

CRISTINA DE FÁTIMA MACHADO

**REPETIBILIDADE, CORRELAÇÕES FENOTÍPICAS E MAPEAMENTO DE  
QTLs EM POPULAÇÕES SEGREGANTES DE CAFÉ ARÁBICA**

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  
2004

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

M149r  
2004

Machado, Cristina de Fátima, 1965-  
Repetibilidade, correlações fenotípicas e mapeamento de  
QTLs em populações segregantes de café arábica / Cristina  
de Fátima Machado. – Viçosa : UFV, 2004.  
xiv, 188f. : il. ; 29cm.

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

Inclui bibliografia.

1. Café - Melhoramento genético. 2. Café - Marcadores  
moleculares. 3. Polimorfismo do DNA ampliado ao acaso.  
4. Locos de caracteres quantitativos. 5. Café -  
Mapeamento genético. I. Universidade Federal de Viçosa.  
II. Título.

CDD 20.ed. 633.733

CRISTINA DE FÁTIMA MACHADO

**REPETIBILIDADE, CORRELAÇÕES FENOTÍPICAS E MAPEAMENTO DE  
QTLs EM POPULAÇÕES SEGREGANTES DE CAFÉ ARÁBICA**

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: 03 de Novembro de 2004.

---

Prof. Cosme Damião Cruz  
(Conselheiro)

---

Prof. Cláudio Horst Bruckner

---

Pesq<sup>o</sup>. Luiz Antônio dos Santos Dias

---

Pesq<sup>a</sup>. Maria Amélia Gava Ferrão

---

Prof. Ney Sussumu Sakiyama  
(Orientador)

À memória de minha mãe,

Margarida dos Santos Machado,

MINHA HOMENAGEM

A meu pai,

Mardem José Machado,

DEDICO

Aos meus irmãos,

Aparecida, Silvana, Kátia, Armando, Júnior e André, pelo estímulo, ajuda, carinho e compreensão,

OFEREÇO.

## AGRADECIMENTOS

Agradecer é uma forma de dizer que não fui eu que fiz este trabalho, mas todos nós juntos.

A DEUS, pela vida e por tudo que ela representa, e sobretudo pela presença e força nessa luta em busca do conhecimento, e por amenizar a saudade pela ausência da minha família.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Genética e Melhoramento, pela oportunidade de realização do Curso.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa.

Ao Professor Ney Sussumu Sakiyama, pela orientação, amizade e compreensão.

Ao Professor Cosme Damião Cruz, pelo aconselhamento, pelos ensinamentos, pela amizade, pelo convívio durante as análises estatísticas, moleculares e redação da tese, e sobretudo pelo apoio e pelas valiosas e importantes sugestões oferecidas “Obrigada”.

À Dr<sup>a</sup>. Eunize Maciel Zambolim, pelo aconselhamento e pelas críticas construtivas.

Ao Dr<sup>o</sup>. Luiz Antônio dos Santos Dias, pela colaboração e críticas construtivas.

À Dr<sup>a</sup>. Maria Amélia Gava Ferrão, pela colaboração e críticas construtivas.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, pelos ensinamentos e pela atenção.

Aos colegas do Laboratório de Biotecnologia do Cafeeiro, de Bioinformática e de curso pela convivência e por toda a contribuição recebida ao longo destes quatro anos.

Ao pessoal do viveiro de café, pela valiosa contribuição para a realização dos trabalhos de campo.

Ao técnico de laboratório Fernando, pela convivência e por toda a ajuda prestada.

A todos os funcionários da Universidade Federal de Viçosa, em especial as funcionárias da secretaria de genética e melhoramento Rita e Conceição e funcionário Paulo pela atenção e amizade.

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

## BIOGRAFIA

CRISTINA DE FÁTIMA MACHADO, filha de Mardem José Machado e Margarida dos Santos Machado, nasceu em Uberlândia, Estado de Minas Gerais, Brasil, onde cursou o ensino fundamental e médio.

Em março de 1992, ingressou no Curso de Agronomia da Universidade Federal de Uberlândia, em Uberlândia, Minas Gerais, diplomando-se em janeiro de 1997.

Em março de 1997, iniciou o Curso de Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas na Universidade Federal de Lavras, em Lavras, Minas Gerais, tendo adquirido o título de “*Master of Scientiae*” em março de 1999.

Em agosto de 2000, iniciou o Curso de Doutorado em Genética e melhoramento na Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, Minas Gerais, tendo adquirido o título de “*Doctor Scientiae*” em novembro de 2004.

## CONTEÚDO

	Página
RESUMO	ix
ABSTRACT	xii
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
CAPÍTULO 1	
REPETIBILIDADE EM POPULAÇÕES SEGREGANTES DE CAFÉ ARÁBICA	3
RESUMO	3
ABSTRACT	5
1. INTRODUÇÃO	7
2. REVISÃO DE LITERATURA	9
2.1. Repetibilidade	9
3. MATERIAL E MÉTODOS	15
3.1. Descrição do experimento	15
3.2. Análise de repetibilidade pelo método dos componentes principais	17
3.3 Estimador do coeficiente de repetibilidade baseado na análise estrutural	18
3.4. Estimação do número mínimo de medições e do coeficiente de determinação	19
3.5. Avaliação da estabilização fenotípica de nove características agronômicas	19
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
5. CONCLUSÕES	35
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36
CAPÍTULO 2	
CORRELAÇÕES FENOTÍPICAS EM POPULAÇÕES SEGREGANTES DE CAFÉ ARÁBICA	39
RESUMO	39

	Página
ABSTRACT	41
1. INTRODUÇÃO	43
2. REVISÃO DE LITERATURA	45
2.1. Correlação	45
3. MATERIAL E MÉTODOS	49
3.1. Material vegetal	49
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
5. CONCLUSÃO	62
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
CAPÍTULO 3	
MAPEAMENTO DE QTLs EM POPULAÇÃO DE RETROCRUZAMENTO 1 (RC <sub>1</sub> ) DE CAFÉ ARÁBICA	66
RESUMO	66
ABSTRACT	69
1. INTRODUÇÃO	71
2. REVISÃO DE LITERATURA	73
2.1. Marcadores moleculares	73
2.1.1. Aplicações dos marcadores moleculares no melhoramento do cafeeiro	76
2.2. Mapeamento genético	82
2.2.1. Construção de mapas de ligação	84
2.3. Detecção de QTLs	87
3. MATERIAL E MÉTODOS	90
3.1. Material genético	90
3.1.1. Avaliações fenotípicas	90
3.1.2. Extração de DNA	91
3.1.3. Amplificação do DNA e análise eletroforética dos produtos	91
3.1.4. Construção do mapa de ligação	92
3.1.4.1. Denominação dos marcadores no mapa de ligação	93
3.1.5. Teste de normalidade	93
3.1.6. Identificação e mapeamento de QTLs	94

	Página
3.1.7. Determinação do ponto de corte para o mapeamento de QTLs	94
3.1.8. Mapeamento de QTLs utilizando a metodologia de marca simples	95
3.1.9. Mapeamento de QTLs utilizando a metodologia de mapeamento por intervalo simples	95
3.1.10. Mapeamento de QTLs utilizando a metodologia de mapeamento por intervalo composto	96
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>98</b>
4.1. Detecção de polimorfismos e seleção dos oligonucleotídeos	98
4.2. Construção do mapa de ligação	101
4.3. Teste de normalidade	105
4.4. Mapeamento de QTLs utilizando a metodologia de marca simples	105
4.5. Mapeamento de QTLs utilizando a metodologia de mapeamento por intervalo simples	117
4.6. Mapeamento de QTLs utilizando a metodologia de mapeamento por intervalo composto	124
4.7. Correlações fenotípicas entre as características agrônômicas	136
<b>5. CONCLUSÕES</b>	<b>138</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>139</b>
<b>CAPÍTULO 4</b>	
<b>MAPEAMENTO DE QTLs EM POPULAÇÃO SEGREGANTE F<sub>2</sub> DE CAFÉ ARÁBICA</b>	
<b>RESUMO</b>	<b>151</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>153</b>
<b>1. INTRODUÇÃO</b>	<b>155</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS</b>	<b>157</b>
2.1. Material genético	157
2.1.1. Avaliações fenotípicas	158
2.1.2. Extração de DNA	158
2.1.3. Amplificação do DNA e análise eletroforética dos produtos	158
2.1.4. Construção do mapa de ligação	159

	Página
2.1.4.1. Denominação dos marcadores no mapa de ligação	159
2.1.5. Teste de normalidade	159
2.1.6. Identificação e mapeamento de QTLs	160
2.1.7. Determinação do ponto de corte para o mapeamento de QTLs	160
2.1.8. Mapeamento de QTLs utilizando a metodologia de marca simples	160
2.1.9. Mapeamento de QTLs utilizando a metodologia de mapeamento por intervalo simples	161
2.1.10. Mapeamento de QTLs utilizando a metodologia de mapeamento por intervalo composto	161
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	<b>162</b>
3.1. Detecção de polimorfismos e seleção de <i>primers</i> RAPD	162
3.2. Construção do mapa de ligação	164
3.3. Teste de normalidade	168
3.4. Mapeamento de QTLs utilizando a metodologia de marca simples	169
3.5. Mapeamento de QTLs utilizando a metodologia de mapeamento por intervalo simples	176
3.6. Mapeamento de QTLs utilizando a metodologia de mapeamento por intervalo composto	181
3.7. Correlações fenotípicas entre as características agronômicas	184
<b>4. CONCLUSÕES</b>	<b>186</b>
<b>5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>187</b>

## RESUMO

MACHADO, Cristina de Fátima, D. S., Universidade Federal de Viçosa, novembro 2004.  
**Repetibilidade, correlações fenotípicas e mapeamento de QTLs em populações segregantes de café arábica.** Orientador: Ney Sussumu Sakiyama. Conselheiros: Cosme Damião Cruz e Eunize Maciel Zambolim.

Três populações de retrocruzamento 1 ( $RC_1$ ) e uma população  $F_2$  foram obtidas a partir do cruzamento “Mundo Novo IAC 464-18 x Híbrido de Timor UFV 440-22”, sendo elas: população 1,  $RC_1$  - [(“Mundo Novo IAC 464-18 x Híbrido de Timor UFV 440-22”) x (“Mundo Novo IAC 464-18”)], com 28 plantas; população 2,  $RC_1$  - [(“Mundo Novo IAC 464-18”) x (“Mundo Novo IAC 464-18 x Híbrido de Timor UFV 440-22”)], com 40 plantas; população 3,  $RC_1$  - [(“Mundo Novo IAC 464-18 x Híbrido de Timor UFV 440-22”) x (“Híbrido de Timor UFV 440-22”)], com 86 plantas; e população 4,  $F_2$  - com 47 plantas, obtida a partir da autofecundação controlada de uma planta  $F_1$  (H 464-2). Inicialmente foram estimados os coeficientes de repetibilidade e seus respectivos coeficientes de determinação, por meio dos métodos dos componentes principais e análise estrutural, a partir das matrizes de covariância e correlação. As características agronômicas avaliadas foram: altura da planta (ALTP), diâmetro da copa (DICP), vigor vegetativo (VIVG), posição da ramificação principal (PRAP), número de ramos laterais (NRAL), número de nós no ramo principal (NNRP), número de nós nos ramos

laterais (NNRL), altura do primeiro ramo (ALPR) e diâmetro do caule (DIAC). As avaliações fenotípicas foram realizadas em cinco sucessivas épocas de avaliação (novembro de 2002 a novembro de 2003), com intervalo de três meses entre avaliações, exceto para o DIAC que foram quatro, sendo estas iniciadas a partir da segunda época de avaliação das demais características. As populações 1 e 2 (RC<sub>1S</sub>) e 4 (F<sub>2</sub>) foram avaliadas, a partir de 17 meses e a população 3, RC<sub>1</sub> a partir de 50 meses. As altas estimativas de repetibilidade das nove características (épocas 1 a 5) nas quatro populações segregantes de café arábica, além da existência de correlações significativas a 1% de probabilidade, apontam tais características como bons indicadores da acurácia na identificação dos locos controladores das características quantitativas (QTLs) para a seleção precoce. Neste sentido, marcadores do tipo *RAPD* foram utilizados para construção de dois mapas de ligação, utilizando-se *LOD score* mínimo (logaritmo na base 10 da razão entre a probabilidade de que os marcadores estejam ligados e a probabilidade de que eles não estejam ligados) de 3,0 e *r* (frequência máxima de recombinação entre o QTL e o marcador) de 0,40. Para a população 3, RC<sub>1</sub> um dos objetivos foi aumentar o número de marcas no mapa de ligação do cafeeiro, construído pelo programa de melhoramento do cafeeiro da Universidade Federal de Viçosa (UFV)/Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG). Tais mapas foram construídos, visando caracterizar e identificar os possíveis QTLs candidatos associados a essas características. Cinquenta marcadores *RAPD* foram acrescentados ao mapa parcial da população 3, RC<sub>1</sub>. Um total de 137 marcadores *RAPD* foram obtidos, dos quais 124 (90,51%) apresentaram segregação 1:1 ( $P < 0,01$ ), 13 (9,49%) segregação (2:1). Para a construção do mapa, foram utilizados os 124 marcadores, que segregaram 1:1, sendo que 26 não mostraram-se ligados aos grupos formados. Noventa e oito marcadores *RAPD* resultaram em 10 grupos de ligação (GLs) cobrindo 789,55 cM. Os quatro primeiros grupos obtidos tiveram boa densidade de marcadores. O maior intervalo entre dois marcadores adjacentes foi 33,42 cM, sendo que 88,64% dos intervalos não excederam 20 cM. Na população segregante 4, F<sub>2</sub>, 97 marcadores *RAPD* foram utilizados para construção do mapa, sendo que 35 não mostraram-se ligados aos grupos formados. Sessenta e dois marcadores *RAPD* resultaram em 13 GLs cobrindo 339,71 cM. O maior intervalo entre dois marcadores adjacentes foi 20,58 cM, sendo que 97,96% dos intervalos não excederam 20 cM. As metodologias de marca simples, mapeamento por intervalo simples e mapeamento por intervalo composto foram empregadas, para detectar e mapear regiões genômicas associadas às

nove características agronômicas mencionadas anteriormente. A metodologia de marca simples além de indicar marcadores consistentes, que explicam as variações das características ALTP, DICP, VIVG, PRAP, NRAL, NNRL e ALPR (população 3, RC<sub>1</sub>) e ALTP, DICP, PRAP, NRAL, NNRP, NNRL e ALPR (população 4, F<sub>2</sub>) (épocas 1 a 5), apontaram dois e três marcadores, respectivamente, associados a mais de uma característica nessas populações. Tais marcadores são: a) OPZ09 associado ao VIVG e a ALPR; e OPAK08b associado ao NNRL e a ALPR (população 3, RC<sub>1</sub>); e b) OPAL12 associado a PRAP e a ALPR; OPAX20 associado ao NRAL e ao NNRP; e OPAR02 associado ao NNRL e a ALPR (população 4, F<sub>2</sub>). As metodologias de marca simples e mapeamento por intervalo composto detectaram e identificaram um QTL associado a PRAP e um outro ligado a ALPR. Tais QTLs foram consistentes (épocas 1 a 5), e estão presentes nos GLs 5 e 9 do mapa parcial de ligação da população 3, RC<sub>1</sub>, respectivamente, para a PRAP e a ALPR. Estes QTLs explicam de 12,25% a 16,48% e de 8,27 a 8,44% da variação fenotípica da característica PRAP, associada aos locos OPV17 e OPS10a, além da ALPR associada ao loco OPAK08b. Para a população 4, F<sub>2</sub>, um QTL consistente (épocas 1 a 5), associado a ALPR foi detectado e identificado por meio das metodologias de marca simples, mapeamento por intervalo simples e mapeamento por intervalo composto. Tal QTL está presente no GL 4 do mapa parcial de ligação da população 4 (F<sub>2</sub>). Este QTL explica entre 29,14% a 29,41% (épocas 1 e 2) e entre 30,32 a 30,45% (épocas 3 a 5) da variação fenotípica da característica ALPR associada aos locos OPAE05 e OPG14. O número reduzido de QTLs detectados no presente estudo é devido à baixa saturação do mapa, número reduzido das progênies e a utilização de um só tipo de marcador (dominante). O número de grupos de ligação, obtidos para as duas populações segregantes mapeadas, é inferior ao correspondente número haplóide de cromossomos (22). Sendo assim, o genoma de *Coffea arabica* L. foi parcialmente explorado e muitas regiões ainda não foram identificadas.

## ABSTRACT

MACHADO, Cristina de Fátima, D. S., Universidade Federal de Viçosa, November 2004. **Repeatability, phenotypic correlations and mapping of QTLs on segregant populations of arabic coffee.** Adviser: Ney Sussumu Sakiyama. Committee members: Cosme Damião Cruz and Eunize Maciel Zambolim.

Three populations of a backcross 1 ( $RC_1$ ) and one population  $F_2$  were obtained from the cross between “Mundo Novo IAC 464-18” and “Híbrido de Timor UFV 440-22”. The populations obtained were: population 1,  $RC_1$  - [(“Mundo Novo IAC 464-18 x Híbrido de Timor UFV 440-22”) x (“Mundo Novo IAC 464-18”)] with 28 plants; population 2,  $RC_1$  - [(“Mundo Novo IAC 464-18”) x (“Mundo Novo IAC 464-18 x Híbrido de Timor UFV 440-22”)] with 40 plants; population 3,  $RC_1$  - [(“Mundo Novo IAC 464-18 x Híbrido de Timor UFV 440-22”) x (“Híbrido de Timor UFV 440-22”)] with 86 plants; and population 4,  $F_2$  - with 47 plants obtained from a controlled self-fecundation of a plant  $F_1$  (H 464-2). Initially, the repeatability coefficients and their respective determination coefficients were estimated by using the methods of main components and structural analysis from the matrix of covariance and correlation. The following agronomic characteristics were evaluated: height plant, canopy diameter, vegetative vigor, position of the primary ramification, number of lateral branches, number of nodes on the main branch, number of nodes on the lateral branches, height of the first branch and stem diameter. The phenotypic evaluations were done at five seasons (November 2002 to November 2003) with

three months period between them except for the stem diameter which was evaluated in four seasons initiated at the second times of the other characteristics. The populations 1 and 2 (RC<sub>1s</sub>) and 4 (F<sub>2</sub>) were evaluated from the 17<sup>th</sup> month and the population 3, RC<sub>1</sub> from the 50<sup>th</sup> month. The high estimates of repeatability coefficients of the nine characteristics (seasons 1 to 5) on the four segregant populations of arabic coffee, besides having correlations significant at 1% of probability, show that the characteristics studied were good indicators of the accuracy on the identification of quantitative trait loci (QTLs) to reach early selection. At the same trend, markers as *RAPD* were used to construct two maps of ligation using minimum value 3.0 for *LOD score* ( $\log_{10}$  obtained from the ratio between the probability that the markers were ligated and the probability of that they were not) and *r* (maximum frequency of recombination between the QTL and the marker) of 0.40. For the population 3, RC<sub>1</sub>, one of the goals was to increase the number of markers on the ligation map of coffee constructed in the coffee breeding program of the “Universidade Federal de Viçosa (UFV)/Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG)”. These maps were constructed with the goal to characterize and identify possible QTLs candidates associated with these characteristics. Fifty *RAPD* markers were added to the parcial map of population 3, RC<sub>1</sub>. A total of 137 *RAPD* markers were obtained with 124 (90.51%) of them showing segregation 1:1 ( $P < 0,01$ ) and 13 (9.49%) with segregation 2:1. In order to construct the map, 124 markers that segregated 1:1, with 26 of them not showing ligation with the formed groups, were used. Ninety-eight *RAPD* markers resulted on 10 groups of ligation (LGs) covering 789.55 cM. The four first groups obtained showed a good density of markers. The longest space between the two adjacent markers was 33.42 cM with 88.64% of the intervals not exceding 20 cM. On the segregant population 4(F<sub>2</sub>), 97 *RAPD* markers were used to construct the map with only 35 of them not showing ligation with the formed groups. A total of 62 *RAPD* markers resulted in 13 LGs that covered 339.71 cM. The longest interval between two adjacent markers was 20.58 cM with 97.96% of the intervals not exceding 20 cM. The methodologies of simple markers, simple interval mapping and composite interval mapping were used to detect and to map genomic the regions associated with the nine agronomic characteristics cited above. The methodology of simple markers, besides to indicate consistent markers that explain the variation on the characteristics height plant, canopy diameter, vegetative vigor, position of the primary ramification, number of lateral branches, number of nodes on the lateral branches and height of the first branch (population 3, RC<sub>1</sub>) and height plant, canopy diameter,

position of the primary ramification, number of lateral branches, number of nodes on the main branch, number of nodes on the lateral branches and height of the first branch (population 4, F<sub>2</sub>; seasons 1 to 5) indicated two and three markers, respectively, associated with more than one characteristics these populations. These markers were: OPZ09 associated with vegetative vigor and height of the first branch; and OPAK08b associated with number of nodes on the lateral branches and height of the first branch (population 3, RC<sub>1</sub>); and b) OPAL12 associated with the position of the primary ramification and height of the first branch; OPAX20 associated with number of lateral branches and number of nodes on the main branch; and OPAR02 associated with number of nodes on the lateral branches and height of the first branch (population 4, F<sub>2</sub>). The methodologies of simple markers and the composite interval mapping detected and identified one QTL associated with the position of the primary ramification and another one linked with the height of the first branch. These QTLs were consistent (seasons 1 to 5) and were present on LGs 5 and 9 of the partial map of linkage for population 3, RC<sub>1</sub>, respectively, to position of the primary ramification and height of the first branch. This explains 12.25% to 16.48% and from 8.27% to 8.44% of the phenotypic variation of the characteristic position of primary ramification associated with the loci OPV17 and OPS10a besides the height of the first branch associated to the locus OPAK08b. Regarding population 4 (F<sub>2</sub>), one consistent QTL (seasons 1 to 5) associated with the height of the first branch was detected and identified by the methodologies of simple markers, simple interval mapping and composite interval mapping. This QTL is present on LG 4 of the partial map of linkage from population 4 (F<sub>2</sub>). This explains from 29.14% to 29.41% (seasons 1 and 2) and from 30.32% to 30.45% (seasons 3 to 5) of the phenotypic variation of the characteristic height of the first branch associated to loci OPAE05 and OPG14. The reduced number of QTLs detected on this study was due to the low saturation of the map, reduced number of progenies and the use of a single kind of marker (dominant). The number of groups of linkage obtained to the two segregant populations mapped is lower than the correspondent number of chromosome haploid (22). Therefore, the genome of *Coffea arabica* L. was partially explored and many regions were not identified.

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

Em café, como em outras plantas, o melhoramento por hibridação pressupõe a identificação da variabilidade genética quanto às características a serem melhoradas, a escolha das hibridações mais promissoras, e a seleção de híbridos, ou linhagens, ou populações superiores. Nesse contexto, as estratégias de melhoramento de plantas dependem do conhecimento da estrutura genética da espécie em estudo, da herdabilidade das características que se deseja melhorar, das repetibilidades individuais, bem como das associações genéticas com outras características. Estes parâmetros genéticos são, particularmente, importantes em melhoramento de plantas.

As tecnologias de marcadores de DNA têm sido propostas como instrumentos úteis aos programas de pesquisa. Especialmente em café, por se tratar de uma cultura perene e de período juvenil longo (3 anos), essas tecnologias podem beneficiar o melhoramento genético de forma potencialmente grande.

Os marcadores moleculares contribuíram de forma significativa para o atual nível de conhecimento sobre a estrutura genotípica de várias espécies vegetais. Mapas genéticos saturados aliados às metodologias de mapeamento de genes e o mapeamento de regiões cromossômicas responsáveis por características quantitativas (“*Quantitative Trait Loci - QTL*”) têm favorecido a identificação, caracterização e manipulação da variabilidade genética das principais culturas de importância econômica, entre elas o café. Nesse sentido, a seleção

assistida por marcadores moleculares, estratégia que associa marcadores moleculares a locos gênicos de interesse agrônomo, pode acelerar o progresso genético pelo aumento na eficiência de seleção, redução no intervalo de gerações e identificação de quebra de ligações indesejáveis, possibilitando a seleção e avaliação de genótipos superiores em menor tempo.

Os objetivos do presente trabalho foram (1) determinar os coeficientes de repetibilidade e de correlação fenotípica das seguintes características: altura da planta, diâmetro de copa, vigor vegetativo, posição da ramificação primária, número de ramos laterais, número de nós no ramo principal, número de nós nos ramos laterais, altura do primeiro ramo e diâmetro do caule; (2) determinar o número mínimo de avaliações para um eficiente processo de seleção de genótipos de café arábica; (3) aumentar o número de marcas do mapa parcial de ligação do café arábica, obtido no programa de melhoramento do cafeeiro da Universidade Federal de Viçosa (UFV)/Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG); (4) construir um mapa de ligação para o café arábica, a partir de uma população segregante  $F_2$ ; e (5) identificar QTLs associados às características acima mencionadas.

## **CAPÍTULO 1**

### **REPETIBILIDADE EM POPULAÇÕES SEGREGANTES DE CAFÉ ARÁBICA**

#### **RESUMO**

Três populações de retrocruzamento 1 ( $RC_1$ ) e uma população  $F_2$  foram obtidas a partir do cruzamento “Mundo Novo IAC 464-18 x Híbrido de Timor UFV 440-22”, sendo elas: população 1,  $RC_1$  - [(“Mundo Novo IAC 464-18 x Híbrido de Timor UFV 440-22”) x (“Mundo Novo IAC 464-18”)], com 28 plantas; população 2,  $RC_1$  - [(“Mundo Novo IAC 464-18”) x (“Mundo Novo IAC 464-18 x Híbrido de Timor UFV 440-22”)], com 40 plantas; população 3,  $RC_1$  - [(“Mundo Novo IAC 464-18 x Híbrido de Timor UFV 440-22”) x (“Híbrido de Timor UFV 440-22”)], com 86 plantas; e população 4,  $F_2$  - com 47 plantas, obtida a partir da autofecundação controlada de um indivíduo  $F_1$  (H 464-2). Estimaram-se os coeficientes de repetibilidade e seus respectivos coeficientes de determinação, utilizando os métodos estatísticos: análise de componentes principais a partir das matrizes de covariância (método 1) e correlação (método 2) e análise estrutural, a partir das matrizes de covariância (método 3) e correlação (método 4). Determinou-se o número mínimo de medições, necessário para acessar o valor genotípico das progênies das quatro populações segregantes, por meio do método dos componentes principais a partir da matriz de correlação. As avaliações fenotípicas foram realizadas em cinco épocas, para altura da planta (ALTP), diâmetro da copa (DICP), vigor

vegetativo (VIVG), posição da ramificação primária (PRAP), número de ramos laterais (NRAL), número de nós no ramo principal (NNRP), número de nós nos ramos laterais (NNRL), altura do primeiro ramo (ALPR) e diâmetro do caule (DIAC). Adotou-se um intervalo de três meses, entre as avaliações, com exceção do diâmetro do caule, que foram quatro épocas, sendo estas iniciadas a partir da segunda avaliação das demais características. As populações 1 e 2 (RC<sub>1</sub>s) e 4 (F<sub>2</sub>) foram avaliadas, a partir de 17 meses e a população 3, RC<sub>1</sub> a partir de 50 meses. Os quatro métodos estatísticos usados foram concordantes quanto às estimativas dos coeficientes de repetibilidade e de determinação das nove características, nas quatro populações segregantes de café arábica. As estimativas relativamente altas dos coeficientes de repetibilidade, nas populações segregantes de café arábica, indicam confiabilidade do valor fenotípico como indicador do valor genotípico. Tais estimativas apontam as nove características como bons indicadores da acurácia na identificação de QTLs para a seleção precoce.

Palavras chave: Coffee, coeficiente de repetibilidade, componentes principais e análise estrutural.

## **REPEATABILITY ON SEGREGANT POPULATIONS OF ARABIC COFFEE**

### **ABSTRACT**

Three populations of a backcross 1 ( $RC_1$ ) and one population  $F_2$  were obtained from the cross between “Mundo Novo IAC 464-18” and “Híbrido de Timor UFV 440-22”. The populations obtained were: population 1,  $RC_1$  - [(“Mundo Novo IAC 464-18 x Híbrido de Timor UFV 440-22”) x (“Mundo Novo IAC 464-18”)] with 28 plants; population 2,  $RC_1$  - [(“Mundo Novo IAC 464-18”) x (“Mundo Novo IAC 464-18 x Híbrido de Timor UFV 440-22”)] with 40 plants; population 3 -  $RC_1$  - [(“Mundo Novo IAC 464-18 x Híbrido de Timor UFV 440-22”) x (“Híbrido de Timor UFV 440-22”)] with 86 plants; and population 4,  $F_2$  - with 47 plants obtained from a controlled selffecundation of a plant  $F_1$  (H 464-2). The repeatability coefficients of and their respective determination coefficients were estimated using the statistic methods: analysis of main components from the matrix of covariance (method 1) and correlation (method 2) as well as the structural analysis from the matrix of covariance (method 3) and correlation (method 4). The minimum number of the measurements necessaries to obtain the genotypic value from the progenies of four segregant populations by the method of main components from the matrix of correlation was determined. The phenotypic evaluations were done in five seasons for height plant, canopy diameter, vegetative vigor, position of the primary ramification, number of lateral branches, number of nodes on the main branch, number of nodes on the lateral branches, height of the first branch and stem diameter. A three months period was used between evaluations except for the stem diameter which was evaluated in four seasons initiated at the

second time used for the other characteristics. The populations 1 and 2 (RC<sub>1</sub>s) and 4 (F<sub>2</sub>) were evaluated from the 17<sup>th</sup> month and the population 3, RC<sub>1</sub> from the 50<sup>th</sup> month. The four statistical methods agreed with the estimates of the of repeatability coefficients and determination of the nine characteristics in the four segregant populations of arabic coffee. The coefficients estimates quite high of the coefficients repeatability on the segregant populations of arabic coffee indicates a confiability of the phenotypic value as an indicator of the genotypic value. These repeatability coefficients estimates revealed that the nine characteristics evaluated are good indicators of the accuracy on the identification of QTLs to reach early selection.

**Key words:** Coffee, repeatability coefficients, main components and structural analysis.

## 1. INTRODUÇÃO

A análise de sucessivas medições de uma característica, em um grupo de indivíduos, é um procedimento desejável em melhoramento genético do cafeeiro, pois, espera-se que a superioridade ou a inferioridade inicial de um indivíduo, em relação aos demais, mantenha-se ao longo das medições. A veracidade desta expectativa pode ser comprovada pelo coeficiente de repetibilidade das características avaliadas. Valores altos das estimativas de repetibilidade das características avaliadas, indicam que é possível prever o valor real dos indivíduos utilizando-se um número relativamente pequeno de medições.

A principal utilização das estimativas de parâmetros genéticos, além de subsídio para o planejamento de eficientes estratégias de melhoramento de plantas, está na própria predição de valores genéticos. Neste contexto, o procedimento de predição depende do conhecimento quanto ao controle genético das características sob seleção, especialmente dos parâmetros herdabilidade e repetibilidades individuais.

A repetibilidade pode ser definida como sendo a correlação entre as sucessivas medidas, obtidas de um mesmo indivíduo, cujas avaliações foram repetidas ao longo do tempo ou do espaço, podendo ser determinada, apenas, naquelas características para as quais é possível mais de uma avaliação em um mesmo indivíduo.

Conhecendo-se o coeficiente de repetibilidade das características agronômicas de interesse, é possível quantificar a precisão das medidas avaliadas, prever o valor real do

indivíduo com base na média de várias avaliações e determinar o número de medidas fenotípicas a serem tomadas para obtenção de um adequado nível de acurácia.

Os objetivos do presente trabalho foram (1) determinar o coeficiente de repetibilidade das seguintes características: altura da planta, diâmetro de copa, vigor vegetativo, posição da ramificação primária, número de ramos laterais, número de nós no ramo principal, número de nós nos ramos laterais, altura do primeiro ramo e o diâmetro do caule; e (2) determinar o número mínimo de avaliações para um eficiente processo de seleção de genótipos de café arábica.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Repetibilidade

No melhoramento genético de espécies perenes, um procedimento normal é a análise de sucessivas medições de uma determinada característica em um mesmo indivíduo, pois, espera-se que a superioridade ou inferioridade inicial do indivíduo, em relação aos demais, mantenha-se ao longo das medições (RESENDE, 2002).

Estatisticamente, a repetibilidade é a correlação entre as sucessivas medidas obtidas de um mesmo indivíduo, cujas avaliações foram repetidas ao longo do tempo ou do espaço (LUSH, 1964; CRUZ; REGAZZI; CARNEIRO, 2004; RESENDE, 2002).

O coeficiente de repetibilidade é utilizado no melhoramento genético, como o limite superior da herdabilidade em sentido amplo e como critério para avaliar a eficiência do processo seletivo (LUSH, 1964; FALCONER, 1987). Este procedimento é vantajoso, quando a estrutura da população e outros fatores dificultam a estimação direta da herdabilidade (LUSH, 1964).

Em plantas perenes, como é o caso do café arábica, os procedimentos para a determinação do coeficiente de herdabilidade é trabalhoso, pois, esta requer cruzamentos controlados, além de estudos envolvendo progênies. Por outro lado, a determinação do coeficiente de repetibilidade, para algumas características de interesse agrônomo, é comum no cafeeiro. No entanto, a repetibilidade pode ser estimada, apenas, naquelas características para as quais é possível mais de uma avaliação em um mesmo indivíduo (FALCONER, 1987; CRUZ; REGAZZI; CARNEIRO, 2004; RESENDE, 2002).

A repetibilidade é função das propriedades genéticas da população, da natureza da característica em estudo e das condições ambientais nas quais os indivíduos foram mantidos (FALCONER, 1987). A repetibilidade expressa a proporção da variância total, que é explicada por variações proporcionadas pelos genótipos e por variações permanentes atribuídas ao ambiente comum (TURNER; YOUNG, 1969; LERNER, 1977; HANSCH, 1983; CHAPMAN, 1985; FALCONER, 1987; CRUZ; REGAZZI; CARNEIRO, 2004; RESENDE, 2002). Quando a variância proporcionada pelos efeitos permanentes do ambiente é minimizada, a repetibilidade aproxima-se da estimativa de herdabilidade no sentido amplo (CRUZ; REGAZZI; CARNEIRO, 2004).

Do ponto de vista prático, suas maiores vantagens consistem em possibilitar a determinação do número de medições, para avaliar com precisão os valores genéticos aditivos, genotípicos ou fenotípicos permanentes dos indivíduos, bem como o uso de suas estimativas nos procedimentos de predição de valores genéticos (RESENDE, 2002).

No estudo de repetibilidade, ao aumentar o número de medições, a variância causada pelo ambiente temporário é diminuída e, conseqüentemente, a variância fenotípica é reduzida. O ganho em acurácia é representado, então, por esta redução da variância fenotípica. Quando a variância temporária de ambiente é baixa e a repetibilidade alta, o maior número de avaliações pouco acrescentará na acurácia da inferência do valor genotípico do indivíduo. Por outro lado, se a repetibilidade é baixa, o aumento no número de avaliações permitirá ganho satisfatório. Entretanto, o ganho em acurácia decresce à medida que se aumenta o número de medições (FALCONER, 1987; CRUZ; REGAZZI; CARNEIRO, 2004; RESENDE, 2002).

Quando várias medidas de uma mesma característica são realizadas em um mesmo indivíduo de um grupo, a variância fenotípica poderá ser parcelada em variância dentro do indivíduo e variância entre indivíduos. Este procedimento permite a quantificação do ganho com precisão, uma vez que as medidas são repetidas no mesmo indivíduo, possibilitando o esclarecimento da natureza da variação ambiental (FALCONER, 1987).

Várias metodologias têm sido indicadas para estimação do coeficiente de repetibilidade, como as da análise de variância, da máxima verossimilhança (SEARLE, 1971), dos componentes principais (ABEYWARDENA, 1972; RUTLEDGE, 1974) e da análise estrutural (MANSOUR; NORDHEIM; RUTLEDGE, 1981).

Estimativas individuais de parâmetros genéticos, como a herdabilidade individual, são raras na literatura disponível sobre café; dentre as quais destacam-se apenas as obtidas por WALYARO; VAN DER VOSSSEN (1979), no Quênia, e CILAS et al. (1998), em Camarões,

ambos em café arábica, LEROY et al. (1994) na Costa do Marfim e CILAS et al. (2000) na Costa do Marfim e Togo, ambas em café robusta. No Quadro 1 são apresentadas as estimativas de herdabilidade, em nível de indivíduos e médias de genótipos, referentes a alguns trabalhos realizados com o gênero *Coffea*. Neste quadro, as características com os maiores valores de herdabilidade, são acompanhados do sinal \*.

