida a cultivar Bourbon Vermelho, originária da Ilha de Reunião (Antiga Bourbon), considerada de boa qualidade e elevada produtividade. A cultivar Bourbon Amarelo tem a sua origem pouco conhecida, acredita-se que pode ter sido originada de uma mutação do Bourbon Vermelho ou surgido do cruzamento natural entre o Bourbon Vermelho e Amarelo de Botucatu (CARVALHO et al., 2011). Outra introdução foi a cultivar Sumatra proveniente da Ilha de Sumatra. Sua maior contribuição foi ter participado do cruzamento natural com Bourbon Vermelho resultando na cultivar Mundo Novo. Uma das mais importantes mutações para a cafeicultura brasileira ocorreu no Bourbon Vermelho, originando a cultivar Caturra, que apresenta porte reduzido. A hibridação realizada entre Caturra Amarelo e Mundo Novo deu origem as cultivares Catuaí Amarelo e Catuaí Vermelho, que reuniram as características de rusticidade e

produção do Mundo Novo e o porte reduzido da Caturra. Atualmente, no Brasil, as cultivares Catuaí Vermelho e Catuaí Amarelo, juntamente com Mundo Novo, são as mais plantadas, existindo um grande número de linhagens melhoradas destes materiais (SAKIYAMA et al., 2005).

Por muitos anos, os principais objetivos do melhoramento genético do cafeeiro no Brasil foram o desenvolvimento de cultivares com alta produtividade, vigor e resistente a pragas ou doenças, sem grandes preocupações com a qualidade da bebida (MEDINA FILHO et al., 2008; GIOMO & BORÉM, 2011). Entretanto, nos últimos anos, a crescente demanda do mercado nacional e internacional por cafés de qualidade de bebida superior, tem despertado o interesse dos melhoristas para o desenvolvimento de cultivares que atendam a esse exigente mercado (OLIVEIRA et al., 2009).

O melhoramento genético para qualidade de bebida é um processo trabalhoso, pois essa característica é altamente afetada por outros fatores, além do genético, como incidência de pragas e doenças, altitude, práticas culturais, colheita, pós-colheita, preparo e conservação do grão, torração e preparo da infusão (MEDINA FILHO, et al., 2008; CARVALHO et al., 2011). No entanto, existe a possibilidade de melhorar a qualidade do café por meio do melhoramento genético, uma vez que, a expressão máxima de qualidade é determinada pela constituição genética da cultivar, desde que respeitadas às influências dos outros fatores que atuam no processo (MEDINA FILHO; BORDIGNON, 2003).

Dessa forma, a qualidade de bebida do café é uma característica complexa que depende de uma série de fatores, entre os quais se destaca a composição química do grão, determinada por fatores genéticos, ambientais e culturais e, principalmente pela interação entre eles (CHAGAS et al., 2005; PEREIRA et al., 2010). Segundo Figueiredo et al. (2013), a qualidade e a aceitabilidade do café dependem da composição química dos grãos que, após a torra, proporcionam aroma, sabor, acidez, doçura e amargor à bebida. Para Malavolta (2000), citado por Pereira et al. (2010), a qualidade do café pode ser definida como um conjunto de características sensoriais da bebida ou do grão que agregam valor comercial ao produto.

Outro fator a ser considerado na qualidade da bebida é a sua espécie, devido existir grandes diferenças entre as duas espécies mais cultivadas em todo o mundo, *Coffea arabica* L. e *Coffea Canephora* Pierre & Froehner, conhecidas como café

arábica e robusta, respectivamente (PEREIRA et al., 2010). Dentre estas, o café arábica apresenta melhor qualidade de bebida, com mais aroma e sabor e, portanto, mais valorizado no mercado. Entretanto, existem diferenças de sabor entre cultivares de café arábica, e essas, ocorrem devido as diferenças na constituição genética das plantas, a qual determina a manifestação de precursores de sabor e aroma distintos entre diferentes cultivares (MEDINA FILHO, 2007). Desse modo, a origem genética do café é tão decisiva na qualidade da bebida quanto os cuidados com a produção, do plantio à mesa do consumidor (LOPES, 2000; LEROY et al., 2006).

Uma cultivar quando apresenta predisposição genética para produzir cafés diferenciados, mesmo cultivada em diferentes ambientes, poderá apresentar melhor qualidade de bebida. Ainda que ocorram variações de intensidade em algumas características sensoriais, a cultivar continuará sendo reconhecida pelo seu sabor e aroma característico, inerente à sua própria constituição genética (GIOMO & BORÉM, 2011).

Vale ressaltar que, o conhecimento do potencial de diferentes cultivares para produção de cafés de qualidade é indispensável para dar suporte aos programas de melhoramento do cafeeiro. Uma vez que, essas informações poderão contribuir para a seleção de genitores portadores de alelos favoráveis ao melhoramento, para a produção de cafés especiais (MENDONÇA et al., 2005; CARVALHO et al., 2011).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANTHONY, F.; COMBES, M. C.; ASTORGA, C.; BERTRAND, B.; GRAZIOSI, G.; LASHERMES, P. The origin of cultivated Coffea Arabica L. varieties revealed by AFLP and SSR markers. **Theor Appl Genet**, v. 104, n. 5, p. 894–900, 2002.

ARAÚJO, M.C. **Uma coleção nuclear de pupunha na Amazônia**. 2008. 92 p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2008.

ASHLEY, D. Preservation of genetic diversity and accession integrity. **Field Crops Research**, v.29, n.3, p. 205-224, 1992.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CAFÉS ESPECIAIS. O que são cafés especiais. Disponível em: <http://bsca.com.br/cafes-especiais.php>. Acesso em: 10 nov. 2013.

AZEVEDO, V. C. R. **Manual de curadores de germoplasma – vegetal: Caracterização molecular**. Brasília, DF: Embrapa Recursos genéticos e biotecnologia. 2010, 17p.

BEUSELINCK, P. R.; STEINER, J.J. A proposed framework for identifying, quantifying, and utilizing plant germplasm resources. **Field Crops Research**, v. 29, n.3, p. 261-272, 1992.

BORÉM, A. Variabilidade genética. In: BORÉM, A. **Melhoramento de plantas**. 2 ed. Viçosa: UFV, 1999.

BRITO, G. G.; CAIXETA, E. T.; GALLINA, A. P.; ZAMBOLIM, E. M.; ZAMBOLIM, L.; DIOLA, V.; LOUREIRO, M. E. 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.

BROWN, A.H.D. The case for core collections. In: BROWN, A.H.D. et al. (Ed.). **The use of plant genetic resources**. New York: Cambridge University, 1989. p. 136-156.

BROWN, A.H.D.; SPILLANE, C. Implementing core collections principles procedures, progress, problems and promise. In: JOHNSON, R.C.; HODGKIN, T. (Ed.). **Core collection for today and tomorrow**. Rome: IPGRI, 1999. p. 1-9.

CARVALHO, G. R.; REZENDE, J. C.; BOTELHO, C. E.; FERREIRA, A. D.; PEREIRA, A. A.; OLIVEIRA, A. C. B. Melhoramento genético do café visando à qualidade de bebida. **Informe Agropecuário**. Belo Horizonte, v. 32, n. 261, p. 30-38, 2011.

CAIXETA, E. T.; OLIVEIRA, A. C. B.; BRITO, G. G.; SAKIYAMA, N. S. Tipos de marcadores moleculares. In: BORÉM, A.; CAIXETA, E. T. (Ed.). **Marcadores moleculares**. Viçosa: UFV. 2006. p. 9-78.

CERVERA, M. T.; CABEZAS, J. A.; SANCHA, J. C.; TODA, F. M.; MARTÍNEZ-ZAPATER, J. M. Application of AFLPs to the characterization of grapevine *Vitis vinifera* L. genetic resources. A case study with accessions from Rioja (Spain). **Theor Appl Genet**, v. 97, n. 1-2, p. 51-59, 1998.

CHAGAS, E. N.; MORAIS, A. R.; CIRILLO, M. A.; FIGUEIREDO, L. P.; BORÉM, F. M. Selection of robust estimator used in analysis of sensory characteristics and identification of environments conducive to specialty coffee production. **Advanced Crop Science**, v. 3. n. 8, p. 515-524, 2013.

CHAGAS, S. J. R.; MALTA, M. R.; PEREIRA, R. G. F. A. Potencial da região sul de Minas Gerais para a produção de cafés especiais (I – atividade da polifenoloxidase, condutividade elétrica e lixiviação de potássio). **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 29, n. 3, p. 590-597, 2005.

CHAKRAVARTHI, B. K.; NARAVANENI, R. SSR marker based DNA fingerprinting and diversity study in rice (*Oryza sativa*. L). **African Journal of Biotechnology**, v. 5, n. 9, p. 684-688, 2006.

CIAMPI, A.Y.; VINSON, C.C.; GAIOTTO, F.A. Estimativa da diversidade genética em arbóreas nativas tropicais utilizando microssatélites. In: NASS, L.L. (ed.). **Recursos genéticos vegetais**. Brasília, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007, p. 421-440.

CLEMENTE, C.; ROCHA, S.F.R.; COLE, D.M.; VIVAN J.L. Conservação *on farm*. In: Nass, L.L. (Ed.) **Recursos Genéticos Vegetais**. Brasília: Embrapa, 2007. p. 511-543.

CORDEIRO, C. M. T.; ABADIE, T. Coleções nucleares. In: NASS, L.L. (ed.). **Recursos genéticos vegetais**. Brasília, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007, p. 575-604.

CUNHA, C. P. Desenvolvimento de marcadores microssatélites e caracterização da diversidade genética molecular de acessos de alho (*Allium sativum*). 2011. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

DANTAS, A.C.A.; NUNES, G.H.S.; ARAÚJO, I.S.; ALBUQUERQUE, L.B. Caracterização molecular de acessos de melão coletados no nordeste brasileiro. **Rev. Bras. Frutic.**, Jaboticabal - SP, v. 34, n. 1, p. 183-189, 2012.

DEAN, R. E.; DAHLBERG, J. A.; HOPKINS, M. S.; MITCHELL, S. E.; KRESOVICH, S. Genetic Redundancy and Diversity among ‘Orange’ Accessions in the U.S. National Sorghum Collection as Assessed with Simple Sequence Repeat (SSR) Markers. **Crop Sci**, v. 39, n. 4, p. 1215–1221, 1999.

DESSALEGN, Y.; HERSELMAN, L.; LABUSCHAGNE, M. T. AFLP analysis among Ethiopian arabica coffee genotypes. **African Journal of Biotechnology**, v. 7 n. 18, p. 3193-3199, 2008.

DINIZ, L. E. C.; SAKIYAMA, N. S.; LASHERMES, P.; CAIXETA, E. T.; OLIVEIRA, A. C. B.; MACIEL-ZAMBOLIM, E.; LOUREIRO, M. E.; PEREIRA, A. A.; ZAMBOLIM, L. Analysis of AFLP markers associated to the Mex-1 resistance locus in Icatu progenies. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.5, n. 4, p.387-393, 2005.

EMANUELLI, F.; LORENZI, S.; GRZESKOWIAK, L.; CATALANO, V.; STEFANINI, M.; TROGGIO, M.; MYLES, S.; MARTINEZ-ZAPATER, J. M.; ZYPRIAN, E.; MOREIRA, F. M.; GRANDO, M. S. Genetic diversity and population structure assessed by SSR and SNP markers in a large germplasm collection of grape. **BMC Plant Biology**, v. 13, n. 1, p. 39, 2013.

FALEIRO, F. G.; YAMADA, M. M.; LOPES, U. V.; FALEIRO, A. S. G.; BAHIA, R. C. S.; GOMES, L. M. C.; SANTOS, R. C.; SANTOS, R. F. Genetic similarity of *Theobroma cacao* L. accessions maintained in duplicate at the cacao research center germplasm collection based on RAPD markers. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 2, n. 3, p. 439-444, 2002.

FALEIRO, F. G. **Marcadores genéticos-moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos**. Embrapa, Planaltina. 2007. 102p.

FAVORETTO, P.; VEASEY, E. A.; MELO, P. C. T. Molecular characterization of potato cultivars using SSR markers. **Horticultura Brasileira**, v. 29, n.4, p. 542-547, 2011.

FAZUOLI, L. C.; CARVALHO, C. H. S.; CARVALHO, G. R.; GUERREIRO FILHO, O.; PEREIRA, A. A.; BARTHOLO, G. F.; MOURA, W. M.; SILVAROLLA, M. B.; BRAGHINI, M. T. Cultivares de café arábica de porte alto. In: CARVALHO, C. H. S. **Cultivares de café: origem, características e recomendações**. Brasília: Embrapa Café, 2008.

FERRÃO, L. F. V., CAIXETA, E. T., SOUZA, F. D. F., ZAMBOLIM, E. M., CRUZ, C. D., ZAMBOLIM, L., SAKIYAMA, N. S. Comparative study of different

molecular markers for classifying and establishing genetic relationships in *Coffea canephora*. **Plant Systematics and Evolution**, v. 299, n. 1, p. 225-238, 2013.

FERREIRA, M. E. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análises genéticas**. Brasília – DF: Embrapa – Cenargen. 1995, 220p.

FERREIRA, M. E.; MORETZSOHN, M. C.; BUSO, G. S. C. Fundamentos de caracterização molecular de germoplasma vegetal. In: NASS, L.L. (ed.). **Recursos genéticos vegetais**. Brasília, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007, p. 377-420.

FERREIRA, C. F.; SOUZA, R. M. S.; SILVA, P. H.; LEDO, C. A. S. Uso de marcadores RAPD e SSR na detecção de acessos duplicados de mandioca (*manihot esculenta* crantz). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MANDIOCA. Mandioca: fonte de alimento e energia. Anais. Maceió: ABAM: SBM, 2011.

FERREIRA, A. D.; MENDES, A. N. G.; CARVALHO, G. R.; BOTELHO, C. E.; GONÇALVES, F. M. A.; MALTA, M. R. Análise sensorial de diferentes genótipos de cafeeiros bourbon. **Interciencia**, v. 37, n. 5, p. 390-394, 2012.

FERREIRA, A. D.; CARVALHO, G. R.; REZENDE, J. C.; BOTELHO, C. E.; REZENDE, R. M.; CARVALHO, A. M. Desempenho agrônômico de seleções de café Bourbon Vermelho e Bourbon Amarelo de diferentes origens. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 4, p. 388-394, 2013.

FIGUEIREDO, L. P.; BORÉM, F. M.; CIRILLO, M. Â.; RIBEIRO, F. C.; GIOMO, G. S.; SALVA, T. J. G. The Potential for High Quality Bourbon Coffees From Different Environments. **Journal of Agricultural Science**, v. 5, n. 10, p. 87, 2013.

FRANKEL, O. H.; BROWN, A. H. D.; BURDON, J. J. The conservation of plant biodiversity. Cambridge: Cambridge University Press, 1995. 229 p.

GELETA, M.; HERRERA, I.; MONZÓN, A.; BRYNGELSSON, T. Genetic Diversity of Arabica Coffee (*Coffea arabica* L.) in Nicaragua as Estimated by Simple Sequence Repeat Markers. **The Scientific World Journal**, 2012.

GIOMO, G. S.; BORÉM, F. M.; FAZUOLI, L. C.; MISTRO, J. C. Beverage Quality Potential of Bourbon Selections for Specialty Coffee Production in Brazil. In: **INTERNATIONAL CONFERENCE ON COFFEE SCIENCE**. 2010.

GIOMO, G. S.; BORÉM, F. M. Cafés especiais no Brasil: opção pela qualidade. **Informe Agropecuário**. Belo Horizonte, v.32, n. 261, p. 7-16, 2011.

GIOMO, G. S.; MISTRO, J. C.; FAZUOLI, L. C.; MANTOVANI, E. S. Qualidade de Grãos de Bourbon Amarelo para Produção de Cafés Especiais. In: **VII Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil**. Araxá, MG, 2011.

HUE, T. T. M. (2005). Genetic variation in cultivated Coffee (*coffea arabica* L.) Accessions in Northern new south wales, australia. Masters thesis, **Southern Cross University**, Lismore, NSW.

KAGA, A.; SHIMIZUL, T.; WATANABE, S.; TSUBOKURA, Y.; KATAYOSE, Y.; HARADA, K.; VAUGHAN, D. A.; TOMOOKA, N. Evaluation of soybean germplasm conserved in NIAS genebank and development of mini core collections. **Breeding Science**, v. 61, n. 5, p. 566–592, 2012.

LEÃO, P. C. S. Recursos genéticos de videira (*Vitis* spp.): Análise da diversidade e manejo da coleção de germoplasma da Embrapa Semi-árido. 2008. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2008.

LEROY, T., RIBEYRE, F., BERTRAND, B., CHARMETANT, P., DUFOUR, M., MONTAGNON, C., PIERRE, M., POT, D. Genetics of coffee quality. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 18, n. 1, p. 229-242, 2006.

LOPES, L. M. V. Avaliação da qualidade de grãos crus e torrados de cultivares de cafeeiro (*Coffea arabica* L.). 2000. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.

MALAVOLTA, E. **História do café no Brasil**: agronomia, agricultura e comercialização. São Paulo: Ceres, 2000.

MALUF, M. P.; SILVESTRINI, M.; RUGGIERO, L. M. C.; OLIVEIRO GUERREIRO FILHO; COLOMBO, C. A. (2005). Genetic diversity of cultivated coffee arabica inbred lines assessed by rapd, aflu and ssr marker systems. **Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.)**, v.62, n.4, p.366-373.

MCGREGOR, C.E.; LAMBERT, C.A.; GREYLING, M.M.; LOUW, J.H.; WARNICH, L. A comparative assessment of DNA fingerprinting techniques (RAPD, ISSR, AFLP and SSR) in tetraploid potato (*Solanum tuberosum* L.) germplasm. **Euphytica**, v. 113, n. 2, p. 135–144, 2000.

MCGREGOR, C.E.; VAN TREUREN, R.; HOEKSTRA, R.; VAN HINTUM, TH.J.L.

Analysis of the wild potato germplasm of the series Acaulia with AFLPs: implications for ex situ conservation. **Theor Appl Genet**, v. 104, n. 1, p. 146–156, 2002.

MEDINA FILHO, H. P.; BORDIGNON, R. A qualidade e a genética do café. **O Agrônômico**, Campinas, v. 55, n. 2, 2003.

MEDINA FILHO, H. P. A. A qualidade do café e o melhoramento genético clássico. In: SALVA, T. J. G. et al. (Ed.). **Cafés de qualidade**: aspectos tecnológicos científicos e comerciais. Campinas: IAC, 2007. p. 219-236.

MEDINA FILHO, H. P.; BORDIGNON, R.; CARVALHO, C. H. S. Desenvolvimentos de novas cultivares de café arábica. In: CARVALHO, C. H. S.

Cultivares de café: origem, características e recomendações. Brasília: Embrapa Café, 2008.

MENDONÇA, L. M. V. L.; PEREIRA, R. G. F. A.; MENDES, A. N. G. Parâmetro bromatológicos de grãos crus e torrados de cultivares de café (*Coffea arabica* L.). **Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, 2005.

MISSIO, R. F.; CAIXETA, E. T.; ZAMBOLIM, E. M.; PENA, G. F.; RIBEIRO, A. P.; ZAMBOLIM, L.; PEREIRA, A. A.; SAKIYAMA, N. S. Assessment of est-ssr markers for genetic analysis on coffee. **Bragantia**, Campinas, v.68, n.3, p.573-581, 2009.

MISSIO, R. F., CAIXETA, E. T., ZAMBOLIM, E. M., PENA, G. F., ZAMBOLIM, L., DIAS, L. A. S., SAKIYAMA, N. S. Genetic characterization of an elite coffee germplasm assessed by gSSR and EST-SSR markers. **Genet Mol Res**, v.10, n. 4, p. 2366-2381, 2011.

MOURA, E. F.; FARIAS NETO, J. T.; SAMPAIO, J. E.; SILVA, D. T.; RAMALHO, G. F. Identification of duplicates of cassava accessions sampled on the North Region of Brazil using microsatellite markers. **Acta Amazonica**, v. 43, n. 4, p. 461 – 468, 2013.

OLIVEIRA, A. C. B.; PEREIRA, A. A.; SILVA, F. L.; REZENDE, J. C.; BOTELHO, C. E.; CARVALHO, G. R. Ganhos pela seleção de progênies oriundas de combinações genéticas visando à produção de cafés especiais. In: **VI Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil**. 2009.

OLIVEIRA, A. C. B.; MALUF, M. P. Diversidade em *Coffea sp.* O Agrônomo, Campinas, v. 59, n. 1, 2007.

PAIVA, E. F. F. **Análise sensorial dos cafés especiais do Estado de Minas Gerais**. 2005. 55p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

PEREIRA, M. C.; CHALFOUN, S. M.; CARVALHO, G. R. D.; SAVIAN, T. V. Multivariate analysis of sensory characteristics of coffee grains (*Coffea arabica* L.) in the region of upper Paranaíba. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 32, n. 4, p. 635-641, 2010.

PEREIRA, A. A., SILVA, F. L. D., OLIVEIRA, A. C. B. D., OLIVEIRA, A. L. D., SAKIYAMA, N. S., REZENDE, J. C. D., BOTELHO, C. E., CARVALHO, G. R., BONOMO, V. S. (2011). Caracterização da qualidade de bebida e outras características de acessos do banco de germoplasma de café de minas gerais. In: VII Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, Araxá – MG.

PERAZZO, G.; PANTA, A.; RODRIGUEZ, F.; GOMEZ, R.; TOLEDO, J.; HUAMÁN, Z.; GHISLAIN, M.; GOLMIRZAIIE, A. M.; ROCA, W. Clonal True-to-Type Verification of Potato Accessions Retrieved from In Vitro Conservation and Cryopreservation. **Scientist and farmer: Partners in research for the 21st century. Program Report**, v. 2000, p. 175-183, 1999.

PERSEGUINI, J. M. K. C.; CHIORATTO, A. F.; ZUCCHI, M. I.; COLOMBO, C. A.; CARBONELL, S. A. M.; MONDEGO, J. M. C.; GAZAFFI, R.; GARCIA, A. A. F.; CAMPOS, T.; SOUZA, A. P.; RUBIANO, L. B. Genetic diversity in cultivated carioca common beans based on molecular marker analysis. **Genetics and Molecular Biology**, v. 34, n. 1, p. 88-102, 2011.

PESTANA, K.N. Caracterização fenotípica e molecular da resistência do cafeeiro híbrido de Timor a *Hemileia vastatrix*. 2010. 72f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2010.

PRAKASH, N. S.; COMBES, M. C.; DUSSERT, S.; NAVEEN, S.; LASHERMES, P. Analysis of genetic diversity in Indian robusta coffee genepool (*Coffea canephora*) in comparison with a representative core collection using SSRs and AFLPs. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 52, p. 333-343, 2005.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; PINTO, C. A. B. P. **Genética na agropecuária**. V. 2, Lavras: Editora UFLA, 2008. 464p.

RAO, N. K. Plant genetic resources: Advancing conservation and use through biotechnology. **African Journal of Biotechnology**, v. 3, n. 2, p. 136-145, 2004.

RATCHADAPORN, J.; SUREEPORN, K.; KHUMCHA, U. An analysis on DNA Fingerprints of thirty papaya cultivars (*Carica papaya* L.) grown in Thailand with the use of amplified fragment length polymorphisms technique. **Journal of Biological Sciences**, v. 10, n. 18, p. 3072-3078, 2007.

RUGGIERO, L. M. C.; COLOMBO, C.; MALUF, M. P.; GUERREIRO FILHO, O. Caracterização molecular de variedades-elite de *Coffea arábica* L. através de marcadores AFLP. II Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, 2005.

SAES, M. S. M.; SOUZA, M. C. M.; SPERS, E. E. Diagnóstico sobre o sistema agroindustrial de cafés especiais e qualidade superior do estado de Minas Gerais. São Paulo: Sebrae, 2001. 152 p.

SAKIYAMA, N.S.; PEREIRA, A.A.; MOURA, W.M.; ZAMBOLIM, L. Melhoramento do café arábica. In: Borém, A. (ed.). Melhoramento de espécies cultivadas. Viçosa: Ed. UFV, 2005.