Quadro 1 – Principais trabalhos publicados sobre as estimativas de herdabilidade para as espécies do gênero *Coffea*, destacando a característica avaliada e o valor da estimativa de herdabilidade.

Autores	Referência	Espécie estudada	Característica estudada	Herdabilidade (%)			
WALYARO; VAN DER VOSSSEN.	Euphytica, v.28, p. 465-472, 1979.	<i>Coffea arabica</i> L.	Altura da planta	13,00 <sup>1/</sup>			
			Diâmetro do caule	35,00 <sup>1/</sup>			
			Número de ramos primários	8,00 <sup>1/</sup>			
			Porcentagem de ramos primários produzidos	20,00 <sup>1/</sup>			
			Comprimento médio dos ramos primários	21,00 <sup>1/</sup>			
			Crescimento da planta no período de 7 meses	20,00 <sup>1/</sup>			
			Número de novos nós produzidos no período de 7 meses.	10,00 <sup>1/</sup>			
			Número de Inflorescência por nó	10,00 <sup>1/</sup>			
			Número de flores por inflorescência	11,00 <sup>1/</sup>			
			Produção de grãos baseada na média de 10 anos (1961-1971)	81,00 <sup>1/*</sup>			
			Produção de grãos baseado nas combinações dos anos 1972/73	17,00 <sup>1/</sup>			
			LEROY et al., 1994	Euphytica, v. 74, p. 121-128, 1994.	<i>Coffea. Canephora</i> Pierre et Froeneher.	Diâmetro do caule aos 18 meses	35,00 <sup>1/</sup>
						Diâmetro do caule aos 30 meses	40,00 <sup>1/</sup>
Altura da planta aos 2 anos	34,00 <sup>1/</sup>						
Diâmetro da copa aos 4 anos	53,00 <sup>1/</sup>						
Número de internódios nos ramos plagiotrópicos aos 2 anos	65,00 <sup>1/</sup>						
Número de internódios no ramo ortotrópico	27,00 <sup>1/</sup>						
Comprimento médio do ramo ortotrópico	45,00 <sup>1/</sup>						
Comprimento médio dos ramos plagiotrópicos	88,00 <sup>1/*</sup>						
Comprimento de um internódio no ramo Ortotrópico	25,00 <sup>1/</sup>						
Comprimento de um internódio nos ramos Plagiotrópicos	88,00 <sup>1/*</sup>						
Produção de grãos beneficiados em 1986	28,00 <sup>1/</sup>						
Produção de grãos beneficiados em 1987	27,00 <sup>1/</sup>						
Produção de grãos beneficiados em 1988	15,00 <sup>1/</sup>						
Produção de grãos beneficiados baseado nas combinações de anos 1986/87	89,00 <sup>1/*</sup>						
Produção de grãos beneficiados baseado nas combinações de anos 1986/87/88	85,00 <sup>1/*</sup>						
Produção de grãos beneficiados baseado nas combinações de anos 1986/87/88/89	75,00 <sup>1/*</sup>						
CILAS et al.	Euphytica, v. 104, p. 49-59, 1998.	<i>C. arabica</i> L.				Diâmetro do caule	0,10 <sup>1/</sup>
						Altura da planta	37,30 <sup>1/</sup>
			Número de ramos primários	4,20 <sup>1/</sup>			
			Produção de grãos baseado nas anos 1986, 87, 88 e 89.	26,00 <sup>1/</sup>			
			Diâmetro médio da copa	82,23 <sup>2/*</sup>			
			Altura média de plantas	83,84 <sup>2/*</sup>			
			Produção de grãos/planta em 1989	83,19 <sup>2/*</sup>			
			Produção de grãos/planta em 1990	72,84 <sup>2/*</sup>			
			Produção de grãos/planta em 1991	86,84 <sup>2/*</sup>			
			Produção de grãos/planta em 1992	86,91 <sup>2/*</sup>			

<sup>1/</sup>: Herdabilidade obtida em nível de indivíduos;

<sup>2/</sup>: Herdabilidade obtida a partir da média dos genótipos.

Quadro 1 – Continuação...

Autores	Referência	Espécie estudada	Característica estudada	Herdabilidade (%)
FONSECA, A.F.A. da.	Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, 1999.	<i>C. canephora</i>	Número de hastes/planta	94,17 <sup>2*</sup>
			Diâmetro médio da copa	82,23 <sup>2*</sup>
			Altura média de plantas	83,84 <sup>2*</sup>
			Produção de grãos/planta em 1989.	83,19 <sup>2*</sup>
			Produção de grãos/planta em 1990	72,84 <sup>2*</sup>
			Produção de grãos/planta em 1991	86,84 <sup>2*</sup>
RESENDE, M.D.V. de. et al.	Bragantia, v. 60, n.3, p. 1-15, 2001	<i>C. arabica</i> L.	Altura da planta	25,70 <sup>2†</sup>
			Diâmetro do caule	57,60 <sup>2†</sup>
			Número de pares de ramos plagiotrópicos	3,90 <sup>2†</sup>
BONOMO, P.	Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, 2002.	<i>C. arabica</i> L.	Produção de grãos beneficiados em 1997	25,19 <sup>2†</sup>
			Produção de grãos beneficiados em 1998	78,13 <sup>2*</sup>
			Produção de grãos beneficiados em 1999	72,59 <sup>2*</sup>
			Produção de grãos beneficiados em 2000	43,34 <sup>2†</sup>
			Produção de grãos beneficiados nas combinações de anos 1997 e 1998	71,33 <sup>2*</sup>
			Produção de grãos beneficiados nas combinações de anos 1998 e 1999	80,36 <sup>2*</sup>
			Produção de grãos beneficiados nas combinações de anos 1999 e 2000	71,90 <sup>2*</sup>
			Produção de grãos beneficiados nas combinações de anos 1997, 1998 e 1999.	77,46 <sup>2*</sup>
			Produção de grãos beneficiados nas combinações de anos 1998, 1999 e 2000	78,30 <sup>2*</sup>
			Produção total de grãos beneficiados dos quatro anos.	76,27 <sup>2*</sup>
			Produção média dos quatro anos	89,91 <sup>2*</sup>
SEVERINO, L. S. et al.	Acta Scientiarum, v. 24, n.05, p. 1467-1471, 2002.	<i>C. arabica</i> L.	Altura da copa	95,78 <sup>2*</sup>
			Diâmetro da copa	94,67 <sup>2*</sup>
			Vigor vegetativo	89,64 <sup>2*</sup>
			Curvatura dos ramos	83,14 <sup>2*</sup>
			Número de ramos secundários	38,55 <sup>2†</sup>
			Comprimento médio do internódio	87,38 <sup>2*</sup>
			Número de ramos terciários	45,28 <sup>2†</sup>
			Produtividade beneficiada	61,33 <sup>2†</sup>
			Rendimento de beneficiamento	61,01 <sup>2†</sup>
TEDESCO, N. S.	Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, 2003.	<i>C. arabica</i> L.	Produção de grãos beneficiados nas combinações de anos 1997, 98, 99 e 2000	76,27 <sup>2*</sup>
			Produção de grãos beneficiados em 2001	84,74 <sup>2*</sup>
			Produção de grãos beneficiados em 2002	73,12 <sup>2†</sup>
			Produção de grãos beneficiados nas combinações de anos 2000 e 2001	81,20 <sup>2*</sup>
			Produção de grãos beneficiados nas combinações de anos 2001 e 2002.	87,24 <sup>2*</sup>
			Produção de grãos beneficiados nas combinações de anos 99, 2000 e 2001	84,23 <sup>2*</sup>
			Produção de grãos beneficiados nas combinações de anos 2000, 2001 e 2002	82,62 <sup>2*</sup>

<sup>†</sup>: Herdabilidade obtida em nível de indivíduos;

<sup>\*</sup>: Herdabilidade obtida a partir da média dos genótipos.

As estimativas de parâmetros genéticos e fenotípicos, em nível de média de genótipos para a característica rendimento de grãos, são comuns, podendo-se citar SERA (1980, 1987); CARVALHO, 1989; FONSECA (1999); SERA; ALVES (1999); COSTA et al. (2001); (BONOMO, 2002); FERRÃO et al. (2003); TEDESCO (2003).

No Quadro 2 são apresentadas as estimativas de repetibilidade, em nível de médias de genótipos, reportadas em alguns trabalhos com o gênero *Coffea*. Neste quadro, as características com os maiores coeficientes de repetibilidade e de determinação, são acompanhadas do sinal \*.

Quadro 2 – Principais trabalhos publicados sobre as estimativas de repetibilidade para as espécies do gênero *Coffea*, destacando a característica avaliada e o valor das estimativas dos coeficientes de repetibilidade e de determinação.

Autores	Referência	Espécie estudada	Método utilizado	Característica estudada	Coefficiente de repetibilidade (r)	Coefficiente de determinação (R <sup>2</sup> %)
FONSECA, A.F.A.	Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, 1999.	<i>Coffea canephora</i> Pierre et Froenher.	Componentes Principais a partir da matriz de correlação	Rendimento de Grãos	0,520	81,590
FERRÃO et al.	Anais... Brasília, DF, EMBRAPA Café, 2003.	<i>C. canephora</i>	Análise de variância com um fator de variação	Produção de grãos	0,409	82,900
			Análise de variância com dois fatores de variação	Produção de grãos	0,088	40,300
			Componentes principais a partir da matriz de covariância	Produção de grãos	0,662	93,190
			Componentes principais a partir da matriz de correlação	Produção de grãos	0,461	85,690
			Análise estrutural a partir da matriz de correlação	Produção de grãos	0,443	84,790
			Análise estrutural a partir da matriz de covariância	Produção de grãos	0,409	92,900
COSTA et al.	Anais...Goiânia: EMBRAPA, 2001.	<i>Coffea arabica</i> L.	Componentes Principais a partir da matriz de correlação	Altura da planta	0,892*	97,070*
			"	Diâmetro do caule	0,757*	92,560*
			"	Diâmetro da copa	0,776*	93,260*
			"	Vigor	0,725*	91,350*
BONOMO, P.	Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.	<i>C. arabica</i>	Componentes Principais a partir da matriz de covariância	Produção de grãos	0,390	65,800
			Componentes Principais a partir da matriz de correlação	Produção de grãos	0,480	73,550

## Quadro 2 – Continuação...

Autores	Referência	Espécie estudada	Método utilizado	Característica estudada	Coeficiente de repetibilidade (r)	Coeficiente de determinação (R <sup>2</sup> %)
TEDESCO, N.S.	Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, 2003.	<i>C. arabica</i>	Componentes Principais a partir da matriz de correlação	Produção de grãos beneficiados acumulada nos biênios 98-98/99-00	0,746*	85,000*
			"	Produção de grãos beneficiados acumulada nos biênios 99-00/01-02	0,772*	87,000*
			"	Produção de grãos beneficiados acumulada nos biênios 97-98/99-00/01-02	0,712*	88,000*

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Descrição do experimento

Três populações de retrocruzamento 1 ( $RC_1$ ) e uma população  $F_2$  foram obtidas a partir do cruzamento “Mundo Novo IAC 464-18 x Híbrido de Timor UFV 440-22”, sendo elas: população 1,  $RC_1$  - [(“Mundo Novo IAC 464-18 x Híbrido de Timor UFV 440-22”) x (“Mundo Novo IAC 464-18”)], com 28 plantas; população 2,  $RC_1$  - [(“Mundo Novo IAC 464-18) x (“Mundo Novo IAC 464-18 x Híbrido de Timor UFV 440-22”)], com 40 plantas; população 3,  $RC_1$  - [(“Mundo Novo IAC 464-18 x Híbrido de Timor UFV 440-22”) x (“Híbrido de Timor UFV 440-22”)], com 86 plantas; e população 4,  $F_2$  - com 47 plantas, obtida a partir da autofecundação controlada de uma planta  $F_1$  (H 464-2). Estas populações pertencem ao Programa de Melhoramento Genético da Universidade Federal de Viçosa (UFV)/Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG).

O cultivar “Mundo Novo IAC 464-18” (FAZUOLI et al., 2002), corresponde a uma recombinação resultante de um cruzamento natural entre as variedades Sumatra e Bourbon Vermelho de café arábica. O “Híbrido de Timor UFV 440-22” (PEREIRA et al., 2002) originou-se de uma introdução registrada como UFV 440. Essa introdução originou-se de uma progênie de cafeeiros, selecionados na Estação Regional de Uíge (ERU) pertencente ao Instituto de café de Angola, com o registro ERU 209, a qual é proveniente da introdução CIFC 2570.

Os cruzamentos que resultaram na obtenção das quatro populações segregantes de café arábica mencionadas anteriormente foram realizados no Campo Experimental do Viveiro de Café da Universidade Federal de Viçosa. As sementes das quatro populações segregantes foram semeadas em sacos plásticos com dimensão 11 x 22 cm. As mudas foram, posteriormente, transplantadas para vasos com capacidade para 6 litros de solo e colocadas em canteiros sombreados (50% de luz). Os vasos foram alocados em canteiros a uma distância de 20 cm entre os mesmos e de 80 cm entre os canteiros.

As populações 1 e 2 ( $RC_{1S}$ ) e a população 4 ( $F_2$ ) foram avaliadas aos 17 meses (1ª avaliação), 20 meses (2ª avaliação), 23 meses (3ª avaliação), 26 meses (4ª avaliação) e 29 meses após o plantio (5ª avaliação). A população 3 ( $RC_1$ ) foi avaliada aos 50 meses (1ª avaliação), 53 meses (2ª avaliação), 56 meses (3ª avaliação), 59 meses (4ª avaliação) e 62 meses (5ª avaliação).

Foram coletados os dados de nove características agronômicas: 1) altura da planta (ALTP) - distância da superfície do solo à extremidade do ramo ortotrópico, expressa em cm; 2) diâmetro de copa (DICP) - distância máxima entre as gemas terminais de dois ramos plagiotrópicos opostos, expressa em cm; 3) vigor vegetativo (VIVG) - utilizou-se escala de notas de 1 a 10 (SEVERINO et al., 2002), sendo 1 para planta depauperada e 10 para planta com vigor vegetativo máximo; 4) posição da ramificação primária (PRAP) - ângulo, avaliado visualmente, entre os ramos laterais primários (plagiotrópicos) e a haste principal (SEVERINO et al., 2002), sendo a avaliação realizada no terço médio da planta, atribuindo nota 1 para ramos pendentes, 2 para semipendentes, 3 para normal, 4 para ligeiramente eretos e 5 para ramos semi-eretos; 5) número de ramos laterais (NRAL) - em cada planta, foram contados os números de ramos laterais presentes; 6) número de nós no ramo principal (NNRP); 7) número de nós nos ramos laterais (NNRL) - foram contados os números de nós presentes nos dois ramos laterais do DICP; 7); 8) altura do primeiro ramo (ALPR) - distância, da superfície do solo à inserção do primeiro ramo plagiotrópico, expressa em cm; e 9) diâmetro do caule (DIAC) - mediu-se o diâmetro do caule, tomado a 5 cm da superfície do solo, expresso em cm. As avaliações fenotípicas foram realizadas em cinco sucessivas épocas de avaliação (novembro de 2002 a novembro de 2003), com intervalo de três meses entre avaliações, exceto para o DIAC que foi em quatro épocas, sendo estas iniciadas a partir da segunda época de avaliação das demais características.

Uma vez que as avaliações fenotípicas dessas nove características foram realizadas em uma mesma planta sem repetição, não foi possível estimar, diretamente a herdabilidade. Neste sentido, lançou-se mão do estudo de repetibilidade, como ferramenta auxiliar, para definir o limite superior da herdabilidade (sentido amplo) em nível de indivíduo. Segundo LUSH (1964),

este procedimento é vantajoso, quando a estrutura da população e, ou outros fatores dificultam a estimação direta deste parâmetro, como no presente caso. As informações obtidas a partir desse estudo, em conjunto com as geradas a partir da correlação fenotípica entre essas características (Capítulo 2), serão utilizadas para subsidiar o estudo de mapeamento genético dos possíveis locos candidatos (Capítulos 3 e 4).

### 3.2. Análise de repetibilidade pelo método dos componentes principais

O método dos componentes principais consiste em obter uma matriz de correlações entre os genótipos, em cada par de medições (ou período de avaliação). A partir da referida matriz, determinaram-se os autovalores e seus respectivos autovetores normalizados associados. O autovetor, cujos elementos apresentam mesmo sinal e magnitude próximas, é aquele que expressa a tendência dos genótipos em manter, ao longo das várias épocas de avaliação no período considerado, suas posições relativas em relação aos demais (ABEYWARDENA, 1972; CRUZ; REGAZZI; CARNEIRO, 2004). A proporção do autovalor associado a esse autovetor é o estimador do coeficiente de repetibilidade, ou seja,

$$r = \frac{\hat{\lambda}_k}{\sum_{j=k}^n \hat{\lambda}_j} \quad (1)$$

em que,

$r$  = coeficiente de repetibilidade;

$\hat{\lambda}_k$  = autovalor associado ao autovetor, cujos elementos têm o mesmo sinal e magnitude semelhantes; e

$n$  = número de épocas avaliadas.

O coeficiente de repetibilidade estimado a partir desta metodologia é influenciado, indevidamente, pelo número de medições realizadas (RUTLEDGE, 1974). Esse autor considera que o estimador de  $r$ , conforme apresentado abaixo, é mais adequado à estimação do coeficiente de repetibilidade,

$$r = \frac{\hat{\lambda}_k - 1}{n - 1} \quad (2)$$

com  $r$ ,  $n$  e  $\hat{\lambda}_k$  definidos anteriormente.

A técnica dos componentes principais também pode ser utilizada para estimar o coeficiente de repetibilidade, a partir das informações das matrizes de variâncias e covariâncias. Neste caso, o estimador da repetibilidade é dado por

$$r = \frac{\hat{\lambda}_k - \hat{\sigma}_y^2}{\hat{\sigma}_y^2(n-1)} \quad (3)$$

em que,

$$\hat{\sigma}_y^2 = \frac{1}{n} \sum_{j=1}^n \hat{\sigma}_j^2 = \hat{\sigma}_e^2 + \hat{\sigma}_p^2$$

### 3.3. Estimador do coeficiente de repetibilidade baseado na análise estrutural

A obtenção do coeficiente de repetibilidade pelo método da análise estrutural apresenta, apenas, diferenças conceituais em relação ao método baseado nos componentes principais. MANSOUR; NORDHEIM; RUTLEDGE (1981), autores deste método, consideram a matriz paramétrica de correlações entre os genótipos ( $R$ ), em cada par de avaliação, e seu estimador ( $\hat{R}$ ). Um estimador do coeficiente de repetibilidade, baseado nos componentes principais, é

$$r = \frac{\hat{\lambda}_1 - 1}{n-1} = \frac{\alpha' \hat{R} \alpha - 1}{n-1} \quad (4)$$

em que,  $\hat{\lambda}_1 = \alpha' \hat{R} \alpha$  é o maior autovalor de  $\hat{R}$ , e  $\alpha' = \{a_1, a_2, \dots, a_n\}$  é o autovetor associado a  $\hat{\lambda}_1$ , tal que  $\alpha' \alpha = 1$ , ou seja, o autovetor está normalizado.

Segundo MORRINSON (1967), o autovetor, cujos elementos têm mesmo sinal e magnitude semelhantes e que está associado ao maior autovalor ( $\hat{\lambda}_1$ ) de  $R$ , é expresso por:

$$\alpha' \left\{ \frac{1}{\sqrt{n}}, \dots, \frac{1}{\sqrt{n}} \right\} \quad (5)$$

Utilizando o autovetor  $\alpha$ , que, segundo MANSOUR; NORDHEIM; RUTLEDGE (1981), corresponde ao maior autovalor de R, o estimador do coeficiente de repetibilidade com base na análise estrutural é dado por

$$r = \frac{\alpha' \hat{R} \alpha - 1}{n - 1} = \frac{2}{n(n-1)} \sum_{j=1}^n \sum_{j'=2}^n \hat{\rho}_{jj'} 1, \text{ com } j < j' \quad (6)$$

em que,  $\hat{\rho}_{jj'}$  é o elemento da j-ésima linha e j' - ésima coluna da matriz  $\hat{R}$ .

Assim, este estimador do coeficiente de repetibilidade é a média aritmética das correlações fenotípicas entre genótipos, considerando cada par de épocas de avaliação (com intervalo entre as avaliações de três meses) no período de um ano.

### 3.4. Estimação do número mínimo de medições e do coeficiente de determinação

Uma vez obtido o coeficiente de repetibilidade, estimou-se o número mínimo de avaliações, que devem ser realizadas para prever o valor real dos indivíduos, com base em um coeficiente de determinação ( $R^2$ ) preestabelecido. A predição desse valor foi realizada, com base na seguinte expressão (LUSH, 1964):

$$\eta_0 = \frac{R^2(1 - r)}{(1 - R^2)r} \quad (7)$$

em que,

$\eta_0$  = número de medições necessárias

### 3.5 Avaliação da estabilização fenotípica de nove características agronômicas

Avaliou-se a estabilização fenotípica das nove características agronômicas referentes às quatro populações segregantes de café arábica, utilizando os métodos dos componentes principais, obtidos a partir da matriz de correlações para as sucessivas medições, considerando-se 2, 3, ... até todas as n avaliações efetuadas. Portanto, foram realizadas n-1 análises, fazendo duas medições sucessivas; n-2, três avaliações sucessivas e assim, até chegar as cinco medições.

Todas as análises estatísticas foram realizadas, utilizando-se o Programa Computacional GENES Windows (CRUZ, 2001).

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos Quadros 3 a 7 são apresentadas as estimativas dos coeficientes de repetibilidade e seus respectivos coeficientes de determinação das nove características, obtidas por meio de diferentes métodos nas quatro populações segregantes de café arábica. Nestes quadros estão presentes, também, os valores da média geral para cada uma dessas características nas cinco sucessivas épocas de avaliação.

Quadro 3 – Estimativas dos coeficientes de repetibilidade e número de medições necessárias para a obtenção de diferentes  $R^2$ , com base em quatro métodos e os valores da média geral das nove características, na população segregante 1, RC<sub>1</sub> de café arábica.

Características <sup>1/</sup>	Média geral	Coeficientes de repetibilidade				Número de medições (n)		
		CP <sup>2/</sup>	CP <sup>3/</sup>	AN <sup>4/</sup>	AN <sup>5/</sup>	R <sup>2</sup> = 0,80	R <sup>2</sup> = 0,90	R <sup>2</sup> = 0,95
ALTP	83,2707	0,9449	0,9450	0,9412	0,9450	1	1	2
DICP	70,6286	0,9571	0,9562	0,9544	0,9561	1	1	1
VIVG	5,3266	0,9787	0,9790	0,9784	0,9789	1	1	1
PRAP	4,2336	0,9835	0,9835	0,9835	0,9835	1	1	1
NRAL	17,7286	0,8787	0,8774	0,8766	0,8773	1	2	3
NNRP	9,7714	0,8848	0,8821	0,8818	0,8815	1	2	3
NNRL	13,9429	0,8349	0,8374	0,8321	0,8362	1	2	4
ALPR	28,0771	0,9991	0,9991	0,9989	0,9991	1	1	1
DIAC	1,4269	0,7429	0,7251	0,7234	0,7191	2	4	8

<sup>1/</sup>:ALTP: altura da planta ; DICP: diâmetro da copa;VIVG: vigor vegetativo; PRAP: posição da ramificação primária; NRAL: número de ramos laterais; NNRP: número de nós no ramo principal; NNRL: número de nós nos ramos laterais; ALPR: altura do primeiro ramo; DIAC: diâmetro do caule;

<sup>2/</sup>: CP<sub>1</sub>: componentes principais, a partir da matriz de covariância;

<sup>3/</sup>: CP<sub>2</sub>: componentes principais, a partir da matriz de correlação;

<sup>4/</sup>: AN<sub>1</sub>: análise estrutural, a partir da matriz de covariância;

<sup>5/</sup>: AN<sub>2</sub>: análise estrutural, a partir da matriz de correlação.

Quadro 4 – Estimativas dos coeficientes de repetibilidade e número de medições necessárias para a obtenção de diferentes  $R^2$ , com base em quatro métodos e os valores da média geral das nove características, na população na população segregante 2, RC<sub>1</sub> de café arábica.

Características <sup>1/</sup>	Média geral	Coeficientes de repetibilidade				Número de medições (n)		
		CP <sup>2/</sup>	CP <sup>3/</sup>	AN <sup>4/</sup>	AN <sup>5/</sup>	R <sup>2</sup> = 0,80	R <sup>2</sup> = 0,90	R <sup>2</sup> = 0,95
ALTP	72,3770	0,8885	0,8797	0,8782	0,8762	1	2	3
DICP	64,1275	0,8835	0,8852	0,8797	0,8808	1	2	3
VIVG	5,2562	0,9899	0,9902	0,9871	0,9902	1	1	1
PARP	4,2236	0,9811	0,9819	0,9741	0,9818	1	1	1
NRAL	14,8650	0,8521	0,8372	0,8191	0,8361	1	2	4
NNRP	9,1150	0,8391	0,8191	0,7806	0,8170	1	2	5
NNRL	14,2300	0,8652	0,8570	0,8402	0,8549	1	2	4
ALPR	28,1465	0,9998	0,9998	0,9998	0,9998	1	1	1
DIAC	1,4936	0,9342	0,9323	0,9234	0,9321	1	1	2

<sup>1/</sup>:ALTP: altura da planta ; DICP: diâmetro da copa;VIVG: vigor vegetativo; PRAP: posição da ramificação primária; NRAL: número de ramos laterais; NNRP: número de nós no ramo principal; NNRL: número de nós nos ramos laterais; ALPR: altura do primeiro ramo; DIAC: diâmetro do caule;

<sup>2/</sup>: CP<sub>1</sub>: componentes principais, a partir da matriz de covariância;

<sup>3/</sup>: CP<sub>2</sub>: componentes principais, a partir da matriz de correlação;

<sup>4/</sup>: AN<sub>1</sub>: análise estrutural, a partir da matriz de covariância;

<sup>5/</sup>: AN<sub>2</sub>: análise estrutural, a partir da matriz de correlação.

Quadro 5 – Estimativas dos coeficientes de repetibilidade e número de medições necessárias para a obtenção de diferentes  $R^2$ , com base em quatro métodos e os valores da média geral das nove características, na população segregante 3, RC<sub>1</sub> de café arábica.

Características <sup>1/</sup>	Média geral	Coeficientes de repetibilidade				Número de medições (n)		
		CP <sup>2/</sup>	CP <sup>3/</sup>	AN <sup>4/</sup>	AN <sup>5/</sup>	R <sup>2</sup> = 0,80	R <sup>2</sup> = 0,90	R <sup>2</sup> = 0,95
ALTP	73,5893	0,8314	0,8292	0,8083	0,8266	1	2	4
DICP	63,0186	0,8555	0,8207	0,8063	0,8113	1	2	5
VIVG	5,3445	0,9766	0,9768	0,9761	0,9768	1	1	1
PRAP	4,2329	0,9402	0,9408	0,9397	0,9406	1	1	2
NRAL	13,1023	0,7275	0,6942	0,6782	0,6868	2	4	9
NNRP	9,2302	0,7896	0,7622	0,7595	0,7567	2	3	6
NNRL	15,2605	0,8241	0,8198	0,7958	0,8157	1	2	5
ALPR	40,3056	0,9992	0,9992	0,9992	0,9992	1	1	1
DIAC	1,5185	0,8597	0,8499	0,8435	0,8487	1	2	4

<sup>1/</sup>:ALTP: altura da planta ; DICP: diâmetro da copa;VIVG: vigor vegetativo; PRAP: posição da ramificação primária; NRAL: número de ramos laterais; NNRP: número de nós no ramo principal; NNRL: número de nós nos ramos laterais; ALPR: altura do primeiro ramo; DIAC: diâmetro do caule;

<sup>2/</sup>: CP<sub>1</sub>: componentes principais, a partir da matriz de covariância;

<sup>3/</sup>: CP<sub>2</sub>: componentes principais, a partir da matriz de correlação;

<sup>4/</sup>: AN<sub>1</sub>: análise estrutural, a partir da matriz de covariância;

<sup>5/</sup>: AN<sub>2</sub>: análise estrutural, a partir da matriz de correlação.

Quadro 6 – Estimativas dos coeficientes de repetibilidade e número de medições necessárias para a obtenção de diferentes  $R^2$ , com base em quatro métodos e os valores da média geral das nove características, na população segregante 4,  $F_2$  de café arábica.

Características <sup>1/</sup>	Média geral	Coeficientes de repetibilidade				Número de medições (n)		
		CP <sup>2/</sup>	CP <sup>3/</sup>	AN <sup>4/</sup>	AN <sup>5/</sup>	R <sup>2</sup> = 0,80	R <sup>2</sup> = 0,90	R <sup>2</sup> = 0,95
ALTP	68,2438	0,9030	0,9056	0,8982	0,9048	1	1	2
DICP	67,1643	0,9235	0,8958	0,8901	0,8927	1	2	3
VIVG	5,2161	0,9045	0,9079	0,8799	0,9076	1	1	2
PRAP	4,2256	0,8735	0,8758	0,8651	0,8756	1	2	3
NRAL	14,4128	0,8708	0,8645	0,8484	0,8635	1	2	3
NNRP	8,2766	0,8223	0,8166	0,8056	0,8155	1	3	5
NNRL	14,1745	0,8636	0,8463	0,8373	0,8439	1	2	4
ALPR	26,5000	0,9986	0,9986	0,9986	0,9986	1	1	1
DIAC	1,4291	0,9377	0,9345	0,9332	0,9343	1	1	2

<sup>1/</sup>:ALTP: altura da planta ; DICP: diâmetro da copa;VIVG: vigor vegetativo; PRAP: posição da ramificação primária; NRAL: número de ramos laterais; NNRP: número de nós no ramo principal; NNRL: número de nós nos ramos laterais; ALPR: altura do primeiro ramo; DIAC: diâmetro do caule;

<sup>2/</sup>: CP<sub>1</sub>: componentes principais, a partir da matriz de covariância;

<sup>3/</sup>: CP<sub>2</sub>: componentes principais, a partir da matriz de correlação;

<sup>4/</sup>: AN<sub>1</sub>: análise estrutural, a partir da matriz de covariância;

<sup>5/</sup>: AN<sub>2</sub>: análise estrutural, a partir da matriz de correlação.

Quadro 7 – Estimativas dos coeficientes de determinação das nove características agrônômicas avaliadas nas quatro populações segregantes de café arábica, utilizando quatro métodos estatísticos.

Populações <sup>1/</sup>	Métodos <sup>2/</sup>	Características agrônômicas <sup>3/</sup>								
		ALTP	DICP	VIVG	PRAP	NRAL	NNRP	NNRL	ALPR	DIAC
1-RC <sub>1</sub>	(CP <sub>1</sub> )	98,8464	99,1125	99,5662	99,6658	97,3139	97,4628	96,1945	99,9815	92,0387
1-RC <sub>1</sub>	(CP <sub>2</sub> )	98,8495	99,0915	99,5719	99,6662	97,2803	97,3954	96,2605	99,9816	91,3428
1-RC <sub>1</sub>	(AN <sub>1</sub> )	98,7651	99,0526	99,5611	99,6657	97,2620	97,3881	96,1204	99,9789	91,2762
1-RC <sub>1</sub>	(AN <sub>2</sub> )	98,8487	99,0897	99,5715	99,6660	97,2779	97,3954	96,2305	99,9816	91,1040
2-RC <sub>1</sub>	(CP <sub>1</sub> )	97,5516	97,4311	99,7665	99,6169	96,6446	96,3039	96,9782	99,9966	98,2708
2-RC <sub>1</sub>	(CP <sub>2</sub> )	97,3382	97,4712	99,8026	99,6318	96,2575	95,77,08	96,7717	99,9966	98,2174
2-RC <sub>1</sub>	(AN <sub>1</sub> )	97,3008	97,3376	93,7388	99,4704	95,7704	94,6772	96,3351	99,9965	97,9690
2-RC <sub>1</sub>	(AN <sub>2</sub> )	97,2521	97,3635	99,8025	99,6316	96,2283	95,7132	96,7172	99,9966	98,9690
3-RC <sub>1</sub>	(CP <sub>1</sub> )	96,1026	96,7334	99,5240	98,7449	93,0317	94,9401	95,9062	99,9839	96,0802
3-RC <sub>1</sub>	(CP <sub>2</sub> )	96,0434	95,8125	99,5282	98,7567	91,9023	94,1256	95,7876	99,9839	95,7703
3-RC <sub>1</sub>	(AN <sub>1</sub> )	95,4718	95,4169	99,5132	98,7321	91,3311	94,0447	95,1172	99,9837	95,5675
3-RC <sub>1</sub>	(AN <sub>2</sub> )	95,9723	95,5556	99,5271	98,7518	91,6427	93,9590	95,6757	99,9839	95,7337
4-RC <sub>1</sub>	(CP <sub>1</sub> )	97,8970	98,3696	97,9324	97,1840	97,1191	95,8563	96,9383	99,9726	98,3654
4-RC <sub>1</sub>	(CP <sub>2</sub> )	97,9572	97,7264	98,0114	97,2422	96,9597	95,7013	96,4957	99,9727	98,2784
4-RC <sub>1</sub>	(AN <sub>1</sub> )	97,7828	97,5907	97,3416	96,9749	96,5491	95,3966	96,2601	99,9723	98,2415
4-RC <sub>1</sub>	(AN <sub>2</sub> )	97,9397	97,6518	98,0034	97,2363	96,9357	95,6698	96,4333	99,9727	98,2722

<sup>1/</sup>: 1: população segregante 1, RC<sub>1</sub>, 2: população segregante 2, RC<sub>1</sub>, 3: população segregante 3, RC<sub>1</sub>, 4: população segregante 4, F<sub>2</sub>;

<sup>2/</sup>: CP<sub>1</sub>: componentes principais, a partir da matriz de covariância; CP<sub>2</sub>: componentes principais, a partir da matriz de correlação; AN<sub>1</sub>: análise estrutural, a partir da matriz de covariância; AN<sub>2</sub>: análise estrutural, a partir da matriz de correlação;

<sup>3/</sup>:ALTP: altura da planta ; DICP: diâmetro da copa;VIVG: vigor vegetativo; PRAP: posição da ramificação primária; NRAL: número de ramos laterais; NNRP: número de nós no ramo principal; NNRL: número de nós nos ramos laterais; ALPR: altura do primeiro ramo; DIAC: diâmetro do caule.

Os quatro métodos utilizados, na maioria das vezes, mostram-se concordantes quanto à determinação das estimativas dos coeficientes de repetibilidade ( $r$ ) e de determinação ( $R^2$ ). Observa-se que as estimativas de  $r$  obtidas pelo método 3, na maioria das vezes, são ligeiramente

inferiores às estimativas obtidas pelos demais métodos. As estimativas de  $r$  obtidas pelo método 1, algumas vezes, são ligeiramente superiores às obtidas pelo método 3, com acurácia superior a  $R^2 = 92\%$ . As estimativas de  $r$  obtidas pelo método 1, na maioria das vezes, foram similares às obtidas pelos métodos 2 e 4.

Analisando os quatro métodos, simultaneamente, percebe-se que as estimativas de  $r$  e  $R^2$ , nas quatro populações segregantes de café arábica, respectivamente, apresentaram valores superiores a: população 1,  $RC_1$  - 0,83 e 96%; 0,83 e 96%; 0,83 e 96% e, 0,83 e 96% para o NNRL; população 2,  $RC_1$  - 0,83 e 96%; 0,81 e 95%; 0,78 e 94% e, 0,81 e 95% para o NNRP; população 3,  $RC_1$  - 0,72 e 93%; 0,69 e 91%; 0,67 e 91% e, 0,68 e 91% para o NRAL; população 4,  $F_2$  - 0,82 e 95%; 0,81 e 95%; 0,80 e 95% e, 0,81 e 95% para o NNRP.

Para o DIAC, as estimativas de  $r$  e  $R^2$ , utilizando os diferentes métodos de estimação nas quatro populações, respectivamente, apresentaram valores superiores a: população 1,  $RC_1$  - 0,74 e 92%; 0,72 e 91%; 0,72 e 91%; 0,71 e 91%; população 2,  $RC_1$  - 0,93 e 98%; 0,93 e 98%; 0,92 e 97%; e 0,93 e 98%; população 3,  $RC_1$  - 0,85 e 96%, 0,84 e 95%; 0,84 e 95% e, 0,84 e 95%; população 4,  $RC_1$  - 0,93 e 98%; 0,93 e 98%; 0,93 e 98% e, 0,93 e 98%.