SANTOS-GARCIA, M. O.; TOLEDO-SILVA, G.; SASSAKI, R. P.; FERREIRA, T. H.; RESENDE, R. M. S.; CHIARI, L.; KARIA, C. T.; CARVALHO, M. A.; FALEIRO, F. G.; ZUCCHI, M. I.; SOUZA, A. P. Using genetic diversity information to establish core collections of *Stylosanthes capitata* and *Stylosanthes macrocephala*. **Genetics and Molecular Biology**, v. 35, n. 4, p. 847-861, 2012.

SETOTAW, T. A., CAIXETA, E. T., PENA, G. F., ZAMBOLIM, E. M., PEREIRA, A. A., & SAKIYAMA, N. S. 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., OLIVEIRA, A. C. B., CRUZ, C.D., ZAMBOLIM, E. M., ZAMBOLIM, L., SAKIYAMA, N. S. Coefficient of parentage in *Coffea arabica* L. cultivars grown in Brazil. **Crop Science**, v. 53, n. 4, p. 1237-1247, 2013.

SORKHEH, K.; SHIRAN, B.; GRADZIEL T. M.; EPPERSON, B. K.; MARTÍNEZ-GÓMEZ, P.; ASADI, E. Amplified fragment length polymorphism as a tool for molecular characterization of almond germplasm: genetic diversity among cultivated genotypes and related wild species of almond, and its relationships with agronomic traits. **Euphytica**, v. 156, n. 3, p. 327-344, 2007.

STEIGER, D. L.; · NAGAI, C.; · MOORE, P. H.; MORDEN, C. W.; · OSGOOD, R. V.; MING, · R. AFLP analysis of genetic diversity within and among *Coffea arabica* cultivars. **Theor Appl Genet**, v. 105, n. 2-3, p. 209–215, 2002.

VALLS, J. F. M. Caracterização de recursos genéticos vegetais. In: NASS, L.L. (ed.). **Recursos genéticos vegetais**. Brasília, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007, p. 281-305.

VASCONCELOS, E. S.; CRUZ, C. D.; SILVA, D. J. H.; BHERING, L. L. Tamanho de coleção original, métodos de agrupamento e amostragem para obtenção de coleção nuclear de germoplasma. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 45, n. 12, p. 1448-1455, 2010.

VIEIRA, E. A.; FIALHO, J. F.; SILVA, M. S.; FUKUDA, W. M. G.; FALEIRO, F. G. Variabilidade genética do banco de germoplasma de mandioca da Embrapa cerrados acessada por meio de descritores morfológicos. **Científica**, v.36, n.1, p.56 - 67, 2008.

VIEIRA, E. A.; FIALHO, J. F.; FALEIRO, F. G.; BELLON, G.; FONCECA, K. G.; CARVALHO, L. J. C. B. Caracterização molecular de acessos de Mandioca açucarados e não açucarados. **Ciênc. agrotec.**, v. 35, n. 3, p. 455-461, 2011.

VIRK, R S.; NEWBURY, H. J.; JACKSON, M. T.; FORD-LLOYD, B. V. The identification of duplicate accessions within a rice germplasm collection using RAPD analysis. **Theor Appl Genet**, v. 90, n. 7-8, p.1049-1055, 1995.

VOS, P.; HOGERS, R.; BLEEKER, M.; REIJANS, M.; LEE, T. V.; HORNES, M.; FRIJTERS, A.; POT, J.; PELEMAN, J.; KUIPER, M.; ZABEAU, M. AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. **Nucleic Acids Research**, v. 23, n. 21, p. 4407-4414, 1995.

WETZEL, M.M.V.S.; FERREIRA, F. R. Sistema de curadorias de germoplasma. In: NASS, L.L. (ed.). Recursos genéticos vegetais. Brasília, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007, p. 121-144.

WÜNSCH, A.; HORMAZA, J.I. Cultivar identification and genetic fingerprinting of temperate fruit tree species using DNA markers. **Euphytica**, v. 125, n. 1, p. 59-67, 2002.

YAMADA, M. M.; FALEIRO, F. G.; LOPES, U. V.; DANTAS NETO, A.; PIRES, J. L.; FLORES, A. B.; FALEIRO, A. S. G.; BAHIA, R. C. S. Uso de marcadores rapd na coleção de germoplasma do centro de pesquisas do cacau (cepec) para identificação de genótipos. **Agrotrópica**, v. 16, n. 2, p. 35-38, 2004.

YORINORI, J.T.; KIIHL, R.A.S. Melhoramento de plantas visando à resistência a doenças. In: NASS, L.L.; VALOIS, A.C.C.; MELO, I.S.; VALADARES-INGLIS, M.C. (Eds). **Recursos genéticos e melhoramento de plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001, p. 715-736.

ZIMMERMAN, M.J.O.; TEXEIRA, M.G. Bancos de germoplasma. In: ARAUJO, R.S.; RAVA, C.A.; STONE, L.F.; ZIMMERMAM, M.J.O. (Eds). Cultura do feijoeiro comum no Brasil. Piracicaba: Potafos, 1996, p.65-66.

CAPÍTULO 1

IDENTIFICAÇÃO DE ACESSOS DE CAFEEIROS DO GRUPO BOURBON UTILIZANDO MARCADORES MICROSSATÉLITES

Resumo

A correta identificação dos acessos em Bancos de Germoplasma é essencial para sua conservação e utilização em programas de melhoramento. Erros de identificação dificultam a troca de informações entre diferentes programas de melhoramento e aumenta o gasto de tempo e de recursos para a conservação e avaliação do potencial genético dos acessos. Dessa forma, a caracterização de germoplasma utilizando marcadores moleculares torna-se uma ferramenta poderosa para identificar e corrigir erros de identificação em bancos de germoplasma. O presente trabalho teve como objetivo a identificação e avaliação da diversidade genética dos acessos de Bourbon da coleção de germoplasma de café da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (Epamig) por meio de marcadores moleculares SSR. Foram utilizados setenta e nove acessos de cafeeiro Bourbon, sendo quatro acessos pertencentes ao Instituto Agrônomo de Campinas (IAC). Para cada acesso, foram analisadas seis plantas individuais, a exceção dos acessos do IAC, constituídos por uma única planta. Além dos Bourbons, cultivares antigas e comerciais foram utilizadas com o intuito de verificar a pureza dos acessos. Dez *primers* SSR foram utilizados para a identificação dos acessos juntamente com as análises discriminantes e redes neurais artificiais. Com base na análise discriminante, observou-se que 25,18% dos acessos de Bourbon Vermelho foram alocados no grupo do Sumatra e 17,27% no grupo do Catuaí. Enquanto que, a maior parte dos acessos de Bourbon Amarelo foram alocados no seu próprio grupo, com uma pequena parte dos acessos alocados no grupo do Bourbon Vermelho (8,51%), Catuaí amarelo (8,51%) e Sumatra (7,80%). Estes resultados sugerem a existência de erros de identificação, presença de híbridos e cultivares comerciais entre os acessos de Bourbon, tendo em vista que, esses acessos foram coletados na forma de sementes em diferentes lavouras de café. Quanto à classificação dos acessos pela rede neural artificial, observou-se que esta técnica apresentou uma menor percentagem de erro de classificação dos acessos que a obtida pela análise discriminante. Também foi observada a heterozigosidade esperada na população de acessos de Bourbon Vermelho que variou de 0,21 (SSR133) a 0,78 (SSRCa80), com uma média de 0,36, enquanto que na população de Bourbon Amarelo variou de 0,01 (EST-SSRCa23) a 0,69 (SSRCa80) com média de 0,43. Pelos resultados obtidos, podemos concluir que a análise discriminante mostrou que

os locos SSR obtidos foram adequados para diferenciar os acessos e que existe uma ampla diversidade genética entre os acessos do grupo Bourbon.

1. Introdução

Bancos de Germoplasma representam um acervo de genes oriundos dos recursos genéticos que se constituem na matéria prima básica aos programas de melhoramento, por reunirem constituições genéticas de diferentes origens e diferentes níveis de melhoramento (VIEIRA et al., 2008). Nesse sentido, são considerados repositórios de material genético e representam parte da variabilidade genética disponível de uma determinada espécie de interesse. Entretanto, para que essa variabilidade presente nos Bancos, seja utilizada com frequência e eficiência nos programas de melhoramento, torna-se necessário a caracterização do germoplasma disponível.

De modo geral, caracterizar um germoplasma significa basicamente identificar diferenças entre os acessos da coleção e estimular a utilização desses acessos em programas de melhoramento (FERREIRA et al., 2007). Dessa forma, a correta identificação dos acessos e a quantificação da sua variabilidade genética são essenciais para sua conservação e utilização. Erros de identificação dificultam a troca de informações entre diferentes programas de melhoramento e aumentam o gasto de tempo e de recursos para a conservação e avaliação do potencial genético dos acessos (FALEIRO, 2007).

Para a caracterização de germoplasma são utilizados descritores morfológicos, bioquímicos e moleculares. Tradicionalmente, a caracterização baseia-se em descritores morfológicos, os quais têm proporcionado grandes avanços no conhecimento e organização das coleções de germoplasma (FERREIRA et al., 2007). No entanto, a caracterização morfológica é um processo demorado, baseia-se em características que podem ser influenciadas pelo ambiente e, geralmente, não permite diferenciar genótipos muito próximos ou prever a identidade genética dos acessos com alta precisão (CERVERA et al., 1998). Deste modo, a caracterização de germoplasma utilizando marcadores moleculares torna-se uma ferramenta poderosa

para identificar e corrigir erros de identificação de acessos em Bancos de Germoplasma.

Marcadores moleculares têm sido amplamente utilizados para eliminar ou diminuir problemas de erros de identificação em Bancos de Germoplasma juntamente com técnicas de análises discriminantes. Por meio dessas técnicas, os locos com os melhores fatores de diferenciação são identificados e utilizados na classificação correta dos indivíduos nas suas respectivas populações (BEHARAV & NEVO, 2003). Os marcadores microssatélites (*Simple Sequence Repeats*, SSR), por causa do seu alto nível de polimorfismo, alta reprodutibilidade e natureza codominante e multialélica, tem sido utilizado na identificação de acessos em diversas espécies cultivadas (MCGREGOR et al., 2000; PERAZZO et al., 2000; CHAKRAVARTHI et al., 2006; ARADHYA et al., 2010 e CIDADE et al., 2013).

Com o intuito de preservar a variabilidade genética do cafeeiro e promover seu uso posterior, a Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (Epamig) estabeleceu um Banco de Germoplasma instalado na Fazenda Experimental de Patrocínio, em Patrocínio, MG, sendo considerado um dos mais importantes Bancos de Germoplasma de cafeeiro do país. A coleção conta, atualmente, com 1594 acessos, sendo estes, principalmente de *C. arabica*. Do total, aproximadamente 140 acessos correspondem a genótipos de Bourbon, os quais apresentam elevado potencial para a produção de cafés com qualidade superior de bebida, sendo por isso altamente valorizado nos mercados de cafés especiais (GIOMO & BORÉM, 2011). Os acessos de Bourbon foram coletados em instituições públicas, empresas privadas nacionais e internacionais e em lavouras de café em fazendas particulares nos Estados de Minas Gerais, São Paulo, Paraná e Espírito Santo. A coleta do material genético foi realizada na forma de sementes, em plantas individuais ou em misturas de várias plantas da população. Os acessos coletados apresentavam idades variadas, contando com exemplares coletados em lavouras centenárias. Cada acesso de Bourbon do Banco possui um total de 20 plantas, divididas em duas repetições. Apesar de esses acessos serem considerados como genótipos de Bourbon ainda existem dúvidas se realmente correspondem a cafeeiros desse grupo.

Segundo Pereira et al. (2011), o germoplasma conservado no Banco da Epamig inclui cafeeiros com ampla variabilidade para várias características de interesse agrônomo, constituindo-se em uma excelente matéria prima para os

programas de melhoramento genético do cafeeiro. Dessa forma, esse germoplasma pode ser utilizado para o desenvolvimento de cultivares com elevado potencial produtivo, aliado a outras características de interesse agrônomo e tecnológico para o agronegócio café, como produção de cafés com qualidade superior de bebida. Entretanto, o germoplasma de Bourbon ainda não foi devidamente caracterizado, fato que certamente interfere no seu aproveitamento para fins comerciais. Desta forma, a identificação desses acessos no Banco faz-se necessária para a sua incorporação nos programas de melhoramento genético do cafeeiro, tendo em vista atender a demanda do mercado de cafés especiais com o desenvolvimento de cultivares com elevado potencial para qualidade de bebida.

Diante do que foi exposto, o presente trabalho teve como objetivo a identificação e avaliação da diversidade genética dos acessos de Bourbon do Banco de Germoplasma de café da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (Epamig) por meio de marcadores moleculares SSR.

2. Material e Métodos

2.1. Material vegetal

Um total de setenta e cinco acessos de cafeeiros do grupo Bourbon, pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma (BAG) da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (Epamig), localizado na Fazenda experimental de Patrocínio, em Patrocínio, MG, foram analisados neste estudo. Além desses, quatro acessos de Bourbon provenientes do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), em Campinas, SP, foram utilizados (Tabela 1). Para cada acesso, foram analisadas seis plantas individuais, a exceção dos acessos oriundos do IAC, constituídos por uma única planta.

Os acessos do BAG da Epamig foram constituídos a partir de sementes coletadas em plantas individuais ou de misturas de sementes de várias plantas da população. A coleta do material genético foi realizada em instituições públicas, empresas privadas nacionais e internacionais e em lavouras de café em fazendas particulares nos Estados de Minas Gerais, São Paulo, Paraná e Espírito Santo. A

seleção do material genético utilizado neste trabalho foi realizada com base em dados de caracterização morfoagronômica de acessos de Bourbon com potencial para uso nos programas de melhoramento genético. Além dos Bourbons, foram analisados acessos de Sumatra, Mundo Novo, Catuaí Amarelo e Amarelo de Botucatu. Essas cultivares foram incluídas nas análises com o intuito de verificar a pureza dos acessos, ou seja, se os acessos de Bourbon presentes no Banco correspondem realmente a cafeeiros do grupo Bourbon ou se esses acessos apresentam maior similaridade com as cultivares utilizadas como controle.

Tabela 1. Acessos de cafeeiros do Banco de Germoplasma de *Coffea spp.* da Epamig, em Patrocínio, MG.

Grupo genealógico	Código do acesso	Nº de cafeeiros	Identificação do acesso ou genótipo	Local de coleta ou origem do acesso
Bourbon	MG 0004	6	Bourbon Vermelho	Fazenda Sagrado Coração de Jesus, Ervália-MG
	MG 0005	6	Bourbon Vermelho	Fazenda Santa Cruz, Ervália-MG
	MG 0006	6	Bourbon Amarelo	Fazenda Santo Antônio, Araponga-MG
	MG 0007	6	Bourbon Amarelo	Agropecuária Toriba Ltda, São Sebastião do Paraíso-MG
	MG 0008	6	Bourbon Amarelo	Campo Experimental de Café, Martins Soares-MG
	MG 0009	6	Bourbon Amarelo IAC Col. 19	Sítio São José, Dois Córregos-SP
	MG 0010	6	Bourbon Vermelho	Fazenda Gromongol, Ervália-MG
	MG 0011	6	Bourbon Vermelho	Fazenda São João Batista, Campos Altos-MG
	MG 0014	6	Bourbon Vermelho	Fazenda São Domingos, Monte Santo de Minas-MG
	MG 0015	6	Bourbon Alaranjado	Fazenda São Domingos, Monte Santo de Minas-MG
	MG 0019	6	Bourbon Amarelo	Campo Experimental de Café, Martins Soares-MG
	MG 0020	6	Bourbon Amarelo T7	Fazenda Recreio, São Sebastião da Grama-SP
	MG 0021	6	Bourbon Amarelo T7	Fazenda Recreio, São Sebastião da Grama-SP
	MG 0022a	6	Bourbon Alaranjado T6	Fazenda Recreio, São Sebastião da Grama-SP
	MG 0022b	3	Bourbon Alaranjado T6	Fazenda Recreio, São Sebastião da Grama-SP
	MG 0023	6	Bourbon Amarelo T6	Fazenda Recreio, São Sebastião da Grama-SP
	MG 0026	6	Bourbon Vermelho T5	Fazenda Recreio, São Sebastião da Grama-SP
	MG 0028	6	Bourbon Amarelo T3	Fazenda Recreio, São Sebastião da Grama-SP
	MG 0029	6	Bourbon Amarelo T2	Fazenda Recreio, São Sebastião da Grama-SP
	MG 0030	6	Bourbon Amarelo T1	Fazenda Recreio, São Sebastião da Grama-SP
	MG 0031	6	Bourbon Amarelo	Fazenda São Domingos, Monte Santo de Minas-MG
	MG 0032	6	Bourbon Amarelo IAC	Sítio São José, Dois Córregos-SP
	MG 0033	6	Bourbon Vermelho IAC	Sítio São José, Dois Córregos-SP
	MG 0034	6	Bourbon Vermelho	Fazenda Sagrado Coração de Jesus, Ervália-MG
	MG 0035	6	Bourbon Vermelho	Fazenda Santo Antônio, Araponga-MG

Tabela 1. Continuação....

Grupo genealógico	Código do acesso	Nº de cafeeiros	Identificação do acesso ou genótipo	Local de coleta ou origem do acesso
Bourbon	MG 0036	6	Bourbon Amarelo	Fazenda da Gruta, Marechal Floriano-ES
	MG 0037	6	Bourbon Amarelo T8	Fazenda Recreio, São Sebastião da Grama-SP
	MG 0038	6	Bourbon Amarelo T10	Fazenda Recreio, São Sebastião da Grama-SP
	MG 0039	6	Bourbon Amarelo T11	Fazenda Recreio, São Sebastião da Grama-SP
	MG 0040	6	Bourbon Amarelo T12	Fazenda Recreio, São Sebastião da Grama-SP
	MG 0042	6	Bourbon Amarelo T14	Fazenda Recreio, São Sebastião da Grama-SP
	MG 0050	6	Bourbon Amarelo T23	Fazenda Recreio, São Sebastião da Grama-SP
	MG 0057	6	Bourbon Vermelho Pl 06	Fazenda Santa Alina, São Sebastião da Grama-SP
	MG 0059	3	Bourbon Vermelho Pl 03	Fazenda Santa Alina, São Sebastião da Grama-SP
	MG 0060	3	Bourbon Vermelho Pl 02	Fazenda Santa Alina, São Sebastião da Grama-SP
	MG 0063	6	Bourbon Amarelo	Fazenda Consulta, Guaxupé-MG
	MG 0064	6	Bourbon Vermelho	Fazenda Bela Vista, Guaranésia-SP
	MG 0066	6	Bourbon Vermelho	Fazenda Recreio, São Sebastião da Grama-SP
	MG 0070	6	Bourbon Amarelo T30	Fazenda Recreio, São Sebastião da Grama-SP
	MG 0075	6	Bourbon Vermelho Pl 12	Fazenda Santa Alina, São Sebastião da Grama-SP
	MG 0077	6	Bourbon Vermelho Pl 14	Fazenda Santa Alina, São Sebastião da Grama-SP
	MG 0078	6	Bourbon Vermelho Pl 15	Fazenda Santa Alina, São Sebastião da Grama-SP
	MG 0086	3	Bourbon Amarelo MS	Fazenda Santa Alina, São Sebastião da Grama-SP
	MG 0087	3	Bourbon Amarelo Pl 01	Fazenda Santa Alina, São Sebastião da Grama-SP
	MG 0089	6	Bourbon Amarelo Pl 04	Fazenda Santa Alina, São Sebastião da Grama-SP
	MG 0090	6	Bourbon Amarelo Pl 05	Fazenda Santa Alina, São Sebastião da Grama-SP
	MG 0091	6	Bourbon Amarelo Pl 06	Fazenda Santa Alina, São Sebastião da Grama-SP
	MG 0092	6	Bourbon Amarelo	Fazenda Santa Alina, São Sebastião da Grama-SP
	MG 0093	6	Bourbon Amarelo	Fazenda da Ilha, Alfenas-MG
	MG 0094	6	Bourbon Vermelho	Manhumirim-MG
	MG 0095	6	Bourbon Amarelo	Fazenda Experimental de Machado, Machado-MG

Tabela 1. Continuação....

Grupo genealógico	Código do acesso	Nº de cafeeiros	Identificação do acesso ou genótipo	Local de coleta ou origem do acesso
Bourbon	MG 0096	6	Bourbon Vermelho	Fazenda Experimental, Varginha-MG
	MG 0097	6	Bourbon Amarelo	Fazenda Experimental, Varginha-MG
	MG 0098	6	Bourbon Amarelo	Fazenda Bom Jardim, Santo Antônio do Amparo-MG
	MG 0099	6	Bourbon Vermelho VD	Fazenda São João Batista, Campos Altos-MG
	MG 0103	6	Bourbon Amarelo	Fazenda Alto Recreio, Iuna-ES
	MG 0104	6	Bourbon Amarelo UFV 535	Área Experimental do Fundão, Viçosa-MG
	MG 0105	6	Bourbon Vermelho	Fazenda Bugiu, Dois Córregos-SP
	MG 0106	6	Bourbon Amarelo	Fazenda Bugiu, Dois Córregos-SP
	MG 0107	6	Bourbon Vermelho	Sítio São José, Dois Córregos-SP
	MG 0108	6	Bourbon Amarelo	Fazenda Bugiu, Dois Córregos-SP
	MG 0109	6	Bourbon Amarelo IAC JC	Fazenda Café da Crista, Marechal Floriano-ES
	MG 0110	6	Bourbon Amarelo	Fazenda Ipê, Carmo de Minas-MG
	MG 0111	6	Bourbon Amarelo	Fazenda da Pedra, Carmo de Minas-MG
	MG 0112	6	Bourbon Amarelo	Fazenda Itaú, Carmo de Minas-MG
	MG 0113	6	Bourbon Amarelo	Fazenda Sertão, Carmo de Minas-MG
	MG 0115	6	Bourbon Vermelho	Fazenda Caparaó, Araponga-MG
	MG 0116	6	Bourbon Amarelo	Fazenda Samambaia, Santo Antônio do Amparo-MG
	MG 0117	6	Bourbon Amarelo	Fazenda Monte Alegre/Limoeiro, Alfenas-MG
	MG 0118	6	Bourbon Amarelo	Fazenda Monte Alegre/Trigo, Alfenas-MG
	MG 0119	6	Bourbon Amarelo	Fazenda Monte Alegre/ Italiano, Alfenas-MG
	MG 0125	6	Bourbon Amarelo	Fazenda Boa Vista, Patrocínio-MG
	MG 0126	6	Bourbon Amarelo	Fazenda Alto Recreio, Iuna-ES
	MG 0127	6	Carolino	Fazenda Alto Recreio, Iuna-ES
	MG 0128	6	Bourbon Vermelho	Fazenda da Gruta, Marechal Floriano-ES
	-	1	Bourbon Vermelho IAC	Instituto Agronômico de Campinas, Campinas-SP
-	1	Bourbon Amarelo IAC Bulk	Instituto Agronômico de Campinas, Campinas-SP	

Tabela 1. Continuação....

Grupo genealógico	Código do acesso	Nº de cafeeiros	Identificação do acesso ou genótipo	Local de coleta ou origem do acesso
Bourbon	-	1	Bourbon Amarelo IAC J10	Instituto Agronômico de Campinas, Campinas-SP
	-	1	Bourbon Amarelo IAC J9	Instituto Agronômico de Campinas, Campinas-SP
Cultivares Antigas	MG 0130	3	Sumatirão Ponta Roxa	Sítio São José, Cambira-PR
	MG 0134	3	Sumatra Palma	Sítio São José, Cambira-PR
	MG 1209	3	Amarelo de Botucatu	Fazenda Rodolfo Reis, Três Pontas-MG
Cultivares Tradicionais	-	3	Catuai Amarelo IAC 62	EPAMIG, Patrocínio-MG
	-	3	Mundo Novo IAC 376-4	EPAMIG, Patrocínio-MG
	-	3	Mundo Novo IAC 379-19	EPAMIG, Patrocínio-MG

2.2. Extração de DNA e genotipagem utilizando SSR

O DNA genômico foi extraído de folhas jovens liofilizadas, utilizando o método descrito por Diniz et al. (2005). A avaliação da qualidade do DNA foi realizada em gel de agarose 1%, corado com brometo de etídio e sua concentração verificada em espectrofotômetro NanoDrop, da Thermo Scientific. As amostras foram diluídas em água milliQ e padronizadas em 25 ng.µL⁻¹.

As análises moleculares foram realizadas utilizando o marcador SSR, no laboratório de Biotecnologia do cafeeiro (Biocafé) da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, MG. Inicialmente, foram testados 67 *primers* SSR de cafeeiro, sendo que dez *primers* apresentaram polimorfismo. Para genotipagem foram utilizados estes dez *primers* SSRs (Tabela 2) e a amplificação foi realizada conforme metodologia descrita por Missio et al. (2009). A detecção do polimorfismo dos marcadores foi realizada em gel de poliacrilamida desnaturante 6% e corado com nitrato de prata, de acordo com o protocolo descrito por Brito et al. (2010). Neste estudo, o marcador SSR foi tratado como dominante devido o nível de ploidia dos acessos. Cada alelo foi codificado como 0 (ausente) ou 1 (presença) e organizados em uma matriz binária.

Tabela 2. *Primers* SSR utilizados para genotipagem dos acessos de cafeeiros do grupo Bourbon.

Primer	Forward primer (5'→3')	Reverse primer (3'→5')
EST-SSR 002 ¹	GAAGGGACAAAGACGCCTAA	CGACAGATGCAGGAATAAACT
EST-SSR 023 ²	GCCATTTTACAATCTCACCTC	AGACCCAGCAGACAACAACA
SSR 018 ³	GGCTCGAGATATCTGTTTAG	TTTAATGGGCATAGGGTCC
SSR 067 ³	CGTCTCGTTTCACGCTCTCT	GATCTGCATGTACTGGTGCTTC
SSR 095 ⁵	TAAGAAGCCACGTGACAAGTAA	TATGGCCCTTCTCGCTTTAGTT
SSR 122 ⁴	CGTCTCGTTTCACGCTCTCT	GATCTGCATGTACTGGTGCTTC
SSR 133 ⁴	GATACAACCTATCAAACGCATC	CTGTAGGATTGGGTCATTTC
SSRCa 018 ⁶	GTCTCGTTTCACGCTCTCTC	ATTTTTGGCACGGTATGTTC
SSRCa 045 ⁶	GACTTGTGTCATTCCCCTA	GCGCATGTGAAGAGAAAGT
SSRCa 080 ⁶	GTTCTTTCCGCGTCAAT	GAGAAGAGAGAGGAAGGGAA

Referências: ¹Souza et al. (2003); ²Missio et al. (2011); ³Combes et al. (2002); ⁴Poncet et al. (2004); ⁵Moncada &McCouch;

⁶Missio et al. (2009).

2.3. Análises genético-estatísticas

2.3.1. Análise discriminante

A análise discriminante baseada no método do vizinho médio foi realizada para a identificação e avaliação da pureza dos acessos do grupo Bourbon a partir de uma matriz de dados binários obtida por marcadores SSR. Para tal, as análises foram realizadas em três etapas distintas: discriminação dos acessos do grupo Bourbon, discriminação dos acessos de Bourbon Vermelho e discriminação dos acessos de Bourbon Amarelo. Todas as análises foram realizadas utilizando o *software* Genes (Cruz, 2013).

2.3.1.1. Discriminação dos acessos do grupo Bourbon

Para a discriminação dos acessos, os dois grupos do cafeeiro Bourbon foram utilizados como critério de classificação na etapa de treinamento, possibilitando a alocação prévia dos acessos em duas populações, Bourbon Vermelho e Bourbon Amarelo. A classificação dos acessos na etapa de treinamento foi estabelecida da seguinte maneira: três acessos de Bourbon Vermelho (MG0010, MG0057 e MG0075) e cinco acessos de Bourbon Amarelo (MG0009, MG0109, IAC J9, IAC J10 e IAC Bulk), todos compostos por três plantas a exceção de três acessos de Bourbon Amarelo oriundos do IAC formados por uma única planta. Sabe-se que esses acessos pertencem realmente ao grupo Bourbon e por isso, foram utilizados para classificar os acessos do BAG que se têm dúvidas. Os 76 acessos restantes foram classificados na etapa de validação, sendo 26 acessos identificados no BAG como Bourbon Vermelho e 50 como Bourbon Amarelo. Para verificar a metodologia, dos genótipos usados na etapa de treinamento, apenas três dos seis indivíduos foram utilizados nessa etapa, os demais indivíduos foram classificados na etapa de validação, a exceção dos acessos formados por uma planta. Este procedimento foi realizado com o propósito de identificar os acessos de Bourbon Vermelho e Bourbon Amarelo.

2.3.1.2. Discriminação dos acessos de Bourbon Vermelho

Com o intuito de verificar a pureza dos acessos de Bourbon Vermelho, a análise discriminante foi realizada considerando como critério de discriminação, os dois grupos de cafeeiros Bourbon, cultivares comerciais e introduzidas, além de um possível parental do Bourbon Amarelo. Este critério permitiu dividir os acessos em seis populações distintas: três acessos de Bourbon Vermelho (MG0010, MG0057 e MG0075), cinco acessos de Bourbon Amarelo (MG0009, MG0109, IAC J9, IAC J10 e IAC Bulk), dois acessos de Mundo Novo (IAC 376-4 e IAC 379-19), um acesso de Catuaí Amarelo (IAC 62), dois acessos de Sumatra (MG0130 e MG0134) e um acesso de Amarelo de Botucatu (MG1209). Essas populações foram utilizadas na etapa de treinamento para classificar 27 acessos de Bourbon Vermelho do BAG na etapa de validação.

2.3.1.3. Discriminação dos acessos de Bourbon Amarelo

A discriminação dos acessos de Bourbon Amarelo também foi realizada para verificar a pureza dos acessos. Para tal, o critério de classificação adotado na etapa de treinamento foi o mesmo utilizado na discriminação dos acessos de Bourbon Vermelho. A etapa de validação foi realizada utilizando os 49 acessos restantes de Bourbon Amarelo.

2.3.2. Redes neurais artificiais

Os dados moleculares foram submetidos à análise de Redes Neurais Artificiais (RNA's), realizadas com o auxílio do *software* Matlab (2013). Para fins de análise, essa abordagem foi realizada segundo as etapas de treinamento e validação.

Para o treinamento das RNA's, foram utilizados os acessos classificados na etapa de treinamento na análise discriminante, conforme descrito anteriormente para as três etapas. Nesta análise, foram consideradas três camadas ocultas, com combinações de 7 a 27 neurônios para cada camada oculta. Adotou-se a função de

ativação *purelin* para as camadas de entrada e saída. Para as camadas ocultas foram investigadas a adequação de todas as combinações possíveis das funções *purelin*, *tansig* e *logsig* utilizadas no aplicativo Matlab. O número de ciclos de treinamento foi fixado em 5000 épocas. Teve-se o cuidado de limitar o número de iterações, para que esse não se tornasse excessivo, o que poderia levar à perda do poder de generalização. A função de treinamento utilizada foi a *trainbr* – *Backpropagation*.

Em relação à validação das RNA's melhor treinadas, foram utilizados os mesmos acessos da etapa de validação da análise discriminante, para cada etapa de discriminação estabelecida. Para cada etapa, foi escolhida, dentre as 5.832 arquiteturas de rede aquelas melhor treinadas, ou seja, as RNA's que apresentaram menor taxa de erro aparente.

2.3.3. Análise da diversidade alélica dos locos SSR

Para cada loco microssatélite foi calculado o número de alelos por locos, a heterozigose observada e esperada e o conteúdo de informação polimórfica (PIC), utilizando o *Software Genes* (Cruz, 2013).

2.3.4. Análise de variância molecular

Análise de variância molecular (AMOVA) (EXCOFFIER et al., 1992) foi realizada utilizando o *Software Genes* (CRUZ, 2013) de forma a estimar a diversidade genética entre e dentro das populações de acessos do grupo Bourbon.

3. Resultados e Discussão

3.1. Discriminação dos acessos do grupo Bourbon

A discriminação dos acessos do grupo Bourbon de acordo com os dados moleculares evidencia que os acessos de Bourbon Vermelho e Bourbon Amarelo

classificados na etapa de treinamento foram eficientemente alocados em seus grupos de origem, sem nenhum erro de classificação (Tabela 3). Este resultado revela que os marcadores SSR foram adequados para discriminar os acessos em ambos os grupos considerando o valor da TEA (0,00%).

Para os acessos classificados na etapa de validação, observou-se que a maioria dos acessos foram classificados em seus respectivos grupos, com uma TEA de 20,66%. Este valor pode ser resultante, provavelmente de erros de identificação, presença de híbridos ou mesmo de cultivares comerciais como Catuaí e Mundo Novo entre os acessos de Bourbon presentes no Banco, tendo em vista que, esses acessos foram coletados na forma de sementes em diferentes lavouras de café. Como a espécie *C. arabica* apresenta, em média, 10% de polinização cruzada (LASHERMES et al., 2000), os acessos de Bourbon conservados no BAG da Epamig pode ter cruzado com outros grupos de cafeeiros no local de coleta. Este fato poderia explicar a grande divergência apresentada pelos acessos do grupo Bourbon, que aliada a um número reduzido de indivíduos amostrados, pode ter contribuído para o viés na classificação destes acessos pela análise discriminante.

Trabalhos de caracterização envolvendo análises discriminantes para a diferenciação de indivíduos em diferentes espécies, por meio de marcadores moleculares têm produzido resultados satisfatórios. Estudos realizados por Oliveira et al. (2012) utilizando a análise discriminante para a identificação de clones de mandioca com base em marcadores SSR, observaram uma taxa de erro aparente de 5,88%. Estes autores concluíram que os marcadores SSR foram adequados para agrupar os clones de mandioca corroborando os resultados obtidos neste trabalho. Pessoni (2007), utilizando a análise discriminante para a discriminação de acessos de cajueiros segundo a espécie (*A. humile*, *A. othonianum* e *A. occidentale*) obteve uma taxa de erro aparente de 12,6% e concluíram que os marcadores ISSR foram adequados apenas para a discriminação dos acessos de *A. occidentale*.

De modo geral, observa-se que a maioria dos acessos pertencentes ao grupo Bourbon Amarelo foram corretamente alocados em seu grupo de origem. Contudo, observou-se que alguns acessos desse grupo foram classificados no grupo do Bourbon Vermelho, de acordo com os dados moleculares. Dentre estes, destacam-se os acessos MG0006, MG0026, MG0087, MG0103, MG0106, MG0110, MG0111, MG0112, MG0117, MG0118 e MG0119. É importante relatar que, embora os

acessos MG0006, MG0103, MG0110, MG0117, MG0118 e MG0119, estejam identificados como Bourbon Amarelo, apresentam fenótipo típico da cultivar Catuaí Amarelo, como por exemplo, porte baixo, internódios curtos, elevado vigor vegetativo, rosetas com frutos abundantes e alta capacidade produtiva. Isto pode explicar a classificação desses acessos no outro grupo, tendo em vista que, as cultivares do grupo Catuaí são mais próximas geneticamente do Bourbon Vermelho do que do Bourbon Amarelo. Estes resultados, de certa forma, sugerem que existe erro de identificação ou presença de híbridos entre estes acessos. Também, vale ressaltar que o acesso MG0026 foi corretamente classificado como Bourbon Vermelho, uma vez que, identificamos que este acesso foi alocado erroneamente no grupo do Bourbon Amarelo para a discriminação. Estes resultados evidenciam a eficiência do marcador SSR em discriminar os acessos em seus respectivos grupos.

A maioria dos acessos do grupo Bourbon Vermelho também foram classificados em seu próprio grupo. Dentre os acessos classificados como Bourbon Amarelo, apenas os acessos MG0022 e o Bourbon Vermelho proveniente do IAC apresentaram todos os indivíduos alocados no grupo do Bourbon Amarelo. Vale ressaltar que, o acesso MG0022 foi originado de sementes de uma única planta que apresentava frutos alaranjados, sendo, portanto, considerado um possível híbrido entre Bourbon Vermelho e Bourbon Amarelo. Este fato pode explicar a sua alocação fora do grupo. Pelos dados moleculares podemos concluir que este acesso pertence ao grupo do Bourbon Amarelo. Portanto, neste estudo, os marcadores SSR foram adequados para distinguir os acessos de Bourbon Vermelho e Bourbon Amarelo do Banco de Germoplasma da Epamig.

Tabela 3. Análises discriminantes de cafeeiros do grupo Bourbon baseadas no método do vizinho médio, estimada por 10 marcadores SSR.

Grupo	% de cafeeiros alocados nos diferentes grupos*			
	Treinamento		Validação	
	BV	BA	BV	BA
Bourbon Vermelho (BV)	100,00	0,00	95,49	4,51
Bourbon Amarelo (BA)	0,00	100,00	16,15	83,85
TEA (%)	0,00		20,66	

* Os valores em negrito referem-se à percentagem de alocação dos acessos em seus respectivos grupos de origem.

3.2. Discriminação dos acessos de Bourbon Vermelho

A discriminação dos acessos de acordo com o critério de classificação estabelecido na etapa de treinamento demonstra que os acessos do grupo Bourbon Vermelho, Bourbon Amarelo, Catuaí e Amarelo de Botucatu foram eficientemente alocados em seus grupos de origem. Entretanto, o método foi ineficiente para discriminar os acessos dos grupos Sumatra e Mundo Novo, com uma TEA de 11,11% (Tabela 4). Este valor pode ser resultante do grau de parentesco entre essas cultivares, impossibilitando a distinção das mesmas. Dessa forma, a alocação de metade dos acessos do grupo Mundo Novo no grupo de Sumatra é justificável, tendo em vista que Sumatra é um dos seus parentais.

Dos 27 acessos do grupo Bourbon Vermelho classificados na etapa de validação, observou-se que mais da metade dos acessos foram alocados nos outros grupos, com uma TEA de 54,68%. Esta elevada TEA pode ser devido possivelmente a erros de identificação, presença de híbridos e cultivares comerciais entre os acessos. Dentre os grupos que apresentaram mais acessos de Bourbon Vermelho, incluem os grupos de Sumatra e de Catuaí, com percentuais de alocação de 25,18% e 17,27%, respectivamente (Tabela 4). Este resultado é esperado, uma vez que, as lavouras comerciais de café são formadas principalmente pelas cultivares de Catuaí e de Mundo Novo. Lanes (2010) também observou uma elevada taxa de erro aparente (77,27%) na discriminação de linhagens de milho, utilizando análise discriminante, baseada no método do vizinho médio. Os autores relataram que a elevada taxa de erro foi resultante de classificação errônea das linhagens. Entretanto, Aguilera et al. (2011) obtiveram menor taxa de erro aparente (16,47%) na discriminação de duas populações de acessos de tomateiro, utilizando o mesmo método. Estes autores relataram que a análise discriminante depende do método de discriminação utilizado (vizinho médio e k vizinho mais próximo).

Dentre os acessos do grupo Bourbon Vermelho alocados corretamente, apenas os acessos MG0010, MG0057, MG0077, MG0078 e MG0094 apresentaram todos os seus indivíduos alocados no seu grupo de origem. Estes resultados confirmam aqueles obtidos na primeira análise discriminante a qual utilizou os dois grupos de cafeeiros Bourbon, permitindo concluir que esses acessos pertencem ao grupo do Bourbon Vermelho. Apesar de os acessos MG0004, MG0005, MG0033,

MG0075, MG0107 e MG0115 apresentarem um ou dois dos seus indivíduos alocados em outros grupos, foram considerados do grupo Bourbon Vermelho, à exceção dos indivíduos classificados nos outros grupos. É importante relatar que, quando comparamos esses resultados com a análise discriminante dos dois grupos de cafeeiros Bourbon, verificamos que os acessos MG0004 e MG0075 apresentaram, nas duas análises, os mesmos indivíduos classificados como Bourbon Amarelo. Assim, concluímos que esses indivíduos pertencem ao grupo Bourbon Amarelo, de acordo com os dados moleculares. Este fato evidencia a ocorrência de misturas ou cruzamentos naturais destes acessos com a cultivar Bourbon Amarelo, em seus respectivos locais de coleta.

Em relação aos acessos alocados no grupo de Sumatra, MG0011, MG0014, MG0064 e MG0066 apresentaram todos os seus indivíduos classificados neste grupo, à exceção do acesso MG0064, que apresentou apenas um dos indivíduos classificados como Catuaí. Além desses, outros seis acessos de Bourbon Vermelho apresentaram um a quatro dos seus indivíduos alocados neste grupo.

Quanto aos acessos classificados no grupo de Catuaí, incluem MG0060 e MG0034, os quais apresentaram apenas um de seus indivíduos alocados no seu grupo de origem. Entretanto, observa-se uma tendência dos acessos do grupo Bourbon Vermelho apresentar pelo menos um de seus indivíduos classificados como Catuaí.

Também foi observado entre os acessos de Bourbon Vermelho, que alguns foram classificados no grupo de Bourbon Amarelo, como o acesso MG0022. Acredita-se que esse acesso pode ser um híbrido entre Bourbon Vermelho e Bourbon Amarelo. Outro acesso que apresentou quatro dos seus indivíduos alocados no grupo do Bourbon Amarelo foi o MG0128. Esses resultados confirmam aqueles obtidos na análise discriminante dos dois grupos de cafeeiros Bourbon, na qual esses acessos tiveram a mesma classificação, indicando que pertencem ao grupo Bourbon Amarelo. Além disso, observamos três acessos que apresentaram indivíduos classificados no grupo do Amarelo de Botucatu, o Bourbon Vermelho pertencente ao IAC, MG0004 e MG0099.

Tabela 4. Análises discriminantes de cafeeiros do grupo Bourbon Vermelho baseadas no método do vizinho médio, estimada por 10 marcadores SSR.

Grupo	Nº de acessos (plantas)	% de cafeeiros alocados nos diferentes grupos*					
		BV	BA	ST	MN	CT	AB
Bourbon Vermelho (BV)	3 (9)	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Bourbon Amarelo (BA)	5 (9)	0,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Sumatra (ST)	2 (6)	0,00	0,00	83,33	16,67	0,00	0,00
Mundo Novo (MN)	2 (6)	0,00	0,00	50,00	50,00	0,00	0,00
Catuai (CT)	1 (3)	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00	0,00
Amarelo de Botucatu (AB)	1 (3)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
TEA (%)		11,11					
Validação	27(139)	45,32	9,35	25,18	0,00	17,27	2,88
TEA (%)		54,68					

* Os valores em negrito referem-se à percentagem de alocação dos acessos em seus respectivos grupos de origem.

3.3. Discriminação dos acessos de Bourbon Amarelo

Os resultados obtidos na discriminação dos acessos de Bourbon Amarelo, de acordo com o critério de classificação estabelecido na etapa de treinamento, foram semelhantes aos obtidos na discriminação dos acessos do grupo Bourbon Vermelho (Tabela 5). A maior parte dos acessos classificados na etapa de validação foi alocado no próprio grupo, com uma TEA de 25,53%. Dentre os grupos que mais apresentaram cafeeiros pertencentes ao grupo de Bourbon Amarelo, foram o grupo Bourbon Vermelho (8,51%), Catuai Amarelo (8,51%) e Sumatra (7,80%).

Entre os acessos alocados no grupo de Catuai Amarelo, os acessos MG0103 e MG0104 foram classificados dentro desse grupo, apresentando apenas um dos seus indivíduos alocados no grupo de Bourbon Vermelho. Além desses, os acessos MG0006 e MG0106 apresentaram três dos seis indivíduos alocados no grupo de Catuai e os demais no grupo de Bourbon Vermelho. Estes resultados corroboram com os dados fenotípicos dos acessos MG0006 e MG0103, que apresentam porte baixo, que é uma característica típica de cultivares de Catuai. De fato, os resultados mostram a eficiência do método em discriminar os acessos, com base nos dados moleculares obtidos neste estudo. Assim, conclui-se que esses acessos podem ser possíveis híbridos de Catuai com Bourbon ou mesmo pertencentes ao próprio germoplasma Catuai.

Os acessos MG0110, MG0117, MG0118 e MG0119 foram alocados no grupo de Sumatra. Apesar de o acesso MG0118 apresentar porte baixo, fenótipo típico de Catuaí, ele pode ser classificado no grupo de Sumatra devido ao nível de parentesco dessas cultivares. Pelos resultados obtidos, conclui-se que esses acessos podem ser considerados como Mundo Novo ou Sumatra.

Quanto aos acessos classificados no grupo de Bourbon Vermelho, MG0111 e MG0112 podem ser considerados como Bourbon Vermelho ou mesmo como um híbrido de Bourbon Vermelho com Bourbon Amarelo.

Tabela 5. Análises discriminantes de cafeeiros do grupo Bourbon Amarelo baseadas no método do vizinho médio, estimada por 10 marcadores SSR.

Grupo	Nº de acessos (plantas)	% de cafeeiros alocados nos diferentes grupos*					
		BV	BA	ST	MN	CT	AB
Bourbon Vermelho (BV)	3 (9)	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Bourbon Amarelo (BA)	5 (9)	0,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Sumatra (ST)	2 (6)	0,00	0,00	83,33	16,67	0,00	0,00
Mundo Novo (MN)	2 (6)	0,00	0,00	50,00	50,00	0,00	0,00
Catuaí (CT)	1 (3)	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00	0,00
Amarelo de Botucatu (AB)	1 (3)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
TEA (%)		11,11					
Validação	49(282)	8,51	74,47	7,80	0,71	8,51	0,00
TEA (%)		25,53					

* Os valores em negrito referem-se à percentagem de alocação dos acessos em seus respectivos grupos de origem.

3.4. Redes neurais artificiais

A classificação dos acessos dos grupos Bourbon pela rede neural artificial apresentou menor TEA (5,70%) que a obtida pela análise discriminante pelo método do vizinho médio (20,66%). Essa baixa TEA obtida pela RNA evidencia o seu potencial de generalização, quando comparada com a análise discriminante (Tabela 6).

Apesar de os percentuais de classificações incorretas serem relativamente baixos, observou-se maior frequência dos acessos do grupo Bourbon Amarelo sendo alocados incorretamente no grupo Bourbon Vermelho do que o contrário. Dentre os acessos do grupo Bourbon Amarelo, aqueles registrados como MG0023, MG0106,

MG0117 e MG0118 apresentaram pelo menos dois dos seus indivíduos classificados no grupo Bourbon Vermelho. É importante relatar que, a utilização das RNA's na discriminação dos acessos do grupo Bourbon gerou alguns resultados consistentes. Dos quatro acessos de Bourbon Amarelo que apresentaram alguns dos seus indivíduos classificados no grupo de Bourbon Vermelho, apenas o acesso MG0023 não havia recebido esta mesma alocação quando foi classificado por meio da análise discriminante. Também, observou-se no grupo de Bourbon Vermelho que ambos os procedimentos classificaram o acesso MG0022 no grupo de Bourbon Amarelo, o que leva a concluir que pertence a esse grupo.

Estudos realizados por Barbosa et al. (2011), utilizando as redes neurais artificiais como estratégia de análise da diversidade genética em acessos de mamoeiro, concluíram que a técnica se demonstrou viável na classificação dos acessos e na avaliação da diversidade genética em recursos genéticos, para fins de utilização em programas de melhoramento. Chen et al. (2010) demonstraram que a técnica de redes neurais artificiais pode ser utilizada com sucesso na identificação de variedades de milho.

Tabela 6. Percentuais de classificações corretas e incorretas entre os cafeeiros do grupo Bourbon obtida por meio da análise de redes neurais artificiais.

Grupo	% de cafeeiros alocados nos diferentes grupos			
	Treinamento		Validação	
	BV	BA	BV	BA
Bourbon Vermelho (BV)	100,00	0,00	97,86	2,14
Bourbon Amarelo (BA)	0,00	100,00	3,56	96,44
TEA (%)	0,00		5,70	

Arquitetura de rede: 7 neurônios por camada e função de ativação logsig.

Quanto à discriminação dos acessos do grupo Bourbon Vermelho, com o intuito de verificar a sua pureza, observa-se que a RNA apresentou maior TEA (22,22%) que a obtida pela análise discriminante (11,11%). Neste caso, a análise discriminante demonstrou ser mais eficiente na classificação dos acessos avaliados que as RNA's. Porém, quando avaliada a TEA para validação, as RNA's mostraram ser mais eficazes, com uma TEA de 4,32%, enquanto que a análise discriminante

obteve 54,67% de classificações incorretas (Tabela 7). Dos acessos de Bourbon Vermelho classificados incorretamente pela RNA, verificou-se que apenas um dos indivíduos dos acessos MG0014, MG0022, MG0064 e MG0128 foram alocados no grupo de Bourbon Amarelo. O acesso MG0066 apresentou dois indivíduos classificados neste grupo. Entretanto, resultados contraditórios foram obtidos na classificação desses acessos pela análise discriminante, na qual estes acessos foram classificados no grupo de Sumatra. A exceção foi o acesso MG0022, alocado no grupo Bourbon Amarelo.