Observa-se que as estimativas de  $r$  obtidas para a população 3,  $RC_1$  na maioria das vezes, foram inferiores às estimativas obtidas para as demais populações. A possível explicação para tal fato encontra-se na idade diferenciada dos indivíduos desta população, em relação aos demais indivíduos de outras populações.

As maiores estimativas de  $r$  foram observadas para a característica ALPR, nas quatro populações segregantes e as menores para o DIAC (população 1,  $RC_1$ ), para o NNRP (populações 2,  $RC_1$  e 4,  $F_2$ ) e para o NRAL (população 3,  $RC_1$ ). Houve similaridade nos valores de  $r$  para a característica PRAP (população 1,  $RC_1$ ) e para a característica ALPR (populações 2 e 3  $RC_1$ s e 4,  $F_2$ ) nos quatro métodos estatísticos.

Verifica-se que as estimativas de  $r$ , obtidas pelo método 1, foram ligeiramente superiores às obtidas pelo método 4, para as seguintes características nas quatro populações: população 1,  $RC_1$  - DIAC; população 2,  $RC_1$  - NRAL, NNRP e NNRL; população 3,  $RC_1$  - DICP, NRAL, NNRP e DIAC; e população 4,  $RC_1$  - DICP e NNRL.

As estimativas de  $r$ , são na maioria das vezes, relativamente altas nas quatro populações segregantes: população 1,  $RC_1$  ( $r > 0,71$ ) para o DIAC, população 2,  $RC_1$  ( $r > 0,78$ ) para o NNRP, população 3,  $RC_1$  ( $r > 0,67$ ) para o NRAL e população 4,  $RC_1$  ( $r > 0,80$ ) para o NNRP. Tal fato evidencia consistência no comportamento dos indivíduos pertencentes às populações segregantes 1 e 2 ( $RC_1$ s) e 4 ( $F_2$ ). Assim, poucas avaliações são suficientes para acessar o valor

genotípico dessas progênies. Conforme relatado anteriormente, a população 3, RC<sub>1</sub> apresentou as menores estimativas de  $r$  e  $R^2$ ; tal fato tem, como reflexo, a pouca consistência no comportamento dos indivíduos desta população ao longo das avaliações.

Observa-se, para as características DICP, VIVG, PRAP e ALPR (população 1, RC<sub>1</sub>), VIVG, PRAP e ALPR (população 2, RC<sub>1</sub>), VIVG e ALPR (população 3, RC<sub>1</sub>) e ALPR (população 4, F<sub>2</sub>) que uma medição é suficiente para obter  $R^2 = 0,95$ . O aumento no número de avaliações para as características ALTP (2), NRAL e NNRP (3) e NNRL (4) (População 1, RC<sub>1</sub>); DIAC (2), ALTP e DICP (3), NRAL e NNRL (4) (população 2, RC<sub>1</sub>); PRAP (2), ALTP e DIAC (4) (população 3, RC<sub>1</sub>); ALTP, VIVG e DIAC (2), DICP, PRAP e NRAL (3) (população 4, F<sub>2</sub>) contribuem para a precisão na predição do valor real do indivíduo, sendo necessário pouco acréscimo no número de avaliações para obter tal precisão. Vale ressaltar que, ao estabelecer o número de medições, deve-se levar em consideração o tempo requerido, o custo para se atingir certo nível de confiabilidade e o fato que o ganho em acurácia decresce à medida que o número de medições é aumentado.

Constatou-se que a média geral das nove características (épocas 1 a 5), nas quatro populações segregantes apresentou oscilação de 1,43 para o DIAC a 83,27 para a ALTP (população 1, RC<sub>1</sub>); 1,49 para o DIAC a 72,38 para a ALTP (população 2, RC<sub>1</sub>); 1,52 para o DIAC a 73,59 para a ALTP (população 3, RC<sub>1</sub>); e 1,43 para o DIAC a 68,24 para a ALTP (população, 4, F<sub>2</sub>).

Em geral, a população 1, RC<sub>1</sub> apresentou valores de médias relativamente superiores, em relação às demais populações, com base nas características, ALTP e ALPR. A população 3, RC<sub>1</sub>, avaliada aos 50, 53, 56, 59 e 62 meses e as outras aos 17, 20, 23, 26 e 29 meses apresentou os maiores valores de média para as características NNRL e a ALPR e os menores valores para o DICP e o NRAL.

Nos Quadros 8 a 11 é apresentado um resumo dos resultados da estabilização fenotípica para as nove características nas cinco épocas de avaliação.

Quadro 8 – Estimativas de números de medições (n) e obtenção de R<sup>2</sup>, por meio da estabilização fenotípica usando o método dos componentes principais a partir da matriz de correlação das nove características agronômicas avaliadas na população segregante 1, RC1 de café arábica em cinco sucessivas épocas de avaliação.

Características <sup>1/</sup>	Épocas de avaliação	Nº de medições	Componente <sup>2/</sup>	R <sup>2</sup>	Características <sup>1/</sup>	Épocas de avaliação	Nº de medições	Componente <sup>2/</sup>	R <sup>2</sup>
ALTP	1-2	2	0,9854	99,2662	VIVG	1-2	2	1,00	100,00
	2-3	2	0,9424	97,0358		2-3	2	0,9643	98,1843
	3-4	2	0,9727	98,6167		3-4	2	0,9999	99,9947
	4-5	2	0,9863	99,3112		4-5	2	1,00	100,00
	1, 2 e 3	3	0,9519	98,3445		1, 2 e 3	3	0,9763	99,1963
	2, 3 e 4	3	0,9888	98,2326		2, 3, e 4	3	0,9765	99,2054
	3, 4, e 5	3	0,9726	99,0701		3, 4 e 5	3	0,9999	99,9976
	1, 2, 3 e 4	4	0,9446	98,5550		1, 2, 3, e 4	4	0,9765	99,4020
	2, 3, 4 e 5	4	0,9535	98,7964		2, 3, 4 e 5	4	0,9825	99,5569
1, 2, 3, 4 e 5	5	0,94500	98,8495	1, 2, 3, 4 e 5	5	0,9790	99,5719		
DICP	1-2	2	0,9952	99,7615	PRAP	1-2	2	1,00	100,00
	2-3	2	0,9697	98,4620		2-3	2	0,9716	98,5602
	3-4	2	0,9878	99,3844		3-4	2	0,9997	99,9944
	4-5	2	0,9905	99,5218		4-5	2	1,00	100,00
	1, 2 e 3	3	0,9749	99,1474		1, 2 e 3	3	0,9811	99,3621
	2, 3 e 4	3	0,9665	98,8570		2, 3 e 4	3	0,9815	99,3772
	3, 4 e 5	3	0,9821	99,3991		3, 4 e 5	3	0,9999	99,9975
	1, 2, 3 e 4	4	0,9640	99,0747		1, 2, 3 e 4	4	0,9815	99,5316
	2, 3, 4 e 5	4	0,9626	99,0375		2, 3, 4 e 5	4	0,9863	99,6539
1, 2, 3, 4 e 5	5	0,9562	99,0915	1, 2, 3, 4 e 5	5	0,9835	99,6662		

<sup>1/</sup>:ALTP: altura da planta; DICP: diâmetro da copa ; VIVG: vigor vegetativo; PRAP: posição da ramificação primária; NRAL: número de ramos laterais; NNRP: número de nós no ramo principal; NNRL: número de nós nos ramos laterais; ALPR: altura do primeiro ramo; DIAC: diâmetro da caule;

<sup>2/</sup>: componentes principais obtidos pela matriz de correlação.

Quadro 8 – Continuação...

Características <sup>1/</sup>	Épocas de avaliação	Nº de medições	Componente <sup>2/</sup>	R <sup>2</sup>	Características <sup>1/</sup>	Épocas de avaliação	Nº de medições	Componente <sup>2/</sup>	R <sup>2</sup>
NRAL	1-2	2	0,9898	99,4894	ALPR	1-2	2	1,00	100,00
	2-3	2	0,8678	92,9209		2-3	2	0,9984	99,9201
	3-4	2	0,8869	94,0043		3-4	2	0,9999	99,9952
	4-5	2	0,9443	97,1348		4-5	2	1,00	100,00
	1, 2 e 3	3	0,9012	96,4754		1, 2 e 3	3	0,9989	99,9645
	2, 3 e 4	3	0,8650	95,0543		2, 3 e 4	3	0,9989	99,9651
	3, 4 e 5	3	0,9092	96,7764		3, 4 e 5	3	0,9999	99,9979
	1, 2 3 e 4	4	0,8713	96,4389		1, 2, 3 e 4	4	0,9990	99,9742
	2, 3, 4 e 5	4	0,8846	96,8419		2, 3, 4 e 5	4	0,9992	99,9805
1, 2, 3, 4 e 5	5	0,8774	97,2803	1, 2 3, 4 e 5	5	0,9991	99,9816		
NNRP	1-2	2	0,9468	97,2672	DIAC	1-2	-	-	-
	2-3	2	0,8990	94,7333		2-3	2	0,5789	73,3316
	3-4	2	0,9533	97,6109		2, 3 e 4	3	0,7778	87,5002
	4-5	2	0,9406	96,9365		2,3, 4 e 5	4	0,9631	98,1225
	1, 2 e 3	3	0,8857	95,8744		3-4	2	0,6637	85,5477
	2, 3 e 4	3	0,9162	97,0405		3, 4 e 5	3	0,8350	93,8184
	3, 4 e 5	3	0,9404	97,9315		4-5	2	0,7251	91,3428
	1, 2, 3 e 4	4	0,8834	96,8043					
	2, 3, 4 e 5	4	0,9138	97,6969					
1, 2, 3, 4 e 5	5	0,8821	97,3954						
NNRL	1-2	2	0,9873	99,3603					
	2-3	2	0,9222	95,9519					
	3-4	2	0,8953	94,4777					
	4-5	2	0,9338	96,5753					
	1, 2 e 3	3	0,9398	97,9088					
	2, 3 e 4	3	0,8600	94,8530					
	3, 4 e 5	3	0,8905	96,0609					
	1, 2, 3 e 4	4	0,8726	96,4788					
	2, 3, 4 e 5	4	0,8422	95,5250					
1, 2, 3, 4 e 5	5	0,8374	96,2604						

Quadro 9 – Estimativas de números de medições (n) e obtenção de R<sup>2</sup>, por meio da estabilização fenotípica usando o método dos componentes principais a partir da matriz de correlação das nove características agronômicas avaliadas na população segregante 2, RC1 de café arábica em cinco sucessivas épocas de avaliação.

Características <sup>1/</sup>	Épocas de avaliação	Nº de medições	Componente <sup>2/</sup>	R <sup>2</sup>	Características <sup>1/</sup>	Épocas de avaliação	Nº de medições	Componente <sup>2/</sup>	R <sup>2</sup>
ALTP	1-2	2	0,7781	87,5179	VIVG	1-2	2	1,00	100,00
	2-3	2	0,9835	99,1665		2-3	2	0,9837	99,1769
	3-4	2	0,9765	98,8127		3-4	2	1,00	100,00
	4-5	2	0,9631	98,1198		4-5	2	1,00	100,00
	1, 2 e 3	3	0,8398	94,0221		1, 2 e 3	3	0,9891	99,6348
	2, 3 e 4	3	0,9691	98,9468		2, 3 e 4	3	0,9891	99,6348
	3, 4 e 5	3	0,9614	98,6791		3, 4 e 5	3	1,00	100,00
	1, 2, 3 e 4	4	0,8679	96,3343		1, 2, 3 e 4	4	0,9891	99,7256
	2, 3, 4 e 5	4	0,9562	98,8690		2, 3, 4 e 5	4	0,9919	99,7951
1, 2, 3, 4 e 5	5	0,6797	97,3362	1, 2, 3, 4 e 5	5	0,9902	99,8026		
DICP	1-2	2	0,7913	88,3476	PRAP	1-2	2	1,00	100,00
	2-3	2	0,9803	99,006		2-3	2	0,9697	98,4640
	3-4	2	0,9917	99,5853		3-4	2	1,00	100,00
	4-5	2	0,9879	99,3888		4-5	2	1,00	100,00
	1, 2 e 3	3	0,8443	94,2100		1, 2 e 3	3	0,9799	99,3197
	2, 3 e 4	3	0,9782	99,2609		2, 3 e 4	3	0,9799	99,3197
	3, 4 e 5	3	0,9824	99,4077		3, 4 e 5	3	1,00	100,00
	1, 2, 3 e 4	4	0,8729	96,4868		1, 2, 3 e 4	4	0,9783	99,4881
	2, 3, 4 e 5	4	0,9707	99,2557		2, 3, 4 e 5	4	0,9449	99,6190
1, 2, 3, 4 e 5	5	0,8852	97,4720	1, 2, 3, 4 e 5	5	0,9819	99,6318		

<sup>1/</sup>:ALTP: altura da planta; DICP: diâmetro da copa ; VIVG: vigor vegetativo; PRAP: posição da ramificação primária; NRAL: número de ramos laterais; NNRP: número de nós no ramo principal; NNRL: número de nós nos ramos laterais; ALPR: altura do primeiro ramo; DIAC: diâmetro da caule;

<sup>2/</sup>: pela técnica dos componentes principais obtidos pela matriz de correlação.

Quadro 9 – Continuação...

Características <sup>1/</sup>	Épocas de avaliação	Nº de medições	Componente <sup>2/</sup>	R <sup>2</sup>	Características <sup>1/</sup>	Épocas de avaliação	Nº de medições	Componente <sup>2/</sup>	R <sup>2</sup>
NRAL	1-2	2	0,8431	91,4893	ALPR	1-2	2	1,00	100,00
	2-3	2	0,9088	95,2205		2-3	2	0,9997	99,9857
	3-4	2	0,9253	96,1201		3-4	2	1,00	100,00
	4-5	2	0,9047	94,9989		4-5	2	1,00	100,00
	1, 2 e 3	3	0,8473	94,3321		1, 2 e 3	3	0,9998	99,9937
	2, 3 e 4	3	0,9050	96,6183		2, 3 e 4	3	0,9998	99,9937
	3, 4 e 5	3	0,8821	95,7391		3, 5	3	1,00	100,00
	1, 2, 3 e 4	4	0,8581	96,0290		1-4	4	0,9998	99,9952
	2, 3, 4 e 5	4	0,8686	96,3552		2-5	4	0,9998	99,9964
1, 2, 3, 4 e 5	5	0,8372	96,2575	1-5	5	0,9998	99,9966		
NNRP	1-2	2	0,8672	92,8863	DIAC	1-2	-	-	-
	2-3	2	0,9086	95,2127		2-3	2	0,9224	95,9667
	3-4	2	0,9346	96,6204		3-4	2	0,9808	99,0308
	4-5	2	0,9119	95,3912		4-5	2	0,9452	97,1818
	1, 2 e 3	3	0,8508	94,4777		2, 3 e 4	3	0,9404	97,9313
	2, 3 e 4	3	0,90068	96,4544		3, 4 e 5	3	0,9533	98,3943
	3, 4 e 5	3	0,8917	96,1099		2, 3, 4 e 5	4	0,9323	98,2174
	1, 2, 3 e 4	4	0,8499	95,7728					
	2, 3, 4, e 5	4	0,8602	96,0954					
1, 2, 3, 4 e 5	5	0,8191	95,7708						
NNRL	1-2	2	0,8741	93,2832					
	2-3	2	0,9559	97,7436					
	3-4	2	0,9526	97,5721					
	4-5	2	0,9694	98,4476					
	1, 2 e 3	3	0,8788	95,6048					
	2, 3 e 4	3	0,9297	97,5407					
	3, 4 e 5	3	0,9400	97,9165					
	1, 2, 3 e 4	4	0,8677	96,3270					
	2, 3, 4 e 5	4	0,9119	97,6415					
1, 2, 3, 4 e 5	5	0,8570	96,7717						

Quadro 10 – Estimativas de números de medições (n) e obtenção de R<sup>2</sup>, por meio da estabilização fenotípica usando o método dos componentes principais a partir da matriz de correlação das nove características agrônômicas avaliadas na população segregante 3, RC1 de café arábica em cinco sucessivas épocas de avaliação.

Características <sup>1/</sup>	Épocas de avaliação	Nº de medições	Componente <sup>2/</sup>	R <sup>2</sup>	Características <sup>1/</sup>	Épocas de avaliação	Nº de medições	Componente <sup>2/</sup>	R <sup>2</sup>
ALTP	1-2	2	0,8146	89,7839	VIVG	1-2	2	0,9946	99,7299
	2-3	2	0,9176	95,7052		2-3	2	0,9944	99,7164
	3-4	2	0,9445	97,1457		3-4	2	0,9925	99,6223
	4-5	2	0,9276	96,2436		4-5	2	0,9959	99,7955
	1, 2 e 3	3	0,8187	93,1275		1, 2 e 3	3	0,9903	99,6741
	2, 3 e 4	3	0,9105	96,8256		2, 3 e 4	3	0,9877	99,5852
	3, 4 e 5	3	0,9170	97,0731		3, 4 e 5	3	0,9902	99,6714
	1, 2, 3 e 4	4	0,8308	95,1556		1, 2, 3 e 4	4	0,9822	99,5485
	2, 3, 4 e 5	4	0,8924	97,0731		2, 3, 4 e 5	4	0,9836	99,5852
1, 2, 3, 4 e 5	5	0,8292	96,0434	1, 2, 3, 4 e 5	5	0,9766	99,5282		
DICP	1-2	2	0,7407	85,1021	PRAP	1-2	2	0,9730	98,6302
	2-3	2	0,9562	97,7633		2-3	2	0,9681	98,3775
	3-4	2	0,9619	98,0572		3-4	2	0,9846	99,2259
	4-5	2	0,9878	99,3842		4-5	2	0,8674	92,9011
	1, 2 e 3	3	0,7784	91,3345		1, 2 e 3	3	0,9583	98,5709
	2, 3 e 4	3	0,9423	97,9988		2, 3, e 4	3	0,9609	98,6605
	3, 4 e 5	3	0,9621	98,7040		3, 4 e 5	3	0,9296	97,5369
	1, 2, 3 e 4	4	0,8062	94,3323		1, 2, 3 e 4	4	0,9433	98,5196
	2, 3, 4 e 5	4	0,9349	98,2668		2, 3, 4 e 5	4	0,9413	98,4661
1, 2, 3, 4 e 5	5	0,8207	95,8125	1, 2, 3, 4 e 5	5	0,9408	98,7567		

<sup>1/</sup>:ALTP: altura da planta; DICP: diâmetro da copa ; VIVG: vigor vegetativo; PRAP: posição da ramificação primária; NRAL: número de ramos laterais; NNRP: número de nós no ramo principal; NNRL: número de nós nos ramos laterais; ALPR: altura do primeiro ramo; DIAC: diâmetro da caule;

<sup>2/</sup>: pela técnica dos componentes principais obtidos pela matriz de correlação.

Quadro 10 – Continuação...

Características <sup>1/</sup>	Épocas de avaliação	Nº de medições	Componente <sup>2/</sup>	R <sup>2</sup>	Características <sup>1</sup>	Épocas de avaliação	Nº de medições	Componente <sup>2/</sup>	R <sup>2</sup>
NRAL	1-2	2	0,6985	82,2522	ALPR	1-2	2	0,9999	99,9982
	2-3	2	0,8544	92,1475		2-3	2	0,9986	99,9322
	3-4	2	0,7782	87,5238		3-4	2	0,9999	99,9939
	4-5	2	0,8601	92,4799		4-5	2	0,9999	99,9995
	1, 2 e 3	3	0,7074	87,8830		1, 2 e 3	3	0,9991	99,9695
	2, 3 e 4	3	0,7892	91,8221		2, 3 e 4	3	0,9991	99,9699
	3, 4 e 5	3	0,8063	92,5879		3, 4 e 5	3	0,9999	99,9971
	1, 2, 3 e 4	4	0,6876	89,7992		1, 2, 3 e 4	4	0,9991	99,9776
	2, 3, 4 e 5	4	0,7865	93,6436		2, 3, 4 e 5	4	0,9993	99,9829
	1, 2, 3, 4 e 5	5	0,6942	91,9023		1, 2, 3, 4 e 5	5	0,9992	99,9839
NNRP	1-2	2	0,6943	81,9569	DIAC	1-2	-	-	-
	2-3	2	0,8630	92,6469		2-3	2	0,8136	89,7228
	3-4	2	0,9151	95,5652		3-4	2	0,9144	95,5270
	4-5	2	0,9076	95,1561		4-5	2	0,9341	96,5931
	1, 2 e 3	3	0,7217	88,6077		2, 3 e 4	3	0,8405	94,0524
	2, 3 e 4	3	0,8565	94,7112		3, 4 e 5	3	0,9088	96,7624
	3, 4 e 5	3	0,8912	96,0884		2, 3, 4 e 5	4	0,8499	95,770,3
	1, 2, 3 e 4	4	0,7401	91,9295					
	2, 3, 4 e 5	4	0,8487	95,7329					
	1, 2, 3, 4 e 5	5	0,7622	94,1256					
NNRL	1-2	2	0,8816	93,7102					
	2-3	2	0,9413	96,9770					
	3-4	2	0,9431	97,0705					
	4-5	2	0,9727	98,6179					
	1, 2 e 3	3	0,8629	94,9684					
	2, 3 e 4	3	0,9061	96,6603					
	3, 4 e 5	3	0,9377	97,8316					
	1, 2, 3 e 4	4	0,8342	95,2659					
	2, 3, 4 e 5	4	0,8922	97,0676					
	1, 2, 3, 4 e 5	5	0,8198	95,7876					

Quadro 11 – Estimativas de números de medições (n) e obtenção de R<sup>2</sup>, por meio da estabilização fenotípica usando o método dos componentes principais a partir da matriz de correlação das nove características agronômicas avaliadas na população segregante 4, F<sub>2</sub> de café arábica em cinco sucessivas épocas de avaliação.

Características <sup>1/</sup>	Épocas de avaliação	Nº de medições	Componente <sup>2/</sup>	R <sup>2</sup>	Características <sup>1/</sup>	Épocas de avaliação	Nº de medições	Componente <sup>2/</sup>	R <sup>2</sup>
ALTP	1-2	2	0,8992	94,6367	VIVG	1-2	2	0,9992	99,9589
	2-3	2	0,9415	96,9862		2-3	2	0,8459	91,6538
	3-4	2	0,9817	99,0755		3-4	2	0,9999	99,9969
	4-5	2	0,97008	98,4812		4-5	2	0,9997	99,9842
	1, 2 e 3	3	0,8925	96,1382		1, 2 e 3	3	0,8982	96,3579
	2, 3 e 4	3	0,9453	98,1088		2, 3 e 4	3	0,8983	96,3649
	3, 4 e 5	3	0,9673	98,8856		3, 4 e 5	3	0,9997	99,9901
	1, 2, 3 e 4	4	0,9010	97,3238		1, 2, 3 e 4	4	0,8973	97,2181
	2, 3, 4 e 5	4	0,9424	98,4958		2, 3, 4 e 5	4	0,9246	98,0006
	1, 2, 3, 4 e 5	5	0,9056	97,9572		1, 2, 3, 4 e 5	5	0,90789	98,0114
DICP	1-2	2	0,8479	91,7708	PRAP	1-2	2	0,9999	99,9992
	2-3	2	0,9669	98,3165		2-3	2	0,8055	89,2295
	3-4	2	0,9909	99,5454		3-4	2	0,9995	99,9773
	4-5	2	0,9931	99,6533		4-5	2	0,8148	89,7923
	1, 2 e 3	3	0,8606	94,8776		1, 2 e 3	3	0,8721	95,3398
	2, 3 e 4	3	0,9692	98,9507		2, 3 e 4	3	0,8726	95,3572
	3, 4 e 5	3	0,9866	99,5499		3, 4 e 5	3	0,8775	95,5521
	1, 2, 3 e 4	4	0,8807	96,7232		1, 2, 3 e 4	4	0,8710	96,4304
	2, 3, 4 e 5	4	0,9695	99,2186		2, 3, 4 e 5	4	0,8653	96,2545
	1, 2, 3, 4 e 5	5	0,8958	97,7264		1, 2, 3, 4 e 5	5	0,8758	97,2422

<sup>1/</sup>:ALTP: altura da planta; DICP: diâmetro da copa ; VIVG: vigor vegetativo; PRAP: posição da ramificação primária; NRAL: número de ramos laterais; NNRP: número de nós no ramo principal; NNRL: número de nós nos ramos laterais; ALPR: altura do primeiro ramo; DIAC: diâmetro da caule;

<sup>2/</sup>: pela técnica dos componentes principais obtidos pela matriz de correlação.

Quadro 11 – Continuação...

Características <sup>1/</sup>	Épocas de avaliação	Nº de medições	Componente <sup>2/</sup>	R <sup>2</sup>	Características <sup>1/</sup>	Épocas de avaliação	Nº de medições	Componente <sup>2/</sup>	R <sup>2</sup>
NRAL	1-2	2	0,8712	93,1187	ALPR	1-2	2	0,9999	99,9991
	2-3	2	0,9241	96,0566		2-3	2	0,9978	99,8878
	3-4	2	0,9278	96,2522		3-4	2	1,00	100,00
	4-5	2	0,9004	94,7390		4-5	2	1,00	100,00
	1, 2 e 3	3	0,8740	95,4147		1, 2 e 3	3	0,9985	99,9493
	2, 3 e 4	3	0,9198	97,1755		2, 3 e 4	3	0,9985	99,9502
	3, 4 e 5	3	0,8966	96,2988		3, 4 e 5	3	1,00	100,00
	1, 2, 3 e 4	4	0,8756	96,5696		1, 2, 3 e 4	4	0,9985	99,9621
	2, 3, 4 e 5	4	0,90015	97,3015		2, 3, 4 e 5	4	0,9989	99,9720
1, 2, 3, 4 e 5	5	0,8645	96,9597	1, 2, 3, 4 e 5	5	0,9986	99,9727		
NNRP	1-2	2	0,8231	90,2969	DIAC	1-2	-	-	-
	2-3	2	0,8940	94,4060		2-3	2	0,9261	96,1634
	3-4	2	0,8979	94,6201		3-4	2	0,9587	97,8926
	4-5	2	0,8682	92,9464		4-5	2	0,9777	98,8725
	1, 2 e 3	3	0,8396	94,0143		2, 3 e 4	3	0,92381	97,3244
	2, 3 e 4	3	0,8751	95,4585		3, 4 e 5	3	0,9630	98,7322
	3, 4 e 5	3	0,8498	94,4361		2, 3, 4 e 5	4	0,9345	98,2784
	1, 2, 3 e 4	4	0,8483	95,7191					
	2, 3, 4 e 5	4	0,8346	95,2795					
1, 2, 3, 4 e 5	5	0,8166	95,7013						
NNRL	1-2	2	0,8773	93,4623					
	2-3	2	0,9579	97,8498					
	3-4	2	0,9190	95,7800					
	4-5	2	0,9726	98,6118					
	1, 2 e 3	3	0,8758	95,4863					
	2, 3 e 4	3	0,9163	97,0448					
	3, 4 e 5	3	0,9232	97,3015					
	1, 2, 3 e 4	4	0,8518	95,8324					
	2, 3, 4 e 5	4	0,9058	97,4647					
1, 2, 3, 4 e 5	5	0,8463	96,4957						

Analisando os QUADROS 8 a 11, verifica-se que, nas duas primeiras épocas de avaliação foram encontrados valores de  $r$  e  $R^2$ , nas quatro populações segregantes, superiores a: população 1,  $RC_1 - 0,94$  (97%) para o NNRP; população 2,  $RC_1 - 0,77$  (87%) para a ALTP; população 3,  $RC_1 - 0,69$  (81%) para o NNRP e a população 4,  $F_2 - 0,82$  (90%) para o NNRP. As estimativas de  $R^2$ , na maioria das vezes superiores a 87%, conferem certa consistência no comportamento dos indivíduos pertencentes às populações 1 e 2 ( $RC_{1s}$ ) e 4 ( $F_2$ ). Em analogia ao exposto anteriormente, a população 3,  $RC_1$  exibiu valores de  $r$  e  $R^2$  inferiores aos obtidos para as demais populações. Tal fato tem como reflexo a pouca consistência no comportamento dos indivíduos desta população, nas duas primeiras épocas de avaliação para algumas das características avaliadas.

Verificou-se para o DIAC, que as estimativas de  $r$  e seus respectivos  $R^2$  (épocas 2 e 3) nas quatro populações segregantes foram superiores a: população 1,  $RC_1 - 0,57$  (73%); população 2,  $RC_1 - 0,92$  (95%); população 3,  $RC_1 - 0,81$  (89%) e população 4,  $F_2 - 0,92$  (96%). As estimativas de  $R^2$ , na maioria das vezes superiores a 89%, exceto para a população 1,  $RC_1$  indica regularidade no comportamento dos indivíduos das populações 2 e 3 ( $RC_{1s}$ ) e 4,  $F_2$  nas duas primeiras épocas de avaliação para tal característica.

## 5. CONCLUSÕES

(1). As estimativas dos coeficientes de repetibilidade e de determinação das nove características agronômicas, nas quatro populações segregantes de café arábica, foram concordantes para os quatro métodos estatísticos.

(2). As estimativas dos coeficientes de repetibilidade, relativamente altas nas quatro populações segregantes de café arábica, indicam confiabilidade do valor fenotípico como indicador do valor genotípico. Tais estimativas apontam as nove características avaliadas como bons indicadores da acurácia da identificação de QTLs para a seleção precoce, justificando as subseqüentes análises para detecção e mapeamento dos possíveis locos candidatos.

(3). A realização de uma avaliação é suficiente para a predição do valor real de genótipos de café arábica com uma confiabilidade de 0,95 para as seguintes características nas quatro populações segregantes de café arábica, respectivamente: a) população 1  $RC_1$  - diâmetro da copa, vigor vegetativo, posição da ramificação primária e altura do primeiro ramo; b) população 2,  $RC_1$  - vigor vegetativo, posição da ramificação primária e altura do primeiro ramo; c) população 3,  $RC_1$  - vigor vegetativo e altura do primeiro ramo; e d) população 4,  $F_2$  - altura do primeiro ramo.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEYWARDENA, V. An application of principal component analysis in genetics. **Journal Genetics**, v. 61, n.1, p. 27-51, 1972.

BONOMO, P. **Metodologias biométricas para seleção de progênies no melhoramento genético de cafeeiro**. 2002. 123p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2002.

CARVALHO, A.; FAZUOLI, L. C.; COSTA, W. M. Melhoramento de cafeeiro: XLI. Produtividade do Híbrido de Timor, de seus derivados e de outras fontes de resistência a *Hemileia vastatrix*. **Bragantia**, Campinas, v.48, n.1, p. 73-86, 1989.

CHAPMAN, A.B. **General and quantitative genetics**. Amsterdam: Elsevier Science, 1985.

CILAS, C.; BOUHARMONT, P.; BOCCARA, M.; ESKES, A.B.; BARADAT, P. Prediction of genetic value for coffee production in *Coffea arabica* from a half-diallel with lines and hybrids. **Euphytica**, v. 104, p. 49-59, 1998.

CILAS, C.; MONTAGNON, C.; BERTRAND, B.; GODIN, C. Wood elasticity of several *Coffea canephora* clones. A new trait to be included in selection schemes. **Agronomie**, v. 20, p. 439-444, 2000.

COSTA, J.G.; PEREIRA, R.de C. A.; MARINHO, J.T. de S.; CRISÓSTOMO, C.F. Estimativas de repetibilidade em genótipos de cafeeiros. In: 1º CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, (3.: 2001) Goiânia. **Anais...**, GO: EMBRAPA, 2001. p.197.

CRUZ, C. D. **Programa GENES: versão Windows – Aplicativo computacional em genética e estatística**. Viçosa: Editora UFV, 2001.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J; CARNEIRO; P.C.S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. v.1 / 3 ed. – Viçosa, MG: UFV, 2004, 480 p.

FALCONER, D. S. **Introdução à genética quantitativa**. Trad. de Martinho de Almeida e Silva e José Carlos Silva. 1<sup>a</sup>. ed. Viçosa, UFV: Impr. Univ., 1987. 279p.

FAZUOLI, L.C.; MEDINA-FILHO, H.P.; GONÇALVES, W.; GUERREIRO-FILHO, O.; SILVAROLLA, M.B. Melhoramento do cafeeiro: variedades tipo arábica obtidas no Instituto Agrônômico de Campinas. **In: ZAMBOLIM. L (Ed).** O estado da arte de tecnologias na produção de café. p. 253-287, 2002.

FERRÃO, R.G.; FONSECA, A.F.de; FERRÃO, M.A.G.; CARNEIRO, P.C.S.C.; CRUZ, C.D. Estimativa do coeficiente de repetibilidade por diferentes métodos em *Coffea canephora*. **In: SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL E WORKSHOP INTERNACIONAL DE CAFÉ & SAÚDE, (3.:2003) Porto Seguro. Anais...**, Brasília, DF: EMBRAPA café, 2003. p.236.

FONSECA, A. F. A. **Análises biométricas em café conillon (*Coffea canephora* Pierre)**. 1999. 121p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1999.

HANSCH, P.E. Response to selection. **In: MOORE, J.N.; JANICK, J. (Eds.). Methods in fruit breeding**. West Lafayette, Indiana: Purdue University Press, 1983. p.154-71.

LERNER, I.M. **The genetics basis of selection**. New York: John Wiley & Sons, 1977.

LEROY, T.; MONTAGNON, C.; CILAS, C.; CHARRIER, A.; ESKES, A.B. Reciprocal recurrent selection applied to *Coffea canephora*. II. Estimation of genetic parameters. **Euphytica**, v. 74, p. 121-128, 1994.

LUSH, J.L. **Melhoramento dos animais domésticos**. Rio de Janeiro, RJ: Sedagra, 1964. 570p.

MANSOUR, H.; NORDHEIM, E.V.; RUTLEDGE, J.J. Estimators of repeatability. **Theoretical and Applied Genetics**, v.60, n.3, p.151-156, 1981.

MORRISON, D.F. **Multivariate statistical methods**. New York: McGraw-Hill Book, 1967. 415p.

PEREIRA, .A.A; MOURA, W.de.M.; ZAMBOLIM, L.; SAKIYAMA, N.S.; CHAVES, G.M. Melhoramento genético do cafeeiro no Estado de Minas Gerais - Cultivares lançados e em fase de obtenção. **In: ZAMBOLIM. L. (Ed).** O estado da arte de tecnologias na produção de café. p. 253-287, 2002.

RESENDE, M.D.V.de. ; FURLANI-JÚNIOR, E.; MORAES, M.L.T.de.; FAZUOLI, L.C. Estimativas de parâmetros genéticos e predição de valores genotípicos no melhoramento do cafeeiro pelo procedimento REML/BLUP, 2001. **Bragantia**, v.60, n.3, p.1-15, 2001.

RESENDE, M.D.V.de. **Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes**. Brasília: EMBRAPA Informação Tecnológica, 2002. cap.1, p.37-73.

RUTLEDGE, J.J. Scaling which remove bias of Abeywardena's estimator of repeatability. **Journal Genetics**, v.61, p.247-254, 1974.

SEARLE, S.R. **Linear models**. New York: John Wiley e Sons, 1971. 531p.

SERA, T. **Estimação dos componentes da variância e do coeficiente de determinação genotípica da produção de café**. Piracicaba, 1980. 62p. Dissertação (Mestrado) - Escola superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1980.

SERA, T. **Possibilidade de emprego de seleção nas colheitas iniciais de café (*Coffea arabica* L. cv. Acaiaá)**. Piracicaba, SP: ESALQ, 1987. 147p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas). Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, 1987.

SERA, T.; ALVES, S.J. Melhoramento genético de plantas perenes. In: DESTRO, D.; Montalván, R. (Ed.). **Melhoramento genético de plantas**. Londrina: Editora UEL, 1999. P. 369-422.

SEVERINO, L. S.; SAKIYAMA, N.S.; PEREIRA, A.A.; MIRANDA, G.V.; ZAMBOLIM, L.; BARROS, U. V. Associações da produtividade com outras características agronômicas de café (*Coffea arabica* L. “Catimor”). **Acta Scientiarum**, v.24, n.5, p.1467-1471, 2002.

TEDESCO, N.S. **Análises biométricas em cafeeiros (*Coffea arabica* L) derivados do Híbrido de Timor**. 2003. 78 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2003.

TURNER, H.N.; YOUNG, S.S.Y. **Quantitative genetics in sheep breeding**. New York: Cornell University, 1969. 332p.