Tabela 7. Percentuais de classificações corretas e incorretas entre os cafeeiros do grupo Bourbon Vermelho obtida por meio da análise de redes neurais artificiais.

Grupo	Nº de acessos (plantas)	% de cafeeiros alocados nos diferentes grupos					
		BV	BA	ST	MN	CT	AB
Bourbon Vermelho (BV)	3 (9)	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Bourbon Amarelo (BA)	5 (9)	5,55	94,45	0,00	0,00	0,00	0,00
Sumatra (ST)	2 (6)	13,89	0,00	86,11	0,00	0,00	0,00
Mundo Novo (MN)	2 (6)	0,00	0,00	2,78	97,22	0,00	0,00
Catuaí (CT)	1 (3)	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00	0,00
Amarelo de Botucatu (AB)	1 (3)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
TEA (%)		22,22					
Validação	27(139)	95,68	4,32	0,00	0,00	0,00	0,00
TEA (%)		4,32					

Arquitetura de rede: 7 neurônios por camada e função de ativação logsig.

Por outro lado, a discriminação dos acessos do grupo Bourbon Amarelo para a predição da pureza produziu resultados satisfatórios. Observou-se uma baixa TEA de 5,56% para treinamento, com apenas duas classificações incorretas, sendo um indivíduo do grupo Sumatra, pertencente ao acesso MG0130, alocado no grupo Bourbon Vermelho e outro do grupo Mundo Novo (IAC 379-19), classificado como Sumatra. Também, verificou-se na validação que quase todos os acessos do grupo Bourbon Amarelo foram alocados corretamente em seus respectivos grupos, com uma TEA de 0,71% (Tabela 8). Neste caso, percebe-se a superioridade das RNA's em relação à análise discriminante, uma vez que, apresentou apenas duas classificações incorretas, sendo um indivíduo do acesso MG0117 e outro do MG0118 alocados no grupo de Bourbon Vermelho. Estes resultados contradizem aos

obtidos pela análise discriminante, em que os indivíduos desses acessos foram classificados no grupo de Sumatra.

Tabela 8. Percentuais de classificações corretas e incorretas entre os cafeeiros do grupo Bourbon Amarelo obtida por meio da análise de redes neurais artificiais.

Grupo	Nº de acessos (plantas)	% de cafeeiros alocados nos diferentes grupos					
		BV	BA	ST	MN	CT	AB
Bourbon Vermelho (BV)	3 (9)	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Bourbon Amarelo (BA)	5 (9)	0,00	100,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Sumatra (ST)	2 (6)	0,00	2,78	97,22	0,00	0,00	0,00
Mundo Novo (MN)	2 (6)	0,00	0,00	2,78	97,22	0,00	0,00
Catuaí (CT)	1 (3)	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00	0,00
Amarelo de Botucatu (AB)	1 (3)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	100,00
TEA (%)		5,56					
Validação	49(282)	0,71	99,29	0,00	0,00	0,00	0,00
TEA (%)		0,71					

Arquitetura de rede: 7 neurônios por camada e função de ativação logsig.

Quanto as arquiteturas das redes neurais artificiais que obtiveram melhor comportamento de discriminação dos acessos do grupo Bourbon, observou-se que em todas as etapas estabelecidas houve uma predominância de arquiteturas com 7 neurônios por camada e da função de ativação sigmoideal logística (logsig) (Tabela 6, 7 e 8).

Pelos resultados obtidos, neste trabalho, pode-se considerar as redes neurais artificiais como uma ferramenta de suma importância para a solução de problemas de classificação de acessos em bancos de germoplasma. Além disso, podem substituir as análises discriminantes na tarefa de classificar indivíduos em grupos previamente conhecidos, desde que seja estabelecida uma RNA adequada.

3.5. Classificação dos acessos do grupo Bourbon com base nas análises discriminante e redes neurais artificiais

Com o intuito de identificar acessos uniformes e verificar a consistência dos dados moleculares com os dados de passaporte, a classificação dos acessos do grupo Bourbon foi realizada com base nas análises discriminante e redes neurais artificiais.

Dos 27 acessos de Bourbon Vermelho analisados, apenas os acessos MG0010, MG0057, MG0077, MG0078 e MG0094 apresentaram todos os seus indivíduos classificados corretamente tanto nas análises discriminantes quanto nas redes neurais, sendo assim considerados uniformes (Anexo I). Este resultado corrobora com os dados de passaporte de tais acessos. Os acessos MG0005, MG0075 e MG0107 apresentaram apenas um dos seus indivíduos classificados incorretamente em outros grupos de cafeeiros. Os demais acessos apresentaram dois ou mais indivíduos alocados em outros grupos indicando presença de misturas ou híbridos entre os acessos.

Dentre os acessos de Bourbon Amarelo classificados corretamente em todas as análises e de acordo com os dados de passaporte, podemos citar o MG0007, MG0008, MG0009, MG0019, MG0020, MG0029, MG0030, MG0032, MG0036, MG0037, MG0038, MG0042, MG0050, MG0063, MG0086, MG0089, MG0090, MG0091, MG0092, MG0093, MG0097, MG0109, MG0113, MG0116 e MG0125 (Anexo I). Esse resultado indica que tais acessos são uniformes e estão de acordo com os dados de passaporte, portanto, podem ser utilizados nos programas de melhoramento do cafeeiro. Os acessos MG0015, MG0021, MG0022, MG0028, MG0040, MG0070 e MG0098 apresentaram somente um indivíduo alocado nos outros grupos de cafeeiros. Os acessos restantes apresentaram dois ou mais indivíduos classificados em outros grupos, sendo o resultado inconsistente com os dados de passaporte.

Com base nos resultados obtidos, conclui-se que os locos SSR juntamente com as análises discriminante e de redes neurais artificiais permitiram caracterizar e agrupar os acessos do BAG da Epamig de forma a diferenciá-los em grupos de cafeeiros. Portanto, os acessos identificados como uniformes neste estudo, correspondem ao germoplasma Bourbon e podem ser explorados nos programas de melhoramento genético do cafeeiro.

3.6. Diversidade alélica dos locos microssatélites

Os dez locos SSR polimórficos detectados neste estudo foram utilizados nos 79 acessos de cafeeiros do grupo Bourbon. Um total de 27 alelos foram detectados com o número de alelos por locos variando de dois (EST-SSR02, EST-SSR23, SSRCa18, SSRCa45, SSR67, SSR122 e SSR133) a seis (SSRCa80) e uma média de 2,7 alelos (Tabela 9). Estudos realizados por Maluf et al. (2005) visando avaliar a diversidade genética de 28 acessos de *C. arabica* e *C. canephora*, utilizaram 23 *primers* SSR e obtiveram um número total de 66 alelos, com uma média de 2,87 alelos por locos. Ferrão et al. (2013), comparando a capacidade de discriminação e informatividade dos marcadores RAPD, AFLP e SSR em 94 acessos de *C. canephora*, observaram um número médio de 4,84 alelos por locos utilizando 19 *primers* SSR. Missio et al. (2009) avaliaram a diversidade genética em 23 genótipos de café utilizando 17 *primers* EST-SSR e amplificaram um total de 87 alelos, com uma média de 5,12 alelos por locos. Poncet et al. (2006) investigaram o nível de polimorfismo de 25 *primers* EST-SSR em diferentes espécies do gênero *Coffea* e encontraram um número médio de 10,5 alelos por loco. Estes resultados demonstram que o número total de alelos numa população depende do seu tamanho e constituição genética avaliada.

A análise do conteúdo de informação polimórfica (PIC) permitiu quantificar o polimorfismo genético de cada loco nas populações em estudo. O PIC indica a informatividade dos locos dos referidos marcadores e seu potencial para detectar diferenças entre os genótipos com base em suas relações genéticas. O maior valor do PIC observado para a população de acessos de Bourbon Vermelho foi de 0,75 para o loco SSRCa80, ao passo que o menor valor (0,05) foi observado para os locos EST-SSR02, EST-SSR23 e SSRCa18, com valor médio de 0,32. Para a população de acessos de Bourbon Amarelo, o maior valor do PIC observado foi de 0,64 (SSRCa80), enquanto que, o menor valor foi de 0,01 para o locos EST-SSR23, com média de 0,35 (Tabela 9). Os valores médios de PIC observados para as duas populações estudadas indicam um moderado nível de polimorfismo dos locos SSR analisados. Neste estudo, dos dez locos SSR analisados, três (SSR18, SSR95 e SSRCa80) podem ser considerados altamente informativos para a população de

Bourbon Vermelho, enquanto que, na população de Bourbon Amarelo o loco mais informativo foi o SSRCa80.

A heterozigidade esperada na população de acessos de Bourbon Vermelho variou de 0,21 (SSR133) a 0,78 (SSRCa80), com média de 0,36, enquanto que a heterozigidade observada variou de 0,00 (SSR067, SSR122, SSR133, SSRCa045 e EST-SRR023) a 1,00 (SSR095 e SSRCa80), com média de 0,21. Na população de Bourbon Amarelo a heterozigidade esperada variou de 0,01 (EST-SSRCa23) a 0,69 (SSRCa80), com média de 0,43. A heterozigidade observada apresentou média de 0,23 variando de 0,00 (SSR067, SSR122, SSR133, SSRCa045 e EST-SRR023) a 1,00 (SSR095 e SSRCa80) (Tabela 9). Neste estudo, o loco SSRCa80 apresentou o maior valor de heterozigidade esperada e observada nas duas populações analisadas. Como o café arábica é uma planta autógama esperava-se que para todos os locos a heterozigidade observada fosse menor que a heterozigidade esperada. Entretanto, isso não foi observado, provavelmente devido a ocorrência de misturas ou polinização cruzada no local de coleta dos acessos. Maluf et al. (2005), trabalhando com acessos de *C. arabica*, observaram valor médio de heterozigidade esperada de 0,33, menor que os obtidos neste estudo. Estudos realizados por Ferrão et al. (2013) em acessos de *C. canephora*, em que a diversidade genética é bem mais ampla que a de *C. arabica*, os valores médios de heterozigidade esperada obtidos por aqueles autores foram similares aos encontrados neste trabalho (0,43). Poncet et al. (2007) encontraram resultados semelhantes, com uma heterozigidade esperada de 0,51 em populações de *C. canephora*. Em estudos de diversidade genética realizados por Gomez et al. (2009) em genótipos de *C. canephora*, foi observado um valor médio de heterozigidade esperada (0,65) superior aos obtidos neste estudo.

Os valores de heterozigidade esperada encontrados neste trabalho indicam uma ampla diversidade genética entre os acessos do grupo Bourbon, que pode ser devido possivelmente por esses acessos terem sido coletados na forma de sementes em diferentes lavouras de café nos principais Estados produtores.

Tabela 9. Locos microssatélites, com seus respectivos números de alelos por locos (Na), heterozigidade observada (Ho), heterozigidade esperada (He) e conteúdo de informação polimorfica (PIC) obtidos nos acessos de Bourbon Vermelho e Bourbon Amarelo.

Locos	Bourbon Vermelho					Bourbon Amarelo				
	Na	Ho	He	PIC	PICmáx.	Na	Ho	He	PIC	PICmáx.
EST-SSR 002	2	0,01	0,06	0,06	0,37	2	0,04	0,46	0,35	0,37
EST-SSR 023	2	0,00	0,05	0,05	0,37	2	0,00	0,01	0,01	0,37
SSR 018	3	0,05	0,62	0,55	0,59	3	0,01	0,58	0,49	0,59
SSR 067	2	0,00	0,30	0,25	0,37	2	0,00	0,47	0,36	0,37
SSR 095	4	1,00	0,68	0,62	0,70	4	1,00	0,59	0,51	0,70
SSR 122	2	0,00	0,35	0,29	0,37	2	0,00	0,49	0,37	0,37
SSR 133	2	0,00	0,21	0,19	0,37	2	0,00	0,32	0,27	0,37
SSRCa 018	2	0,06	0,06	0,06	0,37	2	0,21	0,19	0,17	0,37
SSRCa 045	2	0,00	0,49	0,37	0,37	2	0,00	0,50	0,37	0,37
SSRCa 080	6	1,00	0,78	0,75	0,81	6	1,00	0,69	0,64	0,81
Média	2,7	0,21	0,36	0,32	-	2,7	0,23	0,43	0,35	-

3.7. Diversidade genética entre e dentro dos acessos do grupo Bourbon

A proporção da variabilidade genética existente entre os acessos do grupo Bourbon com base na AMOVA, permitiu verificar que a maior parte da variação genética se encontra dentro das populações, com 74,27% e os 25,73% da variação restante entre populações (Tabela 10). Esse resultado indica considerável diversidade genética entre e dentro dessas populações que pode ser explorada nos programas de melhoramento genético do cafeeiro. Considerando que o café arábica é uma planta autógama, e que apesar de apresentar 10% de polinização cruzada, era esperado menor variabilidade dentro de populações. Esta estimativa, juntamente com os altos valores de heterozigidade observada em alguns locos indica a ocorrência de misturas em cada população e certamente heterozigose. De modo geral, a alta porcentagem de variação dentro de populações pode ter sido influenciada pela forma de coleta dos acessos, uma vez que foram coletados em diferentes lavouras de café, como também pela ocorrência de polinização cruzada no local de coleta. Resultados semelhantes foram obtidos por Geleta et al. (2012) que utilizando marcadores SSR para estudar a diversidade genética em 26 populações de *C. arabica*, também observaram que a variabilidade genética dentro de populações (86,50%) foi maior que a variabilidade entre populações. Missio et al. (2009) estudaram a diversidade

genética entre e dentro de populações de *C. arabica*, *C. canephora* e Híbrido de Timor utilizando marcadores SSR, e obtiveram estimativas de 64% de variação genética entre populações e 36% dentro dessas populações.

O conhecimento da distribuição da variabilidade genética entre e dentro dos acessos do grupo Bourbon é essencial para a adoção de estratégias eficientes na conservação do germoplasma. Logo, com base nos resultados, nota-se a ocorrência de ampla variabilidade genética entre e dentro dos acessos do grupo Bourbon que pode ser explorada nos programas de melhoramento do cafeeiro.

Tabela 10. Análise de variância molecular (AMOVA) entre e dentro de acessos do grupo Bourbon, utilizando 10 marcadores SSR.

Fonte de variação	G.L	SQ	% de variação	Φ_{ST}
Entre populações	1	10,07	25,73	0,2573
Dentro de populações	437	63,77	74,27	
Total	438	73,84	100,0	

4. Conclusões

i) A análise discriminante mostrou que os locos SSR obtidos foram adequados para diferenciar os acessos de cafeeiros arábica do grupo Bourbon, sendo uma ferramenta eficiente na discriminação de acessos.

ii) As redes neurais artificiais constituem uma técnica viável na classificação de acessos de Bourbon em um Banco de Germoplasma de *Coffea spp.*, apresentando maior eficiência em relação à análise discriminante.

iii) Entre os acessos de Bourbon analisados, foi possível encontrar acessos pertencentes ao grupo Bourbon confirmando os dados de passaporte, como também, acessos identificados como misturas ou híbridos ou erros de identificação.

iv) Existe ampla diversidade genética entre os acessos de Bourbon do Banco de Germoplasma de *Coffea spp.* da Epamig, evidenciada pelos elevados valores de heterozigosidade esperada.

v) A variabilidade genética encontrada entre e dentro de populações, obtida pela decomposição da variação total por meio da AMOVA, apresentou maior percentual de variação do que era esperado para a espécie *C. arabica*. Com a maior parte da variação genética observada dentro das populações de acessos.

5. Referências Bibliográficas

AGUILERA, J. G.; PESSONI, L. A.; RODRIGUES, G. B.; ELSAYED, A. Y.; SILVA, D. J. H.; BARROS, E. G. Genetic variability by ISSR markers in tomato (*Solanum lycopersicon* Mill.). **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.6, n.2, p.243-252, 2011.

ARADHYA, M. K.; STOVER, ED.; VELASCO, D.; KOEHMSTEDT, A. Genetic structure and differentiation in cultivated fig (*Ficus carica* L.). **Genetica**, v. 138, p. 681–694, 2010.

BARBOSA, C. D.; VIANA, A. P.; QUINTAL, S. S. R.; PEREIRA, M. G. Artificial neural network analysis of genetic diversity in *Carica papaya* L. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 11, p. 224-231, 2011.

BEHARAV, A.; NEVO, E. Predictive validity of discriminant analysis for genetic data. **Genetica**, v.119, p. 259-267, 2003.

BRITO, G. G.; CAIXETA, E. T.; GALLINA, A. P.; ZAMBOLIM, E. M.; ZAMBOLIM, L.; DIOLA, V.; LOUREIRO, M. E. 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.

CERVERA, M. T.; CABEZAS, J. A.; SANCHA, J. C.; TODA, F. M.; MARTÍNEZ-ZAPATER, J. M. Application of AFLPs to the characterization of grapevine *Vitis vinifera* L. genetic resources. A case study with accessions from Rioja (Spain). **Theor Appl Genet**, v. 97, p. 51-59, 1998.

CHAKRAVARTHI, B. K.; NARAVANENI, R. SSR marker based DNA fingerprinting and diversity study in rice (*Oryza sativa*. L). **African Journal of Biotechnology**, v. 5, n. 9, p. 684-688, 2006.

CHEN, X.; XUN, Y.; LI, W.; ZHANG, J. Combining discriminant analysis and neural networks for corn variety identification. **Computers and Electronics in Agriculture**, v. 71, p. 48–53, 2010.

CIDADE, F. W.; BIANCA BZ, VIGNA, F. HD S.; VALLS, J. F. M.; AGNOL, M. D.; ZUCCHI, M. I.; SOUZA-CHIES, T. T.; SOUZA, A. P. Genetic variation in polyploid forage grass: Assessing the molecular genetic variability in the *Paspalum* genus. **BMC Genetics**, v. 14, n. 1, p. 50, 2013.

CRUZ, C. D. GENES – a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**, v.35, n.3, p.271-276, 2013.

DINIZ, L. E. C.; SAKIYAMA, N. S.; LASHERMES, P.; CAIXETA, E. T.; OLIVEIRA, A. C. B.; MACIEL-ZAMBOLIM, E.; LOUREIRO, M. E.; PEREIRA, A. A.; ZAMBOLIM, L. Analysis of AFLP markers associated to the Mex-1 resistance locus in Icatu progenies. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.5, p.387-393, 2005.

EXCOFFIER, L.; SMOUSE, P. E.; QUATTRO, J. M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. **Genetics**, v. 131, p.179-191, 1992.

FALEIRO, F. G. **Marcadores genéticos-moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos**. Embrapa, Planaltina. 2007. 102p.

FERRÃO, L. F. V., CAIXETA, E. T., SOUZA, F. D. F., ZAMBOLIM, E. M., CRUZ, C. D., ZAMBOLIM, L., SAKIYAMA, N. S. Comparative study of different molecular markers for classifying and establishing genetic relationships in *Coffea canephora*. **Plant Systematics and Evolution**, v. 299, n. 1, p. 225-238, 2013.

FERREIRA, M. E.; MORETZSOHN, M. C.; BUSO, G. S. C. Fundamentos de caracterização molecular de germoplasma vegetal. In: NASS, L.L. (ed.). **Recursos genéticos vegetais**. Brasília, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007, p. 377-420.

GOMEZ, C.; DUSSERT, S.; HAMON, P.; HAMON, S.; KOCHKO, A.; PONCET, V. Current genetic differentiation of *Coffea canephora* Pierre ex A. Froehn in the Guineo-Congolian African zone: cumulative impact of ancient climatic changes and recent human activities. **BMC Evolutionary Biology**, v. 9, p. 167, 2009.

LANES, E. C. M. Caracterização molecular de linhagens de milho tropical por meio de marcadores microssatélites. 2010. 46f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2010.

LASHERMES, P.; ANDRZEJEWSKI, S.; BERTRAND, B. *et al.* Molecular analysis of introgressive breeding in coffee (*Coffea arabica* L.). **Theor. Appl. Genet.**, v.100, p.139-146, 2000.

MALUF, M. P.; SILVESTRINI, M.; RUGGIERO, L. M. C.; OLIVEIRO GUERREIRO FILHO; COLOMBO, C. A. Genetic diversity of cultivated coffee arabica inbred lines assessed by rapid, AFLP and SSR marker systems. **Sci. Agric. (Piracicaba, Braz.)**, v.62, n.4, p.366-373, 2005.

MATHWORKS.MATLAB – The Language of Technical Computing. Disponível em: <http://www.mathworks.com/products/matlab>

MCGREGOR, C.E.; LAMBERT, C.A.; GREYLING, M.M.; LOUW, J.H.; WARNICH, L. A comparative assessment of DNA fingerprinting techniques

(RAPD, ISSR, AFLP and SSR) in tetraploid potato (*Solanum tuberosum* L.) germplasm. **Euphytica**, v. 113, p. 135–144, 2000.

MISSIO, R. F.; CAIXETA, E. T.; ZAMBOLIM, E. M.; PENA, G. F.; RIBEIRO, A. P.; ZAMBOLIM, L.; PEREIRA, A. A.; SAKIYAMA, N. S. Assessment of est-ssr markers for genetic analysis on coffee. **Bragantia**, v.68, n.3, p.573-581, 2005.

MISSIO, R. F.; CAIXETA, E. T.; ZAMBOLIM, E. M.; ZAMBOLIM, L.; SAKIYAMA, N. S. Development and validation of SSR markers for *Coffea Arabica* L. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 9, n. 4, p. 361-371, 2009.

MISSIO, R. F.; CAIXETA, E. T.; ZAMBOLIM, E. M.; PENA, G. F.; ZAMBOLIM, L.; DIAS, L. A. S.; SAKIYAMA, N. S. Genetic characterization of an elite coffee germplasm assessed by gSSR and EST-SSR markers. **Genet Mol Res**, v. 10, p. 2366-2381, 2011.

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

OLIVEIRA, M. V. C.; BALIZA, D. P.; SOUZA, G. A.; CARVALHO, S. P.; ASSIS, L. H. B. Caracterização de clones de mandioca utilizando marcadores Microssatélites. **Revista Ciencia Agronomica**, v. 43, n. 1, p. 170-176, 2012.

PERAZZO, G.; PANTA, A.; RODRIGUEZ, F.; GOMEZ, R.; TOLEDO, J.; HUAMÁN, Z.; GHISLAIN, M.; GOLMIRZAIE, A. M.; ROCA, W. Clonal True-to-Type Verification of Potato Accessions Retrieved from In Vitro Conservation and Cryopreservation. **Scientist and farmer: Partners in research for the 21st century. Program Report**, v. 2000, p. 175-183, 1999.

PEREIRA, A. A., SILVA, F. L. D., OLIVEIRA, A. C. B. D., OLIVEIRA, A. L. D., SAKIYAMA, N. S., REZENDE, J. C. D., BOTELHO, C. E., CARVALHO, G. R., BONOMO, V. S. (2011). Caracterização da qualidade de bebida e outras

características de acessos do banco de germoplasma de café de minas gerais. In: VII Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, Araxá – MG.

PESSONI, L. A. Estratégias de análise da diversidade genética em germoplasma de cajueiro (*Anacardium ssp. L.*). 2007. 159f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.

PONCET, V.; DUFOUR, M.; HAMON, P.; HAMON, S.; KOCHKO, A.; LEROY, T. Development of genomic microsatellite markers in *Coffea canephora* and their transferability to other coffee species. **Genome**, v. 50, p. 1156-1161, 2007.

PONCET, V.; RONDEAU, M.; TRANCHANT, C.; CAYREL, A.; HAMON, S.; DE KOCHKO, A.; HAMON, P. SSR mining in coffee tree EST databases: potential use of EST-SSRs as markers for the *Coffea* genus. **Molecular and Genetics Genomics**, v.276, p.436-449, 2006.