WALYARO, D.J.; VAN DER VOSSEN, H.A.M. Early determination of yield potential in arabica coffee by applying index selection. **Euphytica**, v. 28, p. 465-472, 1979.

## **CAPÍTULO 2**

### **CORRELAÇÕES FENOTÍPICAS EM POPULAÇÕES SEGREGANTES DE CAFÉ ARÁBICA**

#### **RESUMO**

Três populações de retrocruzamento 1 ( $RC_1$ ) e uma população  $F_2$  foram obtidas a partir do cruzamento “Mundo Novo IAC 464-18 x Híbrido de Timor UFV 440-22”, sendo elas: população 1,  $RC_1$  - [(“Mundo Novo IAC 464-18 x Híbrido de Timor UFV 440-22”) x (“Mundo Novo IAC 464-18”)], com 28 plantas; população 2,  $RC_1$  - [(“Mundo Novo IAC 464-18”) x (“Mundo Novo IAC 464-18 x Híbrido de Timor UFV 440-22”)], com 40 plantas; população 3,  $RC_1$  - [(“Mundo Novo IAC 464-18 x Híbrido de Timor UFV 440-22”) x (“Híbrido de Timor UFV 440-22”)], com 86 plantas; e população 4,  $F_2$  - com 47 plantas, obtida a partir da autofecundação controlada de uma planta  $F_1$  (H 464-2). Estimaram-se os coeficientes de correlação fenotípica entre as características altura da planta (ALTP), diâmetro da copa (DICP), vigor vegetativo (VIVG), posição da ramificação primária (PRAP), número de ramos laterais (NRAL), número de nós no ramo principal (NNRP), número de nós nos ramos laterais (NNRL), altura do primeiro ramo (ALPR) e diâmetro do caule (DIAC). Essas características foram avaliadas em cinco sucessivas épocas, a intervalo de três meses entre as avaliações, exceto o

DIAC para o qual foram quatro épocas, sendo estas iniciadas a partir da segunda época de avaliação das demais características. As populações 1 e 2 (RC<sub>1s</sub>) e 4 (F<sub>2</sub>) foram avaliadas, a partir de 17 meses e a população 3, RC<sub>1</sub> a partir de 50 meses. A estimação dos coeficientes de correlação fenotípica entre as nove características (épocas 1 a 5) foi realizada, usando-se o coeficiente de Pearson. A significância das correlações foi testada a 1% e 5% de probabilidade, pelo teste *t*. As estimativas de correlação fenotípica ( $r_f$ ) entre as características, nas quatro populações segregantes de café arábica, foram de baixa magnitude. As maiores  $r_f$  (consistentes nas cinco épocas), nas quatro populações segregantes, foram obtidas entre as seguintes características: a) número de ramos laterais e a altura da planta; b) número de nós no ramo principal e a altura da planta; c) número de nós no ramo principal e o número de ramos laterais; e d) número de nós nos ramos laterais e o diâmetro da copa. A existência de tais correlações, além das altas magnitude dos coeficientes de repetibilidade dessas características, aumenta a chance de mapear os possíveis locos candidatos.

Palavras chave: Café, melhoramento genético, épocas de avaliação.

## **PHENOTYPIC CORRELATIONS ON SEGREGANT POPULATIONS OF ARABIC COFFEE**

### **ABSTRACT**

Three populations of a backcross 1 ( $RC_1$ ) and one population  $F_2$  were obtained from the cross between “Mundo Novo IAC 464-18” and “Híbrido de Timor UFV 440-22”. The populations obtained were: population 1,  $RC_1$  - [(“Mundo Novo IAC 464-18 x Híbrido de Timor UFV 440-22”) x (“Mundo Novo IAC 464-18”)] with 28 plants; population 2,  $RC_1$  - [(“Mundo Novo IAC 464-18”) x (“Mundo Novo IAC 464-18 x Híbrido de Timor UFV 440-22”)] with 40 plants; population 3 -  $RC_1$  - [(“Mundo Novo IAC 464-18 x Híbrido de Timor UFV 440-22”) x (“Híbrido de Timor UFV 440-22”)] with 86 plants; and population 4,  $F_2$  - with 47 plants obtained from a controlled selffecundation of a plant  $F_1$  (H 464-2). Phenotypic coefficients of correlation among the characteristics height plant, canopy diameter, vegetative vigor, position of the primary ramification, number of lateral branches, number of nodes on the main branch, number of nodes on the lateral branches, height of the first branch and stem diameter. These characteristics were evaluated in five seasons with three months between evaluations except for the stem diameter which was evaluated in the second seasons for the other characteristics with four evaluations total. The populations 1 and 2 ( $RC_1$ s) and 4 ( $F_2$ ) were evaluated from the 17<sup>th</sup> month and the population 3,  $RC_1$  from the 50<sup>th</sup> month. The coefficients estimates of the

phenotypic correlation coefficients among the nine characteristics (seasons 1 to 5) were done by using of the Pearson coefficients. The significance of the correlations were tested at 1% and 5% of significance by *t* test. The coefficients estimates of the phenotypic correlation ( $r_f$ ) among the characteristics of the four segregant populations of arabic coffee were of low magnitude. The highest  $r_f$ , consistent at the five seasons studied, at the four segregant populations were obtained among the following characteristics: number of lateral branches and height plant; number of nodes on the main branch and height plant; number of nodes on the main branch and number of lateral branches as well as number of nodes on the lateral branches and canopy diameter. The existence of these correlations coefficients besides the high magnitude of the repeatability coefficients of these characteristics, increases the chance to map possible locus candidates.

Key words: Coffee, plant breeding, evaluation seasons.

## 1. INTRODUÇÃO

Em qualquer programa de melhoramento genético são necessárias fontes de variabilidade genética e metodologias de avaliação das características, que se deseja introduzir nos genótipos desejáveis. Nesse contexto, além do conhecimento da magnitude da variância genética de uma característica, bem como a de seus componentes, estimativas de herdabilidade e de correlações entre características agronômicas são de extrema utilidade nos processos de seleção em melhoramento de plantas. Isto possibilita a avaliação da variabilidade genética presente na população em estudo, e facilita a opção por métodos adequados de seleção.

O coeficiente de correlação é uma medida de relação linear entre duas variáveis. Duas variáveis estão correlacionadas, quando a variação em uma delas é acompanhada por variação na outra (FALCONER, 1987). No estudo de locos controladores de características quantitativas (QTLs), o principal objetivo é determinar os valores das correlações entre as características, afim de verificar os efeitos pleiotrópicos dos genes. A correlação genética advinda do efeito pleiotrópico dos genes é permanente. Segundo FALCONER (1987), esta correlação expressa a quantidade pela qual duas características são influenciadas pelos mesmos genes.

O presente estudo teve como objetivo determinar os coeficientes de correlação fenotípica entre as características agronômicas: altura da planta, diâmetro de copa, vigor vegetativo, posição da ramificação primária, número de ramos laterais, número de nós no ramo principal,

número de nós nos ramos laterais, altura do primeiro ramo e o diâmetro do caule de quatro populações segregantes de café arábica.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Correlação

O coeficiente de correlação é um parâmetro estatístico, que mede o grau de associação entre duas variáveis. Duas variáveis estão correlacionadas, quando a variação em uma delas é acompanhada por variação na outra. A correlação genética procura explicar, por meio de mecanismos genéticos, a variação conjunta de duas variáveis. Neste contexto, o desequilíbrio ligação gênica e a pleiotropia são fenômenos genéticos, que explicam a ocorrência de correlações (FALCONER, 1987; STEEL; TORRIE; DICKEY, 1997; CRUZ; REGAZZI; CARNEIRO, 2004; RAMALHO, SANTOS; PINTO, 2000).

A correlação que pode ser, diretamente, mensurada entre duas características em determinado número de indivíduos, que representam a população, é denominada correlação fenotípica. Esta correlação apresenta duas causas: genética e ambiental. A correlação genética envolve associações de natureza herdável e, por conseguinte, é de importante em programas de melhoramento (FALCONER, 1987).

A estimação de correlações entre características é de grande importância para os programas de melhoramento genético, pois, permite o conhecimento prévio da existência de associações favoráveis e desfavoráveis entre as características, possibilitando a opção por métodos adequados de seleção (FALCONER, 1987; CRUZ; REGAZZI; CARNEIRO, 2004).

Quando duas características apresentam correlação genética favorável, é possível obter ganhos para uma delas, por meio da seleção indireta na outra associada. Em alguns casos, a seleção indireta, com base na resposta correlacionada, pode levar a progressos mais rápidos do que a seleção direta da característica desejada. Para seu sucesso, é necessário que a correlação genética aditiva entre as duas características associadas sejam altas, sendo a herdabilidade da característica principal baixa (FALCONER, 1987; CRUZ; REGAZZI; CARNEIRO, 2004).

No Quadro 1, são apresentadas as diferentes estimativas de correlação, obtidas em alguns trabalhos com o gênero *Coffea*. Neste quadro, os maiores coeficientes de correlação fenotípica e genotípica para as características agrônômicas das espécies do gênero *Coffea*, são acompanhados do sinal \*.

Quadro 1 – Principais trabalhos publicados sobre as estimativas dos coeficientes de correlação fenotípica e genotípicas para as espécies do gênero *Coffea*, destacando a característica avaliada.

Autores	Referência	Espécie estudada	Características		
DHALIWAL, T.S.	Journal of Agriculture of University of Puerto Rico, v. 52, p. 29-37, 1968.	<i>Coffea Arabica</i> L.	Diâmetro do Caule	Comprimento do ramo plagiotrópico mais longo	Número de nós por ramo primário plagiotrópico
			Produção de Grãos	$rg^{II}$	0,62
					0,52
					0,500
FAZUOLI, L.C.	Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP, 1977.	<i>C. arabica</i>	Vigor	-	-
			Produção de Grãos	$rg^{II}$	0,97*
					-
					-
CARVALHO; MÔNACO; FAZUOLI.	Bragatã, v. 38, n.2, p. 203-216, 1979.	<i>C. arabica</i>	Vigor	-	-
			Produção de Grãos	$rg^{II}$	0,490
					-
					-
WALYARO; VAN DER VOSSSEN.	Euphytica, v. 28, p. 465-472, 1979.	<i>C. arabica</i>	Diâmetro do caule	-	-
			Altura da Planta	$rf^{II}$	0,280
					-
					-
					-
			Número de Ramos Primários	$rf^{II}$	0,280
					-
					-

$rg^{II}$  : correlação genotípica;  
 $rf^{II}$  : correlação fenotípica.

Quadro 1 – Continuação...

Autores	Referência	Espécie estudada	Características				
WALYARO; VAN DER VOSSSEN.	Euphytica, v. 28, p. 465-472, 1979.	<i>C. arabica</i>	Diâmetro da copa	Crescimento da planta	-		
			Número de novos nós Produzidos	$r^{2f}$	0,060	0,660	-
			Número de flores por inflorescência				-
			Número de inflorescência por nó	$r^{2f}$	0,200	0,200	-
ROCHA; CARVALHO; FAZUOLI.	Bragantia, v. 39, n.15, p. 148-160, 1980.	<i>C. arabica</i>	Altura da planta	Diâmetro do caule	-		
			Produção de grãos	$rg^{2f}$	0,580	0,510	-
SERA, T.	Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1987.	<i>C. arabica</i>	Altura da planta	Diâmetro da copa	-		
			Produção de grãos.	$rg^{2f}$	0,430	0,290	-
LEROY et al.	Euphytica, v. 74, p. 121-128, 1994.	<i>C. canephora</i> Pierre et Froenher.	Diâmetro do caule aos 18 meses	Comprimento dos ramos primários aos 24 meses	Altura da planta aos 24 meses		
			Diâmetro do caule aos 30 meses	$r^{2f}$	0,800*	0,620	0,680
			Diâmetro do caule aos 18 meses			Diâmetro do caule aos 30 meses	Diâmetro da copa aos 48 meses
			Altura da planta aos 24 meses	$r^{2f}$	0,710*	0,680	0,480
			Diâmetro médio da copa			Altura média de plantas	-
FONSECA, A.F.A.	Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, 1999.	<i>C. canephora</i>	Número médio de hastes/planta	$r^{2f}$	0,615	0,256	-
			Número de hastes/planta			Altura média de plantas	Diâmetro médio da copa
			Produção média de grãos	$r^{2f}$	0,061	0,259	0,190

$rg^{2f}$  : correlação genotípica;  
 $r^{2f}$  : correlação fenotípica

Quadro 1 – Continuação...

Autores	Referência	Espécie estudada	Características				
SILVAROLLA et al.	Bragantia, v. 56, n.1, p. 47-58, 1997.	<i>C. arabica</i>	Diâmetro da copa			-	
			Altura da planta	$rg^{II}$	0,920*	-	-
CILAS et al.	Euphytica, v. 104, p. 49-59, 1998.	<i>C. arabica</i>	Diâmetro do caule		Altura da planta	Número de ramos primários	
			Produção acumulada em quatro anos	$rf^{2I}$	0,479	0,075	0,596
			Altura da planta		Número de ramos primários		-
			Diâmetro do caule	$rf^{2I}$	0,672	0,659	-
			Altura da planta				-
			Número de ramos primários	$rf^{2I}$	0,434	-	-
SEVERINO et al.	Acta scientiarum, v. 24, n.5, p. 1467-1471, 2002.	<i>C. arabica</i>	Vigor vegetativo		Época de maturação	Altura da copa	
			Produção de grãos	$rg^{II}$	0,910*	0,700*	-0,27
SOUZA; GAMA.	Resumo <<http:www. O cafezal (Coffee Break) >> 2004.	<i>C. canephora</i>	Número de frutos por racemo		Número de racemo por ramo	Comprimento de ramos plagiotrópicos	
			Massa total de fruto por ramo	$rg^{II}$	0,930*	0,670	0,560
			Largura do fruto		Massa do fruto		-
			Massa total de fruto por ramo	$rg^{II}$	0,550	0,500	-

$rg^{II}$ : correlação genotípica;  
 $rf^{2I}$ : correlação fenotípica.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Material vegetal

Neste trabalho foram utilizadas três populações de retrocruzamento 1 ( $RC_1$ ) e uma população  $F_2$ , obtidas a partir do cruzamento “Mundo Novo IAC 464-18 x Híbrido de Timor UFV 440-22”, sendo elas: população 1,  $RC_1$  - [(“Mundo Novo IAC 464-18 x Híbrido de Timor UFV 440-22”) x (“Mundo Novo IAC 464-18”)], com 28 plantas; população 2,  $RC_1$  - [(“Mundo Novo IAC 464-18”) x (“Mundo Novo IAC 464-18 x Híbrido de Timor UFV 440-22”)], com 40 plantas; população 3,  $RC_1$  - [(“Mundo Novo IAC 464-18 x Híbrido de Timor UFV 440-22”) x (“Híbrido de Timor UFV 440-22”)], com 86 plantas; e população 4,  $F_2$  - com 47 plantas, obtida a partir da autofecundação controlada de uma planta  $F_1$  (H 464-2).

O cultivar “Mundo Novo IAC 464-18” (FAZUOLI et al., 2002) corresponde a uma recombinação resultante de um cruzamento natural entre as variedades Sumatra e Bourbon Vermelho de café arábica. O “Híbrido de Timor UFV 440-22” (PEREIRA et al., 2002) originou-se de uma introdução registrada como UFV 440. Essa introdução originou-se de uma progênie de cafeeiros, selecionados na Estação Regional de Uige (ERU) pertencente ao Instituto de café de Angola, com o registro ERU 209, a qual é proveniente da introdução CIFC 2570.

Determinaram-se os coeficientes de correlação fenotípica entre as nove características agronômicas avaliadas nas quatro populações segregantes de café arábica, conforme mencionado anteriormente. As características avaliadas foram: altura da planta (ALTP), diâmetro da copa (DICP), vigor vegetativo (VIVG), posição da ramificação primária (PRAP), número de ramos laterais (NRAL), número de nós no ramo principal (NNRP), número de nós nos ramos laterais (NNRL), altura do primeiro ramo (ALPR) e diâmetro do caule (DIAC). A descrição detalhada dessas características encontra-se no item 3.1 (Capítulo 1). As avaliações fenotípicas dessas características foram realizadas em cinco sucessivas épocas de avaliação, com intervalo de três meses entre as avaliações, exceto para o DIAC que foram quatro épocas, sendo estas iniciadas a partir da segunda época de avaliação das demais características. As populações 1 e 2 (RC<sub>1s</sub>) e 4 (F<sub>2</sub>) foram avaliadas, a partir de 17 meses e a população 3, RC<sub>1</sub> a partir de 50 meses. A estimação dos coeficientes de correlação fenotípica entre as nove características acima mencionadas foi realizada, utilizando-se o coeficiente de Pearson com base na expressão de CRUZ; REGAZI; CARNEIRO (2004):

$$r_f = \frac{PMT_{xy}}{\sqrt{QMT_x \cdot QMT_y}} \quad (1)$$

em que,

$PMT_y$  = produto médio entre as características  $x$  e  $y$  associado aos tratamentos;

$QMT_x$  = quadrado médio da característica  $x$ ;

$QMT_y$  = quadrado médio da característica  $y$ .

A significância das correlações fenotípicas foi testada a 1% e 5% de probabilidade, pelo teste *t*. Todas as análises estatísticas foram realizadas, utilizando o programa GENES versão Windows (CRUZ, 2001).

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os coeficientes de correlação fenotípica entre as nove características agronômicas e os valores da média dessas características, nas épocas individuais de avaliação estão apresentados nos Quadros 2 a 5.

Quadro 2 – Correlações fenotípicas entre características agronômicas de café arábica, população 1, RC<sub>1</sub> [(“Mundo Novo IAC 464-18 x Híbrido de Timor CIFC 2570”) x “Mundo Novo IAC 464-18”], e os valores das médias destas características avaliadas em cinco épocas (17, 20, 23, 26 e 29 meses) .

Características	Primeira época (17 meses)							
	Altura da planta	Diâmetro da copa	Vigor Vegetativo	Posição da ramificação primária	Número de ramos laterais	Número de nós no ramo principal	Número de nós nos ramos laterais	Altura do primeiro ramo
Altura da planta	1							
Diâmetro da copa	0,1030	1						
Vigor vegetativo	0,2162	0,0736	1					
Posição da ramificação primária	-0,1363	-0,0986	-0,1547	1				
Número de ramos laterais	0,7674**	0,2656	0,1465	-0,0883	1			
Número de nós no ramo principal	0,6841**	0,0688	0,0915	-0,1803	0,842**	1		
Número de nós nos ramos laterais	0,1500	0,8508**	0,1284	-0,1659	0,4737*	0,3529	1	
Altura do primeiro ramo	0,3007	0,0686	0,1835	0,0947	-0,0260	0,025	0,0544	1
Valor da Média	74,8821	65,7250	5,3226	4,2274	13,8929	7,1786	11,5714	27,9036

\*\* , \* : significativo a 1% e 5% de probabilidade pelo teste *t*.

Quadro 2 – continuação...

Segunda época (20 meses)									
Características	Altura da planta	Diâmetro da copa	Vigor Vegetativo	Posição da ramificação primária	Número de ramos laterais	Número de nós no ramo principal	Número de nós nos ramos laterais	Altura do primeiro ramo	Diâmetro do caule
Altura da planta	1								
Diâmetro da copa	0,1690	1							
Vigor vegetativo	0,1987	0,0826	1						
Posição da ramificação primária	-0,1143	-0,0794	-0,1547	1					
Número de ramos laterais	0,7641**	0,3166	0,1199	-0,0869	1				
Número de nós no ramo principal	0,7121**	0,2172	0,109	-0,167	0,9032**	1			
Número de nós nos ramos laterais	0,2337	0,8609**	0,1307	-0,1401	0,5473**	0,5058**	1		
Altura do primeiro ramo	0,3261	0,0797	0,1835	0,0947	-0,0521	-0,0166	0,0347	1	
Diâmetro do caule	0,5002**	0,4073*	0,4393*	-0,0127	0,471*	0,4269*	0,5114**	0,2271	1
Valor da Média	78,3679	68,2500	5,3226	4,2274	15,0357	8,3929	12,8214	27,9036	1,1961

Terceira época (23 meses)									
Características	Altura da planta	Diâmetro da copa	Vigor Vegetativo	Posição da ramificação primária	Número de ramos laterais	Número de nós no ramo principal	Número de nós nos ramos laterais	Altura do primeiro ramo	Diâmetro do caule
Altura da planta	1								
Diâmetro da copa	0,049	1							
Vigor vegetativo	0,1624	0,0553	1						
Posição da ramificação primária	-0,0319	-0,0027	-0,1325	1					
Número de ramos laterais	0,655**	0,224	-0,0389	0,0235	1				
Número de nós no ramo principal	0,5633**	0,2472	-0,0576	-0,1059	0,8288**	1			
Número de nós nos ramos laterais	0,0122	0,9057**	0,1018	-0,0925	0,3503	0,4525*	1		
Altura do primeiro ramo	0,2856	-0,0076	0,1670	0,1123	-0,2124	-0,1255	-0,0825	1	
Diâmetro do caule	0,4353	-0,0201	0,3373	0,2265	0,2289	0,1063	-0,0344	0,2295	1
Valor da Média	82,2607	71,1714	5,3291	4,2376	16,7143	9,2857	13,8929	28,1857	1,4481

Quarta época (26 meses)									
Características	Altura da planta	Diâmetro da copa	Vigor Vegetativo	Posição da ramificação primária	Número de ramos laterais	Número de nós no ramo principal	Número de nós nos ramos laterais	Altura do primeiro ramo	Diâmetro do caule
Altura da planta	1								
Diâmetro da copa	0,1355	1							
Vigor vegetativo	0,1923	0,0809	1						
Posição da ramificação primária	0,0692	0,0264	-0,1333	1					
Número de ramos laterais	0,7441**	0,3157	0,0185	0,0035	1				
Número de nós no ramo principal	0,6485**	0,3228	-0,0021	-0,0633	0,8645**	1			
Número de nós nos ramos laterais	0,0099	0,8319**	0,0138	0,0067	0,3861*	0,4796**	1		
Altura do primeiro ramo	0,3188	-0,0257	0,167	0,1115	0,0435	0,0502	-0,1805	1	
Diâmetro do caule	0,223	0,1131	0,4158*	-0,1292	0,2083	0,0908	-0,0266	0,914	1
Valor da Média	88,5464	73,0357	5,3293	4,2379	21,0000	11,4643	15,1429	28,1964	1,5157

Quadro 2 – continuação...

Quinta época (29 meses)									
Características	Altura da planta	Diâmetro da copa	Vigor Vegetativo	Posição da ramificação primária	Número de ramos laterais	Número de nós no ramo principal	Número de nós nos ramos laterais	Altura do primeiro ramo	Diâmetro do caule
Altura da planta	1								
Diâmetro da copa	0,1512	1							
Vigor vegetativo	0,2199	0,1113	1						
Posição da ramificação primária	0,1118	0,0465	-0,1333	1					
Número de ramos laterais	0,7644**	0,1704	-0,0364	0,0458	1				
Número de nós no ramo principal	0,5991**	0,1802	0,0558	-0,1056	0,8329**	1			
Número de nós nos ramos laterais	0,0324	0,8294**	0,1496	0,0325	0,2044	0,3415	1		
Altura do primeiro ramo	0,3141	0,0022	0,167	0,1115	0,0174	0,0581	-0,1711	1	
Diâmetro do caule	0,2785	0,1614	0,4355*	-0,067	0,0991	0,0612	0,2091	0,0438	1
Valor da Média	92,2964	74,9607	5,3293	4,2379	22,0000	12,5357	16,2857	28,1964	1,5476

Quadro 3 – Correlações fenotípicas entre características agrônômicas de café arábica, população 2, RC<sub>1</sub> [(“Mundo Novo IAC 464-18” x (“Mundo Novo IAC 464-18 x Híbrido de Timor CIFC 2570”)], e os valores das médias destas características avaliadas em cinco épocas (17, 20, 23, 26 e 29 meses) .

Primeira época (17 meses)									
Características	Altura da planta	Diâmetro da copa	Vigor Vegetativo	Posição da ramificação primária	Número de ramos laterais	Número de nós no ramo principal	Número de nós nos ramos laterais	Altura do primeiro ramo	Diâmetro do caule
Altura da planta	1								
Diâmetro da copa	0,6838**	1							
Vigor vegetativo	0,4546**	0,3472*	1						
Posição da ramificação primária	-0,1024	0,0553	-0,0569	1					
Número de ramos laterais	0,6393**	0,1471	0,4462**	0,0083	1				
Número de nós no ramo principal	0,6169**	0,1920	0,3675*	0,1236	0,8051**	1			
Número de nós nos ramos laterais	0,7160**	0,7518**	0,4021**	0,0404	0,5254**	0,5612**	1		
Altura do primeiro ramo	0,3402*	0,1500	0,1169	-0,3433*	0,0507	-0,0334	0,0875	1	
Valor da Média	57,4100	52,1325	5,2505	4,2110	9,0250	5,9500	10,5500	28,0250	

Segunda época (20 meses)									
Características	Altura da planta	Diâmetro da copa	Vigor Vegetativo	Posição da ramificação primária	Número de ramos laterais	Número de nós no ramo principal	Número de nós nos ramos laterais	Altura do primeiro ramo	Diâmetro do caule
Altura da planta	1								
Diâmetro da copa	0,578**	1							
Vigor vegetativo	0,5231**	0,3466*	1						
Posição da ramificação primária	-0,0179	0,0178	-0,0569	1					
Número de ramos laterais	0,6564**	0,2357	0,5155**	0,0036	1				
Número de nós no ramo principal	0,6477**	0,3316*	0,427**	0,0437	0,864**	1			
Número de nós nos ramos laterais	0,5027**	0,6925**	0,41**	0,0469	0,576**	0,6495**	1		
Altura do primeiro ramo	0,0531	0,0346	0,1169	-0,3433*	-0,0960	-0,0655	-0,0158	1	
Diâmetro do caule	0,4946**	0,2546	0,4256**	-0,1764	0,4855**	0,4795**	0,3414*	0,2293	1
Valor da Média	69,4400	63,2650	5,2505	4,2110	12,5250	7,7000	13,0750	28,025	1,2780

Quadro 3 – Continuação...

Terceira época (23 meses)									
Características	Altura da planta	Diâmetro da copa	Vigor Vegetativo	Posição da ramificação primária	Número de ramos laterais	Número de nós no ramo principal	Número de nós nos ramos laterais	Altura do primeiro ramo	Diâmetro do caule
Altura da planta	1								
Diâmetro da copa	0,5227**	1							
Vigor vegetativo	0,5558**	0,2444	1						
Posição da ramificação primária	-0,0458	-0,0463	-0,1170	1					
Número de ramos laterais	0,6670**	0,2182	0,5309**	-0,1214	1				
Número de nós no ramo principal	0,7244**	0,2987	0,405*	-0,0744	0,856**	1			
Número de nós nos ramos laterais	0,3972*	0,6827**	0,2436	-0,0923	0,4215**	0,5197**	1		
Altura do primeiro ramo	-0,0117	0,1191	0,1609	-0,3498*	-0,0155	-0,0091	0,0852	1	
Diâmetro do caule	0,4847**	0,2612	0,2740	-0,15110	0,4498**	0,4604**	0,2008	0,2317	1
Valor da Média	72,3800	66,4675	5,2599	4,2320	14,0500	8,6250	14,5250	28,2275	1,5077

Quarta época (26 meses)									
Características	Altura da planta	Diâmetro da copa	Vigor Vegetativo	Posição da ramificação primária	Número de ramos laterais	Número de nós no ramo principal	Número de nós nos ramos laterais	Altura do primeiro ramo	Diâmetro do caule
Altura da planta	1								
Diâmetro da copa	0,4182**	1							
Vigor vegetativo	0,5675**	0,2266	1						
Posição da ramificação primária	-0,0839	-0,0422	-0,1032	1					
Número de ramos laterais	0,736**	0,1665	0,5675**	-0,1498	1				
Número de nós no ramo principal	0,6533**	0,3271*	0,4389**	-0,0669	0,8536**	1			
Número de nós nos ramos laterais	0,2675	0,6928**	0,2321	-0,1006	0,3086	0,4996**	1		
Altura do primeiro ramo	0,0989	0,0921	0,1216	-0,3642*	0,0913	0,0089	0,0318	1	
Diâmetro do caule	0,5091**	0,2216	0,3236*	-0,0947	0,4138**	0,3783**	0,1938	0,2177	1
Valor da Média	78,9675	68,3725	5,2599	4,2320	18,4500	11,0250	15,8250	28,2275	1,5618

Quinta época (29 meses)									
Características	Altura da planta	Diâmetro da copa	Vigor Vegetativo	Posição da ramificação primária	Número de ramos laterais	Número de nós no ramo principal	Número de nós nos ramos laterais	Altura do primeiro ramo	Diâmetro do caule
Altura da planta	1								
Diâmetro da copa	0,433**	1							
Vigor vegetativo	0,5531**	0,2022	1						
Posição da ramificação primária	-0,1128	-0,0388	-0,1032	1					
Número de ramos laterais	0,6809**	0,1503	0,468**	-0,1540	1				
Número de nós no ramo principal	0,646**	0,3516*	0,3461*	-0,0938	0,7896**	1			
Número de nós nos ramos laterais	0,1837	0,6806**	0,1953	-0,0755	0,1468	0,3595*	1		
Altura do primeiro ramo	0,1228	0,0798	0,1216	-0,3642*	0,1214	0,0309	-0,0167	1	
Diâmetro do caule	0,4955**	0,1846	0,2959	-0,1669	0,3568*	0,2502	0,0625	0,2503	1
Valor da Média	83,6875	70,4000	5,2599	4,230	20,2750	12,2750	17,1750	28,2275	1,6270

Quadro 4 – Correlações fenotípicas entre características agrônômicas de café arábica, população 3, RC<sub>1</sub> [(“Mundo Novo IAC 464-18 x Híbrido de Timor CIFC 2570”) x (“Híbrido de Timor CIFC 2570”)], e os valores das médias destas características avaliadas em cinco épocas (50, 53, 56, 59 e 62 meses) .

Primeira época (50 meses)									
Características	Altura da planta	Diâmetro da copa	Vigor Vegetativo	Posição da ramificação primária	Número de ramos laterais	Número de nós no ramo principal	Número de nós nos ramos laterais	Altura do primeiro ramo	
Altura da planta	1								
Diâmetro da copa	0,4266**	1							
Vigor vegetativo	0,3343**	0,2792**	1						
Posição da ramificação primária	0,0889	0,1773	0,3688**	1					
Número de ramos laterais	0,4792**	0,2003	0,1757	-0,0312	1				
Número de nós no ramo principal	0,486**	0,2833**	0,224*	0,0835	0,5649**	1			
Número de nós nos ramos laterais	0,4136**	0,7195**	0,2312*	0,2439*	0,3239**	0,3101**	1		
Altura do primeiro ramo	0,611**	0,1486	0,1578	0,0130	-0,0840	-0,0064	0,2692*	1	
Valor da Média	61,3000	49,2384	5,3174	4,2245	8,4186	6,2093	11,9070	39,9791	

Segunda época (53 meses)									
Características	Altura da planta	Diâmetro da copa	Vigor Vegetativo	Posição da ramificação primária	Número de ramos laterais	Número de nós no ramo principal	Número de nós nos ramos laterais	Altura do primeiro ramo	Diâmetro do caule
Altura da planta	1								
Diâmetro da copa	0,3248**	1							
Vigor vegetativo	0,4306**	0,2187*	1						
Posição da ramificação primária	0,1566	-0,0128	0,4183**	1					
Número de ramos laterais	0,5620**	0,0667	0,3045**	0,0408	1				
Número de nós no ramo principal	0,4351**	0,0606	0,2492*	0,0373	0,5807**	1			
Número de nós nos ramos laterais	0,2633*	0,6324**	0,2178*	0,1362	0,1061	0,0857	1		
Altura do primeiro ramo	0,3875**	0,1316	0,1512	0,0622	-0,2079	-0,2188*	0,3329**	1	
Diâmetro do caule	0,6536**	0,2157*	0,4792**	0,2165*	0,4337**	0,3232**	0,2179*	0,2799**	1
Valor da Média	69,1256	61,9360	5,3306	4,2272	10,8488	7,7674	14,6047	39,9942	1,2869

Terceira época (56 meses)									
Características	Altura da planta	Diâmetro da copa	Vigor Vegetativo	Posição da ramificação primária	Número de ramos laterais	Número de nós no ramo principal	Número de nós nos ramos laterais	Altura do primeiro ramo	Diâmetro do caule
Altura da planta	1								
Diâmetro da copa	0,2986**	1							
Vigor vegetativo	0,4286**	0,2035	1						
Posição da ramificação primária	0,1536	-0,0455	0,414**	1					
Número de ramos laterais	0,5988**	-0,0182	0,3365**	0,081	1				
Número de nós no ramo principal	0,4703**	0,0656	0,3362**	0,0559	0,5321**	1			
Número de nós nos ramos laterais	0,1631	0,6756**	0,1766	0,1063	-0,0323	0,0108	1		
Altura do primeiro ramo	0,3252**	0,1348	0,1606	0,0893	-0,2065	-0,1634	0,3441**	1	
Diâmetro do caule	0,6156**	0,1166	0,5722**	0,3096**	0,3789**	0,3445**	0,2089	0,3714**	1
Valor da Média	72,7977	65,8384	5,3444	4,2369	12,4186	9,0233	15,6395	40,5023	1,4823

Quadro 4 – Continuação...

Quarta época (59 meses)									
Características	Altura da planta	Diâmetro da copa	Vigor Vegetativo	Posição da ramificação primária	Número de ramos laterais	Número de nós no ramo principal	Número de nós nos ramos laterais	Altura do primeiro ramo	Diâmetro do caule
Altura da planta	1								
Diâmetro da copa	0,2779**	1							
Vigor vegetativo	0,505**	0,1713	1						
Posição da ramificação primária	0,2585*	-0,0444	0,4111**	1					
Número de ramos laterais	0,4919**	-0,0512	0,535**	0,1858	1				
Número de nós no ramo principal	0,3879**	0,0703	0,4663**	0,1463	0,5228**	1			
Número de nós nos ramos laterais	0,1363	0,7224**	0,1654	0,0456	-0,0228	0,0536	1		
Altura do primeiro ramo	0,3129**	0,1144	0,1562	0,1306	-0,1830	-0,1691	0,3290**	1	
Diâmetro do caule	0,6098**	0,0679	0,5220**	0,2909**	0,3320**	0,3106**	0,1490	0,3555**	1
Valor da Média	78,5267	67,8337	5,3600	4,2395	15,8953	11,0000	16,6512	40,5279	1,6083

Quinta época (62 meses)									
Características	Altura da planta	Diâmetro da copa	Vigor Vegetativo	Posição da ramificação primária	Número de ramos laterais	Número de nós no ramo principal	Número de nós nos ramos laterais	Altura do primeiro ramo	Diâmetro do caule
Altura da planta	1								
Diâmetro da copa	0,2477**	1							
Vigor vegetativo	0,547**	0,1529	1						
Posição da ramificação primária	0,2096*	-0,0404	0,382**	1					
Número de ramos laterais	0,6500**	0,0102	0,5467**	0,1737	1				
Número de nós no ramo principal	0,5067**	0,1001	0,4771**	0,1579	0,5978**	1			
Número de nós nos ramos laterais	0,162	0,7747**	0,1237	0,0027	0,0085	0,0659	1		
Altura do primeiro ramo	0,3582**	0,1052	0,1574	0,0107	-0,0343	-0,1333	0,2903**	1	
Diâmetro do caule	0,5585**	-0,0074	0,5529**	0,2300*	0,3167**	0,3127**	0,0396	0,3121**	1
Valor da Média	86,1965	70,2465	5,3701	4,2365	17,9302	12,1512	17,5000	40,5281	1,6965

Quadro 5 – Correlações fenotípicas entre características agrônômicas de café arábica, população 4, F<sub>2</sub> obtida a partir da autofecundação controlada de uma planta F<sub>1</sub> (H 464-2) originada do cruzamento “Mundo Novo IAC 464-18 x Híbrido de Timor CIFC 2570”, e os valores das médias destas características avaliadas em cinco épocas (17, 20, 23, 26 e 29 meses) .

Primeira época (17 meses)								
Características	Altura da planta	Diâmetro da copa	Vigor Vegetativo	Posição da ramificação primária	Número de ramos laterais	Número de nós no ramo principal	Número de nós nos ramos laterais	Altura do primeiro ramo
Altura da planta	1							
Diâmetro da copa	0,5882**	1						
Vigor vegetativo	0,1811	0,518**	1					
Posição da ramificação primária	-0,4184**	0,0711	0,1811	1				
Número de ramos laterais	0,7080**	0,689**	0,5059**	-0,1657	1			
Número de nós no ramo principal	0,6397**	0,6656**	0,5396**	-0,1978	0,8348**	1		
Número de nós nos ramos laterais	0,5421**	0,914**	0,4962**	-0,0564	0,7629**	0,7231**	1	
Altura do primeiro ramo	0,4724**	0,1037	-0,1846	-0,2868*	0,0396	-0,0763	0,0309	1
Valor da Média	53,2809	48,6766	5,1992	4,2194	8,6596	5,0000	9,4043	26,2298

Quadro 5 – Continuação...

Segunda época (20 meses)									
Características	Altura da planta	Diâmetro da copa	Vigor Vegetativo	Posição da ramificação primária	Número de ramos laterais	Número de nós no ramo principal	Número de nós nos ramos laterais	Altura do primeiro ramo	Diâmetro do caule
Altura da planta	1								
Diâmetro da copa	0,3034*	1							
Vigor vegetativo	0,3059*	0,5289**	1						
Posição da ramificação primária	-0,402**	0,0722	0,1732	1					
Número de ramos laterais	0,6820**	0,499**	0,6225**	-0,2058	1				
Número de nós no ramo principal	0,5992**	0,4764**	0,5612**	-0,2866*	0,8533**	1			
Número de nós nos ramos laterais	0,2579	0,896**	0,5467**	-0,037	0,5445**	0,5206**	1		
Altura do primeiro ramo	0,4129**	-0,1081	-0,1873	-0,2856*	-0,1154	-0,2016	-0,0875	1	
Diâmetro do caule	0,5720**	0,6426**	0,4941**	-0,0861	0,5264**	0,4026**	0,6541**	0,1872	1
Valor da Média	63,1085	65,1894	5,2013	4,2194	11,9574	6,7234	13,0000	26,2340	1,2169

Terceira época (23 meses)									
Características	Altura da planta	Diâmetro da copa	Vigor Vegetativo	Posição da ramificação primária	Número de ramos laterais	Número de nós no ramo principal	Número de nós nos ramos laterais	Altura do primeiro ramo	Diâmetro do caule
Altura da planta	1								
Diâmetro da copa	0,3505*	1							
Vigor vegetativo	0,5209**	0,3646*	1						
Posição da ramificação primária	-0,2700	0,1752	0,0268	1					
Número de ramos laterais	0,5748**	0,4243**	0,5685**	-0,078	1				
Número de nós no ramo principal	0,6314**	0,402**	0,5236**	-0,3238**	0,8037**	1			
Número de nós nos ramos laterais	0,2670	0,8981**	0,3915**	0,0393	0,4896**	0,4900**	1		
Altura do primeiro ramo	0,4167**	-0,0928	0,0014	-0,2315	-0,2111	-0,141	-0,0861	1	
Diâmetro do caule	0,5908**	0,4955**	0,5854**	-0,0643	0,4754**	0,3837**	0,4493**	0,1632	1
Valor da Média	69,1149	71,4000	5,2233	4,2306	14,0638	8,0000	14,5106	26,6787	1,5296

Quarta época (26 meses)									
Características	Altura da planta	Diâmetro da copa	Vigor Vegetativo	Posição da ramificação primária	Número de ramos laterais	Número de nós no ramo principal	Número de nós nos ramos laterais	Altura do primeiro ramo	Diâmetro do caule
Altura da planta	1								
Diâmetro da copa	0,4461**	1							
Vigor vegetativo	0,5537**	0,3716**	1						
Posição da ramificação primária	-0,2112	0,1971	0,0203	1					
Número de ramos laterais	0,6444**	0,4576**	0,5638**	-0,0417	1				
Número de nós no ramo principal	0,6096**	0,3796**	0,4619**	-0,2278	0,8074**	1			
Número de nós nos ramos laterais	0,3454*	0,8796**	0,4074**	0,0830	0,4211**	0,3895**	1		
Altura do primeiro ramo	0,3852**	-0,0666	0,0016	-0,2307	-0,1572	0,1304	-0,0274	1	
Diâmetro do caule	0,6378**	0,4751**	0,6109**	-0,1007	0,4965**	0,3558*	0,449**	0,2125	1
Valor da Média	75,1490	74,0745	5,2259	4,2313	17,8085	10,1915	16,4681	26,6787	1,5296

Quadro 5 – Continuação...

Características	Quinta época (29 meses)								
	Altura da planta	Diâmetro da copa	Vigor Vegetativo	Posição da ramificação primária	Número de ramos laterais	Número de nós no ramo principal	Número de nós nos ramos laterais	Altura do primeiro ramo	Diâmetro do caule
Altura da planta	1								
Diâmetro da copa	0,4836**	1							
Vigor vegetativo	0,5631**	0,3926**	1						
Posição da ramificação primária	-0,2549	0,125	-0,0350	1					
Número de ramos laterais	0,5977**	0,3958**	0,5614**	-0,1257	1				
Número de nós no ramo principal	0,4791**	0,2794	0,2193	-0,3333*	0,6848**	1			
Número de nós nos ramos laterais	0,352*	0,8663**	0,4157**	-0,0147	0,3584*	0,2927*	1		
Altura do primeiro ramo	0,3101*	-0,0758	0,0003	-0,2632	-0,2229	-0,1576	-0,0463	1	
Diâmetro do caule	0,6247**	0,4817**	0,6167**	-0,0597	0,4672**	0,1877	0,5095**	0,1738	1
Valor da Média	80,5660	76,4809	5,2307	4,2272	19,5745	11,4681	17,4894	26,6787	1,5761

As correlações fenotípicas entre as nove características nas quatro populações segregantes de café arábica (épocas 1 a 5), na maioria das vezes, foram positivas.

As maiores correlações fenotípicas (consistentes nas cinco épocas), significativas a 1% de probabilidade pelo teste *t*, nas quatro populações segregantes, foram obtidas entre as seguintes características:

a) número de ramos laterais e altura da planta

$r_f > 0,65$ : população 1, RC<sub>1</sub>

$r_f > 0,63$ : população 2, RC<sub>1</sub>

$r_f > 0,47$ : população 3, RC<sub>1</sub>

$r_f > 0,57$ : população 4, F<sub>2</sub>

b) número de nós no ramo principal e a altura da planta

$r_f > 0,56$ : população 1, RC<sub>1</sub>

$r_f > 0,61$ : população 2, RC<sub>1</sub>

$r_f > 0,38$ : população 3, RC<sub>1</sub>

$r_f > 0,47$ : população 4, F<sub>2</sub>

c) número de nós no ramo principal e o número de ramos laterais

$r_f > 0,82$ : população 1, RC<sub>1</sub>

$r_f > 0,78$ : população 2, RC<sub>1</sub>

$r_f > 0,52$ : população 3, RC<sub>1</sub>

$r_f > 0,68$ : população 4, F<sub>2</sub>

d) número de nós nos ramos laterais e diâmetro da copa

$r_f > 0,82$ : população 1,  $RC_1$

$r_f > 0,68$ : população 2,  $RC_1$

$r_f > 0,63$ : população 3,  $RC_1$

$r_f > 0,86$ : população 4,  $F_2$

A população 3,  $RC_1$ , avaliada a partir de 50 meses, apresentou as menores estimativas de correlação fenotípica. As populações 1 e 2 ( $RC_1$ s), provenientes de mesmo cruzamento, diferindo apenas nos genitores utilizados como machos e fêmeas, apresentaram correlações diferenciadas. As possíveis explicações para tais fatos são: número reduzido das progênes e as condições experimentais utilizadas. Vale ressaltar que a população 3,  $RC_1$  sofreu maior estresse ambiental (longo período de cultivo em vaso) em relação às outras populações.

Para as populações 1, 2 e 3 ( $RC_1$ s), foram observados valores de correlações fenotípicas de baixa magnitude e negativos para as seguintes características, respectivamente: população 1,  $RC_1$  - PRAP e DIAC, e NNRP e ALPR (época 2); DICP com PRAP e o ALPR (época 3); VIVG e NNRP, e PRAP e NNRP (época 4). Para a população 2,  $RC_1$ , as características foram: NRAL e ALPR (época 2); ALPR com NRAL e o NNRP (época 3); NNRL e ALPR (época 5). Para a população 3,  $RC_1$ , tal fato foi observado para NNRP e ALPR (época 1); DICP e PRAP (época 2); DICP e NRAL (época 3) e DICP com DIAC (época 5). Neste contexto, o aumento na expressão de qualquer uma destas características resulta em diminuição na expressão da outra. Em termos de melhoramento genético, este fato é indesejável, pois dificulta o processo seletivo.

Sabe-se que as características avaliadas durante as etapas do programa de melhoramento genético do cafeeiro são aquelas que, direta ou indiretamente, interferem na produtividade, como é o caso do vigor vegetativo, porte de plantas, e outras. No entanto, a produtividade é um dos principais critérios utilizados nos processos de seleção (CARVALHO, 1988). No presente estudo, não foi possível avaliar a produtividade, uma vez que as populações 1 e 2 ( $RC_1$ S) e 4 ( $F_2$ ) estavam no período juvenil. Uma possível explicação para a ausência de produtividade na população 3 ( $RC_1$ ) refere-se ao maior estresse ambiental, ao qual as plantas desta população foram submetidas nas condições experimentais adotadas.

A produtividade de café beneficiado tem alta correlação genotípica com o vigor vegetativo (0,905) e a seca de ponteiros (-0,862) (SEVERINO et al., 2002). Em outros estudos, foi verificada a ocorrência de correlação positiva e significativa entre o vigor vegetativo e a produtividade de grãos em cafeeiro (FAZUOLI, 1977; CARVALHO, 1989; LOPES, 1999;

BONOMO, 2002). Portanto, tais características podem ser utilizadas para avaliação indireta do potencial produtivo do cafeeiro.

O VIVG apresentou o maior valor de  $r_f$  com a ALTP ( $r_f = 0,21$ ) e o menor com DICP ( $r_f = 0,07$ ) (população 1, RC<sub>1</sub> - época 1). Nas demais épocas, os valores foram: com DIAC ( $r_f = 0,44$ ) e com DICP (0,08) (época 2); com DIAC ( $r_f = 0,34$ ) e com NNRL (-0,04) (época 3), com DIAC ( $r_f = 0,42$ ) e com NNRP (0,002) (época 4); com DIAC ( $r_f = 0,44$ ) e com NRAL (-0,04) (época 5).

Observa-se que, na população 2, RC<sub>1</sub> (época 1), o VIVG apresentou o maior valor de  $r_f$  com ALTP ( $r_f = 0,45$ ) e o menor com PRAP ( $r_f = -0,06$ ). Nas demais épocas os valores foram:  $r_f = 0,52$  com ALTP e NRAL e  $r_f = -0,06$  com PRAP (época 2);  $r_f = 0,56$  com ALTP e  $r_f = -0,12$  com PRAP (época 3);  $r_f = 0,57$  com ALTP e o NRAL e  $r_f = -0,10$  com PRAP (época 4);  $r_f = 0,55$  com ALTP e  $r_f = -0,10$  com PRAP (época 5).

Na população 3, RC<sub>1</sub> (época 1), observa-se que o VIVG apresentou o maior valor de  $r_f$  com PRAP ( $r_f = 0,37$ ) e o menor com ALPR ( $r_f = 0,16$ ). Nas demais épocas, os valores foram: com DIAC ( $r_f = 0,48$ ) e com ALPR ( $r_f = 0,15$ ) (época 2); com DIAC ( $r_f = 0,57$ ) e com ALPR ( $r_f = 0,16$ ) (época 3); com DIAC ( $r_f = 0,52$ ) e com ALPR ( $r_f = 0,16$ ) (época 4); com DIAC ( $r_f = 0,55$ ) e com NNRL (0,12) (época 5).

Na população 4 (F<sub>2</sub>) (época 1), observa-se que o VIVG apresentou o maior valor de  $r_f$  com NNRP ( $r_f = 0,54$ ) e o menor com ALTP e a PRAP ( $r_f = 0,16$ ). Nas demais épocas, os valores foram:  $r_f = 0,62$  com NRAL e  $r_f = 0,17$  com PRAP (época 2);  $r_f = 0,58$  com DIAC e  $r_f = 0,001$  com ALPR (época 3);  $r_f = 0,61$  com DIAC e  $r_f = 0,002$  com ALPR (época 4);  $r_f = 0,62$  com DIAC e  $r_f = 0,0003$  com ALPR (época 5).

Entre as características que se correlacionaram positivamente com o VIVG, cujos coeficientes de repetibilidade foram superiores a 0,71 nas quatro populações segregantes de café arábica, destacam-se: a) DIAC (população 1, RC<sub>1</sub>, população 3, RC<sub>1</sub> e população 4, F<sub>2</sub>); b) ALTP e NRAL (população 2, RC<sub>1</sub>), c) NRAL (população 4, F<sub>2</sub>), d) PRAP (população 3, RC<sub>1</sub>), e e) NNRP (população 4, F<sub>2</sub>).

A possível explicação para os baixos valores de  $r_f$ , obtidos no presente estudo, refere-se ao pequeno intervalo entre as avaliações fenotípicas. No cafeeiro, normalmente as avaliações fenotípicas das principais características agronômicas, exceto rendimento de grãos, são realizadas no período que antecede a colheita. No presente trabalho, o intervalo entre as avaliações no período de um ano, provavelmente não foi suficiente para avaliar as características estudadas, que se acredita serem de natureza quantitativa. Outros possíveis fatores são: a) a idade diferenciada das plantas da população segregante 3,  $RC_1$  em relação às demais plantas; e b) o número reduzido de progênies.

Constatou-se que as médias das nove características, nas épocas individuais de avaliação, nas quatro populações segregantes oscilaram, respectivamente: (a) população 1,  $RC_1$  - de 1,20 (época 2) a 1,63 (época 5) para o DIAC, e de 74,88 (época 1) a 92,30 para a ALTP (época 5); (b) população 2,  $RC_1$  - de 1,288 (época 2) a 1,63 (época 5) para o DIAC, e de 57,41 (época 1) a 83,69 (época 5); (c) população 3,  $RC_1$  - de 1,48 (época 2) a 1,70 (época 5) para o DIAC, e de 61,30 (época 1) a 86,20 para a ALTP (época 5); (d) população 4,  $F_2$  - de 1,22 (época 2) a 1,58 para o DIAC (época 5), e de 53,28 a 80,56 para a ALTP.

A população 3,  $RC_1$  avaliada a partir de 50 meses, apresentou os maiores valores de média para a característica ALPR, nas épocas individuais de avaliação. Outras vezes, a população 1,  $RC_1$ , avaliada a partir de 17 meses, apresentou os maiores valores de média, para as características ALTP, DICP, NRAL e NNRP.

## 5. CONCLUSÃO

(1). As maiores correlações fenotípicas (consistentes nas cinco épocas), nas quatro populações segregantes de café arábica, foram obtidas entre as seguintes características: (a) número de ramos laterais e a altura da planta; (b) número de nós no ramo principal e a altura da planta, (c) número de nós no ramo principal e o número de ramos laterais; e (d) o número de nós nos ramos laterais e o diâmetro da copa. A existência de tais correlações, além das altas magnitude dos coeficientes de repetibilidade dessas características, aumenta a chance de mapear os possíveis locos candidatos.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BONOMO, P. **Metodologias biométricas para seleção de progênies no melhoramento genético de cafeeiro**. 2002. 124p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2002.
- CARVALHO, A. Principles and practice of coffee plant breeding for productivity and quality factors: *Coffea arabica*. In: CLARKE, R.J.; MACRAE, R. (Eds.). **Coffee - Agronomy**, London: Elsevier Applied Science, 1988. v. 4, p. 129-165.
- CARVALHO, A.; MÔNACO, L.C.; FAZUOLI, L.C. Melhoramento do cafeeiro: XL. Estudo de progênies de híbridos de café Catuaí. **Bragantia**, v. 38, n.2, p. 203-216, 1979.
- CARVALHO, S.P. **Metodologias de avaliação do desempenho de progênies do cafeeiro (*Coffea arabica* L.)**. Lavras, 1989. 68 p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura de Lavras, 1989.
- CILAS, C.; BOUHARMONT, P.; BOCCARA, M.; ESKES, A.B.; BARADAT, P. Prediction of genetic value for coffee production in *Coffea arabica* from a half-diallel with lines and hybrids. **Euphytica**, v. 104, p. 49-59, 1998.
- CRUZ, C. D. **Programa GENES: versão Windows – Aplicativo computacional em genética e estatística**. Viçosa: Editora UFV, 2001.
- CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J; CARNEIRO; P.C.S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. v.1 / 3 ed. – Viçosa, MG: UFV, 2004, 480 p.

DHALIWAL, T.S. correlations between yield and morphological characters in Puerto rican and columnaris varieties of *Coffea arabica* L. **Journal of Agriculture of Unieversity of Puerto Rico**, v.52, p.29-37, 1968.

FALCONER, D. S. **Introdução à genética quantitativa**. Trad. de Martinho de Almeida e Silva e José Carlos Silva. 1ª. ed. Viçosa, UFV: Impr. Univ., 1987. 279p.

FAZUOLI, L.C. **Avaliação de progênes de café “Mundo Novo” (*Coffea arabica* L.)**. 1977. 146 p. Dissertação (Mestrado) - Escola superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, SP, 1977.

FAZUOLI, L.C.; MEDINA-FILHO, H.P.; GONÇALVES, W.; GUERREIRO-FILHO, O.; SILVAROLLA, M.B. Melhoramento do cafeeiro: variedades tipo arábica obtidas no Instituto Agrônômico de Campinas. **In: ZAMBOLIM, L (Ed.). O estado da arte de tecnologias na produção de café**. p. 253-287, 2002.

FONSECA, A. F. A. **Análises biométricas em café conillon (*Coffea canephora* Pierre)**. 1999. 121p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, 1999.

LEROY, T.; MONTAGNON, C.; CILAS, C.; CHARRIER, A.; ESKES, A.B. Reciprocal recurrent selection applied to *Coffea canephora*. II. Estimation of genetic parameters. **Euphytica**, v. 74, p. 121-128, 1994.

LOPES, R.R.D. **Comportamento de progênes do cafeeiro (*Coffea arabica* L.) nas regiões Sul, Sudoeste e Alto Paranaíba de Minas Gerais**. 1999. 55 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1999.

PEREIRA, .A.A; MOURA, W.de.M.; ZAMBOLIM, L.; SAKIYAMA, N.S.; CHAVES, G.M. Melhoramento genético do cafeeiro no Estado de Minas Gerais - Cultivares lançados e em fase de obtenção. **In: ZAMBOLIM, L. (Ed.). O estado da arte de tecnologias na produção de café**. p. 253-287, 2002.

RAMALHO, M.A.P.; SANTOS, J.B. dos; PINTO, C.A.B. P. **Genética na agropecuária**, Lavras: UFLA, 2000, 472p.

ROCHA, T.R.; CARVALHO, A.; FAZUOLI, L.C. Melhoramento do cafeeiro: XXXVIII. Observações sobre progênes cultivar “Mundo Novo” de *Coffea arabica* L. na estação experimental de Mococa. **Bragantia**, v. 39, n.15, p.148-160, 1980.

SERA, T. **Possibilidade de emprego de seleção nas colheitas iniciais de café (*Coffea arabica* L. cv. Acaiá)**. Piracicaba, 1987. 147p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) Escola superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 1987.

SEVERINO, L. S.; SAKIYAMA, N.S.; PEREIRA, A.A.; MIRANDA, G.V.; ZAMBOLIM, L.; BARROS, U. V. Associações da produtividade com outras características agrônômicas de café (*Coffea arabica* L. “Catimor”). **Acta Scientiarium**, v.24, n.5, p.1467-1471, 2002.

SILVAROLLA, M.B.; GUERREIRO FILHO, O.; LIMA, M.M.A.; FAZUOLI, L.C. Avaliação de progênies derivadas do Híbrido de Timor com resistência ao agente da ferrugem. **Bragantia**, v.56, n.1, p.47-58, 1997.

SOUZA, F.de.F.; GAMA, F.de.C. Avaliação de caracteres morfológicos em clones de café conillon (*Coffea canephora* Pierre et Froenher) coletados em Rondônia. **Resumo**. <<[http://www.Ocafezal \(Coffee Break\)](http://www.Ocafezal.com.br)>>. Acesso em: 15 julho. 2004.

STEEL, R.G.D.TORRIE, J.H.; DICKEY, A. **Principles and procedures of statistics: a biometrical approach**. (3<sup>a</sup> ed.). New York: McGRAW-HILL, 1997. 666p.

WALYARO, D.J.; VAN DERVOSSSEN, H.A.M. Early determination of yield potential in arabica coffee by applying index selection. **Euphytica**, v. 28, p. 465-472, 1979.

### **CAPÍTULO 3**

## **MAPEAMENTO DE QTLs EM POPULAÇÃO DE RETROCRUZAMENTO 1 (RC<sub>1</sub>) DE CAFÉ ARÁBICA**

### **RESUMO**

O mapeamento genético de características de importância agrônômica do cafeeiro pode ser beneficiado com o uso de marcadores moleculares, os quais possibilitam selecionar genótipos superiores, em menor tempo. O presente estudo foi realizado com o objetivo de aumentar o número de marcas no mapa de ligação do cafeeiro, construído no programa de melhoramento do cafeeiro da Universidade Federal de Viçosa (UFV)/Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), bem como caracterizar e identificar os locos controladores das características quantitativas (QTLs), associados a nove características agrônômicas. As características avaliadas foram: altura da planta (ALTP), diâmetro da copa (DICP), vigor vegetativo (VIVG), posição da ramificação primária (PRAP), número de ramos laterais (NRAL), número de nós no ramo principal (NNRP), número de nós nos ramos laterais (NNRL), altura do primeiro ramo (ALPR) e diâmetro do caule (DIAC). As avaliações fenotípicas foram realizadas em cinco épocas (novembro de 2002 a novembro de 2003), com

intervalo de três meses entre as avaliações, exceto para o DIAC, que foi avaliada em quatro épocas, sendo estas iniciadas a partir da segunda época de avaliação das outras características. Utilizou-se a população segregante 3, RC<sub>1</sub> [(“Mundo Novo IAC 464-18 x Híbrido de Timor UFV 440-22”) x (“Híbrido de Timor UFV 440-22“)], com 86 plantas. As plantas apresentavam idade inicial de 50 meses, sendo que as avaliações foram realizadas aos 50, 53, 56, 59 e 62 meses de idade. Foi desenvolvido um mapa parcial de ligação *RAPD*, utilizando-se *LOD score* mínimo (logaritmo na base 10 da razão entre a probabilidade de que os marcadores estejam ligados e a probabilidade de que eles não estejam ligados) de 3,0 e *r* (frequência máxima de recombinação entre o QTL e o marcador) de 0,40. Cinquenta marcadores *RAPD* foram acrescentados ao mapa de ligação parcial da população segregante 3, RC<sub>1</sub>. Portanto, um total de 137 marcadores foram obtidos, dos quais 124 (90,51%) apresentaram segregação 1:1 ( $P < 0,01$ ) e 13 (9,49%) segregação 2:1. Para construção do mapa de ligação, foram utilizados 124 marcadores *RAPD*, que segregaram 1:1, sendo que destes, 26 não mostraram-se ligados aos grupos formados. Noventa e oito marcadores *RAPD* resultaram em 10 grupos de ligação (GLs), cobrindo 789,55 cM, com distância média de 8,97 cM entre dois marcadores adjacentes. Os quatro primeiros grupos obtidos, apresentaram boa densidade os marcadores. O maior intervalo entre dois marcadores adjacentes foi 33,42 cM, sendo que 88,64% dos intervalos não excederam 20 cM. As análises de QTL foram realizadas, utilizando o teste do qui-quadrado e as metodologias de marca simples, mapeamento por intervalo simples e mapeamento por intervalo composto. Além de indicar marcadores consistentes, que explicam as variações das características ALTP, DICP, VIVG, PRAP, NRAL, NNRL e ALPR (épocas 1 a 5), a metodologia de marca simples, discriminou dois marcadores associados a mais de uma característica, indicando efeito pleiotrópico no controle genético destas características. Estes marcadores são: a) OPZ09 associado a VIVG e a ALPR; b) OPAK08b associado a NNRL e a ALPR. As metodologias de marca simples e o mapeamento por intervalo composto permitiram a detecção e identificação de dois QTLs consistentes, nas cinco épocas de avaliação. Estes QTLs estão situados nos grupos de ligação 5 e 9 do mapa parcial da população segregante 3 (RC<sub>1</sub>), respectivamente, para as características posição da ramificação primária e altura do primeiro ramo. Eles explicam 12,25% a 16,48% e 8,27% a 8,44% da variação fenotípica da característica PRAP, associada aos locos OPV17 e OPS10a, e ALPR associada ao loco OPAK08b, respectivamente. Em virtude do estudo de mapeamento de QTLs em cafeeiro ser

recente, os resultados obtidos do presente estudo demonstram que mapas genéticos, baseados em marcadores *RAPD*, podem ser utilizados para identificar regiões genômicas, que controlam características quantitativas.

Palavras chave: café, marcador molecular, características quantitativas.

## ABSTRACT

### MAPPING OF QTLs IN BACKCROSS POPULATION 1 (RC<sub>1</sub>) OF ARABIC COFFEE

The genetic mapping of important agronomic characteristics of coffee can be improved by using molecular markers which make possible to select superior genotypes in a short period of time. This present study was done with the objective to increase the number of markers on the linkage map of coffee constructed in the breeding program of the “Universidade Federal de Viçosa/Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais” as well as to characterize and identify the quantitative trait loci (QTLs) associated with nine agronomic characteristics. The characteristics evaluated were: height plant, canopy diameter, vegetative vigor, position of the primary ramification, number of lateral branches, number of nodes on the main branch, number of nodes on the lateral branches, height of the first branch and stem diameter. The phenotypic evaluations were done in five seasons (November 2002 to November 2003) with three months between them except for stem diameter which was evaluated only in four seasons initiated at the second season of the other characteristics. It was used the segregant population 3, RC<sub>1</sub> [(“Mundo Novo IAC 464-18 x Híbrido de Timor UFV 440-22”) x (Híbrido de Timor UFV 440-22)], with 86 plants. The plants were fifty months old with the evaluations starting on 50, 53, 56, 59 and 62 months. A partial map of linkage *RAPD* was developed using the minimum value 3.0 for *LOD*

*score* ( $\log_{10}$  for the ratio between the probability that the markers were ligated and the probability that they were not) and *r* (maximum frequency of recombination between the QTL and the marker) of 0.40. Fifty *RAPD* markers were added to the parcial map of ligation of the segregant population 3, RC<sub>1</sub>. Therefore, a total of 137 markers were obtained from which 124 (90.51%) showed segregation 1:1 ( $P < 0,01$ ) and 13 (9.49%) with segregation 2:1. A total of 124 *RAPD* markers that segregated 1:1, with 26 of them not showing ligation with the formed groups, were used to construct the ligation map. Ninety-eight *RAPD* markers resulted on 10 groups of ligation (LGs) covering 789.55 cM with a mean distance of 8.97 between two adjacent markers. The four first groups obtained showed a good density of markers. The longest interval between the two adjacent markers was 33.42 cM with 88.64% of the intervals not exceding 20 cM. The analyses of QTL were done using the chi-square tests and the methodologies of simple markers and simple interval mapping and composite interval mapping. The methodology of simple markers showed two markers associated with more than one characteristic indicating pleiotropic effects on the genetic control of these characteristics besides to indicate consistent markers that explain the variation on the following characteristic: height plant, canopy diameter, vegetative vigor, position of the primary ramification, number of lateral branches, number of nodes on the lateral branches and height of the first branch (seasons 1 a 5). The markers are: a) OPZ09 associated with vegetative vigor and height of the first branch and OPAK08b associated with number of nodes on the lateral branches and height of the first branch. The methodologies of simple markers and composite interval mapping allowed the detection and identification of two consistent QTLs in the five seasons of evaluations. These QTLs are situated on the groups of ligation 5 and 9 of the parcial map of the segregante population 3, RC<sub>1</sub>, respectively, to the characteristics position of the primary ramification and height of the first branch. They explain 12.25% to 16.48% and from 8.27% to 8.44% of the phenotypic variation of the characteristic position of primary ramification associated with the loci OPV17 and OPS10a besides the height of the first branch associated to locus OPAK08b, respectively. Considering that the study of mapping the QTLs on coffee is a recent area of research, the results obtained here show that the genetic maps based on *RAPD* markers can be used to identify genomic regions that control quantitative characteristics.

Key words: Coffee, molecular marker, quantitative characteristics.

## 1. INTRODUÇÃO

O cafeeiro pertence ao subgênero *Coffea*, família Rubiaceae, sendo formado por aproximadamente 100 espécies (CHARRIER; BERTHAUD, 1985). Das espécies cultivadas, *Coffea arabica* L. (café arábica) e *Coffea canephora* Pierre et Froenher (café robusta) são as mais importantes economicamente, sendo *C. arabica* responsável por 70-80% da produção mundial, enquanto *C. canephora* é responsável pelos 20-30% restantes (CONAB, 2004). *C. arabica* é uma espécie autógama, alotetraplóide segmentar (tetraplóide originado da hibridação de duas espécies diplóides diferentes com homologia parcial de cromossomos), com  $2n = 4x = 44$  cromossomos e autofértil (KRUG, 1936; CARVALHO; KRUG, 1949; KRUG; CARVALHO, 1951; CARVALHO, 1952; CHARRIER; BERTHAUD, 1985). As outras espécies são alógamas, diplóides com  $2n = 2x = 22$  cromossomos e auto-incompatíveis (CONAGIN; MENDES, 1961; MÔNACO, 1960; CHARRIER; BERTHAUD, 1985).

Por se tratar de uma cultura perene e de período juvenil longo (3 anos), o melhoramento genético do cafeeiro é demorado. Portanto, é de fundamental importância o uso de técnicas, que facilitem e acelerem a seleção e a avaliação de genótipos superiores no melhoramento genético do cafeeiro. A seleção assistida por marcadores moleculares pode acelerar o progresso genético, favorecendo o aumento na eficiência de seleção, redução no intervalo de gerações e identificação de quebra de ligações gênicas indesejáveis.

Muitas das características desejáveis em várias espécies vegetais, incluindo o cafeeiro, resultam da ação conjunta de mais de um gene e das interações destes com o ambiente. Essas características exibem fenótipos com distribuição contínua, são bastante influenciadas pelo ambiente e determinadas por mais de um loco no genoma, sendo de difícil manipulação e compreensão. Esses locos são denominados locos controladores de características quantitativas (“*Quantitative Trait Loci - QTLs*”) (GELDERMANN, 1975), sendo que, para a maioria dessas características, existem poucas informações sobre o número, posição cromossômica, magnitude do efeito e interações entre os locos, que controlam sua expressão. Utilizando mapas genéticos e técnicas de mapeamento de QTLs, é possível obter tais informações.

Este trabalho objetivou-se aumentar o número de marcas do mapa de ligação parcial do café arábica, obtido no programa de melhoramento do cafeeiro da Universidade Federal de Viçosa (UFV)/Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), assim como identificar QTLs associados às características altura da planta, diâmetro de copa, vigor vegetativo, posição da ramificação primária, número de ramos laterais, número de nós no ramo principal, número de nós nos ramos laterais, altura do primeiro ramo e diâmetro do caule.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1. Marcadores moleculares**

Atualmente, diversas técnicas permitem a obtenção de um número ilimitado de marcadores moleculares, que podem ser utilizados com diferentes finalidades no melhoramento genético vegetal. Quando um marcador apresenta comportamento de acordo com as leis básicas de herança, enunciadas por Mendel, ele é considerado um marcador genético e pode ser monitorado ao longo das gerações (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998).

Os marcadores *RFLP* (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) foram os primeiros a ser empregados na construção de mapas genéticos (BOTSTEIN et al., 1980). A técnica compreende a digestão do DNA genômico com enzimas de restrição, separação dos fragmentos por eletroforese e transferência destes para membranas de nitrocelulose ou náilon, onde são hibridizados com sondas de DNA. As sondas são fragmentos de DNA marcados com nucleotídeos radioativos ou quimioluminescentes, sendo utilizadas na detecção de seqüências genômicas homólogas. Após serem hibridizadas com as sondas de DNA, as membranas são expostas a um filme auto-radiográfico, sendo revelados os polimorfismos. Embora o *RFLP* seja

um marcador codominante e útil em análises genéticas comparativas, é uma técnica trabalhosa e requer elevado nível de conhecimento sobre o genoma a ser analisado.

Entre as técnicas de marcadores disponíveis, destacam-se aquelas baseadas na reação de *PCR* (*Polymerase Chain Reaction*) (MULLINS; FALOONA, 1987; SAIKI et al., 1988). A reação de *PCR* permite a replicação *in vitro* de fragmentos de DNA, resultando grandes quantidades desses fragmentos a partir de poucas moléculas iniciais de DNA. A técnica envolve a amplificação de uma região específica do DNA de seqüência conhecida, utilizando-se oligonucleotídeos complementares, que flanqueiam a região-alvo (MULLIS; FALOONA, 1987). O conhecimento prévio da região a ser amplificada constitui é uma das principais limitações da técnica, impossibilitando o estudo simultâneo de muitos locos. A reação de *PCR* ocorre em três ciclos de temperaturas em que os oligonucleotídeos de seqüência específica são utilizados como iniciadores para a síntese de uma fita de DNA complementar à região-alvo.

Uma variante da técnica de *PCR* foi descrita por dois grupos distintos (WELSH; McCLELLAND, 1990; WILLIAMS et al., 1990), para descrever a mesma metodologia, sendo que a segunda denominação tornou-se mais conhecida. O *RAPD* (*Random Amplified Polymorphic DNA*) é uma adaptação da técnica de *PCR* que utiliza oligodesoxirribonucleotídeos, com 10 nucleotídeos (*primers*) de seqüência arbitrária e uma freqüência de G + C superior a 50%, que amplificam fragmentos de DNA, ao acaso, no genoma (WILLIAMS et al., 1990). Na utilização desta técnica, um fragmento específico é amplificado quando um *primer* anela-se em dois locais nas fitas opostas do DNA molde, sendo que o espaço entre esses dois pontos não deve ser superior a 2 ou 3 Kb (quilopares de base). O número e o tamanho dos fragmentos amplificados dependem da seqüência do *primer* e do DNA-molde (TINGEY; DEL TUFO, 1993; FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998).

Os fragmentos de DNA obtidos podem ser separados de acordo com seu tamanho e visualizados em gel de eletroforese. O polimorfismo detectado pode ser devido a mutações nos sítios de pareamento, ou inserções e deleções na região flanqueada por esses sítios.

Marcadores *RAPD* têm sido largamente utilizados em análises genômicas mostrando-se particularmente úteis no melhoramento genético de plantas, principalmente devido à facilidade de utilização, rapidez, versatilidade e baixo custo. Uma das grandes vantagens do *RAPD* é a obtenção de elevado número de polimorfismos de forma relativamente simples (WELSH; McCLELLAND, 1990; WILLIAMS et al., 1990; FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998),

principalmente em espécies pouca caracterizadas geneticamente, uma vez que não requerem conhecimento prévio do genoma. Este tipo de marcador gera grande número de informações em curto espaço de tempo e por um custo acessível, possibilitando sua fácil utilização na maioria dos programas de melhoramento, constituindo, portanto, uma ferramenta útil, acessível e de fácil aplicabilidade. Devido a tais vantagens, esta técnica foi utilizada para detecção de QTLs em diferentes espécies vegetais (GRATTAPAGLIA; SEDEROFF, 1994; BYRNE; MURREL; ALLEN, 1995; QUEIROZ, 2000; MELO, 2001; MIRANDA, 2002; SIVIERO et al., 2002; SIVIERO; CRISTOFANI; MACHADO, 2003; ROCHA, 2004; VILARINHO, 2004).

Alguns fatores limitam sua aplicação, tais o baixo conteúdo de informação por loco, pois apenas um alelo é normalmente determinado, o desconhecimento da base genética dos fragmentos de DNA amplificados, bem como, por serem marcadores dominantes, não permitem a distinção entre homozigotos e heterozigotos. Um segundo problema apresentado por esses marcadores é a baixa reprodutibilidade dos dados. No entanto, diferentes laboratórios têm superado este problema, padronizando as condições da técnica (YU; DEINZE; PAULS, 1993). Atualmente, é possível aumentar a utilidade e a reprodutibilidade de um marcador *RAPD* de interesse, convertendo-o em um marcador específico e reprodutível, denominado *SCAR* – *Sequence Characterized Amplified Regions* (MELOTTO; ALFANADOR; KELLY, 1996).