PONCET, V.; HAMON, P.; MINIER, J.; CARASCO, C.; HAMON, S.; NOIROT, M. SSR cross-amplification and variation within coffee trees (*Coffea* spp.). **Genome**, v. 47, n. 6, p. 1071-1081, 2004.

VIEIRA, E. A.; FIALHO, J. F.; SILVA, M. S.; FUKUDA, W. M. G.; FALEIRO, F. G. Variabilidade genética do banco de germoplasma de mandioca da Embrapa cerrados acessada por meio de descritores morfológicos. **Científica**, v.36, n.1, p.56 - 67, 2008.

ANEXO I

Anexo I. Classificação de acessos do grupo Bourbon baseada nas análises discriminante e redes neurais artificiais, estimadas por 10 marcadores SSR.

Acesso	Designação do Material no Local de Coleta	Local de Coleta	Bourbon Vermelho X Bourbon Amarelo		Bourbon X Bourbon/Sumatra/Mundo Novo/Catuá Amarelo/Amarelo Botucatu		Observação
			Vizinho médio	Redes neurais	Vizinho médio	Redes neurais	
MG 0004 R1 P2 MG 0004 R1 P4 MG 0004 R1 P6 MG 0004 R2 P6 MG 0004 R2 P5 MG 0004 R2 P3	Bourbon Vermelho	Faz. Sagrado Coração de Jesus, Ervália-MG	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo Amarelo de Botucatu Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	
MG 0005 R1 P2 MG 0005 R1 P1 MG 0005 R1 P7 MG 0005 R2 P1 MG 0005 R2 P2 MG 0005 R2 P3	Bourbon Vermelho	Faz. Santa Cruz, Ervália-MG	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Catuá Amarelo	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	
MG 0010 R2 P3 MG 0010 R2 P4 MG 0010 R2 P8	Bourbon Vermelho	Faz. Gromongol, Ervália-MG (Lavoura de 130 anos)	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Acesso uniforme, seguindo os dados de passaporte
MG 0011 R1 P7 MG 0011 R1 P1 MG 0011 R1 P6 MG 0011 R2 P5 MG 0011 R2 P6 MG 0011 R2 P7	Bourbon Vermelho	Faz. São João Batista, Campos Altos-MG	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Sumatra Sumatra Sumatra Sumatra Sumatra	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	
MG 0014 R1 P1 MG 0014 R1 P3 MG 0014 R1 P2 MG 0014 R2 P1 MG 0014 R2 P2 MG 0014 R2 P10	Bourbon Vermelho	Faz. São Domingos, Monte Santo de Minas-MG	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Sumatra Sumatra Sumatra Sumatra Sumatra Sumatra	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	
MG 0022 R1 P5 MG 0022 R1 P4 MG 0022 R1 P1	Bourbon Alaranjado T6 (grãos vermelhos)	Faz. Recreio, São Sebastião da Grama-SP (Lavoura de 18 anos)	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	

Anexo I. Continuação...

Acesso	Designação do Material no Local de Coleta	Local de Coleta	Bourbon Vermelho X Bourbon Amarelo		Bourbon X Bourbon/Sumatra/Mundo Novo/Catuai Amarelo/Amarelo Botucatu		Observação
			Vizinho médio	Redes neurais	Vizinho médio	Redes neurais	
MG 0026 R1 P2 MG 0026 R1 P10 MG 0026 R1 P7 MG 0026 R2 P3 MG 0026 R2 P5 MG 0026 R2 P7	Bourbon Vermelho T5 - semente de varias pls de uma parcela	Faz. Recreio, São Sebastião da Grama-SP (Lavoura de 18 anos)	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Vermelho Sumatra Sumatra Sumatra Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	
MG 0033 R1 P1 MG 0033 R1 P4 MG 0033 R1 P5 MG 0033 R2 P1 MG 0033 R2 P2 MG 0033 R2 P3	Bourbon Vermelho IAC Col. 17 MS	Sítio São José, Dois Córregos-SP (Lavoura de 3 anos)	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Catuai Amarelo Bourbon Vermelho Catuai Amarelo	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	
MG 0034 R1 P1 MG 0034 R1 P8 MG 0034 R1 P2 MG 0034 R2 P2 MG 0034 R2 P7 MG 0034 R2 P6	Bourbon Vermelho	Faz. Sagrado Coração de Jesus, Ervália-MG	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Catuai Amarelo Bourbon Vermelho Catuai Amarelo Catuai Amarelo Catuai Amarelo Catuai Amarelo	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	
MG 0035 R1 P2 MG 0035 R1 P3 MG 0035 R1 P6 MG 0035 R2 P2 MG 0035 R2 P3 MG 0035 R2 P1	Bourbon Vermelho	Faz. Santo Antônio, Araponga-MG	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Sumatra Bourbon Vermelho Sumatra Catuai Amarelo Sumatra Sumatra	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	
MG 0057 R2 P4 MG 0057 R2 P1 MG 0057 R2 P7	Bourbon Vermelho PI 06 (acesso coletado de uma única planta)	Faz. Santa Alina, São Sebastião da Grama-SP (Lavoura de 115 anos)	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Acesso uniforme, seguindo os dados de passaporte
MG 0059 R1 P4 MG 0059 R1 P1 MG 0059 R1 P2	Bourbon Vermelho PI 03	Faz. Santa Alina, São Sebastião da Grama-SP (Lavoura de 115 anos)	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Vermelho Catuai Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	

Anexo I. Continuação...

Acesso	Designação do Material no Local de Coleta	Local de Coleta	Bourbon Vermelho X Bourbon Amarelo		Bourbon X Bourbon/Sumatra/Mundo Novo/Catuá Amarelo/Amarelo Botucatu		Observação
			Vizinho médio	Redes neurais	Vizinho médio	Redes neurais	
MG 0060 R1 P3 MG 0060 R1 P6 MG 0060 R1 P1	Bourbon Vermelho P1 02	Faz. Santa Alina, São Sebastião da Grama-SP (Lavoura de 115 anos)	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Catuá Amarelo Catuá Amarelo Bourbon Vermelho	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	
MG 0064 R1 P3 MG 0064 R1 P4 MG 0064 R1 P5 MG 0064 R2 P2 MG 0064 R2 P3 MG 0064 R2 P5	Bourbon Vermelho	Faz. Bela Vista, Guaranésia-SP (Lavoura de 49 anos)	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Catuá Amarelo Sumatra Sumatra Sumatra Sumatra	Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	
MG 0066 R1 P1 MG 0066 R1 P4 MG 0066 R1 P6 MG 0066 R2 P3 MG 0066 R2 P2 MG 0066 R2 P1	Bourbon Vermelho	Faz. Recreio, São Sebastião da Grama-SP (Lavoura de 49 anos)	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Sumatra Sumatra Sumatra Sumatra Sumatra	Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	
MG 0075 R2 P1 MG 0075 R2 P2 MG 0075 R2 P4	Bourbon Vermelho P1 12 (acesso coletado de uma única planta)	Faz. Santa Alina, São Sebastião da Grama-SP (Lavoura de 115 anos)	Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo Bourbon Vermelho	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo Bourbon Vermelho	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	
MG 0077 R1 P1 MG 0077 R1 P3 MG 0077 R1 P7 MG 0077 R2 P1 MG 0077 R2 P2 MG 0077 R2 P3	Bourbon Vermelho P1 14 (acesso coletado de uma única planta)	Faz. Santa Alina, São Sebastião da Grama-SP (Lavoura de 115 anos)	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Acesso uniforme, seguindo os dados de passaporte			
MG 0078 R1 P2 MG 0078 R1 P4 MG 0078 R1 P5 MG 0078 R2 P1 MG 0078 R2 P2 MG 0078 R2 P6	Bourbon Vermelho P1 15 (acesso coletado de uma única planta)	Faz. Santa Alina, São Sebastião da Grama-SP (Lavoura de 115 anos)	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Acesso uniforme, seguindo os dados de passaporte			
MG 0094 R1 P1 MG 0094 R1 P2 MG 0094 R1 P7 MG 0094 R2 P3	Bourbon Vermelho	Manhumirim-MG	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Acesso uniforme, seguindo os dados de passaporte			

Anexo I. Continuação...

Acesso	Designação do Material no Local de Coleta	Local de Coleta	Bourbon Vermelho X Bourbon Amarelo		Bourbon X Bourbon/Sumatra/Mundo Novo/Catuaí Amarelo/Amarelo Botucatu		Observação
			Vizinho médio	Redes neurais	Vizinho médio	Redes neurais	
MG 0094 R2 P5 MG 0094 R2 P7	Bourbon Vermelho	Manhumirim-MG	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	
MG 0096 R1 P10 MG 0096 R1 P5 MG 0096 R1 P7 MG 0096 R2 P1 MG 0096 R2 P2 MG 0096 R2 P4	Bourbon Vermelho	Faz. Experimental, Varginha-MG	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Catuaí Amarelo Sumatra Catuaí Amarelo Catuaí Amarelo Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	
MG 0099 R1 P1 MG 0099 R1 P4 MG 0099 R1 P5 MG 0099 R2 P1 MG 0099 R2 P2 MG 0099 R2 P3	Bourbon Vermelho VD	Faz. São João Batista, Campos Altos-MG	Bourbon Amarelo Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Amarelo de Botucatu Sumatra Sumatra Amarelo de Botucatu Bourbon Vermelho Catuaí Amarelo	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	
MG 0105 R1 P1 MG 0105 R1 P10 MG 0105 R1 P6 MG 0105 R2 P3 MG 0105 R2 P4 MG 0105 R2 P6	Bourbon Vermelho	Faz. Bugiu, Dois Córregos-SP	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Catuaí Amarelo Catuaí Amarelo Catuaí Amarelo Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	
MG 0107 R1 P10 MG 0107 R1 P6 MG 0107 R1 P8 MG 0107 R2 P4 MG 0107 R2 P6 MG 0107 R2 P8	Bourbon Vermelho	Sítio São José, Dois Córregos-SP	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Sumatra	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	
MG 0115 R1 P2 MG 0115 R1 P4 MG 0115 R1 P8 MG 0115 R2 P9 MG 0115 R2 P1 MG 0115 R2 P5	Bourbon Vermelho	Faz. Caparaó, Araponga-MG (Lavoura de 3 anos)	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Catuaí Amarelo Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Catuaí Amarelo	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	
MG 0127 R1 P4 MG 0127 R1 P6	Carolino	Faz. Alto Recreio, Iuna-ES	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	

Anexo I. Continuação...

Acesso	Designação do Material no Local de Coleta	Local de Coleta	Bourbon Vermelho X Bourbon Amarelo		Bourbon X Bourbon/Sumatra/Mundo Novo/Catuá Amarelo/Amarelo Botucatu		Observação
			Vizinho médio	Redes neurais	Vizinho médio	Redes neurais	
MG 0127 R1 P9 MG 0127 R2 P1 MG 0127 R2 P3 MG 0127 R2 P2	Carolino	Faz. Alto Recreio, Iuna-ES	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Catuá Amarelo Catuá Amarelo Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	
MG 0128 R1 P2 MG 0128 R1 P4 MG 0128 R1 P8 MG 0128 R2 P3 MG 0128 R2 P8 MG 0128 R2 P7	Bourbon Vermelho	Faz. da Gruta, Marechal Floriano-ES	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo Bourbon Vermelho	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo Sumatra	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	
BV IAC	Bourbon Vermelho IAC		Bourbon Amarelo	Bourbon Vermelho	Amarelo de Botucatu	Bourbon Vermelho	
MG 0006 R1 P3 MG 0006 R1 P6 MG 0006 R1 P8 MG 0006 R2 P4 MG 0006 R2 P1 MG 0006 R2 P5	Bourbon Amarelo	Faz. Santo Antônio, Araponga-MG (Lavoura de 15 anos)	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Catuá Amarelo Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Catuá Amarelo Catuá Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Pela observação de campo, as plantas possuem porte baixo
MG 0007 R1 P5 MG 0007 R1 P6 MG 0007 R1 P2 MG 0007 R2 P2 MG 0007 R2 P3 MG 0007 R2 P9	Bourbon Amarelo	Agropecuária Toriba Ltda, São Sebastião do Paraíso-MG	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Acesso uniforme, seguindo os dados de passaporte
MG 0008 R1 P8 MG 0008 R1 P4 MG 0008 R1 P6 MG 0008 R2 P1 MG 0008 R2 P3 MG 0008 R2 P4	Bourbon Amarelo	Campo Experimental de Café, Martins Soares-MG (Lavoura de 15 anos)	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Acesso uniforme, seguindo os dados de passaporte
MG 0009 R2 P1 MG 0009 R2 P3 MG 0009 R2 P9	Bourbon Amarelo IAC col. 19 MS	Sítio São José, Dois Córregos-SP (Lavoura de 3 anos)	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Acesso uniforme, seguindo os dados de passaporte

Anexo I. Continuação...

Acesso	Designação do Material no Local de Coleta	Local de Coleta	Bourbon Vermelho X Bourbon Amarelo		Bourbon X Bourbon/Sumatra/Mundo Novo/Catuaí Amarelo/Amarelo Botucatu		Observação
			Vizinho médio	Redes neurais	Vizinho médio	Redes neurais	
MG 0015 R1 P7 MG 0015 R1 P1 MG 0015 R1 P4 MG 0015 R2 P1 MG 0015 R2 P10 MG 0015 R2 P4	Bourbon Alaranjado	Faz. São Domingos, Monte Santo de Minas-MG	Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	
MG 0019 R1 P1 MG 0019 R1 P3 MG 0019 R1 P4 MG 0019 R2 P10 MG 0019 R2 P2 MG 0019 R2 P7	Bourbon Amarelo	Campo Experimental de Café, Martins Soares-MG	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Acesso uniforme, seguindo os dados de passaporte			
MG 0020 R1 P9 MG 0020 R1 P10 MG 0020 R1 P8 MG 0020 R2 P1 MG 0020 R2 P5 MG 0020 R2 P6	Bourbon Amarelo T7 - semente de varias pls de uma parcela	Faz. Recreio, São Sebastião da Grama-SP (Lavoura de 18 anos)	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Acesso uniforme, seguindo os dados de passaporte			
MG 0021 R1 P1 MG 0021 R1 P4 MG 0021 R1 P3 MG 0021 R2 P3 MG 0021 R2 P2 MG 0021 R2 P5	Bourbon Amarelo T7 - semente de varias pls de uma parcela	Faz. Recreio, São Sebastião da Grama-SP (Lavoura de 18 anos)	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	
MG 0022 R1 P3 MG 0022 R1 P2 MG 0022 R1 P6 MG 0022 R2 P4 MG 0022 R2 P5 MG 0022 R2 P7	Bourbon Alaranjado T6 (graos laranja)	Faz. Recreio, São Sebastião da Grama-SP (Lavoura de 18 anos)	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	
MG 0023 R1 P1 MG 0023 R1 P3 MG 0023 R1 P4 MG 0023 R2 P3	Bourbon Amarelo T6 - semente de varias pls de uma parcela	Faz. Recreio, São Sebastião da Grama-SP (Lavoura de 18 anos)	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	

Anexo I. Continuação...

Acesso	Designação do Material no Local de Coleta	Local de Coleta	Bourbon Vermelho X Bourbon Amarelo		Bourbon X Bourbon/Sumatra/Mundo Novo/Catuai Amarelo/Amarelo Botucatu		Observação
			Vizinho médio	Redes neurais	Vizinho médio	Redes neurais	
MG 0023 R2 P4 MG 0023 R2 P6	Bourbon Amarelo T6 - semente de varias pls de uma parcela	Faz. Recreio, São Sebastião da Grama-SP (Lavoura de 18 anos)	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	
MG 0028 R1 P5 MG 0028 R1 P4 MG 0028 R1 P2 MG 0028 R2 P1 MG 0028 R2 P2 MG 0028 R2 P4	Bourbon Amarelo T3 - semente de varias pls de uma parcela	Faz. Recreio, São Sebastião da Grama-SP (Lavoura de 18 anos)	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	
MG 0029 R1 P2 MG 0029 R1 P1 MG 0029 R1 P3 MG 0029 R2 P1 MG 0029 R2 P5 MG 0029 R2 P8	Bourbon Amarelo T2 - semente de varias pls de uma parcela	Faz. Recreio, São Sebastião da Grama-SP (Lavoura de 18 anos)	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Acesso uniforme, seguindo os dados de passaporte
MG 0030 R1 P3 MG 0030 R1 P1 MG 0030 R1 P2 MG 0030 R2 P10 MG 0030 R2 P2 MG 0030 R2 P5	Bourbon Amarelo T1 - semente de varias pls de uma parcela	Faz. Recreio, São Sebastião da Grama-SP (Lavoura de 18 anos)	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Acesso uniforme, seguindo os dados de passaporte
MG 0031 R1 P3 MG 0031 R1 P2 MG 0031 R1 P5 MG 0031 R2 P3 MG 0031 R2 P4 MG 0031 R2 P3	Bourbon Amarelo	Fazenda São Domingos, Monte Santo de Minas-MG	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Vermelho	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Vermelho Catuai Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	
MG 0032 R1 P1 MG 0032 R1 P3 MG 0032 R1 P4 MG 0032 R2 P1 MG 0032 R2 P6 MG 0032 R2 P7	Bourbon Amarelo IAC Col. 19 MS	Sítio São José, Dois Córregos-SP (Lavoura de 3 anos)	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Acesso uniforme, seguindo os dados de passaporte

Anexo I. Continuação...

Acesso	Designação do Material no Local de Coleta	Local de Coleta	Bourbon Vermelho X Bourbon Amarelo		Bourbon X Bourbon/Sumatra/Mundo Novo/Catuai Amarelo/Amarelo Botucatu		Observação
			Vizinho médio	Redes neurais	Vizinho médio	Redes neurais	
MG 0036 R1 P4 MG 0036 R1 P2 MG 0036 R1 P1 MG 0036 R2 P1 MG 0036 R2 P2 MG 0036 R2 P7	Bourbon Amarelo	Faz. da Gruta, Marechal Floriano-ES	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Acesso uniforme, seguindo os dados de passaporte
MG 0037 R1 P4 MG 0037 R1 P7 MG 0037 R1 P5 MG 0037 R2 P2 MG 0037 R2 P3 MG 0037 R2 P6	Bourbon Amarelo T8 - semente de varias pls de uma parcela	Faz. Recreio, São Sebastião da Grama-SP (Lavoura de 18 anos)	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Acesso uniforme, seguindo os dados de passaporte
MG 0038 R1 P2 MG 0038 R1 P5 MG 0038 R1 P8 MG 0038 R2 P1 MG 0038 R2 P2 MG 0038 R2 P3	Bourbon Amarelo T10 - semente de varias pls de uma parcela	Faz. Recreio, São Sebastião da Grama-SP (Lavoura de 18 anos)	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Acesso uniforme, seguindo os dados de passaporte
MG 0039 R1 P1 MG 0039 R1 P3 MG 0039 R1 P1 MG 0039 R2 P3 MG 0039 R2 P6 MG 0039 R2 P8	Bourbon Amarelo T11 - semente de varias pls de uma parcela	Faz. Recreio, São Sebastião da Grama-SP (Lavoura de 18 anos)	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Catuai Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	
MG 0040 R1 P6 MG 0040 R1 P8 MG 0040 R1 P2 MG 0040 R2 P1 MG 0040 R2 P4 MG 0040 R2 P6	Bourbon Amarelo T12 - semente de varias pls de uma parcela	Faz. Recreio, São Sebastião da Grama-SP (Lavoura de 18 anos)	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Vermelho	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	
MG 0042 R1 P3 MG 0042 R1 P4 MG 0042 R1 P1 MG 0042 R2 P1	Bourbon Amarelo T14 - semente de varias pls de uma parcela	Faz. Recreio, São Sebastião da Grama-SP (Lavoura de 18 anos)	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Acesso uniforme, seguindo os dados de passaporte

Anexo I. Continuação...

Acesso	Designação do Material no Local de Coleta	Local de Coleta	Bourbon Vermelho X Bourbon Amarelo		Bourbon X Bourbon/Sumatra/Mundo Novo/Catuai Amarelo/Amarelo Botucatu		Observação
			Vizinho médio	Redes neurais	Vizinho médio	Redes neurais	
MG 0042 R2 P3 MG 0042 R2 P10	Bourbon Amarelo T14 - semente de varias pls de uma parcela	Faz. Recreio, São Sebastião da Grama-SP (Lavoura de 18 anos)	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	
MG 0050 R1 P2 MG 0050 R1 P7 MG 0050 R1 P9 MG 0050 R2 P5 MG 0050 R2 P4 MG 0050 R2 P1	Bourbon Amarelo T23 - semente de varias pls de uma parcela	Faz. Recreio, São Sebastião da Grama-SP (Lavoura de 18 anos)	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Acesso uniforme, seguindo os dados de passaporte
MG 0063 R1 P10 MG 0063 R1 P8 MG 0063 R1 P6 MG 0063 R2 P2 MG 0063 R2 P3 MG 0063 R2 P6	Bourbon Amarelo	Faz. Consulta, Guaxupé-MG (Lavoura de 55 anos)	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Acesso uniforme, seguindo os dados de passaporte
MG 0070 R1 P2 MG 0070 R1 P4 MG 0070 R1 P6 MG 0070 R2 P1 MG 0070 R2 P2 MG 0070 R2 P6	Bourbon Amarelo T30 - semente de varias pls de uma parcela	Faz. Recreio, São Sebastião da Grama-SP (Lavoura de 18 anos)	Bourbon Amarelo Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	
MG 0086 R1 P6 MG 0086 R1 P8 MG 0086 R1 P9	Bourbon Amarelo MS	Faz. Santa Alina, São Sebastião da Grama-SP (Lavoura de 115 anos)	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Acesso uniforme, seguindo os dados de passaporte
MG 0087 R1 P8 MG 0087 R1 P6 MG 0087 R1 P5	Bourbon Amarelo PI 01	Faz. Santa Alina, São Sebastião da Grama-SP (Lavoura de 115 anos)	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Sumatra Bourbon Vermelho Catuai Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	
MG 0089 R1 P1 MG 0089 R1 P8 MG 0089 R1 P6 MG 0089 R2 P1 MG 0089 R2 P2 MG 0089 R2 P4	Bourbon Amarelo PI 04	Faz. Santa Alina, São Sebastião da Grama-SP (Lavoura de 115 anos)	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Acesso uniforme, seguindo os dados de passaporte

Anexo I. Continuação...

Acesso	Designação do Material no Local de Coleta	Local de Coleta	Bourbon Vermelho X Bourbon Amarelo		Bourbon X Bourbon/Sumatra/Mundo Novo/Catuai Amarelo/Amarelo Botucatu		Observação
			Vizinho médio	Redes neurais	Vizinho médio	Redes neurais	
MG 0090 R1 P1 MG 0090 R1 P3 MG 0090 R1 P6 MG 0090 R2 P1 MG 0090 R2 P2 MG 0090 R2 P5	Bourbon Amarelo PI 05	Faz. Santa Alina, São Sebastião da Grama-SP (Lavoura de 115 anos)	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Acesso uniforme, seguindo os dados de passaporte			
MG 0091 R1 P1 MG 0091 R1 P3 MG 0091 R1 P5 MG 0091 R2 P1 MG 0091 R2 P4 MG 0091 R2 P6	Bourbon Amarelo PI 06	Faz. Santa Alina, São Sebastião da Grama-SP (Lavoura de 115 anos)	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Acesso uniforme, seguindo os dados de passaporte			
MG 0092 R1 P2 MG 0092 R1 P4 MG 0092 R1 P7 MG 0092 R2 P3 MG 0092 R2 P5 MG 0092 R2 P6	Bourbon Amarelo	Faz. Santa Alina, São Sebastião da Grama-SP	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Acesso uniforme, seguindo os dados de passaporte			
MG 0093 R1 P1 MG 0093 R1 P2 MG 0093 R1 P4 MG 0093 R2 P2 MG 0093 R2 P3 MG 0093 R2 P4	Bourbon Amarelo	Faz. da Ilha, Alfenas-MG (Lavoura de 5 anos)	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Acesso uniforme, seguindo os dados de passaporte			
MG 0095 R1 P1 MG 0095 R1 P5 MG 0095 R1 P6 MG 0095 R2 P2 MG 0095 R2 P5 MG 0095 R2 P6	Bourbon Amarelo	Faz. Experimental de Machado, Machado-MG	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Catuai Amarelo Catuai Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	
MG 0097 R1 P3 MG 0097 R1 P6 MG 0097 R1 P9 MG 0097 R2 P4	Bourbon Amarelo	Faz. Experimental, Varginha-MG	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Acesso uniforme, seguindo os dados de passaporte			

Anexo I. Continuação...