*SCAR* é um fragmento de DNA genômico em um loco específico, que é identificado por amplificação em *PCR*, usando-se um par de *primer* de oligonucleotídeos específicos. Se um fragmento amplificado por meio do *RAPD* for de interesse, ele é clonado e suas duas extremidades são seqüenciadas. Essas informações são utilizadas para a construção de dois *primers* específicos, com aproximadamente 24 nucleotídeos, que resultam em uma amplificação reproduzível desses locos, quando altas temperaturas de anelamento são utilizadas. A vantagem do marcador *SCAR* sobre o *RAPD* é que ele detecta somente um loco específico e, conseqüentemente, sua amplificação é menos sensível às condições de reação e ele pode, potencialmente, ser transformado em marcador co-dominante. De modo semelhante ao *SCAR*, um par específico de *primers* pode ser construído de modo que, somente, um produto de amplificação seja produzido e que este seja correspondente ao alelo de interesse. A identificação das plantas que amplificam o alelo e das que não o amplificam é feita pela simples leitura da concentração de DNA da amostra, após 30 a 40 ciclos de *PCR*, eliminando a necessidade de executar a eletroforese (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998).

O *AFLP* (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) é uma classe de marcadores, que alia a especificidade dos sítios de restrição do *RFLP* à praticidade da amplificação do *PCR*, apresentando-se como ferramenta poderosa na caracterização de genomas e no mapeamento genético (ZABEAU, 1993; FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998). A técnica baseia-se na digestão simultânea do DNA genômico com duas enzimas de restrição, sendo *Eco* RI e *Mse* I as mais usadas. Adaptadores complementares em extremidades coesivas de ambos os sítios de restrição são ligados aos fragmentos de DNA digeridos. Estes fragmentos são submetidos a uma reação de *PCR* com *primers* pré-seletivos de seqüência complementar aos adaptadores, acrescidos de um nucleotídeo arbitrário em sua extremidade 3'. Dessa forma, apenas os fragmentos que possuem os sítios de restrição de *Eco* RI e *Mse* I serão amplificados, aumentando a proporção dos fragmentos de interesse. A população de fragmentos pré-amplificada constituirá o DNA molde para as reações subseqüentes de amplificação seletiva, utilizando *primers* que contêm a seqüência dos *primers* pré-seletivos, acrescida de dois nucleotídeos arbitrários em sua extremidade 3'. A detecção dos fragmentos amplificados é feita pela marcação radioativa ou fluorescente de um dos *primers* seletivos. Os produtos de amplificação são separados em gel de poliacrilamida, com resolução de um par de base, aumentando a precisão e o poder de detecção da técnica.

Outros marcadores que estão sendo utilizados são os baseados em: locos hipervariáveis de minissatélites (JEFFREYS; WILSON; THEIN, 1985), microssatélites, ou *Simple Sequence Repeats – SSR* (LITT; LUTY, 1989; BECKMANN; SOLLER, 1990), STS (*Sequence Tagged Sites*) (PARAN; MICHELMORE, 1993) e SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*).

Muitas são as aplicações dos marcadores moleculares no melhoramento genético de plantas, como em estudos de diversidade genética, caracterização de bancos de germoplasma, construção de mapas de ligação e outras. A construção de mapas de ligação, utilizando marcadores moleculares, é uma estratégia que vem sendo utilizada para detecção de QTLs.

### **2.1.1. Aplicações dos marcadores moleculares no melhoramento do cafeeiro**

Os marcadores moleculares podem ser utilizados com diferentes finalidades, em programas de melhoramento genético do cafeeiro, conforme apresentado a seguir.

a) Desenvolvimento de mapas de ligação gênica - é uma das aplicações de maior importância da tecnologia dos marcadores moleculares no melhoramento de plantas, pois, estes mapas podem ser usados para determinar a localização de genes responsáveis por características simples e complexas. Para o caso de características de herança, simples, a identificação de marcadores ligados a genes, que controlam estas características permite monitorar e acelerar a introgressão desses genes em cultivares (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998; LANZA; GUIMARÃES; SCHUSTER, 2000).

Marcadores moleculares ligados a genes de interesse fornecem um ponto de partida para a clonagem de genes baseada no mapa. Uma das aplicações dos mapas de ligação consiste em determinar a localização dos genes nos cromossomos, fornecendo subsídios ao melhorista para escolha das melhores estratégias de ação e planejamento dos métodos de seleção. A partir do mapa genético, o melhorista poderá definir, com mais segurança, por exemplo, quais genitores devem ser utilizados nos cruzamentos e qual o tamanho das populações segregantes a serem manipuladas, que fornecerão maiores oportunidades para que os recombinantes de interesse sejam identificados (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998; LANZA; GUIMARÃES; SCHUSTER, 2000).

Um mapa parcial de ligação para o café robusta, utilizando 100 marcadores *RAPD* e 47 marcadores *RFLP*, com 15 grupos de ligação, cobrindo 1.402 cM foi obtido por PAILLARD; LASHERMES; PÉTIARD (1996). Com a mesma espécie, LASHERMES et al. (2001) obtiveram um mapa de ligação parcial, com 11 grupos de ligação e 97 marcadores *AFLP*, 11 *RAPD*, 18 microssatélites e 36 *RFLP*. Com as espécies *C. pseudozanguebariae* e *C. liberica* var. *dewevrei*, KY et al. (2000) obtiveram um mapa de ligação parcial, com 167 marcadores *AFLP* e 13 marcadores *RFLP*. Três mapas de ligação para o café arábica, sendo que nos dois primeiros foram utilizados os marcadores *RAPD* e no terceiro os marcadores *AFLP*, foram obtidos por CABRAL (2001); OLIVEIRA et al. (2003a); PEARL et al. (2004).

b) Mapeamento de genes controlando características qualitativas - os marcadores têm sido utilizados para indicação de regiões do genoma associado a características monogênicas, principalmente a resistência a doenças e pragas, utilizando-se a ligação gênica. O mapeamento de genes, que controlam características qualitativas de importância agrônômica para o cafeeiro, pode ser útil em programas de melhoramento, pela seleção indireta dessas características. Este

tipo de seleção tem aplicação em programas, que visam à piramidação de genes de resistência a doenças, cuja execução por métodos convencionais é difícil, na maioria das vezes.

Alguns marcadores ligados a genes, controlando características qualitativas, foram identificados em café, como auto-incompatibilidade em café robusta (LASHERMES et al., 1996), resistência a *Colletotrichum kahawae* (AGWANDA et al., 1997), resistência a *Hemileia vastatrix* Berk. et Br. (TEDESCO et al., 1999; MORENO et al., 2000), porte da planta (RUAS et al., 2000) e resistência a *Meloidogine* spp (LASHERMES, 2002; LASHERMES, 2003; DINIZ, 2004).

c) Mapeamento de genes controlando características quantitativas (QTLs) - no mapeamento de QTLs, há necessidade de obter mapas genéticos a partir da análise de grande número de marcadores. Em seguida esses marcadores são associados à distribuição fenotípica das diversas características de interesse. Uma vez conhecida a posição dos marcadores no genoma, aqueles que estiverem associados às características terão, em sua vizinhança, locos que controlam essas características (LEE, 1995). Essas regiões, então, podem ser monitoradas para serem selecionadas em uma população ou serem transferidas para materiais-elites, que não possuem os alelos favoráveis dessas regiões.

Os QTLs representam um avanço no conhecimento da herança das características. Em vez de conhecer a herança, determina-se o controle genético dos componentes determinantes da característica, permitindo, para cada QTL, a localização genômica, a quantificação de seu efeito e o conhecimento da ação gênica. Além disso, possibilita a determinação da existência ou não de epistasias, ou seja, de interações entre os QTLs distintos e relacionados com a determinada característica, permitindo, ao melhorista, decidir quanto à melhor estratégia a ser empregada na seleção da característica (PEREIRA, 2003). A análise de marcadores moleculares tem mostrado que as características quantitativas podem ser condicionadas por QTLs com efeitos diferentes. O uso de mapas de ligação possibilita a identificação de QTLs, que expliquem proporções significativas das variações fenotípicas das características quantitativas estudadas. Uma aplicação imediata do mapeamento de QTLs, em programas de melhoramento, é a escolha de genitores que apresentam QTLs complementares e que terão maiores chances de manifestar efeitos heteróticos em combinações híbridas e de recombinações favoráveis nas gerações segregantes (SAKIYAMA, 1999).

d) Seleção assistida por marcadores moleculares (SAM) - é uma estratégia, que associa marcadores moleculares a locos gênicos importantes para a agricultura, sendo, portanto, uma ferramenta importante e promissora em programas de melhoramento de plantas perenes, como é o caso do cafeeiro. Várias são as aplicações da SAM, entre elas: acelerar o progresso genético, aumentando a eficiência de seleção pela redução no intervalo de gerações e pela identificação de quebra de ligações indesejáveis (MILACH, 2001).

A eficiência da SAM depende da herdabilidade da característica, cobertura do genoma pelos marcadores moleculares, identificação de associação entre os marcadores e QTLs, tamanho e número de famílias avaliadas, tipo de população e escolha do método de seleção (LANZA; GUIMARÃES; SCHUSTER, 2000). A viabilidade da SAM para transferência de uma única região-alvo tem sido descrita para muitos genomas de plantas (RAMAN; READ, 1999; CHEN et al., 2000; FALEIRO et al., 2001; MOREIRA et al., 2001, ERNST; CLAYTON; REN, 2001).

e) Retrocruzamento assistido por marcadores moleculares - a introgressão de genes via retrocruzamento assistido por marcadores moleculares é uma forma eficiente para incorporar um alelo desejado, em uma população comercial ou elite. Marcadores são usados para identificar e garantir a presença do alelo introgridido e para monitorar o genoma remanescente do doador, pois geralmente este está associado a características indesejáveis, excluindo o alelo em particular (HOSPITAL; CHEVALET; MULSANT, 1992; VISSCHER; HALEY; TOMPSON, 1996). Após algumas gerações de retrocruzamentos, a população retrocruzada é autofecundada para obtenção de indivíduos homozigotos no alelo desejado.

Comparado ao retrocruzamento convencional, o uso de marcadores moleculares no retrocruzamento assistido tem as seguintes vantagens: recuperação rápida do genoma recorrente e seleção mais eficiente de genótipos, que apresentam eventos de recombinação mais próximos ao genes-alvo (HOSPITAL; CHEVALET; MULSANT, 1992; VISSCHER; HALEY; TOMPSON, 1996; BRONDANI, 2000; MILACH, 2001; JUNGHANS, 2003).

Objetivando medir a eficiência da SAM, FERNANDES; LASHERMES (2002), fizeram simulações em computador, utilizando café arábica como modelo. Nesse trabalho, a SAM foi utilizada para escolha de 2% dos genótipos mais semelhantes, geneticamente, ao genitor recorrente, para integrar o próximo ciclo de retrocruzamentos. Segundo os autores, com dois retrocruzamentos assistidos, foi possível recuperar a mesma proporção do genoma do genitor recorrente, que seria alcançada na quinta geração de retrocruzamento.

Pesquisas comprovam que o número de gerações, que podem ser reduzidas, dependerá do tamanho do genoma da espécie estudada, do número de marcadores moleculares utilizados na análise, do número de plantas retrocruzadas, genotipadas e selecionadas, do tamanho da progênie e da proporção do genoma recorrente a ser recuperado (BRONDANI, 2000; FALEIRO et al, 2001).

Muitos exemplos da transferência de características indesejáveis ligadas ao gene-alvo durante a execução de programas de seleção são conhecidos. Em café arábica, mesmo após seis gerações de retrocruzamentos, é esperado persistir uma região de 32cM flanqueando o gene-alvo. Nos genomas de muitas plantas 32cM é DNA suficiente para conter centenas de genes. Marcadores de DNA poderiam ser utilizados para eliminar ou, pelo menos, reduzir a transferência de características indesejáveis. Essas características poderiam ser identificadas nos recombinantes raros, os quais são usualmente, selecionados apenas por acaso no melhoramento clássico (FERNANDES; LASHERMES, 2002). OLIVEIRA et al. (2003b) utilizaram 134 marcadores *RAPD* para estudar uma população de 5 plantas RC<sub>1</sub>, oriundas do cruzamento entre uma linhagem do Híbrido de Timor e o cultivar Catuaí amarelo como recorrente. Segundo os autores, 15 plantas apresentaram acima de 81% do genoma do Catuaí, dentre as quais duas exibiram 92% do genoma recorrente recuperado com, apenas, um retrocruzamento.

f) Seleção assistida para características quantitativas - as características agronômicas de maior importância são reguladas por muitos genes de pequeno efeito e influenciadas pelas condições ambientais, sendo de difícil manipulação e compreensão. Esses locos são denominados locos controladores de características quantitativas (“*Quantitative Trait Loci - QTLs*”) (GELDERMANN, 1975). Em comparação com as características de herança simples, controladas por um ou poucos genes, o melhoramento de características poligênicas por meio da seleção assistida por marcadores é questionável, devido à dificuldade de selecionar, concomitantemente, vários QTLs, cada um responsável por parte da variação fenotípica além do fato que a expressão de QTLs é específica para a população e o ambiente em análise.

Existem vários estudos de simulação sobre a eficiência esperada de SAM, em plantas (LANDE; TOMPSON, 1990; GILMELFARB; LANDE, 1994; FERREIRA, 1995; XIE; XU, 1998b). No entanto, em relação à seleção assistida por marcadores que envolvem características quantitativas, pouco tem sido feito em termos de aplicação prática (YOUNG, 1999). STUBER (2000) relata que a principal causa do baixo impacto da SAM está nas limitações estatísticas, que

não permitem localizar os poligenes com a precisão necessária a um programa de melhoramento. LIU (1998) destaca as seguintes limitações de ordem estatística: os QTLs são poligenes hipotéticos baseados em inferências estatísticas, enquanto os efeitos genéticos usados para mapeá-los podem ter pouco significado biológico; os modelos genéticos nos quais o mapeamento de poligenes baseiam-se não são precisos; a variabilidade genética na unidade estatisticamente experimental não é adequada; e as metodologias de análise estatística não são suficientemente poderosas e adequadas para as análises, que envolvam um alto nível de interações epistáticas.

Para que a SAM seja efetiva, são necessárias estimativas confiáveis da posição e do efeito do QTL. Maior poder, precisão e acurácia só podem ser obtidos, por meio da análise de grandes populações, usando um conjunto de marcadores com boa cobertura do genoma e valores fenotípicos obtidos de experimentos em diferentes ambientes (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998; PATERSON, 1998; MILACH, 2001).

Alguns trabalhos mostraram que os marcadores moleculares apresentam-se como ferramentas úteis, para monitorar etapas de seleção de características quantitativas (ARENDONK; TIER; KINGHORN, 1994; STROMBERG; DUDLEY; RUFENER, 1994; EATHINGTON; DUDLEU; RUFENER, 1997; SCHNEIDER; BROTHERS; KELLY, 1997; SQUILASSI; GRATTAPAGLIA, 1997; XIE e XU, 1998a; BRONDANI, 2000).

A dificuldade em manipular características quantitativas está relacionada à sua complexidade, principalmente o número de genes envolvidos em sua expressão e as interações entre eles (epistasia) (FALCONER, 1987). Como muitos genes estão envolvidos na expressão de características poligênicas, geralmente apresentam pequenos efeitos individuais no fenótipo. Isto implica que muitas regiões devem ser manipuladas, ao mesmo tempo, no sentido de obter um impacto significativo, e que o efeito de regiões individuais não é facilmente identificado. Por esta razão, são necessários experimentos com repetição, a fim de caracterizar com acurácia os efeitos de QTLs, bem como avaliar sua estabilidade em diferentes ambientes. Embora efeitos significativos de QTLs possam ser detectados em diferentes ambientes, a avaliação da interação QTL x ambiente continua sendo, a maior limitação da SAM (JUNGHANS, 2003).

Uma questão importante, que merece atenção, é como aumentar a eficiência da SAM de características quantitativas por meio da melhor caracterização de genes-alvo. Felizmente, experimentos de campo e metodologia estatísticas para mapeamento de QTLs têm sido,

progressivamente, desenvolvidos na última década. Métodos matemáticos, como o mapeamento por intervalo composto, podem integrar dados de experimentos, oriundos de diferentes ambientes, em uma análise conjunta para avaliar a interação QTL x ambiente e identificar os QTLs estáveis em diferentes ambientes.

Não resta dúvida sobre a importância do uso dos marcadores moleculares no melhoramento do cafeeiro. O grande desafio será tornar estas técnicas mais eficientes, automatizando etapas com a possibilidade de analisar um maior número de dados com rapidez e redução de custos. A combinação dos métodos de melhoramento, das metodologias estatísticas e das técnicas moleculares traz novas perspectivas para o conhecimento genético e para a aceleração dos programas de melhoramento genético do cafeeiro.

## **2.2. Mapeamento genético**

O marco inicial do mapeamento genético foi o fenômeno da ligação genética, explicada por Morgan, em 1910. O mapeamento genético é baseado na hipótese de que a co-transmissão de dois marcadores reflete a proximidade entre eles, possibilitando o ordenamento linear dos genes ao longo dos grupos de ligação e a determinação da distância entre os genes ligados (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998; LANZA, GUIMARÃES; SCHUSTER, 2000).

A distância genética entre os locos é medida em termos de frequência de recombinação, que é a probabilidade de ocorrência de permuta genética entre dois marcadores. A distância de mapeamento, expressa em cM (centiMorgan), é calculada com base na frequência de recombinação por meio de funções de mapeamento que corrigem as distorções entre a conversão das unidades. A função de Haldane é a mais simples e admite que as permutas genéticas ocorrem ao acaso e são independentes. Já a função de Kosambi considera a interferência parcial nos cálculos da distância em centiMorgans. A interferência é o fato de que uma permuta genética afeta a ocorrência de outras em regiões adjacentes próximas a ela, considerando, desta forma, a ocorrência de crossing-overs duplos. A precisão na medida da distância genética é diretamente proporcional ao tamanho da população e ao número de marcadores analisados (SCHUSTER; CRUZ, 2004).

A frequência de recombinação é bastante variável entre diferentes regiões cromossômicas, entre tipos de cromossomos e entre as espécies. Assim, a distância genética não

apresenta correlação constante com a distância física, definida em termos de pares de base. A ordem dos locos determinada nos grupos de ligação, entretanto, corresponde à mesma encontrada nos cromossomos. Sendo que regiões contendo DNA repetitivo são uma das principais causas da grande diferença no tamanho físico do genoma das plantas superiores (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998; LANZA, GUIMARÃES; SHUSTER, 2000).

Um importante conceito para o mapeamento genético é o significado de polimorfismo. O termo polimorfismo refere-se à presença de mais de uma forma alélica, seja ela detectada fenotipicamente, por meio de um marcador morfológico, ou genotipicamente por meio de marcadores moleculares. Para que marcadores moleculares possam ser mapeados em um grupo de ligação, é necessário que as populações apresentem polimorfismo. As formas de detecção do polimorfismo molecular variam, conforme o tipo de marcador utilizado (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998).

O mapeamento genético possibilita o estudo de qualquer processo morfológico, fisiológico ou de desenvolvimento, desde que haja variação na constituição genética de uma população, com um mínimo de informação prévia (PATERSON, 1996). No contexto do melhoramento de plantas, os mapas genéticos possibilitam a decomposição de características genéticas complexas em seus componentes mendelianos simples, uma vez que podem ser identificadas e mapeadas as regiões genômicas que controlam estas características. O efeito de cada uma dessas regiões pode ser quantificado, podendo ser acumulada toda a informação para os programas de melhoramento. O mapeamento genético é uma importante ferramenta para clonagem de genes, principalmente quando o produto gênico não é conhecido (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998; LANZA; GUIMARÃES, SCHUSTER, 2000).

Vários marcadores moleculares foram empregados no mapeamento de algumas espécies econômicas importantes, dentre os quais destacam-se: o *RFLP*, que foi usado no mapeamento de diversas espécies, como o milho (BURR et al., 1988; HELENTJARIS; WEBER; WRIGHT, 1988), soja (KEIM; SHOEMAKER; PALMER, 1989), cana-de-açúcar (SILVA et al., 1994; GUIMARÃES, 1999), ervilha (ELLIS et al., 1992), algodão (REINISCH et al. 1994), cacau (LANAUD et al., 1995; QUEIROZ, 2000), trigo (DEVOS; MILLAN; GALE, 1993), arroz (TANKSLEY 1994a), feijão (VALEJOS; SAKIYAMA; CHASE, 1992; NODARI et al., 1993; VILARINHO, 2004) e tomate (BERNATZKY; TANKSLEY, 1986; TANKSLEY, 1994b). Os marcadores microssatélites foram usados para mapeamento de milho (KANTETY et al., 1995),

arroz (BRONDANI, 2000), soja (SOARES, 2000; MIRANDA, 2002; CERVIGNI, 2003) e feijão (CORRÊA, 1999). Os marcadores *AFLP* têm sido muito utilizados para o mapeamento de soja (KEIM et al., 1997). Os marcadores *RAPD* foram usados para o mapeamento de feijão (CORRÊA, 1999; FALEIRO, 2000; MELO 2001; VILARINHO, 2004), soja (SOARES, 2000), citrus (SIVIERO et al., 2002; SIVIERO; CRISTOFANI; MACHADO, 2003), eucalipto (ROCHA, 2004), enquanto os marcadores *SCAR* foram usados para mapeamento de feijão (CORRÊA, 1999; VILARINHO, 2004).

### **2.2.1. Construção de mapas de ligação**

Os primeiros mapas genéticos de espécies cultivadas (MACARTHUR, 1934; EMERSON et al., 1935) foram construídos antes, mesmo, do material genético ser atribuído ao DNA, sendo utilizadas características de herança simples. Segundo OLIVEIRA (1998), a limitação encontrada pelos geneticistas pioneiros em mapeamento foi o número restrito de marcadores morfológicos.

A construção de uma mapa de ligação envolve desde a aplicação de biologia molecular até os conceitos originais de herança genética, demonstrados por Mendel. O procedimento para se construir um mapa de ligação consta em primeiro lugar em cruzar genitores, fenotipicamente contrastantes ao máximo. A análise para a obtenção dos marcadores pode ser realizada utilizando populações  $F_2$ , de retrocruzamentos, linhagens endogâmicas, e outras. A população  $F_2$  pode ser obtida em, apenas, duas gerações e contém as três combinações possíveis de dois alelos para um referido loco (AA, Aa, e aa), possibilitando, assim a estimativa do mecanismo de ação gênica e das interações com outros locos. A população de retrocruzamento é considerada pouco informativa, pois, segrega apenas para os alelos do genitor doador. As linhagens endogâmicas recombinantes (*Recombinants Inbreed lines* - RILs) constituem uma população permanente, visto que cada indivíduo é resultante de autofecundações sucessivas de uma planta  $F_2$ . Nestas populações, os indivíduos apresentam elevado índice de homozigose. A ausência de heterozigose é, em parte, compensada pelos ciclos sucessivos de autofecundação, aumentando a oportunidade de ocorrência de recombinação, em comparação com as populações  $F_2$ . Outra vantagem desta população é a possibilidade que os indivíduos sejam perpetuados e avaliados em experimentos, em locais diferentes, o que possibilita a quantificação da interação genótipo x ambiente, além de

permitir o intercâmbio de informações genéticas, geradas por diferentes grupos de pesquisa. Entretanto, a limitação na obtenção deste tipo de população é o longo tempo, pois, são necessárias cerca de sete ou mais gerações de autofecundação (BURR et al., 1988). Vale ressaltar que a escolha da população de mapeamento depende do hábito reprodutivo da espécie e do objetivo proposto no estudo.

Para a construção do mapa pode ser utilizado tanto o *RFLP* quanto *RAPD*, ou qualquer outro marcador e mesmo empregar vários de forma integrada. O número de marcadores moleculares necessários para construir um mapa de ligação varia, em função do tamanho do genoma, do número de cromossomos e da frequência de recombinação genética. Um mapa pode ser considerado saturado, quando o número de grupos de ligação, obtidos pela análise dos marcadores, for igual ao número de cromossomos gaméticos do organismo e quando todos os marcadores genéticos mapeados estiverem ligados, indicando que todas as regiões do genoma estão representadas (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998; LANZA; GUIMARÃES; SCHUSTER, 2000).

A partir de uma mapa de ligação, é possível obter informações importantes para o melhoramento genético de uma espécie. Essas informações variam desde a associação de marcadores moleculares com características quantitativas e sua localização nos grupos de ligação até à identificação de regiões genômicas, associadas a características quantitativas (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998). Embora não seja o único método para o estudo de associações de características quantitativas com marcadores moleculares (TANKSLEY, MEDINA-FILHO; RICK, 1982; EDWARDS; STUBER; WENDEL, 1987; OSBORN; ALEXANDER; WILLIAMS, 1987), o desenvolvimento de um mapa genético oferece condições para avaliação dos marcadores distribuídos por todo o genoma da espécie em estudo, maximizando a probabilidade de se encontrar associações significativas. Uma vez encontradas essas associações, os marcadores podem ser utilizados na seleção indireta de características de interesse agrônomo.

A seleção indireta, usando marcadores moleculares, baseia-se no princípio que se um gene (ou grupos de genes) encontra-se ligado a um marcador genético de fácil identificação, então este marcador pode ser usado para selecionar a característica de interesse em um programa de melhoramento (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998). Segundo HAYWARD et al. (1994), o método mais eficaz para este tipo de associação envolve a obtenção de mapas genéticos

detalhados, nos quais são localizadas as regiões contendo locos para características quantitativas (QTL).

A construção de um mapa gera, ainda, um grande número de informações sobre a estrutura e organização do genoma da espécie estudada, tais como padrões de distorção de segregação mendeliana de segmentos cromossômicos ou a presença de inversões, translocações e duplicações de segmentos de DNA (TANKSLEY; MEDINA-FILHO; RICK, 1982).

No contexto de mapeamento de características quantitativas, os genitores são selecionados conforme os respectivos fenótipos contrastantes para as características de interesse. Os marcadores, que são capazes de detectar alelos diferentes entre as linhagens genitoras, são avaliados pelo teste qui-quadrado, enquanto aqueles que apresentam segregação mendeliana são submetidos a análises da população segregante. Esses marcadores são agrupados pela análise de dois pontos e, posteriormente, ordenados em cada grupo de ligação pela análise de três pontos por meio de vários algoritmos, para a construção de mapas genéticos como o MapMAKER (LANDER et al., 1987), GMENDEL (LIU; KNAPP, 1992), JoinMAP (STAM, 1993) e GQMOL (<http://www.ufv.br/dbg/gqmol/gqmol.htm>).

Em café arábica, a construção de mapas de ligação tem sido, particularmente, difícil devido ao baixo nível de polimorfismos (PAILLARD; DUCHATEAU; PÉTIARD, 1993; OROZCO-CASTILLO et al., 1994; LASHERMES et al., 1996, 1999) e complicações advindas da poliploidia (PAILLARD; LASHERMES; PÉTIARD, 1996). Tais complicações incluem o grande número de grupos de ligação, a detecção de locos múltiplos por uma única sonda, e co-migração de fragmentos de diferentes locos, que podem impedir a interpretação de relações alélicas e análises genéticas (O'DONOUGHUE et al., 1995). O Quadro 1 apresenta um resumo das informações e as principais publicações de mapas genéticos para o gênero *Coffea*.

Quadro 1 – Principais trabalhos publicados de mapeamento genético para espécies do gênero *Coffea*, destacando a população avaliada, técnica utilizada, número de indivíduos e número de marcadores avaliados.

Autores	Referência	Espécie estudada	População avaliada	Técnica utilizada	Nº de indivíduos	Nº de <sup>2</sup> Marcadores
PAILLARD; LASHERMES ; PÉTIARD.	Theor. Appl. Genet, v. 93, n. 1-2, p. 41-47, 1996.	<i>Coffea canephora</i> Pierre et Froenher	RC <sub>1</sub>	RAPD e RFLP	85 DH <sup>1</sup>	100 RAPD 47 RFLP
LASHERMES et al.	Genome, v. 44, p. 589-596, 2001.	<i>C. canephora</i>	RC <sub>1</sub>	AFLP, RAPD e RFLP	92 DH <sup>1</sup>	97 AFLP 11 RAPD 18 SSR 36 RFLP
KY et al.	Theor. Appl. Genet, v. 101, n.4, p. 669-676, 2000.	<i>Coffea pseudozanguebariae</i> <i>C. liberica</i> var. <i>dewevrei</i>	RC <sub>1</sub>	AFLP e RFLP	62	167 AFLP 13 RFLP
CABRAL, T.A.T.	Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Vicçosa, 2001	<i>Coffea arabica</i> L.	RC <sub>1</sub>	RAPD	104	87 RAPD
OLIVEIRA et al.	Anais... Porto Seguro-Ba, 2003a.	<i>C. arabica</i>	RC <sub>1</sub>	RAPD	59	117 RAPD
PEARL et al.	Theor. Appl. Genet., v. 108, p. 829-835, 2004	<i>C. arabica</i>	Pseudo-F <sub>2</sub>	AFLP	60	368 AFLP

<sup>1</sup>: DH: duplo haplóides;

<sup>2</sup>: AFLP: Amplified Fragment Length Polymorphism; RAPD: Random Amplified Polymorphic DNA; RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism; SSR: Simple Sequence Repeats.

### 2.3. Detecção de QTLs

A herança de muitas características de interesse agrônomo é consequência da ação conjunta de vários genes. A dificuldade em manipular essas características está relacionada à sua complexidade, principalmente o número de genes envolvidos em sua expressão e as interações entre os locos (epistasia). Marcadores em nível de DNA têm permitido identificar QTLs, estimar seus efeitos genéticos e mapear sua posição, mediante o uso de mapas genéticos, para a maioria das culturas de importância econômica.

Utilizando a informação indireta dos marcadores, é possível, portanto, construir um mapa de QTL. Entende-se por mapeamento de QTL não apenas sua localização física no genoma, mediante alguma escala apropriada, mas também a quantificação e a caracterização de seus

efeitos, como interações alélicas (grau de dominância) de cada um, e mesmo interações epistáticas ou pleiotrópicas. Estudos mais detalhados possibilitam ainda a detecção e a decomposição da interação genótipos x ambientes em nível de cada QTL.

O mapeamento de QTL pode ser também útil no melhoramento genético. Embora a seleção assistida por marcadores (SAM) seja possível sem o mapeamento de QTL, este pode ser útil no direcionamento de cruzamentos específicos, maximizando tanto o número de QTL com alelos favoráveis, como o valor genotípico global, incluindo aí os efeitos epistáticos (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998).

A identificação de QTLs por meio de marcadores moleculares é simples. Do cruzamento entre dois genitores, que contrastem para a maioria das características de interesse, obtém-se uma população segregante ( $F_2$ , retrocruzamento, RIL, e outras). Um número de progênies de, pelo menos, 100 indivíduos (OLIVEIRA, 1998) é avaliado quanto às características de interesse e o fenótipo do marcador molecular é obtido a intervalos regulares (5 – 20 cM), ao longo do genoma. A procura de QTLs realiza-se, mediante associações entre os marcadores segregantes e os valores fenotípicos das características. Se tal associação é identificada, significa que existe uma ligação fatorial entre o marcador e o QTL afetando a característica em estudo (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998; LANZA; GUIMARÃES; SCHUSTER, 2000).

O estudo de QTLs associado ao uso de mapas genéticos, obtidos por marcadores moleculares, permite identificar, mapear e quantificar o efeito dos QTLs. A eficiência na detecção de QTLs depende do número de QTLs, magnitude de seu efeito, herdabilidade da característica, interações entre os genes, tipo e tamanho da população segregante, tamanho do genoma, frequência de recombinação entre o QTL e o marcador e saturação do mapa (TANKSLEY, 1993; YOUNG, 1996). Quanto mais afastados estiverem o marcador e o QTL, menor será a probabilidade de serem transmitidos, conjuntamente, ao mesmo indivíduo. Conseqüentemente, a análise baseada em marcadores poderia não detectar uma associação estatisticamente significativa entre o marcador e o QTL, ou seus efeitos genéticos poderiam ser subestimados.

O mapeamento de QTLs é baseado em testes de associação entre marcadores moleculares e características fenotípicas. Os procedimentos mais simples para detecção de tais associações são: análise de variância, estimativas de máxima verossimilhança, regressão linear simples e não-linear múltipla (FERREIRA, 1995; FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998; LANZA;

GUIMARÃES; SCHUSTER, 2000). Tais procedimentos possibilitam analisar a diferença existente entre os valores fenotípicos para cada marcador, separadamente (EDWARDS; STUBER; WENDEL, 1987). Essas metodologias são de execução simples, bastante flexíveis e não requerem a construção de mapas genéticos, sendo utilizadas apenas para detectar associações entre marcadores e QTLs. As limitações dessas análises consistem em não localizar o QTL e calcular uma estimativa viesada da magnitude do seu efeito (FERREIRA, 1995; FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998; LANZA; GUIMARÃES; SHUSTER, 2000).

Quando se dispõe de um número suficientemente grande de marcadores, ordenados em grupos de ligação, o mapeamento de QTLs, assim como a estimativa de seus efeitos, pode ser realizado, utilizando-se o método de mapeamento por intervalo simples, proposto por LANDER; BOTSTEIN (1989). Esta metodologia baseia-se nas informações da segregação de pares de marcadores adjacentes como unidades de análise, utilizando o método da máxima verossimilhança para estimar a frequência de recombinação e a magnitude do efeito do QTL no intervalo entre dois marcadores ligados no mapa genético (LYNCH; WALSH, 1998). O mapeamento por intervalo simples apresenta baixa resolução, quando dois QTLs estão próximos no mesmo cromossomo, não sendo possível estimar corretamente a posição e a magnitude de seus efeitos. Para solucionar a baixa resolução do mapeamento por intervalo simples, novas metodologias foram propostas. O método de mapeamento por intervalo composto (ZENG, 1993, 1994; JANSEN; STAM, 1994) é assim denominado por que combina o método por intervalo original e a regressão múltipla e o mapeamento por intervalos múltiplos (JANSEN, 1993; KAO; ZENG; TEASDALE, 1999). Este método, que incorpora parâmetros de epistasia ao modelo, é múltiplo, pois, busca simultaneamente estimativas de número, posições, efeitos e interações entre diferentes QTLs.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1. Material genético**

Foi utilizada a população segregante 3, RC<sub>1</sub> de café arábica com 86 plantas, proveniente do cruzamento [(“Mundo Novo IAC 464-18 x Híbrido de Timor UFV 440-22”) x “Híbrido de Timor UFV 440-22”]. O cultivar “Mundo Novo IAC 464-18” (FAZUOLI et al., 2002) corresponde a uma recombinação resultante de um cruzamento natural entre as variedades Sumatra e Bourbon Vermelho de café arábica. O “Híbrido de Timor UFV 440-22” (PEREIRA et al., 2002) originou-se de uma introdução, registrada como UFV 440. Essa introdução originou-se de uma progênie de cafeeiros, selecionados na Estação Regional de Uige (ERU) pertencente ao Instituto de café de Angola, com o registro ERU 209, a qual é proveniente da introdução CIFC 2570.

##### **3.1.1. Avaliações fenotípicas**

Avaliaram-se as seguintes características agronômicas na população segregante 3, RC<sub>1</sub>: altura da planta, diâmetro da copa, vigor vegetativo, posição da ramificação primária, número de ramos laterais, número de nós no ramo principal, número de nós nos ramos laterais, altura do

primeiro ramo e diâmetro do caule. A descrição detalhada dessas características encontra-se no item 3.1. (Capítulo 1).

### **3.1.2. Extração de DNA**

Folhas jovens das 86 plantas da população segregante 3, RC<sub>1</sub> foram trituradas na presença de nitrogênio líquido. O pó resultante foi transferido para tubos *ependorf* contendo tampão de extração (sorbitol 0,35M, Tris-HCl 0,1 M pH 8.0, EDTA Na<sub>2</sub> 0,005 M), tampão de lise nuclear (Tris-Hcl 0,2 M pH 8.0, EDTA Na<sub>2</sub> 0,05 M, NaCl 2M, CTAB 2%), bissulfito de sódio 0,02, sarcosil 0,8% (w/v) e carvão ativo 1% (w/v). Os tubos foram incubados em banho-maria a 65 °C, por uma hora, com agitação de 15 em 15 minutos. Os tubos foram retirados do banho-maria e deixados em repouso até atingirem a temperatura ambiente. Igual volume de clorofórmio: álcool isoamílico (24:1) foi acrescentado. Os tubos foram, suavemente, invertidos durante 10 minutos e centrifugados por cinco minutos a 10.000 rpm. A fase superior (sobrenadante) foi transferida para tubos novos e o DNA foi precipitado com a adição de igual volume de isopropanol gelado (-20 °C). Nesta fase, os tubos foram, suavemente, invertidos várias vezes até precipitar o DNA. Após a precipitação do DNA, os tubos foram centrifugados durante cinco minutos a 10.000 rpm. O sobrenadante foi descartado e o precipitado (DNA) foi lavado com etanol 70%. Após o descarte do etanol, o DNA foi seco ao ar e ressuspenso em TE (Tris-Hcl 10 mM, pH 8.0; EDTA 1 mM) e incubado a 37 °C, por 30 minutos, com RNase A, a uma concentração final de 60µg/ml.