Acesso	Designação do Material no Local de Coleta	Local de Coleta	Bourbon Vermelho X Bourbon Amarelo		Bourbon X Bourbon/Sumatra/Mundo Novo/Catuai Amarelo/Amarelo Botucatu		Observação
			Vizinho médio	Redes neurais	Vizinho médio	Redes neurais	
MG 0097 R2 P9 MG 0097 R2 P10	Bourbon Amarelo	Faz. Experimental, Varginha-MG	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	
MG 0098 R1 P3 MG 0098 R1 P4 MG 0098 R1 P5 MG 0098 R2 P3 MG 0098 R2 P4 MG 0098 R2 P5	Bourbon Amarelo	Faz. Bom Jardim, Santo Antônio do Amparo-MG	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	
MG 0103 R1 P1 MG 0103 R1 P3 MG 0103 R1 P5 MG 0103 R2 P4 MG 0103 R2 P7 MG 0103 R2 P8	Bourbon Amarelo	Faz. Alto Recreio, Iuna-ES (Lavoura de 25 anos)	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo Bourbon Vermelho	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Catuai Amarelo Catuai Amarelo Catuai Amarelo Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo Catuai Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Pela observação de campo, as plantas desse acesso apresentam porte baixo.
MG 0104 R1 P2 MG 0104 R1 P4 MG 0104 R1 P8 MG 0104 R2 P8 MG 0104 R2 P5 MG 0104 R2 P4	Bourbon Amarelo UFV 535	Área Experimental do Fundão, Viçosa-MG	Bourbon Amarelo Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Catuai Amarelo Bourbon Vermelho Catuai Amarelo Catuai Amarelo Catuai Amarelo Catuai Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	
MG 0106 R1 P10 MG 0106 R1 P2 MG 0106 R1 P9 MG 0106 R2 P1 MG 0106 R2 P2 MG 0106 R2 P3	Bourbon Amarelo	Faz. Bugiu, Dois Corregos-SP	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo Bourbon Vermelho	Bourbon Amarelo Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Vermelho	Catuai Amarelo Catuai Amarelo Bourbon Vermelho Catuai Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Vermelho	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	
MG 0108 R1 P2 MG 0108 R1 P4 MG 0108 R1 P9 MG 0108 R2 P6 MG 0108 R2 P1 MG 0108 R2 P8	Bourbon Amarelo	Faz. Bugiu, Dois Corregos-SP	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	
MG 0109 R2 P3 MG 0109 R2 P2	Bourbon Amarelo IAC JC	Faz. Café da Crista, Marechal Floriano-ES	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Acesso uniforme, seguindo os dados de passaporte

Anexo I. Continuação...

Acesso	Designação do Material no Local de Coleta	Local de Coleta	Bourbon Vermelho X Bourbon Amarelo		Bourbon X Bourbon/Sumatra/Mundo Novo/Catuai Amarelo/Amarelo Botucatu		Observação
			Vizinho médio	Redes neurais	Vizinho médio	Redes neurais	
MG 0109 R2 P1	Bourbon Amarelo IAC JC	Faz. Café da Crista, Marechal Floriano-ES	Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo	
MG 0110 R1 P2 MG 0110 R1 P6 MG 0110 R1 P9 MG 0110 R2 P1 MG 0110 R2 P3 MG 0110 R2 P4	Bourbon Amarelo	Faz. Ipê, Carmo de Minas-MG	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Sumatra Mundo Novo Mundo Novo Sumatra Sumatra Sumatra	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Pela observação de campo, as plantas desse acesso apresentam porte baixo.
MG 0111 R1 P1 MG 0111 R1 P3 MG 0111 R1 P5 MG 0111 R2 P5 MG 0111 R2 P4 MG 0111 R2 P8	Bourbon Amarelo	Faz. da Pedra, Carmo de Minas-MG	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	
MG 0112 R1 P1 MG 0112 R1 P2 MG 0112 R1 P3 MG 0112 R2 P6 MG 0112 R2 P8 MG 0112 R2 P10	Bourbon Amarelo	Faz. Itaú, Carmo de Minas-MG	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Catuai Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	
MG 0113 R1 P3 MG 0113 R1 P4 MG 0113 R1 P5 MG 0113 R2 P1 MG 0113 R2 P2 MG 0113 R2 P5	Bourbon Amarelo	Faz. Sertão, Carmo de Minas-MG	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Acesso uniforme, seguindo os dados de passaporte
MG 0116 R1 P1 MG 0116 R1 P2 MG 0116 R1 P3 MG 0116 R2 P3 MG 0116 R2 P4 MG 0116 R2 P8	Bourbon Amarelo	Faz. Samambaia, Santo Antônio do Amparo-MG	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Acesso uniforme, seguindo os dados de passaporte

Anexo I. Continuação...

Acesso	Designação do Material no Local de Coleta	Local de Coleta	Bourbon Vermelho X Bourbon Amarelo		Bourbon X Bourbon/Sumatra/Mundo Novo/Catuai Amarelo/Amarelo Botucatu		Observação
			Vizinho médio	Redes neurais	Vizinho médio	Redes neurais	
MG 0117 R1 P2 MG 0117 R1 P5 MG 0117 R1 P6 MG 0117 R2 P4 MG 0117 R2 P5 MG 0117 R2 P2	Bourbon Amarelo	Faz. Monte Alegre/Limoeiro, Alfenas-MG (Lavoura de 50 anos)	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Vermelho	Sumatra Sumatra Bourbon Amarelo Sumatra Sumatra	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo	Pela observação de campo, as plantas desse acesso apresentam segregação para porte.
MG 0118 R1 P1 MG 0118 R1 P2 MG 0118 R1 P3 MG 0118 R2 P3 MG 0118 R2 P1 MG 0118 R2 P2	Bourbon Amarelo	Faz. Monte Alegre/Trigo, Alfenas-MG (Lavoura de 8 anos)	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Sumatra Sumatra Sumatra Sumatra Sumatra	Bourbon Amarelo Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Pela observação de campo, as plantas desse acesso apresentam porte baixo e são parecidas com Catuai Amarelo
MG 0119 R1 P2 MG 0119 R1 P4 MG 0119 R1 P5 MG 0119 R2 P8 MG 0119 R2 P3 MG 0119 R2 P6	Bourbon Amarelo	Faz. Monte Alegre/Italiano, Alfenas-MG (Lavoura de 50 anos)	Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho Bourbon Vermelho	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Sumatra Sumatra Sumatra Sumatra Sumatra	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Pela observação de campo, as plantas desse acesso apresentam segregação para porte
MG 0125 R1 P3 MG 0125 R1 P4 MG 0125 R1 P5 MG 0125 R2 P1 MG 0125 R2 P3 MG 0125 R2 P4	Bourbon Amarelo	Faz. Boa Vista, Patrocínio-MG	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Acesso uniforme, seguindo os dados de passaporte
MG 0126 R1 P10 MG 0126 R1 P8 MG 0126 R1 P9 MG 0126 R2 P1 MG 0126 R2 P7 MG 0126 R2 P4	Bourbon Amarelo	Faz. Alto Recreio, Iuna-ES	Bourbon Amarelo Bourbon Vermelho Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Catuai Amarelo Catuai Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo Bourbon Amarelo	Pela observação de campo, as plantas desse acesso apresentam porte baixo.

* Em vermelho, cafeeiros do grupo Bourbon classificados incorretamente em outros grupos de cafeeiros.

CAPÍTULO 2

DIVERSIDADE GENÉTICA E *FINGERPRINTING* MOLECULAR EM UMA COLEÇÃO DE GERMOPLASMA DE CAFEEIROS BOURBON

Resumo

A falta de informação sobre os acessos mantidos nos Bancos de Germoplasma limita a sua utilização pelos programas de melhoramento. Dessa forma, a caracterização molecular tem sido realizada em Bancos de Germoplasma para conhecer a diversidade genética entre e dentro dos acessos, o que é crucial para o manejo eficiente e utilização dessas coleções. O objetivo do presente trabalho foi analisar a diversidade genética e o perfil molecular (*Fingerprinting*) dos acessos de Bourbon do Banco de Germoplasma de café da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (Epamig), por meio de marcadores moleculares AFLP e SSR. Foram utilizados 439 cafeeiros do grupo Bourbon, sendo quatro cafeeiros pertencentes ao Instituto Agrônomo de Campinas (IAC). Além dos Bourbons, foram analisados acessos de Típica, Sumatra, Mundo Novo, Catuaí Vermelho, Catuaí Amarelo, Caturra Vermelho, Caturra Amarelo e Amarelo de Botucatu, que apresentam características de interesse para os programas de melhoramento do cafeeiro. Para conhecer a diversidade genética e a relação dos acessos do Banco de Germoplasma da Epamig foram realizadas análises de agrupamento. Os marcadores utilizados permitiram discriminar a maioria dos indivíduos analisados. Esses dados moleculares sugerem que, apesar da reconhecida base genética estreita de *C. arabica*, o germoplasma de Bourbon pertencente a Epamig apresenta relativa variabilidade genética que pode ser explorada nos programas de melhoramento. Por outro lado, a análise de *fingerprinting* permitiu identificar os perfis moleculares de cada acesso de Bourbon avaliado, os quais podem ser utilizados na identificação dos cafeeiros no Banco. Pelos resultados obtidos, conclui-se que, existe variabilidade genética entre os acessos de Bourbon, os quais podem ser utilizados para o desenvolvimento de novos cultivares visando a produção de cafés com bebidas diferenciadas. Além disso, os perfis moleculares obtidos para cada acesso facilitará a distinção de genótipos aparentados e que apresentem características fenotípicas semelhantes.

1. Introdução

Apesar de os recursos genéticos serem a base para o melhoramento, a variabilidade genética presente nos Bancos de Germoplasma permanece pouco explorada. Um dos principais motivos do uso incipiente da variabilidade genética disponível nos bancos é a dificuldade de se obter informações de interesse acerca dos acessos conservados, seja por insuficiência dos dados de passaporte ou pela falta ou deficiência de caracterização em nível morfológico, agrônômico ou molecular (VALLS, 2007). Este fato evidencia a importância de atividades relacionadas à caracterização de germoplasma, principalmente para incentivar a utilização destes recursos em programas de melhoramento.

A caracterização molecular tem sido realizada em Bancos de Germoplasma para conhecer e entender a distribuição da diversidade genética entre e dentro dos acessos, o que é crucial para o manejo eficiente e utilização dessas coleções. Dessa forma, marcadores moleculares têm sido comumente utilizados para identificar redundâncias nas coleções de germoplasma, o que tem ajudado a resolver problemas de gerenciamento nos Bancos (CRUZ et al., 2013). Além disso, são utilizados para analisar a representatividade e a riqueza alélica da coleção, similaridade genética dos acessos, determinar as relações entre acessos, elucidar as relações evolutivas e auxiliar na identificação de cultivares (FERREIRA et al., 2007; CIDADE et al., 2013). Essas informações são fundamentais nas diversas etapas dos programas de conservação de germoplasma, como coleta, conservação e manutenção das coleções (FALEIRO, 2007).

De modo geral, a caracterização molecular permite o melhor manejo dos acessos e fornece subsídios para a conservação do germoplasma, bem como para a utilização em programas de melhoramento, com a escolha eficiente dos parentais e definição das estratégias mais adequadas de melhoramento (DANTAS et al., 2012). Além disso, permite verificar a necessidade de se coletar mais acessos ou incluir novos acessos oriundos de outros Bancos de Germoplasma, visando aumentar a variabilidade genética disponível (CUNHA, 2012).

Por outro lado, a análise de *fingerprinting* molecular em Bancos de Germoplasma é uma ferramenta poderosa para a identificação e correção de sinonímias, homonímias e erros na denominação de cultivares, além de possibilitar a

identificação de acessos duplicados nas coleções. A identificação de duplicatas permite o estabelecimento de uma coleção nuclear que represente a variabilidade genética disponível, com um mínimo de redundância, possibilitando aos melhoristas incrementar a condução dos trabalhos e tornar o germoplasma mais acessível (FERREIRA et al., 2011). Assim, a identificação genética dos acessos em Bancos de Germoplasma por meio de marcadores moleculares tem sido realizada principalmente devido aos benefícios oferecidos, como facilidade no gerenciamento e redução dos custos de manutenção.

O Banco de Germoplasma de *Coffea spp.* da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (Epamig), instalado na Fazenda Experimental de Patrocínio, MG, é considerado um dos mais importantes Bancos de café do país. A coleção conta, atualmente, com 1594 acessos. Destes, aproximadamente 140 acessos correspondem a genótipos de *C. arabica* do grupo Bourbon. Os cafeeiros Bourbons são reconhecidos internacionalmente por apresentarem elevado potencial na produção de cafés de qualidade superior de bebida. Esta é uma característica muito valorizada nos mercados de cafés especiais (GIOMO & BORÉM, 2011).

Cafeeiros do grupo Bourbon são muito utilizados para a produção de cafés especiais em diversas regiões do mundo, devido às suas características sensoriais diferenciadas, como elevada doçura natural, sabor achocolatado, aroma intenso e agradável acidez (CARVALHO et al., 2011; CHAGAS et al., 2013). Em vista desse mercado, os produtores brasileiros têm demonstrado interesse por esses cultivares com para produção de cafés especiais. Dessa forma, verifica-se a necessidade de um incentivo ao estudo de cultivares, como os Bourbons, que apresentem elevado potencial para qualidade de bebida, visando à busca por novas características sensoriais e, sobretudo, a possibilidade de agregar valor aos cafés especiais brasileiros (CARVALHO et al., 2011).

Devido a sua importância, os acessos de Bourbon conservados no Banco de Germoplasma da Epamig foram caracterizados por meio de caracteres morfoagronômicos (GUEDES, 2012). Com base nesses dados, foram selecionados 70 acessos para o estabelecimento de uma coleção nuclear. A caracterização e avaliação da diversidade genética dessa coleção por meio de marcadores moleculares são, ainda, essenciais para ampliar o conhecimento dos materiais genéticos

disponíveis. Essas informações facilitam e aumentam a eficiência do uso desse material genético nos programas de melhoramento genético do cafeeiro.

Diante do exposto, objetivou-se, no presente trabalho, analisar a diversidade genética e o perfil molecular (*Fingerprinting*) de acessos de Bourbon do Banco de Germoplasma de café da Epamig por meio de marcadores moleculares AFLP e SSR.

2. Material e Métodos

2.1. Material vegetal

Um total de 435 cafeeiros do grupo Bourbon, pertencentes a 75 acessos do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) da Epamig, localizado na Fazenda Experimental de Patrocínio, em Patrocínio, MG, foram analisados neste estudo. Além desses, quatro acessos de Bourbon provenientes do Instituto Agronômico de Campinas (IAC), em Campinas, SP, foram utilizados (Tabela 1). Os cafeeiros do grupo Bourbon do BAG da Epamig correspondem a seis plantas individuais de cada um dos 70 acessos da coleção nuclear proposta por Guedes (2012) e os outros 15 cafeeiros restantes são provenientes de introduções antigas no Brasil e coletados em lavouras centenárias.

Além dos Bourbons, foram analisados acessos das cultivares Típica, Sumatra, Mundo Novo, Catuaí Vermelho, Catuaí Amarelo, Caturra Vermelho, Caturra Amarelo e Amarelo de Botucatu. Essas cultivares apresentam uma ou mais características de interesse, como qualidade superior e diferenciada de bebida, elevada capacidade produtiva, porte adequado a colheita manual e mecanizada, entre outras. Por essa razão, são muito utilizadas em hibridações artificiais nos programas de melhoramento genético do cafeeiro.

Tabela 1. Acessos de cafeeiros mantidos no Banco de Germoplasma de *Coffea spp.* da Epamig, em Patrocínio, MG.

Acesso-planta	Grupo	Acesso-planta	Grupo
MG0001-1	Típica, Nacional	MG0010-1	Bourbon Vermelho
MG0001-2	Típica, Nacional	MG0010-2	Bourbon Vermelho
MG0001-3	Típica, Nacional	MG0010-3	Bourbon Vermelho
MG0002-1	Típica UFV 536	MG0010-4	Bourbon Vermelho
MG0002-2	Típica UFV 536	MG0010-5	Bourbon Vermelho
MG0002-3	Típica UFV 536	MG0010-6	Bourbon Vermelho
MG0003-1	Típica da Guatemala	MG0011-1	Bourbon Vermelho
MG0003-2	Típica da Guatemala	MG0011-2	Bourbon Vermelho
MG0003-3	Típica da Guatemala	MG0011-3	Bourbon Vermelho
MG0004-1	Bourbon Vermelho	MG0011-4	Bourbon Vermelho
MG0004-2	Bourbon Vermelho	MG0011-5	Bourbon Vermelho
MG0004-3	Bourbon Vermelho	MG0011-6	Bourbon Vermelho
MG0004-4	Bourbon Vermelho	MG0014-1	Bourbon Vermelho
MG0004-5	Bourbon Vermelho	MG0014-2	Bourbon Vermelho
MG0004-6	Bourbon Vermelho	MG0014-3	Bourbon Vermelho
MG0005-1	Bourbon Vermelho	MG0014-4	Bourbon Vermelho
MG0005-2	Bourbon Vermelho	MG0014-5	Bourbon Vermelho
MG0005-3	Bourbon Vermelho	MG0014-6	Bourbon Vermelho
MG0005-4	Bourbon Vermelho	MG0015-1	Bourbon Alaranjado
MG0005-5	Bourbon Vermelho	MG0015-2	Bourbon Alaranjado
MG0005-6	Bourbon Vermelho	MG0015-3	Bourbon Alaranjado
MG0006-1	Bourbon Amarelo	MG0015-4	Bourbon Alaranjado
MG0006-2	Bourbon Amarelo	MG0015-5	Bourbon Alaranjado
MG0006-3	Bourbon Amarelo	MG0015-6	Bourbon Alaranjado
MG0006-4	Bourbon Amarelo	MG0019-1	Bourbon Amarelo
MG0006-5	Bourbon Amarelo	MG0019-2	Bourbon Amarelo
MG0006-6	Bourbon Amarelo	MG0019-3	Bourbon Amarelo
MG0007-1	Bourbon Amarelo	MG0019-4	Bourbon Amarelo
MG0007-2	Bourbon Amarelo	MG0019-5	Bourbon Amarelo
MG0007-3	Bourbon Amarelo	MG0019-6	Bourbon Amarelo
MG0007-4	Bourbon Amarelo	MG0020-1	Bourbon Amarelo T7
MG0007-5	Bourbon Amarelo	MG0020-2	Bourbon Amarelo T7
MG0007-6	Bourbon Amarelo	MG0020-3	Bourbon Amarelo T7
MG0008-1	Bourbon Amarelo	MG0020-4	Bourbon Amarelo T7
MG0008-2	Bourbon Amarelo	MG0020-5	Bourbon Amarelo T7
MG0008-3	Bourbon Amarelo	MG0020-6	Bourbon Amarelo T7
MG0008-4	Bourbon Amarelo	MG0021-1	Bourbon Amarelo T7
MG0008-5	Bourbon Amarelo	MG0021-2	Bourbon Amarelo T7
MG0008-6	Bourbon Amarelo	MG0021-3	Bourbon Amarelo T7
MG0009-1	Bourbon Amarelo IAC	MG0021-4	Bourbon Amarelo T7
MG0009-2	Bourbon Amarelo IAC	MG0021-5	Bourbon Amarelo T7
MG0009-3	Bourbon Amarelo IAC	MG0021-6	Bourbon Amarelo T7
MG0009-4	Bourbon Amarelo IAC	MG0022-1	Bourbon Alaranjado T6
MG0009-5	Bourbon Amarelo IAC	MG0022-2	Bourbon Alaranjado T6
MG0009-6	Bourbon Amarelo IAC	MG0022-3	Bourbon Alaranjado T6

Tabela 1. Continuação...

Acesso-planta	Grupo	Acesso-planta	Grupo
MG0022-4	Bourbon Alaranjado T6	MG0032-6	Bourbon Amarelo IAC
MG0022-5	Bourbon Alaranjado T6	MG0033-1	Bourbon Vermelho IAC
MG0022-6	Bourbon Alaranjado T6	MG0033-2	Bourbon Vermelho IAC
MG0022-1	Bourbon Alaranjado	MG0033-3	Bourbon Vermelho IAC
MG0022-2	Bourbon Alaranjado	MG0033-4	Bourbon Vermelho IAC
MG0022-3	Bourbon Alaranjado	MG0033-5	Bourbon Vermelho IAC
MG0023-1	Bourbon Amarelo T6	MG0033-6	Bourbon Vermelho IAC
MG0023-2	Bourbon Amarelo T6	MG0034-1	Bourbon Vermelho
MG0023-3	Bourbon Amarelo T6	MG0034-2	Bourbon Vermelho
MG0023-4	Bourbon Amarelo T6	MG0034-3	Bourbon Vermelho
MG0023-5	Bourbon Amarelo T6	MG0034-4	Bourbon Vermelho
MG0023-6	Bourbon Amarelo T6	MG0034-5	Bourbon Vermelho
MG0026-1	Bourbon Vermelho T5	MG0034-6	Bourbon Vermelho
MG0026-2	Bourbon Vermelho T5	MG0035-1	Bourbon Vermelho
MG0026-3	Bourbon Vermelho T5	MG0035-2	Bourbon Vermelho
MG0026-4	Bourbon Vermelho T5	MG0035-3	Bourbon Vermelho
MG0026-5	Bourbon Vermelho T5	MG0035-4	Bourbon Vermelho
MG0026-6	Bourbon Vermelho T5	MG0035-5	Bourbon Vermelho
MG0028-1	Bourbon Amarelo T3	MG0035-6	Bourbon Vermelho
MG0028-2	Bourbon Amarelo T3	MG0036-1	Bourbon Amarelo
MG0028-3	Bourbon Amarelo T3	MG0036-2	Bourbon Amarelo
MG0028-4	Bourbon Amarelo T3	MG0036-3	Bourbon Amarelo
MG0028-5	Bourbon Amarelo T3	MG0036-4	Bourbon Amarelo
MG0028-6	Bourbon Amarelo T3	MG0036-5	Bourbon Amarelo
MG0029-1	Bourbon Amarelo T2	MG0036-6	Bourbon Amarelo
MG0029-2	Bourbon Amarelo T2	MG0037-1	Bourbon Amarelo T8
MG0029-3	Bourbon Amarelo T2	MG0037-2	Bourbon Amarelo T8
MG0029-4	Bourbon Amarelo T2	MG0037-3	Bourbon Amarelo T8
MG0029-5	Bourbon Amarelo T2	MG0037-4	Bourbon Amarelo T8
MG0029-6	Bourbon Amarelo T2	MG0037-5	Bourbon Amarelo T8
MG0030-1	Bourbon Amarelo T1	MG0037-6	Bourbon Amarelo T8
MG0030-2	Bourbon Amarelo T1	MG0038-1	Bourbon Amarelo T10
MG0030-3	Bourbon Amarelo T1	MG0038-2	Bourbon Amarelo T10
MG0030-4	Bourbon Amarelo T1	MG0038-3	Bourbon Amarelo T10
MG0030-5	Bourbon Amarelo T1	MG0038-4	Bourbon Amarelo T10
MG0030-6	Bourbon Amarelo T1	MG0038-5	Bourbon Amarelo T10
MG0031-1	Bourbon Amarelo	MG0038-6	Bourbon Amarelo T10
MG0031-2	Bourbon Amarelo	MG0039-1	Bourbon Amarelo T11
MG0031-3	Bourbon Amarelo	MG0039-2	Bourbon Amarelo T11
MG0031-4	Bourbon Amarelo	MG0039-3	Bourbon Amarelo T11
MG0031-5	Bourbon Amarelo	MG0039-4	Bourbon Amarelo T11
MG0031-6	Bourbon Amarelo	MG0039-5	Bourbon Amarelo T11
MG0032-1	Bourbon Amarelo IAC	MG0039-6	Bourbon Amarelo T11
MG0032-2	Bourbon Amarelo IAC	MG0040-1	Bourbon Amarelo T12
MG0032-3	Bourbon Amarelo IAC	MG0040-2	Bourbon Amarelo T12
MG0032-4	Bourbon Amarelo IAC	MG0040-3	Bourbon Amarelo T12
MG0032-5	Bourbon Amarelo IAC	MG0040-4	Bourbon Amarelo T12

Tabela 1. Continuação...