A concentração do DNA foi determinada, a partir de DNA padrão com os fragmentos já conhecidos.

### **3.1.3. Amplificação do DNA e análise eletroforética dos produtos**

As reações de amplificação foram feitas em um volume total de 25 µl, contendo Tris-HCl 10 mM (pH 8.3), KCl 50 mM, MgCl<sub>2</sub> 2 mM, 0,1 mM de cada dos desoxirribonucleotídeos (dATP, dTTP, dGTP e dCTP), *primer* (Operon Technologies, Alameda, CA, EUA), 0,2 µM, uma unidade da enzima Taq polimerase e 25 ng de DNA genômico. O volume final foi completado com água ultrapura. Os ciclos de amplificação foram realizados em termociclador

(Gene Amp PCR System 9600, Perkin-Elmer), programado para um ciclo de desnaturação (95 °C por 1 minuto), 39 ciclos para amplificação (15 seg a 94°C, 30 seg a 35°C, 60 seg a 72°C) e, finalmente, 7 min a 72°C. Os fragmentos amplificados foram separados por eletroforese em gel de agarose 1,2% em TBE 1X (Tris-borato 90 mM e EDTA 2 mM) por, aproximadamente, quatro horas a 80 volts. Terminada a eletroforese, o gel foi corado com brometo de etídio 0,2 µg/ml, durante 30 minutos e colocado para descorar durante uma hora. Terminada a coloração e descoloração, o gel foi fotografado, utilizando-se o sistema Eagle Eye II (Stratagene, La Jolla, CA). Os fragmentos *RAPDs* foram registrados como presença ou ausência de bandas.

### 3.1.4. Construção do mapa de ligação

Os polimorfismos *RAPD* gerados foram classificados, de acordo com o genitor de origem. Os marcadores originados do genitor “Mundo Novo IAC 464-18” foram codificados com o número 1 e aqueles provenientes do genitor “Híbrido de Timor UFV 440-22” foram codificados com o número 0. Os fragmentos presentes no “Mundo Novo IAC 464-18” e no  $F_1$  (H 464-2), que segregaram na população segregante 3 ( $RC_1$ ) foram analisados pelo teste de qui-quadrado ( $\chi^2$ ) para taxas de segregações 1:1 e 2:1. A proporção 1:1 é esperada para o caso de herança dissômica e tetrassômica, em que a planta  $F_1$  tem apenas um alelo dominante (Aa e Aaaa), enquanto a proporção 2:1 representa uma distorção da segregação 1:1. Para a construção do mapa de ligação, foram consideradas apenas os marcadores com segregação 1:1, que é a proporção esperada para herança dissômica em população de retrocruzamento 1 ( $RC_1$ ). A Análise de dois pontos foi usada, para identificar os grupos de ligação com valores de recombinação máximo de 0,4 e *LOD* score mínimo de 3,0. O limite convencional para este critério é definido como  $LOD \geq 3,0$ , que corresponde à proporção 1.000:1 a favor da ligação (LEWIN, 1994). A função de Kosambi (KOSAMBI, 1944) foi usada para conversão das taxas de recombinação em distância de mapa em cM (centiMorgan).

A definição dos parâmetros *LOD score* mínimo (logaritmo na base 10 da razão entre a probabilidade que os marcadores estejam ligados e a probabilidade que eles não estejam ligados) de 3,0 e *r* (máxima frequência de recombinação entre o QTL e o marcador) de 0,40 para o agrupamento dos marcadores foi a mesma adotada por CABRAL (2001). Para determinação da ordem mais provável dos marcadores, em cada grupo de ligação, utilizou-se o

método (SARF). Este método, baseia-se na escolha da melhor ordem pela menor soma das recombinações adjacentes.

Todos os marcadores com segregação mendeliana 1:1 foram avaliados, a fim de para determinar associações com as nove características agronômicas pela metodologia de marca simples ( $P < 0,05$  e  $P < 0,01$ ), com a finalidade de detectar os possíveis QTLs candidatos. Análises de regressão linear simples foram realizadas, objetivando comprovar os resultados das análises de variância e, adicionalmente, determinar o  $R^2$  que, neste caso, é interpretado como a proporção da variação fenotípica explicada pelo marcador. Este procedimento possibilita a avaliação de todos os marcadores, em relação às características fenotípicas, inclusive aqueles que não se agruparam no mapa de ligação. A precisão desta metodologia é baixa, pois, não permite a detecção da posição do QTL nem a estimação dos efeitos gênicos do QTL.

As informações do mapa de ligação foram utilizadas para mapear os QTLs, ao longo dos grupos de ligação, por meio do mapeamento por intervalo simples (LANDER; BOTSTEIN, 1989) e mapeamento por intervalo composto (ZENG, 1993, 1994; JANSEN; STAM, 1994).

#### **3.1.4.1. Denominação dos marcadores no mapa de ligação**

Os marcadores *RAPD* foram identificados com as letras do *primer* da série Operon.

#### **3.1.5. Teste de normalidade**

As nove características agronômicas foram avaliadas quanto à sua normalidade, pelo teste de Lilliefors. Conforme este teste, a hipótese  $H_0$  corresponde a testar se é razoável considerar que os dados seguem distribuição normal. As estimativas de simetria e curtose foram, também, consideradas a fim de facilitar as comparações entre as distribuições observadas. Os testes de simetria e curtose possibilitam estimar alterações dos parâmetros próprios da distribuição normal, que se caracteriza por apresentar-se simétrica (grau de simetria nulo) e mesocúrtica (valor de curtose igual a 3). Tais testes foram realizados, conforme SCHUSTER; CRUZ (2004).

### **3.1.6. Identificação e mapeamento de QTLs**

Primeiramente, foram realizados estudos de repetibilidade de todos os dados fenotípicos das 86 plantas da população segregante 3, RC<sub>1</sub> (épocas 1 a 5) (Capítulo 1 – Quadros 5 e 7). O coeficiente de repetibilidade é utilizado, em melhoramento genético, como limite superior da herdabilidade em sentido amplo, em nível de indivíduos, assim como critério para avaliar a eficiência do processo seletivo (LUSH, 1964). A estimativa do coeficiente de herdabilidade atende a duas finalidades básicas no melhoramento de plantas, a de demonstrar a relativa facilidade com que diferentes características são selecionadas em determinado esquema de melhoramento e a de permitir que estimativas dos progressos esperados com a seleção sejam obtidos. Para FALCONER (1987), a herdabilidade de uma característica é uma das mais importantes propriedades de uma população, porque expressa a proporção da variância total que é atribuída ao efeito médio dos genes, o que determina o grau de semelhança entre aparentados. A seleção é efetuada, fundamentalmente, nessa semelhança. Embora as estimativas de repetibilidade das nove características avaliadas no presente estudo estejam confundindo-se com o efeito ambiental, os valores obtidos estão dentro do limite estabelecido para a cultura em estudo (Quadro 1). Adicionalmente, associações entre essas nove características foram obtidas, a fim de verificar os efeitos pleiotrópicos dos genes (Capítulo 2 – Quadro 4).

### **3.1.7. Determinação do ponto de corte para o mapeamento de QTLs**

Devido ao grande número de permutações necessárias à obtenção do valor do ponto de corte, bem como o fato de haver diferentes épocas de avaliação no experimento, esta estratégia é computacionalmente lenta. A significância de um QTL é atribuída pela razão de verossimilhança entre a probabilidade de existência do QTL e a probabilidade de que nenhum QTL exista em determinada posição do mapa de ligação. A estatística LR está associada ao  $\chi^2$  com 1 grau de liberdade para o caso de mapeamento em que se considera a população de retrocruzamento. O nível crítico foi estabelecido, conforme ZENG (1994). De acordo com esta metodologia, mesmo um nível de significância não muito rigoroso para o mapa pode levar a um nível de significância drástico para cada intervalo, aumentando a chance de se cometer o erro tipo I. Por este motivo, foi utilizado um nível de significância de 10% para o mapa.

### **3.1.8. Mapeamento de QTLs utilizando a metodologia de marca simples**

A associação entre marcadores individuais e a expressão das nove características quantitativas foi testada, utilizando-se a metodologia de marca simples e considerando como significativos os valores de  $P < 0,05$  e  $P < 0,01$ . Todas as análises moleculares foram realizadas, utilizando-se o programa GQMOL, 2004.2.1 (<http://www.ufv.br/dbg/gqmol/gqmol.htm>) em desenvolvimento na Universidade Federal de Viçosa - UFV.

### **3.1.9. Mapeamento de QTLs utilizando a metodologia de mapeamento por intervalo simples**

Para aumentar o poder de detecção de QTLs e melhorar a precisão das estimativas do efeito e posição dos QTLs, aplicou-se o método de mapeamento por intervalo simples, proposto por LANDER; BOTSTEIN (1989). O mapeamento por intervalo baseia-se em informações da segregação de pares de marcadores adjacentes, como unidades de análise. Portanto, apenas os marcadores ligados foram avaliados. As análises foram realizadas, utilizando-se as frequências de recombinação entre os marcadores, determinadas pelas análises de ligação, sendo avaliado cada cM (centiMorgan) do genoma mapeado.

O teste estatístico utilizado, para verificação da existência de associação entre um marcador e um QTL, foi a razão de verossimilhança ou, mais especificamente, o dobro do logaritmo natural da razão entre a máxima verossimilhança para o modelo completo e máxima verossimilhança para o modelo reduzido. Tal teste foi realizado, conforme SCHUSTER; CRUZ (2004). A verossimilhança obtida, assumindo-se a presença de um QTL ligado a um marcador único, ou em um intervalo entre dois marcadores, é comparada com a verossimilhança maximizada, em que não há QTL segregando.

A razão de verossimilhança (LR), em que se assume QTL ligado na hipótese alternativa e a ausência de QTL na hipótese nula, pode ser plotada para cada posição, gerando uma curva característica de verossimilhança (mapa de verossimilhança). Para o retrocruzamento, apenas o efeito conjunto de  $g$  (efeito conjunto de  $a$  e  $d$ ) e a posição  $r_a$  (frequência de recombinação entre o QTL e o marcador) são estimados e o número de graus de liberdade é um ( $g$  é estimado no modelo completo, mas não no reduzido). O teste é feito para cada valor de  $r_a$  nos dois modelos,

utilizando a estatística de  $\chi^2$ . Não há grau de liberdade para  $r_a$ , pois, este não é fixado no modelo reduzido (o teste é para ausência de QTL e não para a independência).

A detecção da presença e da posição do QTL é feita, ao mesmo tempo. Quando o máximo valor de LR ultrapassa o limite crítico, indica a presença do QTL, enquanto o pico da curva indica a posição deste. Quando o máximo valor de LR não ultrapassa o limite crítico, é sinal de que não há QTL no intervalo testado.

### **3.1.10. Mapeamento de QTLs utilizando a metodologia de mapeamento por intervalo composto**

Os modelos lineares simples, como análise de variância e regressão linear simples, não necessitam das informações dos mapas de ligação, sendo a distribuição dos valores fenotípicos analisada para cada marcador separadamente. Por utilizarem apenas as diferenças entre as médias dos marcadores, não é possível estimar a magnitude do efeito gênico do QTL nem sua posição no genoma (LYNCH; WALSH, 1998). Desse modo, foi utilizado o método de mapeamento por intervalo composto (ZENG, 1993, 1994; JANSEN; STAM, 1994), objetivando aumentar o poder de detecção de QTLs e melhorar a precisão das estimativas do efeito e da posição dos possíveis QTLs. Este método é baseado na segregação de marcadores adjacentes ao QTL, utilizando-se marcadores em outros intervalos para isolar o efeito de outros possíveis QTLs se estiverem ligados.

A metodologia de mapeamento por intervalo composto inclui, na análise, marcadores adicionais além daqueles que compreendem o intervalo. Tais marcadores são denominados cofatores. Os cofatores são marcadores associados à expressão da característica, permitindo a redução da variância residual provocada por outros QTLs fora do intervalo considerado, podendo estar ou não localizados no mesmo grupo de ligação do QTL. Esta redução na soma de quadrados dos desvios promove aumento nos valores de LR, e conseqüentemente, maior poder de detecção da análise por intervalo composto. Os cofatores são normalmente, definidos conforme o número da progênie, saturação do mapa, e outros.

A inclusão de cofatores ligados visa remover as influências dos possíveis QTLs localizados fora do intervalo em estudo. Neste sentido, é delimitado um espaço “janela” (área de proteção dentro da qual nenhum marcador é cofator) aquém e além de cada marca, para evitar problemas de multicolinearidade, porém com possibilidade de redução no poder de

detecção do QTL pela redução dos valores de LR. No programa GQMOL 2004.2.1, optou-se pela inclusão de cofatores sem restrição, ou seja, neste caso a “janela” foi abolida. A inclusão de cofatores não ligados foi também avaliada com a finalidade de promover redução na soma de quadrados de desvio e aumentar os valores de LR, uma vez que, se estiverem associados a outros QTLs, estes marcadores devem responder por parte da variação da característica quantitativa analisada.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Detecção de polimorfismos e seleção dos oligonucleotídeos

Um total de 1080 *primers RAPD* foi avaliado entre os genitores e F<sub>1</sub>. Destes, 231 (21,39%) amplificaram bandas específicas presentes no “Mundo Novo IAC 464-18” e F<sub>1</sub> (H 464-2) e ausentes no “Híbrido de Timor UFV 440-22”. Em café robusta, PAILLARD; LASHERMES; PÉTIARD (1996), trabalhando com duplos haplóides (DHs), encontraram taxa de polimorfismo com marcadores *RAPD* igual a 29%.

Desses 231 *primers*, 181 (78,36%) foram selecionados por apresentarem padrão polimórfico mais intenso e reprodutível nos genitores e no indivíduo F<sub>1</sub> (H 464-2).

Dos 181 *primers* selecionados, 112 (61,88%) foram utilizados para amplificar o DNA das 86 plantas da população segregante 3 (RC<sub>1</sub>). Desses 112 *primers*, 74 foram obtidos a partir do trabalho desenvolvido por CABRAL (2001). Esses 74 *primers* deram origem a 87 marcadores *RAPD* (1,18 fragmento polimórfico por *primer*), dos quais 76 (87,36%) apresentaram segregação

1:1 ( $P < 0,01$ ), sendo que, 11 (12,64%) destes apresentaram segregação (2:1). Os 38 novos *primers* selecionados, a partir deste estudo, deram origem a 50 marcadores *RAPD* (1,32 fragmentos polimórficos por *primer*), dos quais 48 (96%) apresentaram segregação 1:1 ( $P < 0,01$ ), 2 segregação 2:1 (4%) (Quadro 2).

Quadro 2 – Marcadores *RAPD* originados do genitor “Mundo Novo IAC 464-18” segregando na proporção mendeliana esperada (1:1) e o valor de qui-quadrado significativo a  $P < 0,01$ . O número “1”, representa o alelo presente no “Mundo Novo IAC 464-18” e o número “0”, representa o alelo presente no “Híbrido de Timor UFV 440-22”. O número “9”, representa a classe dos genótipos que falharam na reação de amplificação. *Primer* com mais de um produto polimórfico foi identificado com as letras a, b e c.

<i>Primer</i> <sup>1</sup>	1	0	9	$\chi^2$	Probabilidade (%)	<i>Primer</i> <sup>2</sup>	1	0	9	$\chi^2$	Probabilidade (%)
OPA01*	42	44	-	0,0470	82,9250 <sup>ns</sup>	OPF05*	47	39	-	0,7440	38,8320 <sup>ns</sup>
OPM06a*	51	35	-	2,9770	8,4470 <sup>ns</sup>	OPG11*	42	40	4	0,0490	82,5200 <sup>ns</sup>
OPM06b*	43	43	-	0,0000	100,0000 <sup>ns</sup>	OPG13*	50	36	-	2,2790	13,1131 <sup>ns</sup>
OPM18*	41	41	4	0,0000	100,0000 <sup>ns</sup>	OPG14*	41	45	-	0,1860	66,6228 <sup>ns</sup>
OPQ05a*	43	42	1	0,0120	91,3630 <sup>ns</sup>	OPJ17*	41	40	5	0,0120	91,1528 <sup>ns</sup>
OPQ05b*	38	47	1	0,9530	32,8970 <sup>ns</sup>	OPN14*	35	45	6	1,2500	26,3552 <sup>ns</sup>
OPQ06*	39	47	-	0,7440	38,8320 <sup>ns</sup>	OPM17*	43	40	3	0,1080	74,1934 <sup>ns</sup>
OPR16*	50	34	2	3,048	8,0860 <sup>ns</sup>	OPP01*	49	35	2	2,3330	12,6630 <sup>ns</sup>
OPS07a*	32	46	8	2,5130	11,2920 <sup>ns</sup>	OPP06*	32	40	14	0,8890	34,5779 <sup>ns</sup>
OPS07b*	40	37	9	0,117	73,2440 <sup>ns</sup>	OPP08*	41	44	1	0,1060	74,4882 <sup>ns</sup>
OPK02*	39	30	17	1,1740	27,8600 <sup>ns</sup>	OPP19*	40	43	3	0,1080	74,1934 <sup>ns</sup>
OPQ12*	38	48	-	1,1630	28,0888 <sup>ns</sup>	OPR17*	40	35	11	0,3330	56,3703 <sup>ns</sup>
OPBA06*	46	40	-	0,4190	51,7634 <sup>ns</sup>	OPS09*	52	32	2	4,7620	2,9096 <sup>ns</sup>
OPS10a*	49	37	-	1,6740	19,5670 <sup>ns</sup>	OPW08a*	49	36	1	1,9880	15,8530 <sup>ns</sup>
OPU09*	46	35	5	1,4940	22,1620 <sup>ns</sup>	OPW08b*	40	45	1	0,2940	58,7590 <sup>ns</sup>
OPZ14*	45	40	1	0,2940	58,7600 <sup>ns</sup>	OPZ09*	39	46	1	0,5760	44,7700 <sup>ns</sup>
OPBB10*	45	32	9	2,1950	13,8480 <sup>ns</sup>	OPW13a*	39	47	-	0,7440	38,8320 <sup>ns</sup>
OPBD02*	50	36	-	2,2790	13,1130 <sup>ns</sup>	OPW13b*	46	40	-	0,4190	51,7630 <sup>ns</sup>
OPB02*	51	35	-	2,9770	8,4470 <sup>ns</sup>	OPBG19*	51	35	-	2,9770	8,4470 <sup>ns</sup>
OPB20*	42	42	2	0,0000	100,0000 <sup>ns</sup>	OPBH16*	33	46	7	2,1390	14,3570 <sup>ns</sup>
OPE19a*	43	38	5	0,3090	57,8520 <sup>ns</sup>	OPC02*	30	37	19	0,7310	39,2450 <sup>ns</sup>
OPE19b*	37	44	5	0,6050	43,6700 <sup>ns</sup>	OPO04*	48	37	1	1,4240	23,2823 <sup>ns</sup>
OPG06a*	42	43	1	0,0120	91,3630 <sup>ns</sup>	OPX09*	49	35	2	2,3330	12,6630 <sup>ns</sup>
OPG06b*	39	46	1	0,5760	44,7700 <sup>ns</sup>	OPX10*	36	39	11	0,1200	72,9030 <sup>ns</sup>
OPG15*	44	42	-	0,0470	82,9250 <sup>ns</sup>	OPZ08*	41	39	6	0,0500	82,3060 <sup>ns</sup>
OPJ11a*	41	44	1	0,1060	74,4880 <sup>ns</sup>	OPD13*	44	41	1	0,1060	74,4880 <sup>ns</sup>
OPJ11b*	47	38	1	0,9530	32,8970 <sup>ns</sup>	OPD14*	35	32	19	0,1340	71,3990 <sup>ns</sup>
OPO15*	37	48	1	1,4240	23,2820 <sup>ns</sup>	OPI20*	42	42	2	0,0000	100,0000 <sup>ns</sup>
OPBD05*	46	39	1	0,5760	44,7699 <sup>ns</sup>	OPK13b*	45	40	1	0,2940	58,7590 <sup>ns</sup>
OPT06*	44	42	-	0,0470	82,9248 <sup>ns</sup>	OPO06a*	39	43	4	0,1950	65,8690 <sup>ns</sup>

<sup>1</sup> = marcadores estabelecidos a partir do trabalho de CABRAL (2001);

\*\* = marcadores *RAPD* estabelecidos a partir deste estudo.

QUADRO 2 – Continuação...

<i>Primer</i> <sup>II</sup>	1	0	9	$\chi^2$	Probabilidade (%)	<i>Primer</i> <sup>II</sup>	1	0	9	$\chi^2$	Probabilidade (%)
OPU14*	40	45	1	0,2940	58,7594 <sup>ns</sup>	OPO06b*	38	44	4	0,4390	50,7590 <sup>ns</sup>
OPV08*	50	36	-	2,2790	13,1131 <sup>ns</sup>	OPP16*	40	46	-	0,4190	51,7634 <sup>ns</sup>
OPV15*	40	45	1	0,2940	58,7594 <sup>ns</sup>	OPV17*	36	36	14	0,0000	100,0000 <sup>ns</sup>
OPW01*	49	34	3	2,7110	9,9670 <sup>ns</sup>	OPY02*	52	31	3	5,3130	2,1160 <sup>ns</sup>
OPBE12*	50	36	-	2,2790	13,1130 <sup>ns</sup>	OPY03*	41	41	4	0,0000	100,0000 <sup>ns</sup>
OPY17a*	40	41	5	0,0120	91,1530 <sup>ns</sup>	OPBC18*	46	38	2	0,7620	38,2730 <sup>ns</sup>
OPZ06*	39	44	3	0,3010	58,313 <sup>ns</sup>	OPBF18*	43	40	3	0,1080	74,1930 <sup>ns</sup>
OPBG05*	33	39	14	0,5000	47,9500 <sup>ns</sup>	OPV07*	36	47	3	1,4580	22,7276 <sup>ns</sup>
OPAF02**	47	39	-	0,7440	38,8320 <sup>ns</sup>	OPAV06c**	29	50	7	5,5820	1,8143 <sup>ns</sup>
OPAF16**	44	42	-	0,0470	82,9250 <sup>ns</sup>	OPAL12**	45	40	1	0,2940	58,7600 <sup>ns</sup>
OPAD19**	41	45	-	0,1860	66,6230 <sup>ns</sup>	OPAK05**	42	39	5	0,1110	73,8880 <sup>ns</sup>
OPAF10a**	43	41	2	0,0480	82,7260 <sup>ns</sup>	OPAH09**	39	43	4	0,1950	65,8690 <sup>ns</sup>
OPAF10b**	47	38	1	0,9530	32,8972 <sup>ns</sup>	OPAN12**	41	44	1	0,1060	74,4880 <sup>ns</sup>
OPAA16a**	45	40	1	0,2940	58,7600 <sup>ns</sup>	OPAT13a**	51	34	1	3,4000	6,5200 <sup>ns</sup>
OPAA16b**	41	44	1	0,1060	74,4882 <sup>ns</sup>	OPAT13b**	49	36	1	1,9880	15,853 <sup>ns</sup>
OPAB01a**	45	40	1	0,2940	58,7594 <sup>ns</sup>	OPAU10**	42	43	1	0,0120	91,3630 <sup>ns</sup>
OPAB01b**	45	40	1	0,2940	58,7594 <sup>ns</sup>	OPAV09a**	41	44	1	0,1060	74,4880 <sup>ns</sup>
OPAC15**	39	46	1	0,5760	44,7700 <sup>ns</sup>	OPAV09b**	45	40	1	0,2940	58,7594 <sup>ns</sup>
OPAE09**	44	41	1	0,1060	74,4880 <sup>ns</sup>	OPAV17**	42	42	2	0,0000	100,0000 <sup>ns</sup>
OPAA10**	40	46	-	0,4190	51,7634 <sup>ns</sup>	OPAX20**	38	45	3	0,5900	44,2280 <sup>ns</sup>
OPAV05**	46	40	-	0,4190	51,7630 <sup>ns</sup>	OPAR18**	39	43	4	0,1950	65,8690 <sup>ns</sup>
OPAY01**	40	42	4	0,0490	82,5200 <sup>ns</sup>	OPAQ19**	47	32	7	2,8480	9,14820 <sup>ns</sup>
OPAK08a**	46	39	1	0,5760	44,7700 <sup>ns</sup>	OPAK02**	37	48	1	1,4240	23,2823 <sup>ns</sup>
OPAK08b**	50	35	1	2,6470	10,3740 <sup>ns</sup>	OPAL09**	42	41	3	0,0120	91,2596 <sup>ns</sup>
OPAK11a**	49	36	1	1,9880	15,8526 <sup>ns</sup>	OPAV07a**	37	48	1	1,4240	23,2823 <sup>ns</sup>
OPAK11b**	47	38	1	0,9530	32,8972 <sup>ns</sup>	OPAV07b**	43	42	1	0,0120	91,3627 <sup>ns</sup>
OPAG08**	42	44	-	0,0470	82,9250 <sup>ns</sup>	OPAV07c**	40	45	1	0,2940	58,7594 <sup>ns</sup>
OPAF15a**	49	37	-	1,6740	19,5668 <sup>ns</sup>	OPAN16**	43	42	1	0,0120	91,3630 <sup>ns</sup>
OPAF15b**	39	47	-	0,7440	38,8320 <sup>ns</sup>	OPAP02**	39	46	1	0,5760	44,7699 <sup>ns</sup>
OPAT02**	35	47	4	1,7560	18,5110 <sup>ns</sup>	OPAT14**	39	46	1	0,5760	44,7699 <sup>ns</sup>
OPAV06a**	33	46	7	2,1390	14,3576 <sup>ns</sup>	OPAS06**	43	40	3	0,1080	74,1934 <sup>ns</sup>
OPAV06b**	39	40	7	0,0130	91,0420 <sup>ns</sup>	OPAF18**	43	43	-	0,0000	100,0000 <sup>ns</sup>

<sup>II</sup>. \* = marcadores estabelecidos a partir do trabalho de CABRAL (2001);

\*\* = marcadores *RAPD* estabelecidos a partir deste estudo.

Em café arábica, PEARL et al. (2004) observaram que das 128 combinações de *primers AFLP*, 172 produziram fragmentos polimórficos (1,34 fragmentos polimórficos por *primer*). Usando-se enzimas de restrição *Eco* RI e *Mse* I, a taxa de polimorfismo aumentou e uma média de 2,1 marcadores polimórficos por *primer* (*AFLP*) foi obtida. Segundo os autores, um total de 464 marcadores polimórficos foram obtidos, a partir de 288 pares de *primers*. Destes, 188 (41%) apresentaram segregação 1:1, 160 (34%) segregação 3:1 e 116 (25%) segregação distorcida.

Segregação distorcida tem sido relatada, frequentemente, em cruzamentos interespecíficos para todos os tipos de marcadores (morfológicos, isoenzimas, *RFLP*, *RAPD* e *AFLP*). Segundo esses estudos, a porcentagem de locos apresentando segregação distorcida é variável: 36% em arroz (XU et al., 1997; VIRK; FOR-LLOYD; NEWBURY, 1998), 14% em seringueira (LESPINASSE et al., 2000) e 30% em *Coffea* sp (KY et al., 2000). Em cruzamentos interespecíficos de espécies selvagens com a cultivada *Lycopersicum esculentum*, a taxa de distorção tem variado de 51% a 80% (PATERSON et al., 1988, 1991; DE VICENTE; TANKSLEY, 1993). Segregação distorcida foi também observada em café robusta (PAILLARD; LASHERMES; PÉTIARD, 1996; LASHERMES et al., 2001) e café arábica (CABRAL, 2001). As explicações para tais distorções são seleção gamética, zigótica, pós-zigótica ou zigotos letais (GADISH; ZAMIR, 1986; ZAMIR; TADMOR, 1986; WANG et al., 1998).

CABRAL (2001) observou que, do total de 92 marcadores polimórficos, 82 tiveram segregação 1:1, quatro segregação 2:1 (4,3%) e dois segregação 5:1 (2,2%). Segundo a autora, para os marcadores que segregaram 2:1, houve excesso de heterozigotos. A segregação 2:1 é considerada uma distorção da segregação 1:1. Já a proporção 5:1 pode ser resultante de segregação tetrassômica (ALLARD, 1971; SYBENGA, 1972).

Embora relatos na literatura que o descarte dos marcadores de segregação distorcida é uma possibilidade que deve ser avaliada considerando as causas que podem resultar em tais distorções, neste estudo optou-se pelo descarte de tais marcadores. A utilização de marcadores com segregação distorcida pode alterar a construção dos grupos de ligação, uma vez que os programas utilizados para calcular a frequência de recombinação levam em consideração a segregação 1:1 em  $RC_1$ . Marcadores com desvio de segregação podem aumentar a probabilidade do erro tipo I, ou seja, assumir como verdadeira uma associação entre dois locos quando ela não existe.

#### **4.2. Construção do mapa de ligação**

No Quadro 2 estão indicados, com um asterisco, os marcadores estabelecidos a partir do estudo de Cabral (2001) e com dois asteriscos os novos marcadores *RAPD*, estabelecidos a partir do presente trabalho. Um total de 112 *primers* deram origem a 137 marcadores *RAPD* (1,22 fragmentos polimórficos por *primer*), dos quais 124 (90,51%) apresentaram segregação 1:1 ( $P <$

0,01) e 13 (9,49%) segregação 2:1. Desses 137 marcadores, 13 (OPS10b, OPS10c, OPL11, OPH08, OPR09, OPZ15, OPBB09, OPK13a, OPM02, OPY01, OPY17b, OPAE07 e OPAR03) apresentaram segregação 2:1, que é uma distorção da segregação 1:1, sendo, então retirados da análise. Os 124 marcadores restantes, que segregaram na proporção 1:1, foram utilizados na construção do mapa de ligação parcial. Destes 124 marcadores, 26 não mostraram-se ligados aos grupos formados e foram retirados da análise. Os 98 marcadores restantes foram mapeados em 10 grupos de ligação (GLs), cobrindo 789,55 cM. O mapa de ligação parcial obtido a partir das 86 plantas da população segregante 3 (RC<sub>1</sub>) de café arábica, apresentando os 98 marcadores *RAPD* distribuídos em 10 grupos de ligação é apresentado na Figura 1.

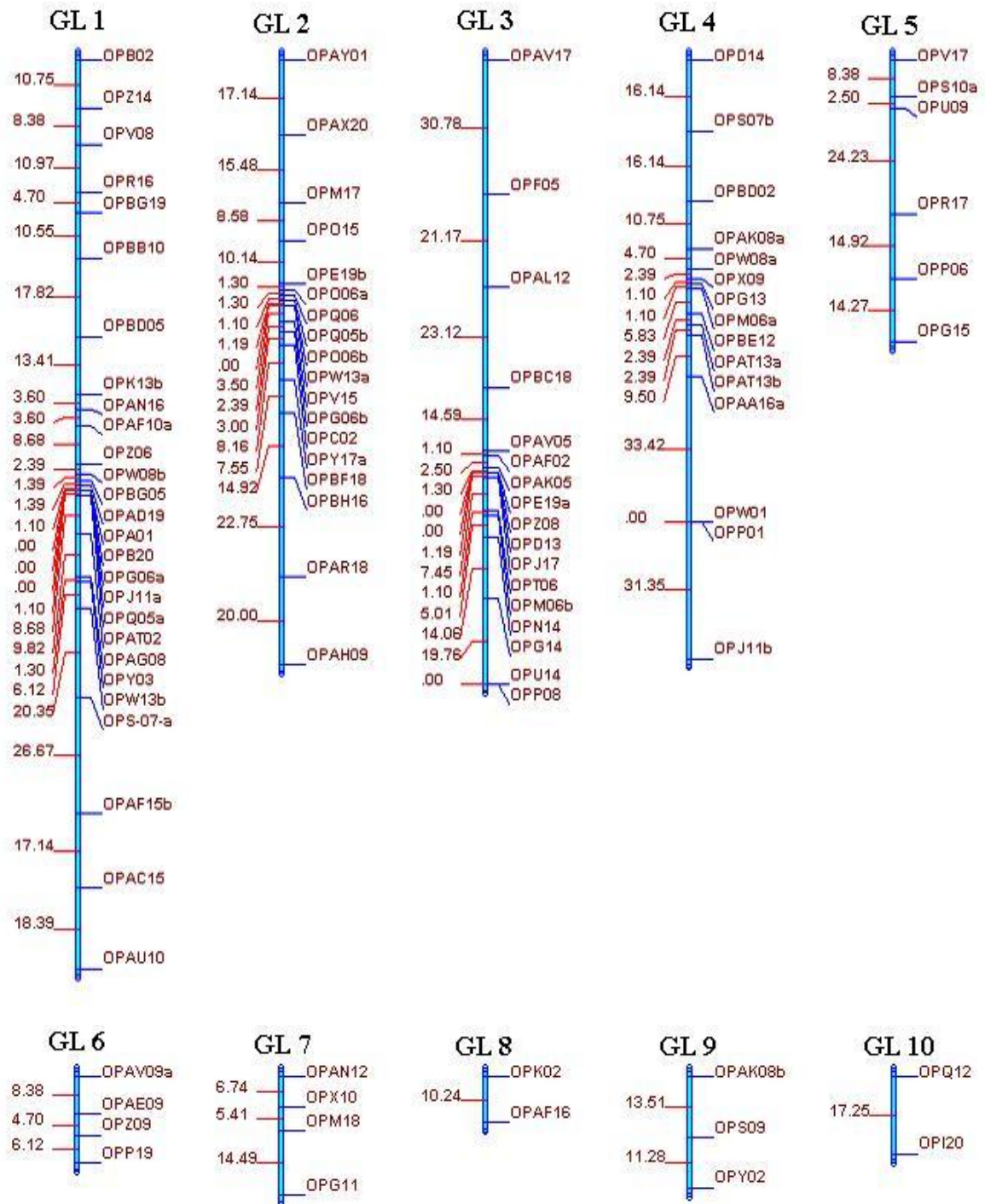


Figura 1– Mapa parcial de ligação gênica de café arábica com base em marcadores *RAPD*, obtido a partir do cruzamento [(“Mundo Novo IAC 4664-18 x Híbrido de Timor CIFC 2570”) x (Híbrido de Timor CIFC 2570)]. Os valores à esquerda representam as distâncias entre os marcadores (em cM), e à direita está a designação dos marcadores *RAPD*.

Considerando todos os grupos de ligação (GLs), a distância média entre dois marcadores adjacentes foi 8,97 cM, sendo que, dentro de cada grupo, a distância média variou de 6,4 cM (GL 6) a 17,25 cM (GL 10). O maior intervalo entre dois marcadores foi de 33,42 cM, no GL 4, sendo que 88,64% dos intervalos foram menores que 20 cM. Tal fato torna este mapa apropriado para o mapeamento de QTLs, cujos modelos admitem intervalos de até 20 cM entre marcadores.

Em café robusta, PAILLARD; LASHERMES; PÉTIARD (1996) observaram distância média de 10 cM entre dois marcadores, considerando todos os grupos; dentro de cada grupo, a distância média variou de 3,25 a 18,3 cM. O maior intervalo foi de 30,7 cM e 11 intervalos excederam 25 cM.

Como o café arábica é um alotetraplóide (KRUG; CARVALHO, 1952; CARVALHO, 1952) segmentar (GRASSIAS; KAMMACHER, 1975; MEDINA-FILHO et al., 1984; PINTO-MAGLIO; CRUZ, 1998), é esperado que ocorram segregações tetrassômicas em adição a segregações dissômicas (SYBENGA, 1972). Entretanto, estudos de herança têm demonstrado que o café arábica possui um sistema genético, exclusivamente, dissômico (KRUG; MENDES, 1940; KRUG; CARVALHO 1952; LASHERMES et al., 2000). Estudos citogenéticos, realizados em café arábica, mostraram que apesar da grande semelhança estrutural e morfológica entre cromossomos homeólogos, a formação de tetravalentes é rara, prevalecendo a formação de bivalentes (PINTO-MAGLIO; CRUZ, 1998). Na origem de café arábica, provavelmente, houve duplicação dos cromossomos das duas espécies genitoras; portanto, deve haver pareamento preferencial dos homólogos, mesmo havendo grande similaridade entre a maioria dos cromossomos homeólogos. É provável que este pareamento preferencial tenha controle genético, como ocorre em trigo (RILEY; CHAPMAN, 1958; RILEY; CHAPMAN; KIMBER, 1960; FELDMAN, 1993), o que é discutido por PINTO-MAGLIO; CRUZ (1998) e LASHERMES et al. (2000) como possível explicação da herança dissômica em café arábica.