Acesso-planta	Grupo	Acesso-planta	Grupo
MG0040-5	Bourbon Amarelo T12	MG0070-4	Bourbon Amarelo T30
MG0040-6	Bourbon Amarelo T12	MG0070-5	Bourbon Amarelo T30
MG0042-1	Bourbon Amarelo T14	MG0070-6	Bourbon Amarelo T30
MG0042-2	Bourbon Amarelo T14	MG0075-1	Bourbon Vermelho PI 12
MG0042-3	Bourbon Amarelo T14	MG0075-2	Bourbon Vermelho PI 12
MG0042-4	Bourbon Amarelo T14	MG0075-3	Bourbon Vermelho PI 12
MG0042-5	Bourbon Amarelo T14	MG0075-4	Bourbon Vermelho PI 12
MG0042-6	Bourbon Amarelo T14	MG0075-5	Bourbon Vermelho PI 12
MG0050-1	Bourbon Amarelo T23	MG0075-6	Bourbon Vermelho PI 12
MG0050-2	Bourbon Amarelo T23	MG0077-1	Bourbon Vermelho PI 14
MG0050-3	Bourbon Amarelo T23	MG0077-2	Bourbon Vermelho PI 14
MG0050-4	Bourbon Amarelo T23	MG0077-3	Bourbon Vermelho PI 14
MG0050-5	Bourbon Amarelo T23	MG0077-4	Bourbon Vermelho PI 14
MG0050-6	Bourbon Amarelo T23	MG0077-5	Bourbon Vermelho PI 14
MG0057-1	Bourbon Vermelho PI 06	MG0077-6	Bourbon Vermelho PI 14
MG0057-2	Bourbon Vermelho PI 06	MG0086-1	Bourbon Amarelo
MG0057-3	Bourbon Vermelho PI 06	MG0086-2	Bourbon Amarelo
MG0057-4	Bourbon Vermelho PI 06	MG0086-3	Bourbon Amarelo
MG0057-5	Bourbon Vermelho PI 06	MG0087-1	Bourbon Amarelo
MG0057-6	Bourbon Vermelho PI 06	MG0087-2	Bourbon Amarelo
MG0059-1	Bourbon Vermelho PI 03	MG0087-3	Bourbon Amarelo
MG0059-2	Bourbon Vermelho PI 03	MG0089-1	Bourbon Amarelo PI 04
MG0059-3	Bourbon Vermelho PI 03	MG0089-2	Bourbon Amarelo PI 04
MG0060-1	Bourbon Vermelho PI 02	MG0089-3	Bourbon Amarelo PI 04
MG0060-2	Bourbon Vermelho PI 02	MG0089-4	Bourbon Amarelo PI 04
MG0060-3	Bourbon Vermelho PI 02	MG0089-5	Bourbon Amarelo PI 04
MG0063-1	Bourbon Amarelo	MG0089-6	Bourbon Amarelo PI 04
MG0063-2	Bourbon Amarelo	MG0090-1	Bourbon Amarelo PI 05
MG0063-3	Bourbon Amarelo	MG0090-2	Bourbon Amarelo PI 05
MG0063-4	Bourbon Amarelo	MG0090-3	Bourbon Amarelo PI 05
MG0063-5	Bourbon Amarelo	MG0090-4	Bourbon Amarelo PI 05
MG0063-6	Bourbon Amarelo	MG0090-5	Bourbon Amarelo PI 05
MG0064-1	Bourbon Vermelho	MG0090-6	Bourbon Amarelo PI 05
MG0064-2	Bourbon Vermelho	MG0091-1	Bourbon Amarelo PI06
MG0064-3	Bourbon Vermelho	MG0091-2	Bourbon Amarelo PI06
MG0064-4	Bourbon Vermelho	MG0091-3	Bourbon Amarelo PI06
MG0064-5	Bourbon Vermelho	MG0091-4	Bourbon Amarelo PI06
MG0064-6	Bourbon Vermelho	MG0091-5	Bourbon Amarelo PI06
MG0066-1	Bourbon Vermelho	MG0091-6	Bourbon Amarelo PI06
MG0066-2	Bourbon Vermelho	MG0092-1	Bourbon Amarelo
MG0066-3	Bourbon Vermelho	MG0092-2	Bourbon Amarelo
MG0066-4	Bourbon Vermelho	MG0092-3	Bourbon Amarelo
MG0066-5	Bourbon Vermelho	MG0092-4	Bourbon Amarelo
MG0066-6	Bourbon Vermelho	MG0092-5	Bourbon Amarelo
MG0070-1	Bourbon Amarelo T30	MG0092-6	Bourbon Amarelo
MG0070-2	Bourbon Amarelo T30	MG0093-1	Bourbon Amarelo
MG0070-3	Bourbon Amarelo T30	MG0093-2	Bourbon Amarelo

Tabela 1. Continuação...

Acesso-planta	Grupo	Acesso-planta	Grupo
MG0093-3	Bourbon Amarelo	MG0104-2	Bourbon Amarelo UFV 535
MG0093-4	Bourbon Amarelo	MG0104-3	Bourbon Amarelo UFV 535
MG0093-5	Bourbon Amarelo	MG0104-4	Bourbon Amarelo UFV 535
MG0093-6	Bourbon Amarelo	MG0104-5	Bourbon Amarelo UFV 535
MG0094-1	Bourbon Vermelho	MG0104-6	Bourbon Amarelo UFV 535
MG0094-2	Bourbon Vermelho	MG0105-1	Bourbon Vermelho
MG0094-3	Bourbon Vermelho	MG0105-2	Bourbon Vermelho
MG0094-4	Bourbon Vermelho	MG0105-3	Bourbon Vermelho
MG0094-5	Bourbon Vermelho	MG0105-4	Bourbon Vermelho
MG0094-6	Bourbon Vermelho	MG0105-5	Bourbon Vermelho
MG0095-1	Bourbon Amarelo	MG0105-6	Bourbon Vermelho
MG0095-2	Bourbon Amarelo	MG0106-1	Bourbon Amarelo
MG0095-3	Bourbon Amarelo	MG0106-2	Bourbon Amarelo
MG0095-4	Bourbon Amarelo	MG0106-3	Bourbon Amarelo
MG0095-5	Bourbon Amarelo	MG0106-4	Bourbon Amarelo
MG0095-6	Bourbon Amarelo	MG0106-5	Bourbon Amarelo
MG0096-1	Bourbon Vermelho	MG0106-6	Bourbon Amarelo
MG0096-2	Bourbon Vermelho	MG0107-1	Bourbon Vermelho
MG0096-3	Bourbon Vermelho	MG0107-2	Bourbon Vermelho
MG0096-4	Bourbon Vermelho	MG0107-3	Bourbon Vermelho
MG0096-5	Bourbon Vermelho	MG0107-4	Bourbon Vermelho
MG0096-6	Bourbon Vermelho	MG0107-5	Bourbon Vermelho
MG0097-1	Bourbon Amarelo	MG0107-6	Bourbon Vermelho
MG0097-2	Bourbon Amarelo	MG0108-1	Bourbon Amarelo
MG0097-3	Bourbon Amarelo	MG0108-2	Bourbon Amarelo
MG0097-4	Bourbon Amarelo	MG0108-3	Bourbon Amarelo
MG0097-5	Bourbon Amarelo	MG0108-4	Bourbon Amarelo
MG0097-6	Bourbon Amarelo	MG0108-5	Bourbon Amarelo
MG0098-1	Bourbon Amarelo	MG0108-6	Bourbon Amarelo
MG0098-2	Bourbon Amarelo	MG0109-1	Bourbon Amarelo IAC JC
MG0098-3	Bourbon Amarelo	MG0109-2	Bourbon Amarelo IAC JC
MG0098-4	Bourbon Amarelo	MG0109-3	Bourbon Amarelo IAC JC
MG0098-5	Bourbon Amarelo	MG0109-4	Bourbon Amarelo IAC JC
MG0098-6	Bourbon Amarelo	MG0109-5	Bourbon Amarelo IAC JC
MG0099-1	Bourbon VermelhoVD	MG0109 -6	Bourbon Amarelo IAC JC
MG0099-2	Bourbon VermelhoVD	MG0110-1	Bourbon Amarelo
MG0099-3	Bourbon VermelhoVD	MG0110-2	Bourbon Amarelo
MG0099-4	Bourbon VermelhoVD	MG0110-3	Bourbon Amarelo
MG0099-5	Bourbon VermelhoVD	MG0110-4	Bourbon Amarelo
MG0099-6	Bourbon VermelhoVD	MG0110-5	Bourbon Amarelo
MG0103-1	Bourbon Amarelo	MG0110-6	Bourbon Amarelo
MG0103-2	Bourbon Amarelo	MG0111-1	Bourbon Amarelo
MG0103-3	Bourbon Amarelo	MG0111-2	Bourbon Amarelo
MG0103-4	Bourbon Amarelo	MG0111-3	Bourbon Amarelo
MG0103-5	Bourbon Amarelo	MG0111-4	Bourbon Amarelo
MG0103-6	Bourbon Amarelo	MG0111-5	Bourbon Amarelo
MG0104-1	Bourbon Amarelo UFV 535	MG0111-6	Bourbon Amarelo

Tabela 1. Continuação...

Acesso-planta	Grupo	Acesso-planta	Grupo
MG0112-1	Bourbon Amarelo	MG0125-6	Bourbon Amarelo
MG0112-2	Bourbon Amarelo	MG0126-1	Bourbon Amarelo
MG0112-3	Bourbon Amarelo	MG0126-2	Bourbon Amarelo
MG0112-4	Bourbon Amarelo	MG0126-3	Bourbon Amarelo
MG0112-5	Bourbon Amarelo	MG0126-4	Bourbon Amarelo
MG0112-6	Bourbon Amarelo	MG0126-5	Bourbon Amarelo
MG0113-1	Bourbon Amarelo	MG0126-6	Bourbon Amarelo
MG0113-2	Bourbon Amarelo	MG0127-1	Carolino
MG0113-3	Bourbon Amarelo	MG0127-2	Carolino
MG0113-4	Bourbon Amarelo	MG0127-3	Carolino
MG0113-5	Bourbon Amarelo	MG0127-4	Carolino
MG0113-6	Bourbon Amarelo	MG0127-5	Carolino
MG0115-1	Bourbon Vermelho	MG0127-6	Carolino
MG0115-2	Bourbon Vermelho	MG0128-1	Bourbon Vermelho
MG0115-3	Bourbon Vermelho	MG0128-2	Bourbon Vermelho
MG0115-4	Bourbon Vermelho	MG0128-3	Bourbon Vermelho
MG0115-5	Bourbon Vermelho	MG0128-4	Bourbon Vermelho
MG0115-6	Bourbon Vermelho	MG0128-5	Bourbon Vermelho
MG0116-1	Bourbon Amarelo	MG0128-6	Bourbon Vermelho
MG0116-2	Bourbon Amarelo	BVIAC	Bourbon Vermelho
MG0116-3	Bourbon Amarelo	BAIAC Bulk	Bourbon Amarelo
MG0116-4	Bourbon Amarelo	BA IAC J10	Bourbon Amarelo J10
MG0116-5	Bourbon Amarelo	BA IAC J9	Bourbon Amarelo J9
MG0116-6	Bourbon Amarelo	MG0130-1	Sumatão Ponta Roxa
MG0117-1	Bourbon Amarelo	MG0130-2	Sumatão Ponta Roxa
MG0117-2	Bourbon Amarelo	MG0130-3	Sumatão Ponta Roxa
MG0117-3	Bourbon Amarelo	MG0134-1	Sumatra Palma
MG0117-4	Bourbon Amarelo	MG0134-2	Sumatra Palma
MG0117-5	Bourbon Amarelo	MG0134-3	Sumatra Palma
MG0117-6	Bourbon Amarelo	MG1209-1	Amarelo de Botucatu
MG0118-1	Bourbon Amarelo	MG1209-2	Amarelo de Botucatu
MG0118-2	Bourbon Amarelo	MG1209-3	Amarelo de Botucatu
MG0118-3	Bourbon Amarelo	UFV2144	Catuaí Vermelho
MG0118-4	Bourbon Amarelo	IAC 62-1	Catuaí Amarelo
MG0118-5	Bourbon Amarelo	IAC 62-2	Catuaí Amarelo
MG0118-6	Bourbon Amarelo	IAC 62-3	Catuaí Amarelo
MG0119-1	Bourbon Amarelo	IAC 376-4-1	Mundo Novo
MG0119-2	Bourbon Amarelo	IAC 376-4-2	Mundo Novo
MG0119-3	Bourbon Amarelo	IAC 376-4-3	Mundo Novo
MG0119-4	Bourbon Amarelo	IAC379-19-1	Mundo Novo
MG0119-5	Bourbon Amarelo	IAC379-19-2	Mundo Novo
MG0119-6	Bourbon Amarelo	IAC379-19-3	Mundo Novo
MG0125-1	Bourbon Amarelo	MG0190-1	Caturra Vermelho
MG0125-2	Bourbon Amarelo	MG0190-2	Caturra Vermelho
MG0125-3	Bourbon Amarelo	MG0190-3	Caturra Vermelho
MG0125-4	Bourbon Amarelo	MG0192-1	Caturra Vermelho
MG0125-5	Bourbon Amarelo	MG0192-2	Caturra Vermelho

Tabela 1. Continuação...

Acesso-planta	Grupo	Acesso-planta	Grupo
MG0192-3	Caturra Vermelho	MG0193-1	Caturra Amarelo
MG0216-1	Caturra Vermelho	MG0193-2	Caturra Amarelo
MG0216-2	Caturra Vermelho	MG0193-3	Caturra Amarelo
MG0216-3	Caturra Vermelho	MG0212-1	Caturra Amarelo
MG0191-1	Caturra Amarelo	MG0212-2	Caturra Amarelo
MG0191-2	Caturra Amarelo	MG0212-3	Caturra Amarelo
MG0191-3	Caturra Amarelo	-	-

2.2. Genotipagem com marcadores moleculares

2.2.1. Extração de DNA

O DNA genômico foi extraído de folhas jovens liofilizadas, utilizando o método descrito por Diniz et al. (2005). A avaliação da qualidade do DNA foi realizada em gel de agarose 1%, corado com brometo de etídio e sua concentração verificada em espectrofotômetro NanoDrop, da Thermo Scientific. As amostras foram padronizadas em 25 ng. μL^{-1} e armazenadas a -20 °C.

2.2.2. Marcador SSR

Inicialmente, foram testados 67 pares de *primers* SSR de cafeeiro. Os dez pares de *primers* que apresentaram polimorfismo foram selecionados para genotipagem e avaliação da diversidade genética entre os acessos (Tabela 2). As reações de amplificação foram realizadas conforme metodologia descrita por Missio et al. (2009) e a detecção do polimorfismo dos marcadores realizada em gel de poliacrilamida desnaturante 6% e corado com nitrato de prata, de acordo com o protocolo descrito por Brito et al. (2010). Apesar dos marcadores SSR serem codominantes e permitirem a individualização dos alelos, neste estudo foram tratados como dominantes, devido à perda de informações em análises de espécies poliplóides (CAVALLARI, 2008), como no caso de *C. arabica*. Consequentemente, a genotipagem dos acessos foi feita com base na ausência (0) e presença (1) de bandas.

Tabela 2. *Primers* SSR utilizados para genotipagem dos acessos de cafeeiros do grupo Bourbon.

Primer	Forward primer (5'→3')	Reverse primer (3'→5')
EST-SSR 002 ¹	GAAGGGACAAAGACGCCTAA	CGACAGATGCAGGAATAAACT
EST-SSR 023 ²	GCCATTTACAATCTCACCTC	AGACCCAGCAGACAACAACA
SSR 018 ³	GGCTCGAGATATCTGTTTAG	TTTAATGGGCATAGGGTCC
SSR 067 ³	CGTCTCGTTTCACGCTCTCT	GATCTGCATGTACTGGTGCTTC
SSR 095 ⁵	TAAGAAGCCACGTGACAAGTAA	TATGGCCCTTCTCGCTTTAGTT
SSR 122 ⁴	CGTCTCGTTTCACGCTCTCT	GATCTGCATGTACTGGTGCTTC
SSR 133 ⁴	GATACAACCTATCAAACGCATC	CTGTAGGATTGGGTCAATTCC
SSRCa 018 ⁶	GTCTCGTTTCACGCTCTCTC	ATTTTTGGCACGGTATGTTC
SSRCa 045 ⁶	GACTTGTTGCATTCCCCTA	GCGCATGTGAAGAGAAAGT
SSRCa 080 ⁶	GTTCTTTCCGCCGTCAAT	GAGAAGAGAGAGGAAGGGAA

Referências:¹Souza et al. (2003); ²Missio et al. (2011); ³Combes et al. (2002); ⁴Poncet et al. (2004); ⁵Moncada & Mccouch;

⁶Missio et al. (2009).

2.2.3. Marcador AFLP

A técnica de AFLP foi realizada conforme metodologia descrita por Brito et al. (2010) com algumas modificações. O DNA genômico dos acessos foi digerido com duas enzimas de restrição, uma de corte raro (EcoRI) e outra de corte frequente (MseI), por 6 h a 37 °C em banho-maria e, em seguida, inativadas por 15 min a 70 °C. Após a digestão, 5 µL da amostra foi submetida à eletroforese em gel de agarose 1%.

Adaptadores específicos para cada combinação de enzima foram ligados aos terminais dos fragmentos de DNA gerados pela clivagem, utilizando a enzima T4 DNA ligase, por 14 h a 4 °C. O material digerido e ligado foi diluído 1:10 em TE pH 8,0 e armazenado a -20 °C.

A pré-amplificação de fragmentos foi realizada utilizando *primers* específicos, acrescidos de uma base seletiva na extremidade 3'. A reação foi realizada em um volume final de 25 µL contendo 1 U de Taq DNA polimerase, 1X de tampão da Taq DNA polimerase, 1,5 mM de MgCl₂, 0,25 mM de dNTP, 1,5 ng.µL⁻¹ de *primer* EcoRI+N, 1,5 ng.µL⁻¹ de *primer* MseI+N e 2,5 µL de DNA digerido e ligado. O programa de PCR utilizado foi composto por 23 ciclos de amplificação, cada ciclo foiconstituído de desnaturação a 94 °C por 30s, anelamento a 56 °C por 1 minuto e extensão a 72 °C por 1 minuto. O produto pré-amplificado foi diluído 1:40 em TE pH 8,0 e armazenados a -20 °C.

As reações de amplificação foram realizadas utilizando *primers* seletivos com três bases adicionais na extremidade 3'. Foram selecionadas combinações de *primers* que apresentaram maior polimorfismo no trabalho realizado por Pestana (2010). As dez combinações de *primers* utilizadas foram: E-CGA/M-AGC, E-CGC/M-ATA, E-CTT/M-AGC, E-CCT/M-ATA, E-CAT/M-AGC, E-CGT/M-AGT, E-CCC/M-ACG, E-CGA/M-AAG, E-CCA/M-AGA e E-CCC-M/AGA. As reações foram completadas para o volume final de 20 µL, contendo 0,5 U de Taq DNA polimerase, 1X de tampão da Taq, 0,25 mM de dNTP, 1,5 mM de MgCl₂, 1,25 ng.µL⁻¹ de *primer* EcoRI+NNN, 1,50 ng.µL⁻¹ de *primer* MseI+NNN e 5 µL de DNA pré-amplificado e diluído. O PCR foi iniciado com desnaturação a 94 °C por 30s, anelamento a 65 °C por 30s e extensão a 72 °C por 1 minuto, seguidos de 12 ciclos a 94 °C por 30s, 65 °C por 30s (-0,7 °C em cada ciclo) e 72 °C por 1 minuto, mais 32 ciclos nas mesmas condições, modificando-se somente a temperatura de anelamento para 56 °C.

Aos produtos amplificados foram adicionados 8 µL de formamida (formamida 98%, EDTA pH 8,0 10 mM, xylene cyanol 1 mg/mL e bromophenol blue 1 mg/mL). O polimorfismo dos marcadores foi observado em gel de poliacrilamida desnaturante (6%), corado com prata. Os fragmentos amplificados foram avaliados como ausência (0) e presença (1) de bandas.

A fim de confirmar a repetibilidade do marcador AFLP, dez acessos de Bourbon foram selecionados e utilizados como repetição. Para tal, as etapas de extração, digestão, ligação e amplificação do DNA dos genótipos selecionados foram repetidas para verificar a eficiência da técnica. A partir dessa repetição, foram selecionadas as marcas nítidas para a análise dos dados.

2.3. Análise dos dados

2.3.1. Análise da diversidade genética

A dissimilaridade genética entre os acessos foi calculada a partir do coeficiente de Nei e Li e a matriz obtida foi utilizada para fazer o agrupamento dos acessos pelo método *Neighbor joining* (NJ), usando o *software* Mega v6.0

(TAMURA, et al., 2013). O dendrograma foi editado com o *software* FigTree v1.4.0 (RAMBAUT, 2012).

Para avaliar a diversidade genética dos acessos de Bourbon foram estabelecidas três etapas distintas. A primeira etapa foi representada por acessos pertencentes aos diferentes grupos de cafeeiros, a segunda etapa por acessos de Bourbon Vermelho e a terceira etapa por acessos de Bourbon Amarelo. Na segunda e terceira etapa também foram utilizados os diferentes grupos de cafeeiros analisados na primeira etapa a fim de verificar a relação genética dos acessos de Bourbon.

2.3.2. Análise de *Fingerprinting*

Com o intuito de verificar a identidade genética e definir um conjunto de marcadores a serem utilizados na discriminação dos acessos de Bourbon utilizados neste estudo, foi realizada a análise de *fingerprinting*. Para tal, foram utilizados apenas os dados moleculares dos acessos do grupo Bourbon Vermelho e do Bourbon Amarelo. A análise foi realizada pelo *software* GENES (CRUZ, 2013).

Na análise de *fingerprinting* são obtidas as distâncias mínimas em d , sobre a qual são identificados os pares de indivíduos mais similares. Assim, se d mínima for igual a zero, tem-se réplicas e reduz o número de marcas. Se d mínima for maior que zero, calcula-se a SQ das distâncias de $g(g-1)/2$ entre os pares de genótipos. Em seguida, obtém-se a SQ das distâncias removendo um a um genótipos (fazer q vezes) e identifica o marcador que menos contribui para a redução da SQ. Por fim, verifica a d mínima da nova matriz e, se d mínima for igual a zero finaliza. Se for maior que zero, calcula-se a SQ das distâncias de $g(g-1)/2$ para os pares de genótipos.

3. Resultados e discussão

3.1. Diversidade genética

A genotipagem dos 439 cafeeiros de Bourbon, utilizando 10 *primers* SSR e 10 combinações de *primers* AFLP, permitiu a identificação de 64 alelos polimórficos, sendo 27 alelos detectados pelo marcador SSR e os outros 37 restantes pelo marcador AFLP. O número de alelos por loco variou de dois (EST-SSR02, EST-SSR23, SSRCa18, SSRCa45, SSR67, SSR122 e SSR133) a seis (SSRCa80) com uma média de 2,7 alelos, no marcador SSR. Enquanto que, no AFLP variou de um (E-CTT/M-AGC) a seis (E-CGC/ M-ATA e E-CGT/M-AGT), com média de 3,7 alelos polimórficos por loco (Tabela 3). Para esse marcador, apenas as bandas nítidas presentes nas duas repetições foram consideradas. O número de alelos polimórficos encontrados, quando comparados com outros trabalhos realizados em cafeeiros, evidencia a riqueza alélica encontrada nos acessos de Bourbon. Geleta et al. (2012) utilizaram 12 locos SSR para avaliar a diversidade genética em 28 genótipos de *C. arabica* e obtiveram um número médio de alelos por locos de 2,5. Missio et al. (2005), avaliando a diversidade genética de 28 acessos de *C. arabica* e *C. canephora*, utilizaram 23 *primers* SSR e obtiveram um número total de 66 alelos, com uma média de 2,87 alelos por locos. Nesse trabalho, foram utilizadas duas espécies de café e o número médio de alelos foi semelhante ao encontrado no presente estudo.

A riqueza alélica encontrada nesse estudo indica a existência de variabilidade genética entre os acessos de Bourbon. Esses dados demonstram que o germoplasma, que foi obtido de diferentes lavouras e instituições de pesquisa, foi adequadamente coletado e deve ser mantido para ser utilizado no melhoramento genético do cafeeiro.

Tabela 3. Locos SSR e AFLP analisados, com seus respectivos números de alelos por loco(Na).

Loco SSR	Na	Loco AFLP	Na*
EST-SSR 002	2	E-CGA/M-AGC	3
EST-SSR 023	2	E-CGC/M-ATA	6
SSR 018	3	E-CTT/M-AGC	1
SSR 067	2	E-CCT/M-ATA	3
SSR 095	4	E-CAT/M-AGC	3
SSR 122	2	E-CGT/M-AGT	6
SSR 133	2	E-CCC/M-ACG	4
SSRCa 018	2	E-CGA/M-AAG	4
SSRCa 045	2	E-CCA/M-AGA	3
SSRCa 080	6	E-CCC/M-AGA	4
Média	2,7		3,7

* Para AFLP foi considerado o número de alelos polimórficos por loco

Para conhecer a diversidade genética e a relação dos acessos de Bourbon do Banco de Germoplasma da Epamig foram realizadas análises de agrupamento. O conjunto de dados obtido com os marcadores SSR e AFLP foi analisado em três etapas distintas.

Na primeira etapa, foram analisados os acessos pertencentes aos diferentes grupos de cafeeiros. Esses grupos correspondem a diferentes introduções que ocorreram no Brasil (Típica, Bourbon e Sumatra), mutações encontradas e incorporadas no melhoramento genético (Caturra Vermelho, Caturra Amarelo e Amarelo de Botucatu) e as principais cultivares plantadas no país (Mundo Novo, Catuaí Vermelho e Catuaí Amarelo). Os acessos de Bourbon utilizados nessa etapa correspondem a plantas antigas, com mais de 100 anos de idade (MG0010, MG0057 e MG0075). Os agrupamentos desses acessos permitiram a formação de três grupos (Figura 1).

No primeiro grupo ficaram todos os acessos de Típica e Bourbon Amarelo e dois Caturra Amarelo. Os cafeeiros Típica correspondem a introduções antigas que foram mantidas no IAC, na UFV e na Epamig. Os acessos de Bourbon Amarelo foram originados do cruzamento natural entre Bourbon Vermelho e Amarelo de Botucatu (CARVALHO et al., 1957) e mantidos pelo IAC desde que encontrados. Esses acessos ficaram alocados separadamente dos demais, provavelmente, por constituírem materiais mais antigos, mantido no Germoplasma, e por não terem

sido utilizados nos programas de melhoramento para a obtenção dos demais grupos de cafeeiros avaliados. Além disso, o Bourbon Amarelo tem como um dos seus prováveis parentais o Amarelo de Botucatu, que se originou de uma mutação da cultivar Típica (CARVALHO, 1993), justificando o agrupamento dos acessos de Bourbon Amarelo com os acessos de Típica.

Devido a esse parentesco do Amarelo de Botucatu e Bourbon Amarelo, esperava-se que os acessos desses cafeeiros ficassem agrupados, no entanto, não foi o observado (Figura 1). Provavelmente, os acessos de Amarelo de Botucatu que pertencem ao Banco de Germoplasma e foram estudados não são próximos geneticamente do genótipo que deu origem ao Bourbon Amarelo.

O segundo grupo foi formado pelos acessos de Sumatra, Mundo Novo, Catuaí e Bourbon Vermelho. O Sumatra corresponde a uma introdução no Brasil, proveniente da Ilha de Sumatra (CARVALHO, 1993). O Mundo Novo foi originado de um cruzamento natural entre Sumatra e Bourbon Vermelho (CARVALHO et al., 1952). Portanto, a alocação desses cafeeiros nesse grupo era esperado. Dos acessos de Bourbon estudados, o MG0057 foi o que ficou nesse grupo, sugerindo que esse seja o mais similar com aquele que deu origem ao Mundo Novo. A alocação do Catuaí deve-se ao fato de ter sido originado de um cruzamento artificial entre Mundo Novo e Caturra Amarelo (CARVALHO, 1993).

Os outros acessos de Bourbon Vermelho (MG0010 e MG0075) ficaram agrupados com os Caturras no terceiro grupo. A provável justificativa para o agrupamento é que tais acessos devem ser mais semelhantes com aqueles que originaram o Caturra Vermelho. O Bourbon Vermelho é originado da Ilha de Reunião e foi introduzido no Brasil com intuito de aumentar a produtividade na cafeicultura brasileira (CARVALHO, 1993). Por sua vez, esta cultivar deu origem à maioria das cultivares de café, como por exemplo, o Caturra Vermelho que se originou de uma mutação no Bourbon Vermelho (CARVALHO, 1993). Por outro lado, mutações no Caturra Vermelho deram origem ao Caturra Amarelo (CARVALHO, 1993).

Para a segunda etapa, foi realizado um segundo agrupamento, considerando os diferentes grupos de cafeeiros (Típica, Sumatra, Caturra Vermelho, Caturra Amarelo, Amarelo de Botucatu, Mundo Novo, Catuaí Vermelho, Catuaí Amarelo e Bourbon Amarelo) e os acessos de Bourbon Vermelho do BAG (Figura 2). Uma

ampla variabilidade foi observada, sendo encontrados acessos de Bourbon Vermelho geneticamente relacionados com cafeeiros dos diferentes grupos.

Os resultados apresentados no dendrograma mostram que alguns acessos de Bourbon Vermelho são mais próximos do Bourbon Amarelo. Dentre estes, destacam-se os acessos MG0004-3, MG0022-1, MG0022-2, MG0022-3, MG0059-3, MG0128-1, MG00128-2 e MG0128-3. O acesso MG0022 foi proveniente de uma planta que apresentava frutos alaranjados, e possivelmente essa planta seja um híbrido resultante do cruzamento natural entre Bourbon Vermelho e Bourbon Amarelo, o que justifica o agrupamento encontrado. Estes resultados corroboram com a análise discriminante anteriormente discutida no Capítulo 1 e, sugerem a presença de misturas e, ou de plantas em heterozigose entre os acessos, além de possíveis hibridações entre essas cultivares.

Os agrupamentos também mostraram acessos de Bourbon Vermelho mais similares a cultivar Mundo Novo, são eles: MG0011-1, MG0011-3, MG0011-5, MG0011-6, MG0014-1, MG0014-2, MG0014-3, MG0026-4, MG0035-5 e MG0035-6. Observou-se também, acessos mais próximos da outra cultivar mais plantada no Brasil, a cultivar Catuaí, sendo eles, MG0010-6, MG0035-2, MG0035-4, MG0057-1, MG0057-2, MG0057-3, MG0105-2 e MG0107-1.

Dos acessos de Bourbon Vermelho mais semelhantes com os Caturras, destacam-se o MG0011-2, MG0011-4, MG0033-1, MG0033-2, MG0033-3, MG0059-1, MG0060-3, MG0064-1, MG0064-4, MG0094-6 e MG0096-5. Também foi observado alguns acessos de Bourbon Vermelho que não alocaram com nenhum outro grupo de cafeeiros analisados, sendo eles, MG0064-3, MG0096-2, MG0099-2, MG0099-3 e MG0099-5. Este resultado sugere que estes acessos são mais divergentes dos demais genótipos.

Um terceiro agrupamento foi realizado considerando os diferentes grupos de cafeeiros (Típica, Bourbon Vermelho, Sumatra, Caturra Vermelho, Caturra Amarelo, Amarelo de Botucatu, Mundo Novo, Catuaí Vermelho e Catuaí Amarelo) e os acessos de Bourbon Amarelo do BAG (Figura 3).

Assim como no agrupamento anterior, também foi observada variabilidade genética entre os acessos de Bourbon Amarelo. Os agrupamentos mostraram acessos de Bourbon Amarelo mais próximos de Mundo Novo, sendo eles, MG0117-2, MG0117-5, MG0118-2, MG0118-3, MG0118-4 e MG0119-2. Estes

genótipos foram coletados em uma mesma lavoura de café. Dos acessos de Bourbon Amarelo mais semelhantes com o Catuaí, destacam-se o MG0103-2, MG0103-4 e MG0106-1. Entre estes acessos, os MG0103 apresentam porte baixo que é fenótipo típico das cultivares de Catuaí, o que pode justificar o fato desses genótipos terem sido alocados no mesmo grupo. No melhoramento genético o uso desses acessos pode resultar em ganhos genéticos, sobretudo em programas que buscam o desenvolvimento de cultivares produtivas, com porte reduzido e qualidade superior de bebida.

Os acessos MG0110-4, MG0117-6, MG0118-1, MG0118-5, MG0119-4, MG0119-5 e MG0119-6 apresentaram semelhanças com os Caturras. Estes acessos apresentam porte reduzido, o que pode explicar o seu agrupamento com os Caturras que também possui porte baixo. Este resultado sugere a presença de híbridos ou misturas entre os acessos. Cabe ressaltar que a maioria destes acessos foram coletados na mesma lavoura de café, a exceção do acesso MG0110-4. Tais acessos podem ser importantes para uso em programas de melhoramento podendo facilitar o desenvolvimento de cultivares com menor porte e melhor qualidade de bebida. Também foram observados acessos de Bourbon Amarelo mais similares com o Bourbon Vermelho, são eles, MG0038-1, MG0038-2, MG0038-3, MG0038-5, MG0040-5 e MG0108-1.

De modo geral, os marcadores utilizados permitiram discriminar a maioria dos indivíduos analisados. Esses dados moleculares sugerem que, apesar da reconhecida base genética estreita de *C. arabica*, o germoplasma de Bourbon pertencente a Epamig apresenta relativa variabilidade genética que pode ser explorada nos programas de melhoramento. A variabilidade genética encontrada no presente trabalho demonstra a adequada coleta e manutenção do germoplasma, não apresentando evidências de necessidade de novas coletas ou inclusão de acessos oriundos de outros bancos de germoplasma visando ampliar a diversidade. Além disso, os dados obtidos fornecem informações de relações genéticas dos acessos de Bourbon, demonstrando os acessos que estão mais próximos e mais distantes das cultivares mais plantadas no Brasil. Estas informações devem auxiliar os melhoristas na escolha de genitores para possíveis hibridações em programas de melhoramento que buscam o desenvolvimento de cultivares com potencial para qualidade de bebida. Segundo Faleiro (2007), a correta avaliação da diversidade é um fator

essencial para a escolha de genitores mais divergentes entre si, o que pode proporcionar a obtenção de híbridos superiores para o melhoramento. Uma vez que, cruzamentos entre acessos muito aparentados geram híbridos com baixo vigor devido ao baixo nível de heterozigosidade no cruzamento.

Além disso, tais informações podem facilitar as decisões do curador do banco de germoplasma, como subsidiar o intercâmbio de acessos, evitando o envio de materiais muito similares. Assim, as informações obtidas neste estudo, associadas à fenotipagem, auxiliarão em futuras tomadas de decisão visando ao melhor uso da variabilidade genética disponível no germoplasma do cafeeiro Bourbon.

Com base nos resultados obtidos, pode-se concluir que a coleta e conservação do germoplasma de Bourbon foram realizadas de forma eficiente visto a ampla variabilidade genética encontrada, a qual pode ser utilizada nos programas de melhoramento do cafeeiro.



Figura 3. Dendrograma *Neighbor Joining* (NJ) de acessos de Bourbon Amarelo do Banco de Germoplasma de *Coffea spp.* da Epamig.

3.2. *Fingerprinting* molecular da coleção de germoplasma de cafeeiros Bourbon

O perfil molecular de 439 cafeeiros do grupo Bourbon foi obtido a partir de uma combinação de dados moleculares gerados por marcadores SSR e AFLP. Um total de 64 bandas polimórficas foram obtidas, sendo 27 bandas geradas pelo marcador SSR e as outras 37 restantes, pelo marcador AFLP. Do total, 56 bandas foram selecionadas para a diferenciação dos acessos de Bourbon, o que foi suficiente para determinar o padrão molecular de cada acesso (Tabela 4). Este resultado revela que os marcadores SSR e AFLP permitiram identificar individualmente cada acesso de Bourbon, o que demonstra a eficiência das duas técnicas para a análise de *fingerprinting*. Resultados semelhantes foram obtidos por McGregor et al. (2000), que identificaram individualmente 39 acessos de batata utilizando marcadores RAPD, ISSR, AFLP e SSR, e demonstraram a eficiência da técnica de AFLP na identificação dos acessos. Perseguini et al. (2011) utilizaram marcadores SSR e AFLP para avaliar a diversidade genética de genótipos de feijão carioca e mostraram que ambos os marcadores foram adequados para a identificação dos perfis de *fingerprinting* no germoplasma de feijão carioca. Dessa forma, o padrão molecular único obtido para cada acesso de Bourbon analisado neste estudo pode ser utilizado na identificação dos acessos preservados no Banco de Germoplasma da Epamig, o que permitirá o melhor manejo dos acessos e fornecerá subsídios para a sua conservação e utilização em programas de melhoramento.

Observou-se, também, que a coleção de Bourbon estudada é composta por um pequeno número de germoplasma redundante, sendo identificados 18 pares de duplicatas as quais apresentaram perfis moleculares idênticos (Tabela 4). Entre os acessos identificados como duplicatas, verificou-se que o maior número deles foi encontrado no grupo de Bourbon Amarelo. É importante relatar que, após a detecção das duplicatas, estas foram removidas do conjunto de dados para a realização da análise de *fingerprinting*.

A análise de *fingerprinting* molecular tem sido realizada em bancos de germoplasma de diversas espécies cultivadas principalmente devido aos benefícios trazidos em termos de custo e de manutenção dos bancos. Ferreira et al. (2011) realizaram análise de *fingerprinting* com marcadores RAPD e SSR em uma coleção

de germoplasma de mandioca visando identificar acessos duplicados para permitir a manutenção dos acessos representativos do banco e com isso viabilizar as tarefas de conservação e intercâmbio de materiais entre instituições nacionais e internacionais. Também Moura et al. (2013) realizaram *fingerprinting* molecular utilizando marcadores SSR para identificar duplicatas de mandioca e com isso facilitar o manejo e diminuir os custos de manutenção do banco. McGregor et al. (2002) identificaram redundâncias em germoplasma selvagem de batata por meio da análise de *fingerprinting* utilizando marcadores AFLP.

Deste modo, a identificação de duplicatas é fundamental para o gerenciamento do Banco de Germoplasma e também para a redução dos custos com a manutenção e conservação dos recursos genéticos preservados nesses bancos. Cabe ressaltar que, a identificação de duplicatas é considerada uma importante etapa para o estabelecimento de uma coleção nuclear. Entretanto, os acessos duplicados identificados neste estudo devem ser melhor estudados para agregar dados de passaporte e, também, as observações das características morfológicas, para a confirmação ou não da redundância entre os acessos.

4. Conclusões

i) Existe variabilidade genética entre os acessos de Bourbon preservados no Banco Ativo de Germoplasma de *Coffea spp.* da Epamig (BAG-Epamig), os quais podem ser utilizados para o desenvolvimento de novas cultivares visando a produção de cafés com qualidade superior e diferenciada da bebida. Assim, o conhecimento da dissimilaridade genética é essencial para a racionalização de cruzamentos e aumento da eficiência dos programas de melhoramento genético do cafeeiro.

ii) Os perfis moleculares dos acessos de Bourbon avaliados neste trabalho podem ser utilizados na identificação dos acessos do BAG-Epamig, o que facilitará a distinção de genótipos aparentados e que apresentem características fenotípicas semelhantes.

iii) Os acessos de Bourbon identificados como duplicatas neste trabalho devem ser avaliados por outros critérios para verificar se são, realmente, idênticos geneticamente.

Tabela 4. Continuação...

Acessos	Marcas selecionadas																																																															
	3	5	6	7	8	9	10	11	12	13	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	28	29	30	32	33	34	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64								
MG0111-6	-	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+								
MG0117-1	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+							
MG0117-2	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+							
MG0117-3	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+								
MG0117-4	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+									
MG0117-5*	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+									
MG0117-6	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+									
MG0119-1	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+									
MG0119-2	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+									
MG0119-3	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+									
MG0119-4	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+									
MG0119-5	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+									
MG0119-6	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+									
MG0126-1	-	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+										
MG0126-2	-	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+										
MG0126-3	-	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+										
MG0126-4	-	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+										
MG0126-5	-	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+										
MG0126-6	-	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+										
MG0108-1	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+									
MG0108-2	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+									
MG0108-3	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+									
MG0108-4	-	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+										
MG0108-5	-	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+										
MG0108-6	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+										

*Acessos duplicados do grupo Bourbon

5. Referências Bibliográficas

BRITO, G. G.; CAIXETA, E. T.; GALLINA, A. P.; ZAMBOLIM, E. M.; ZAMBOLIM, L.; DIOLA, V.; LOUREIRO, M. E. Inheritance of coffee leaf rustresistance and identification of AFLP markers linked to the resistance gene. **Euphytica**, v. 173, n. 2, p. 255-264, 2010.

CHAGAS, E. N.; MORAIS, A. R.; CIRILLOC, M. A.; FIGUEIREDO, L. P.; BORÉM, F. M. Selection of robust estimator used in analysis of sensory characteristics and identification of environments conducive to specialty coffee production. **Advanced Crop Science**, v. 13, n. 8, p. 515–524, 2013.

CARVALHO, G. R.; REZENDE, J. C.; BOTELHO, C. E.; FERREIRA, A. D.; PEREIRA, A. A.; OLIVEIRA, A. C. B. Melhoramento genético do café visando à qualidade de bebida. **Informe Agropecuário**. Belo Horizonte, v. 32, n. 261, p. 30-38, 2011.

CARVALHO, A. Histórico do desenvolvimento do cultivo do café no Brasil. Documento IAC, Campinas, v. 34, 1993.

CARVALHO, A.; ANTUNES FILHO, H.; MENDES, J. E. T.; LAZZARINI, W.; REIS, A. J.; SOBRINHO, J. A.; MORAIS, M. V.; NOGUEIRA, R. K.; ROCHA, T. R. Melhoramento genético do cafeeiro – Café Bourbon Amarelo. **Bragantia**, v.16, n.28, p.411-454, 1957.

CARVALHO, A.; KRUG, C. A.; MENDES, J. E. T.; ANTUNES FILHO, H.; LAZZARINI, W.; MORAIS, H.; MORAIS, M. V.; ROCHA, T. R. Melhoramento genético do cafeeiro – Café Mundo Novo. **Bragantia**, v. 12, n. 4-6, p. 411-454, 1952.

CAVALLARI, M.M. Variabilidade genética e química entre e dentro de populações de *Casearia sylvestris* Sw. (Salicaceae) no Estado de São Paulo. 2008. 112f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista – Unesp, Botucatu, 2008.

CIDADE, F. W.; VIGNA, B. BZ.; SOUZA, F. HD.; VALLS, J. F. M.; DALL'AGNOL, M.; ZUCCHI, M. I.; SOUZA-CHIES, T. T.; SOUZA, A. P. Genetic variation in polyploid forage grass: Assessing the molecular genetic variability in the *Paspalum* genus. **BMC Genetics**, v. 14, p. 50, 2013.

CRUZ, C. D. GENES – a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**, v. 35, n. 3, p. 271-276, 2013.

CRUZ, V. M. V.; KILIAN, A.; DIERIG, D. A. Development of DArT Marker Platforms and Genetic Diversity Assessment of the U.S. Collection of the New Oilseed Crop *Lesquerella* and Related Species. **PLoS ONE**, v. 8, n. 5, p. e64062, 2013.

CUNHA, C. P. Desenvolvimento de marcadores microssatélites e caracterização da diversidade genética molecular de acessos de alho (*Allium sativum*). 2011. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2011.

DANTAS, A.C.A.; NUNES, G.H.S.; ARAÚJO, I.S.; ALBUQUERQUE, L.B. Caracterização molecular de acessos de melão coletados no nordeste brasileiro. **Rev. Bras. Frutic.**, v. 34, n. 1, p. 183-189, 2012.

DINIZ, L. E. C.; SAKIYAMA, N. S.; LASHERMES, P.; CAIXETA, E. T.; OLIVEIRA, A. C. B.; MACIEL-ZAMBOLIM, E.; LOUREIRO, M. E.; PEREIRA, A. A.; ZAMBOLIM, L. Analysis of AFLP markers associated to the Mex-1 resistance locus in Icatu progenies. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.5, p.387-393, 2005.

FALEIRO, F. G. **Marcadores genéticos-moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos**. Embrapa, Planaltina. 2007. 102p.

FERREIRA, M. E.; MORETZSOHN, M. C.; BUSO, G. S. C. Fundamentos de caracterização molecular de germoplasma vegetal. In: NASS, L.L. (ed.). **Recursos**

genéticos vegetais. Brasília, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007, p. 377-420.

GELETA, M.; HERRERA, I.; MONZON, A.; BRYNGELSSON, T. Genetic Diversity of Arabica Coffee (*Coffea arabica* L.) in Nicaragua as Estimated by Simple Sequence Repeat Markers. **The ScientificWorld Journal**, v. 2012, p.11, 2012.

GIOMO, G. S.; BORÉM, F. M. Cafés especiais no Brasil: opção pela qualidade. **Informe Agropecuário**. Belo Horizonte, v.32, n. 261, p. 7-16, 2011.

GUEDES, J. M. Caracterização de acessos de Bourbon e identificação de coleção nuclear do banco de germoplasma de café de Minas Gerais. 2012. 87f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.

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

MISSIO, R. F., CAIXETA, E. T., ZAMBOLIM, E. M., PENA, G. F., ZAMBOLIM, L., DIAS, L. A. S., SAKIYAMA, N. S. Genetic characterization of an elite coffee germplasm assessed by gSSR and EST-SSR markers. **Genet Mol Res**, v. 10, p. 2366-2381, 2011.

MISSIO, R. F.; CAIXETA, E. T.; ZAMBOLIM, E. M.; PENA, G. F.; RIBEIRO, A. P.; ZAMBOLIM, L.; PEREIRA, A. A.; SAKIYAMA, N. S. Assessment of est-ssr markers for genetic analysis on coffee. **Bragantia**, v. 68, n. 3, p. 573-581, 2005.

MISSIO, R. F.; CAIXETA, E. T.; ZAMBOLIM, E. M.; ZAMBOLIM, L.; SAKIYAMA, N. S. Development and validation of SSR markers for *Coffea Arabica* L. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 9, n. 4, p. 361-371, 2009.

PESTANA, K. N. Caracterização fenotípica e molecular da resistência do cafeeiro híbrido de Timor a *Hemileia vastatrix*. 2010. 72f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2010.

PONCET, V.; DUFOUR, M.; HAMON, P.; HAMON, S.; KOCHKO, A.; LEROY, T. Development of genomic microsatellite markers in *Coffea canephora* and their transferability to other coffee species. **Genome**, v. 50, p. 1156-1161, 2007.

RAMBAUT A. Tree Figure Drawing Tool Version 1.4.0. UK: Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh. 2012.

TAMURA, K.; STECHER, G.; PETERSON, D.; FILIPSKI, A.; KUMAR, S. **MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0**. **Molecular Biology and Evolution**, v. 30, p. 2725-2729, 2013.

VALLS, J. F. M. Caracterização de recursos genéticos vegetais. In: NASS, L.L. (ed.). **Recursos genéticos vegetais**. Brasília, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007, p. 281-305.

CONCLUSÕES GERAIS

Na identificação dos acessos, as técnicas de análise discriminante e de redes neurais artificiais mostraram que os marcadores SSR foram eficientes na diferenciação dos acessos de cafeeiros do grupo Bourbon. Por outro lado, as redes neurais artificiais apresentaram maior eficiência na classificação dos genótipos do que a análise discriminante.

Para os estudos de diversidade genética, os marcadores SSR e AFLP utilizados permitiram diferenciar a maioria dos indivíduos analisados. Os dados moleculares obtidos mostram que existe variabilidade genética entre os acessos de Bourbon, os quais podem ser utilizados para o desenvolvimento de novas cultivares visando a produção de cafés com bebidas diferenciadas.

Por fim, a análise de *fingerprinting* permitiu identificar os perfis moleculares de cada acesso de Bourbon avaliado, os quais podem ser utilizados na identificação dos cafeeiros no banco, o que facilitará a distinção de genótipos aparentados e que apresentem características fenotípicas semelhantes.