Considerando que café arábica é tetraplóide e o café robusta diplóide, pode-se admitir que na origem espontânea do Híbrido de Timor ou não houve redução cromática na formação dos esporos, que originaram os gametas, ou houve duplicação cromossômica no gameta de café robusta. Em centenas de metáfases de células das plantas CIFC 832/1 e CIFC 832/2, o número de cromossomos encontrado com maior frequência foi 44. Os cromossomos não apresentaram grandes diferenças morfológicas. Entretanto, é possível separar dois pares de cromossomos

grandes, um par pequeno, sendo o restante de tamanho intermediário. Provavelmente estes dois pares maiores são provenientes um de café robusta e outro de café arábica (RIJO, 1974).

A disponibilidade de um mapa saturado de ligação gênica é uma ferramenta útil para o entendimento da genética do cafeeiro. Com a integração de mapas moleculares e informações citológicas, os geneticistas e melhoristas estarão aptos a estudar características complexas e obter valiosas informações sobre o processo de evolução de poliplóides. Outros tipos de marcadores moleculares (*RFLP*, *AFLP* e *SSR*) poderão ser utilizados para a melhor cobertura do genoma do cafeeiro, possibilitando a formação de novos grupos e saturação dos intervalos nos grupos já obtidos.

#### **4.3. Teste de normalidade**

Os resultados das análises do teste de normalidade indicaram que a característica VIVG foi a que mais se desviou da distribuição normal, nas cinco épocas de avaliação. Tal fato implica a rejeição da hipótese  $H_0$ , mesmo a 1% de probabilidade. Embora as características PRAP, NRAL e NNRP (época 1) tenham sido significativas pelo teste de Lilliefors, as estimativas de curtose e simetria apresentadas por tais características estão dentro do padrão de distribuição normal. Este fato foi também observado para as características PRAP e NNRP (época 2), PRAP, NRAL e NNRP (época 3), PRAP, NRAL, NNRP e NNRL (época 4), DICP, PRAP e NNRL (época 5). As estimativas de simetria e curtose confirmam que a característica VIVG foi a que apresentou distribuição divergente, em relação à distribuição normal (dados não apresentados).

As possíveis explicações para a não normalidade dos dados da característica VIVG são o número reduzido da progênie e as condições do experimentais utilizadas.

#### **4.4. Mapeamento de QTLs utilizando a metodologia de marca simples**

Em função da estrutura da população de mapeamento (população segregante, 3  $RC_1$ ) e dos marcadores utilizados nas análises, segregando na proporção 1:1, apenas o efeito conjunto de  $g$  foi estimado. As estimativas de repetibilidade estimadas em nível de indivíduos, para as nove características avaliadas, são apresentadas no Capítulo 1.

De acordo com este estudo, os coeficientes de repetibilidade e seus respectivos coeficientes de determinação variaram de 0,67 (91,33%) para o NRAL a 0,99 (99,98%) para a ALPR. Para a característica DIAC, a única característica avaliada em apenas quatro épocas, as estimativas destes dois parâmetros variaram de 0,84 (95,57%) a 0,86 (96,08%) (Quadros 5 e 7). As altas estimativas de repetibilidade para as nove características avaliadas apontam tais características como sendo bons indicadores da acurácia da identificação de QTLs para a seleção precoce, justificando as subseqüentes análises para detecção e mapeamento dos possíveis locos candidatos.

Embora seja considerada uma análise exploratória, as análises de marcas simples tem a vantagem de permitir a detecção dos marcadores relacionados à expressão das características, mesmo, que estes não façam parte dos grupos de ligação. O número de marcadores não ligados, obtidos na análise, aumenta a importância desta abordagem, indicando a existência de regiões do genoma importantes para a expressão das características e, ainda, não mapeadas.

A metodologia de marca simples indicou associações significativas ( $P < 0,05$ ) entre marcadores e a variação das nove características avaliadas nas diferentes épocas (dados não apresentados). Nos Quadros 3 a 10, são apresentadas as associações significativas ( $P < 0,01$ ) entre marcadores e a variação das diferentes características, avaliadas pela marca simples nas cinco épocas.

Quadro 3 – Mapeamento de QTLs da característica altura da planta avaliada na população segregante 3, RC1 de café arábica avaliada em cinco épocas (50 meses - época 1, 53 meses - época 2, 56 meses - época 3, 59 meses - época 4 e 62 meses - época 5), utilizando as metodologias de análise de variância e de regressão linear simples.

Altura da planta (50 meses - época 1)					
Marca	Prob (F) <sup>1/</sup>	Média (1)	Média (0)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação <sup>2/</sup>
OPG15	0,0090 **	59,1659 a	63,5357 B	7,8343	5
OPY02	0,0029 **	63,5212 a	58,3355 B	10,4304	9
OPAV07c	0,0010 **	64,1475 a	58,6644 B	12,2075	NL

53 meses - época 2					
Marca	Prob (F) <sup>1/</sup>	Média (1)	Média (0)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação <sup>2/</sup>
OPG06b	0,0069 **	67,0103 a	71,2261 b	8,4541	2
OPG15	0,0018 **	66,7455 a	71,619 b	11,0021	5
OPV15	0,0014 **	66,4200 a	71,4556 b	11,6039	2
OPBH16	0,0036 **	66,2152 a	71,1870 b	10,4558	2
OPC02	0,0027 **	65,9767 a	71,500 b	12,9949	2
OPBG05	0,0034 **	71,9394 a	66,9282 b	11,5938	1
OPAD19	0,0051 **	71,4293 a	67,0267 b	8,9638	1
OPAV07c	0,0051 **	71,4600 a	67,0089 b	9,0510	NL

56 meses - época 3					
Marca	Prob (F) <sup>1/</sup>	Média (1)	Média (0)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
OPG15	0,0013 **	70,2886 a	75,4262 b	11,5752	5
OPV15	0,0085 **	70,4950 a	74,8111 b	8,0548	2
OPBG05	0,0093 **	75,4091 a	70,7462 b	9,2621	1
OPAV07c	0,0040 **	75,3050 a	70,6089 b	9,5374	NL

59 meses - época 4					
Marca	Prob (F) <sup>1/</sup>	Média (1)	Média (0)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
OPG15	0,0005 **	75,6432 a	81,5476 b	13,5657	5
OPAV07c	0,0090 **	80,9800 a	76,4356 b	7,9431	NL

62 meses - época 5					
Marca	Prob (F) <sup>1/</sup>	Média (1)	Média (0)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
OPS10a	0,0078 **	83,6469 a	89,5730 b	8,1329	5
OPU09	0,0035 **	83,3217 a	90,1029 b	10,3009	5
OPG15	0,0001 **	82,0545 a	90,5357 b	16,9797	5
OPW08a	0,0099 **	83,5673 a	89,3000 b	7,7439	4
OPX09	0,0051 **	83,6367 a	90,0029 b	9,1714	4
OPV17	0,0015 **	82,5028 a	90,4722 b	13,5216	5
OPAK08a	0,0069 **	83,4022 a	89,4436 b	8,4659	4

<sup>1/</sup>: \*\* = significativo a 1% de probabilidade;

<sup>2/</sup>: NL = não ligado.

Quadro 4 – Mapeamento de QTLs da característica diâmetro da copa avaliada na população segregante 3, RC<sub>1</sub> de café arábica avaliada em cinco épocas (50 meses - época 1, 53 meses - época 2, 56 meses - época 3, 59 meses - época 4 e 62 meses - época 5), utilizando as metodologias de análise de variância e de regressão linear simples.

Diâmetro da copa (50 meses - época 1)					
Marca	Prob (F) <sup>1/</sup>	Média (1)	Média (0)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
OPS07b	0,0012 **	44,8375 a	53,1973 b	13,0436	4
OPU09	0,0086 **	46,7826 a	53,2200 b	8,4108	5
OPZ09	0,0033 **	45,3179 a	52,5109 b	9,9419	6
OPD14	0,0080**	45,5171 <sup>a</sup>	52,7625b	10,3203	4
OPAA16a	0,0036 **	45,8600 a	52,9650 b	9,7357	4
OPAE09	0,0008 **	45,2909 a	53,4024 b	12,7177	6

53 meses - época 2					
Marca	Prob (F) <sup>1/</sup>	Média (1)	Média (0)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
OPM18	0,0064 **	58,6537 a	65,7488 b	8,9276	7
OPS07b	0,0016 **	57,5600 a	66,0054 b	12,4743	4
OPBD02	0,0086 **	59,0600 a	65,9306 b	7,9310	4
OPZ09	0,0081 **	58,1487 a	65,0848 b	8,1562	6
OPAA16a	0,0060 **	58,5356 a	65,7125 b	8,7586	4

56 meses - época 3					
Marca	Prob (F) <sup>1/</sup>	Média (1)	Média (0)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
OPM18	0,0019 **	61,6683 a	70,7780 b	11,3852	7
OPAN12	0,0044 **	61,4634 a	69,8886 b	9,3586	7

59 meses - época 4					
Marca	Prob (F) <sup>1/</sup>	Média (1)	Média (0)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
OPM18	0,0095 **	64,1585 a	72,4000 b	8,1051	7

62 meses - época 5					
Marca	Prob (F) <sup>1/</sup>	Média (1)	Média (0)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
-	-	-	-	-	-

<sup>1/</sup>: \*\* = significativo a 1% de probabilidade;

<sup>2/</sup>: NL = não ligado.

Quadro 5 – Mapeamento de QTLs da característica vigor vegetativo avaliada na população segregante 3, RC<sub>1</sub> de café arábica avaliada em cinco épocas (50 meses - época 1, 53 meses - época 2, 56 meses - época 3, 59 meses - época 4 e 62 meses - época 5), utilizando as metodologias de análise de variância e de regressão linear simples.

Vigor vegetativo (50 meses - época 1)					
Marca	Prob (F) <sup>1/</sup>	Média (1)	Média (0)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
-	-	-	-	-	-

53 meses - época 2					
Marca	Prob (F) <sup>1/</sup>	Média (1)	Média (0)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
-	-	-	-	-	-

<sup>1/</sup>: \*\* = significativo a 1% de probabilidade;

<sup>2/</sup>: NL = não ligado.

Quadro 5 – Continuação...

56 meses - época 3					
Marca	Prob (F) <sup>1/</sup>	Média (1)	Média (0)	R <sup>2</sup> (%)	GL
-	-	-	-	-	-

59 meses - época 4					
Marca	Prob (F) <sup>1/</sup>	Média (1)	Média (0)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
-	-	-	-	-	-

62 meses - época 5					
Marca	Prob (F) <sup>1/</sup>	Média (1)	Média (0)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
OPZ09	0,0088 **	5,3158 a	5,4163 b	7,9872	6

<sup>1/</sup>: \*\* = significativo a 1% de probabilidade;

<sup>2/</sup>: NL = não ligado.

Quadro 6 – Mapeamento de QTLs da característica posição da ramificação primária avaliada na população segregante 3, RC<sub>1</sub> de café arábica avaliada em cinco épocas (50 meses - época 1, 53 meses - época 2, 56 meses - época 3, 59 meses - época 4 e 62 meses - época 5), utilizando as metodologias de análise de variância e de regressão linear simples.

Posição da ramificação primária (50 meses - época 1)					
Marca	Prob (F) <sup>1/</sup>	Média (1)	Média (0)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
OPS10a	0,0026 **	4,2063 a	4,2486b	10,2632	5
OPU09	0,0049 **	4,2074 a	4,2474b	9,6085	5
OPBD05	0,0070 **	4,242 a	4,2036b	8,4503	1
OPP06	0,0030 **	4,2025 a	4,2480 b	11,8877	5
OPR17	0,0018 **	4,199 a	4,2474b	12,5945	5
OPAE09	0,0028 **	4,2036 a	4,2456b	10,2488	6
OPAV09a	0,0029 **	4,2022 a	4,2441b	10,2127	6

53 meses - época 2					
Marca	Prob (F) <sup>1/</sup>	Média (1)	Média (0)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
OPS10a	0,0015 **	4,2088 a	4,2516 b	11,4281	5
OPU09	0,0020 **	4,2078 a	4,2506 b	11,4303	5
OPBD05	0,0057 **	4,2443 a	4,2067 b	8,8505	1
OPP06	0,0070 **	4,2091 a	4,2485 b	9,9164	5
OPR17	0,0034 **	4,2043 a	4,2480 b	11,1768	5
OPAE09	0,0067 **	4,2089 a	4,2456 b	8,5314	6
OPAV09a	0,0074 **	4,2078 a	4,2441 b	8,3196	6

56 meses - época 3					
Marca	Prob (F) <sup>1/</sup>	Média (1)	Média (0)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
OPS10a	0,0006 **	4,2178 a	4,2622 b	13,0213	5
OPU09	0,0011 **	4,2180 a	4,2611 b	12,6709	5
OPR17	0,0052 **	4,2155 a	4,2560 b	10,1986	5
OPV17	0,0079 **	4,2153 a	4,2533 b	9,6615	5

<sup>1/</sup>: \*\* = significativo a 1% de probabilidade;

<sup>2/</sup>: NL = não ligado.

Quadro 6 – Continuação...

59 meses - época 4					
Marca	Prob (F) <sup>1/</sup>	Média (1)	Média (0)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
OPS10a	0,0004 **	4,2190 a	4,2668 b	13,9568	5
OPU09	0,0007 **	4,2193 a	4,266 b	13,6473	5
OPV17	0,0053 **	4,2158 a	4,2572 b	10,5666	5
62 meses - época 5					
Marca	Prob (F) <sup>1/</sup>	Média (1)	Média (0)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
OPS10a	0,0026 **	4,2190 a	4,2597 b	10,2916	5
OPU09	0,0044 **	4,2193 a	4,2586 b	9,7915	5
OPBD05	0,0050 **	4,2539 a	4,2156 b	9,0928	1
OPP06	0,0030 **	4,2166 a	4,2595 b	11,8952	5
OPR17	0,0024 **	4,2128 a	4,2580 b	11,915	5
OPAE09	0,0055 **	4,2177 a	4,2554 b	8,9136	6
OPAV09a	0,0060 **	4,2166 a	4,2539 b	8,7446	6

<sup>1/</sup>: \*\* = significativo a 1% de probabilidade;

<sup>2/</sup>: NL = não ligado.

Quadro 7 – Mapeamento de QTLs da característica número de ramos laterais avaliada na população segregante 3, RC<sub>1</sub> de café arábica avaliada em cinco épocas (50 meses - época 1, 53 meses - época 2, 56 meses - época 3, 59 meses - época 4 e 62 meses - época 5), utilizando as metodologias de análise de variância e de regressão linear simples.

Número de ramos laterais (50 meses - época 1)					
Marca	Prob (F) <sup>1/</sup>	Média (1)	Média (0)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
-	-	-	-	-	-
53 meses - época 2					
Marca	Prob (F) <sup>1/</sup>	Média (1)	Média (0)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
OPG06b	0,0098 **	10,2051 a	11,4130 b	7,7704	2
OPV15	0,0016 **	10,1000 a	11,5556 b	11,3994	2
OPBH16	0,0005 **	9,8788 a	11,5435 b	14,7025	2
OPD14	0,0092 **	9,9429 a	11,2500 b	9,9711	4
OPO06a	0,0082 **	10,2051 a	11,4419 b	8,4032	2
OPO06b	0,0078 **	10,1842 a	11,4318 b	8,5261	2
OPP16	0,0084 **	11,5000 a	10,2826 b	7,9864	NL
OPY17a	0,0046 **	10,075 a	11,3902 b	9,7410	2
OPBF18	0,0076 **	10,2326 a	11,4500 b	8,4780	2
OPBG05	0,0036 **	11,5758 a	10,1538 b	11,4630	1
OPAT02	0,0015 **	11,8000 a	10,3191 b	11,9607	1

<sup>1/</sup>: \*\* = significativo a 1% de probabilidade;

<sup>2/</sup>: NL = não ligado.

Quadro 7 – Continuação...

56 meses - época 3					
Marca	Prob (F) <sup>1/</sup>	Média (1)	Média (0)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação <sup>2/</sup>
OPQ05b	0,0086 **	11,7105 a	13,0426 b	8,0172	2
OPG06b	0,0076 **	11,6667 a	13,0217 b	8,2739	2
OPV15	0,0015 **	11,6250 a	13,2000 b	11,442	2
OPBE12	0,0087 **	11,8600 a	13,1944 b	7,9144	4
OPBH16	0,0025 **	11,4545 a	13,0435 b	11,2661	2
OPX09	0,0076 **	11,8980 a	13,2571 b	8,3650	4
OPO06a	0,0069 **	11,6923 a	13,0233 b	8,7610	2
OPO06b	0,0077 **	11,6842 a	13,0000 b	8,5370	2
OPY17a	0,0015 **	11,5250 a	13,1220 b	12,0081	2
OPBG05	0,0015 **	13,3030 a	11,5897 b	13,4926	1
OPAT14	0,0099 **	13,1538 a	11,8478 b	7,7418	NL
OPAT02	0,0048 **	13,3429 a	11,9149 b	9,5030	1

59 meses - época 4					
Marca	Prob (F) <sup>1/</sup>	Média (1)	Média (0)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
OPQ05a	0,0068 **	16,6744 a	15,1905 b	8,496	1
OPS07b	0,0066 **	15,200 a	16,7838 b	9,4372	4
OPBE12	0,0084 **	15,2800 a	16,7500 b	7,9900	4
OPBH16	0,0033 **	14,8182 a	16,5435 b	10,6409	2
OPX09	0,0069 **	15,2653 a	16,8000 b	8,5680	4
OPD14	0,0039 **	14,7143 a	16,5313 b	12,0945	4
OPY17a	0,0092 **	15,0500 a	16,5366 b	8,2731	2
OPBG05	0,0045 **	16,7273 a	14,9744 b	10,9752	1
OPAT02	0,0007 **	17,0857 a	15,1702 b	13,5559	1

62 meses - época 5					
Marca	Prob (F) <sup>1/</sup>	Média (1)	Média (0)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
OPA01	0,0097 **	18,7857 a	17,1136 b	7,7065	1
OPQ05a	0,0040 **	18,8837 a	17,0238 b	9,5343	1
OPS07b	0,0061 **	17,1250 a	19,0000 b	9,5992	4
OPB20	0,0100 **	18,7857 a	17,1190 b	7,8215	1
OPBE12	0,0038 **	17,1400 a	19,0278 b	9,5678	4
OPW08b	0,0068 **	18,8250 a	17,0667 b	8,5023	1
OPX09	0,0081 **	17,2041 a	18,9714 b	8,2318	4
OPD14	0,0031 **	16,6286 a	18,8438 b	12,6896	4
OPBG05	0,0021 **	19,0909 a	16,8462 b	12,7241	1
OPAD19	0,0062 **	18,8537 a	17,0889 b	8,5706	1
OPAG08	0,0097 **	18,7857 a	17,1136 b	7,7065	1
OPAT02	0,0003 **	19,4000 a	17,0426 b	15,1521	1

<sup>1/</sup>: \*\* = significativo a 1% de probabilidade;

<sup>2/</sup>: NL = não ligado.

Quadro 8 – Mapeamento de QTLs da característica número de nós no ramo principal avaliada na população segregante 3, RC<sub>1</sub> de café arábica avaliada em cinco épocas (50 meses - época 1, 53 meses - época 2, 56 meses - época 3, 59 meses - época 4 e 62 meses - época 5), utilizando as metodologias de análise de variância e de regressão linear simples.

Número de nós nos no ramo principal (50 meses - época 1)					
Marca	Prob (F) <sup>1/</sup>	Média (1)	Média (0)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
OPG15	0,0048 **	5,7273 a	6,7143 b	9,0925	5
OPI20	0,0080 **	6,6905 a	5,7381 b	8,2764	10
53 meses - época 2					
Marca	Prob (F) <sup>1/</sup>	Média (1)	Média (0)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação <sup>2/</sup>
OPP16	0,0069 **	8,3750 a	7,2391 b	8,3815	NL
56 meses - época 3					
Marca	Prob (F) <sup>1/</sup>	Média (1)	Média (0)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
-	-	-	-	-	-
59 meses - época 4					
Marca	Prob (F) <sup>1/</sup>	Média (1)	Média (0)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
-	-	-	-	-	-
62 meses - época 5					
Marca	Prob (F) <sup>1/</sup>	Média (1)	Média (0)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
OPG15	0,0030 **	11,4545 a	12,8810 b	10,004	5

<sup>1/</sup>: \*\* = significativo a 1% de probabilidade;

<sup>2/</sup>: NL = não ligado.

Quadro 9 – Mapeamento de QTLs da característica número de nós nos ramos laterais avaliada na população segregante 3, RC<sub>1</sub> de café arábica avaliada em cinco épocas (50 meses - época 1, 53 meses - época 2, 56 meses - época 3, 59 meses - época 4 e 62 meses - época 5), utilizando as metodologias de análise de variância e de regressão linear simples.

Número de nós nos ramos laterais (50 meses - época 1)					
Marca	Prob (F) <sup>1/</sup>	Média (1)	Média (0)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação <sup>2/</sup>
-	-	-	-	-	-
53 meses - época 2					
Marca	Prob (F) <sup>1/</sup>	Média (1)	Média (0)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
OPAK08b	0,0085 **	15,2400 a	13,6000 b	8,0615	9
56 meses - época 3					
Marca	Prob (F) <sup>1/</sup>	Média (1)	Média (0)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
OPAK08b	0,0048 **	16,3800 a	14,4857 b	9,207	9
59 meses - época 4					
Marca	Prob (F) <sup>1/</sup>	Média (1)	Média (0)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação <sup>2/</sup>
OPAK08b	0,0044 **	17,5200 a	15,2857 b	9,3400	9
OPAK02	0,0089 **	17,7568 a	15,7083 b	7,9673	NL

<sup>1/</sup>: \*\* = significativo a 1% de probabilidade;

<sup>2/</sup>: NL = não ligado.

Quadro 9 – Continuação...

62 meses - época 5					
Marca	Prob (F) <sup>1/</sup>	Média (1)	Média (0)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação <sup>2/</sup>
OPY02	0,0090 **	18,3846 a	15,9677 b	8,134	9
OPAK11a	0,0097 **	18,4286 a	16,1111 b	7,7886	NL

<sup>1/</sup>: \*\* = significativo a 1% de probabilidade;

<sup>2/</sup>: NL = não ligado.

Quadro 10 – Mapeamento de QTLs da característica diâmetro do caule avaliada na população segregante 3, RC<sub>1</sub> de café arábica em quatro épocas (53 meses - época 2, 56 meses - época 3, 59 meses - época 4 e 62 meses - época 5), utilizando as metodologias de análise de variância e de regressão linear simples.

53 meses - época 2					
Marca	Prob (F) <sup>1/</sup>	Média (1)	Média (0)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
OPE19b	0,0048 **	1,2107 a	1,3383 b	9,6323	2
OPZ09	0,0059 **	1,2196 a	1,3406 b	8,7660	6
OPBH16	0,0020 **	1,2046 a	1,3449 b	11,7134	2
OPO06a	0,0070 **	1,2211 a	1,3436 b	8,7456	2
OPO06b	0,0096 **	1,2220 a	1,3400 b	8,0865	2
OPAE09	0,0099 **	1,2315 a	1,3452 b	7,7385	6

56 meses - época 3					
Marca	Prob (F) <sup>1/</sup>	Média (1)	Média (0)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação <sup>2/</sup>
OPY02	0,0002 **	1,5565 a	1,4051 b	16,2294	9
OPAK08b	0,0039 **	1,5350 a	1,4040 b	9,6180	9
OPAV07c	0,0018 **	1,5547 a	1,4156 b	11,1387	NL

59 meses - época 4					
Marca	Prob (F) <sup>1/</sup>	Média (1)	Média (0)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação <sup>2/</sup>
OPY02	0,0012 **	1,6842 a	1,5304 b	12,165	9
OPAV07c	0,0039 **	1,6875 a	1,5384	9,6328	NL

62 meses - época 5					
Marca	Prob (F) <sup>1/</sup>	Média (1)	Média (0)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
-	-	-	-	-	-

<sup>1/</sup>: \*\* = significativo a 1% de probabilidade;

<sup>2/</sup>: NL = não ligado.

De acordo com estes resultados, na época 1, observam-se três marcadores associados a ALTP ( $P < 0,01$ ), sendo um não ligado, e explicam de 7,83% a 12,21% da variação fenotípica desta característica. Nas demais épocas, o número de marcadores que apresentaram tal associação foram: época 2 - oito marcadores, sendo um não ligado, e explicam de 8,45% a 12,99%; época 3 - quatro marcadores, sendo um não ligado, e explicam de 9,26% a 11,58% da variação fenotípica desta característica; época 4 - dois marcadores, sendo um não ligado, e

explicam de 7,94% a 13,57% da variação fenotípica desta característica; e época 5 - sete marcadores, e explicam de 7,74% a 16,98% da variação fenotípica desta característica.

Associados ao DICP, encontraram-se seis marcadores ( $P < 0,01$ ), que explicam de 8,41% a 13,04% da variação fenotípica desta característica (época 1). Nas demais épocas o número de marcadores que apresentaram tal associação foram: época 2 - cinco marcadores, que explicam de 8,16% a 12,47% da variação fenotípica desta característica; época 3 - dois marcadores, que explicam de 9,36% a 11,39% da variação fenotípica desta característica; época 4 - um marcador, que explica 8,11% da variação fenotípica desta característica. Na época 5, não foram observados marcadores associados.

Um marcador mostrou associação com o VIVG ( $P < 0,01$ ) e explica 7,99% da variação fenotípica desta característica (época 5). Nas demais épocas, não foram observados marcadores associados.

Associados a PRAP, encontraram-se sete marcadores ( $P < 0,01$ ), que explicam de 8,45% a 12,59% da variação fenotípica desta característica (época 1). Nas demais épocas, o número de marcadores que apresentaram tal associação foram: época 2 - sete marcadores, e explicam de 8,32% a 11,43% da variação fenotípica desta característica; época 3 - quatro marcadores, que explicam de 9,66% a 13,02% da variação fenotípica desta característica; época 4 - três marcadores, que explicam de 10,57% a 13,96% da variação fenotípica desta característica; e época 5 - sete marcadores, que explicam de 8,74% a 11,91% da variação fenotípica desta característica.

Associado ao NRAL ( $P < 0,01$ ), não encontraram-se marcadores (época 1). Na época 2, onze marcadores mostraram associação com o NRAL, sendo um não ligado, os quais explicam de 7,77% a 14,70% da variação fenotípica desta característica. Nas demais épocas, o número de marcadores que apresentaram tal associação foram: época 3 - doze marcadores, sendo um não ligado, os quais explicam de 7,74% a 13,49% da variação fenotípica desta característica; época 4 - nove marcadores, que explicam de 7,99% a 13,55% da variação fenotípica desta característica; e época 5 - doze marcadores, que explicam de 7,71% a 15,15% da variação fenotípica desta característica.

Na época 1, observaram-se dois marcadores associados ao NNRP ( $P < 0,01$ ), que explicam de 8,28% a 9,09% da variação fenotípica desta característica. Nas épocas 2 e 5, um marcador mostrou-se associado à esta característica, sendo que cada um deles explica 8,38% e

10,00% da variação fenotípica desta característica nestas épocas, respectivamente. Nas demais épocas, não encontram-se marcadores associados.

Associados ao NNRL (época 1), não encontram-se marcadores. Nas épocas 2 e 3, um marcador mostrou-se associado ao NRAL ( $P < 0,01$ ), sendo que cada um deles explica 8,06% e 9,21% da variação fenotípica desta característica nestas épocas, respectivamente. Nas demais épocas, o número de marcadores que apresentaram tal associação foram: época 4 - dois marcadores, sendo um não ligado, e que cada um deles explica de 7,97% a 9,34% da variação fenotípica desta característica; e época 5 - dois marcadores, sendo um não ligado, e cada um deles explica de 7,79% a 8,13% da variação fenotípica desta característica.

Associados a ALPR ( $P < 0,01$ ), não encontraram-se marcadores. Por outro lado, quando considerou a probabilidade ( $P < 0,05$ ), seis marcadores foram encontrados, sendo três não ligados, explicam de 4,72 a 7,23% da variação fenotípica desta característica (época 1). Nas demais épocas, o número de marcadores que apresentaram tal associação foram: época 2 - seis marcadores, sendo três não ligados, explicam de 4,70% a 7,27% da variação fenotípica desta característica; época 3 - sete marcadores, sendo três não ligados, explicam de 4,60% a 7,35% da variação fenotípica desta característica; época 4 - sete marcadores, sendo três não ligados, explicam de 4,57% a 7,35% da variação fenotípica desta característica; e época 5 - sete marcadores, sendo três não ligados, explicam de 4,56% a 7,33% da variação fenotípica desta característica (dados não apresentados).

Associados ao DIAC, encontraram-se seis marcadores ( $P < 0,01$ ), que explicam de 7,74% a 11,71% da variação fenotípica desta característica (época 2). Nas demais épocas, os números de marcadores que apresentaram tal associação foram: época 3 - três marcadores, sendo um não ligado, explicam de 9,62% a 16,23% da variação fenotípica desta característica; época 4 - dois marcadores, sendo um não ligado, explicam de 9,63% a 12,17% da variação fenotípica desta característica. Na época 5, não foram encontrados marcadores.

A metodologia de marca simples indicou marcadores importantes para a expressão das diferentes características. Embora fossem significativos a 1% e 5%, esses marcadores não agruparam-se em nenhum dos 10 grupos (dados não apresentados).

A análise da média dos genótipos para cada marcador, que se apresentou associado ao fenótipo (análise de variância) indicou que a média dos indivíduos que possuem a marca (genótipo: Aa), na maioria das vezes, foi inferior ao valor médio observado nos indivíduos que

não a possuem (genótipo: aa). A presença da marca está associada, na maioria das vezes, à redução na média dos valores fenotípicos, o que indica que o genitor “Mundo Novo IAC 464-18”, embora não expresse alteração significativa na variação destas características, possui alelos favoráveis e importantes para a expressão de tais características.

A metodologia de marca simples, além de indicar marcadores consistentes, que explicam as variações das características (ALTP, DICP, VIVG, PRAP, NRAL, NNRL e ALPR) para a população segregante 3, RC<sub>1</sub> (épocas 1 a 5), apontou dois marcadores associados a mais de uma característica, indicando efeitos pleiotrópicos no controle genético destas características. Tais marcadores são: a) OPZ09 associado ao VIVG e ao ALPR; e b) OPAK08b associado ao NNRL e ao ALPR (Quadro 11).

Quadro 11 – Marcadores consistentes que explicam as variações das características para a população segregante 3, RC<sub>1</sub> nas épocas 1 a 5 .

Características	Marcadores
Altura da planta	OPG15
Diâmetro da copa	OPM18 e OPAN12
Vigor vegetativo	OPZ09
Posição da ramificação primária	OPS10a, OPU09, OPBD05, OPP06, OPR17, OPV17, OPAE09 e OPAV09a.
Número de ramos laterais	OPBH16
Número de nós nos ramos laterais	OPAK08b
Altura do primeiro ramo	OPZ14, OPZ09, OPAA10, OPAK08b, OPAV07c e OPAT14

Em alguns estudos, a metodologia de marca simples foi utilizada no mapeamento de características agrônômicas em cana-de-açúcar (GUIMARÃES, 1999). Os resultados indicaram que as características número de colmos, porcentagem de colmos por inflorescência, diâmetro médio de dois colmos, peso dos colmos, porcentagem de fibra, e teor de sacarose no colmo (%) explicaram entre 7% e 17% da variância fenotípica destas características e, apenas, 13% das associações tiveram R<sup>2</sup> entre 19% e 23%, não sendo identificados QTLs de efeitos maiores. Por outro lado, utilizando a mesma metodologia, ROCHA (2004) observou a existência de 5, 8, 7, 8, 7, 11 e 7 marcas, respectivamente próximas aos locos controladores da expressão das características densidade da madeira, rendimento de polpa, teor de extrativos, teor de lignina insolúvel, teor de lignina solúvel, crescimento de madeira e altura comercial em eucalipto.

#### 4.5 Mapeamento de QTLs utilizando a metodologia de mapeamento por intervalo simples

No Quadro 12, são apresentados o número de marcadores e de intervalos presentes nos grupos de ligação (GLs) da população segregante 3 (RC<sub>1</sub>), além dos valores do LR crítico. Verifica-se que os quatro primeiros GLs apresentaram o maior número de intervalos e boa densidade de marcadores.

Quadro 12 – Grupos de ligação, número de marcadores e de intervalos, e valores de LR crítico obtidos conforme ZENG (1994), considerando grau de liberdade de 1 e nível de significância de 10% para o mapa.

Grupo de ligação	Número de marcadores	Número de Intervalos	Valor de LR crítico
1	27	26	12,5180
2	18	17	11,7260
3	17	16	11,6120
4	15	14	11,3640
5	6	5	9,4640
6	4	3	8,5300
7	4	3	8,5300
8	2	1	8,5300
9	3	2	7,7940
10	2	1	7,7940

O Quadro 13, resume as informações obtidas para a metodologia de mapeamento por intervalo simples das diferentes características, nas cinco épocas de avaliação.

Quadro 13 – Associações entre marcadores e fenótipos detectadas por meio da metodologia de mapeamento por intervalo simples, indicando valores máximo de LR e a proporção da variância fenotípica explicada por cada marcador ( $R^2$ ) e o efeito da região ou do marcador na média do fenótipo, para as diferentes características.

Época 1 - 50 meses							
Fenótipo	GL <sup>1/</sup>	Marcadores entre o intervalo	Posição <sup>2/</sup> cM	LR <sup>3/</sup>	média	R <sup>2</sup> (%)	g <sup>4/</sup>
Diâmetro da copa	4	OPD14 OPS07b	14,01	13,2971	47,0724	3,21	-4,341
Diâmetro da copa	6	OPAE09 OPZ09	8,38	12,2967	45,1429	13,04	-8,2592
Posição da ramificação primária	6	OPAV09a OPAE09	4,01	10,423	4,201	11,16	-0,0456
Época 2 - 53 meses							
Fenótipo	GL <sup>1/</sup>	Marcadores entre o intervalo	Posição <sup>2/</sup> cM	LR <sup>3/</sup>	média	R <sup>2</sup> (%)	g <sup>4/</sup>
Posição da ramificação primária	6	OPAV09a OPAE09	4,01	8,3789	4,2067	9,17	-0,0397
Número de nós nos ramos laterais	9	OPAK08b	3,01	7,0966	15,5747	8,54	1,6112
Época 3 - 56 meses							
Fenótipo	GL <sup>1/</sup>	Marcadores entre o intervalo	Posição <sup>2/</sup> cM	LR <sup>3/</sup>	média	R <sup>2</sup> (%)	g <sup>4/</sup>
Diâmetro da copa	7	OPX10 OPM18	14,17	10,7082	61,2609	12,35	-9,965
Posição da ramificação primária	5	OPV17 OPS10a	8,30	12,0061	4,2145	14,64	-0,0475

<sup>1/</sup>: GL = grupo de ligação;

<sup>2/</sup>: cM = centiMorgan;

<sup>3/</sup>: LR = razão de verossimilhança;

<sup>4/</sup>: g = efeito conjunto de a e d.

QUADRO 13 – Continuação...

Época 4 - 59 meses							
Fenótipo	GL <sup>1/</sup>	Marcadores entre o intervalo	Posição <sup>2/</sup> cM	LR <sup>3/</sup>	média	R <sup>2</sup> (%)	g <sup>4/</sup>
Posição da ramificação primária	5	OPV17 OPS10a	8,30	13,3374	4,215	16	-0,0517
Número de ramos laterais	4	OPD14 OPS07b	6,01	11,3367	14,6976	15,67	-2,1684
Época 5 - 62 meses							
Fenótipo	GL <sup>1/</sup>	Marcadores entre o intervalo	Posição <sup>2/</sup> cM	LR <sup>3/</sup>	média	R <sup>2</sup> (%)	g <sup>4/</sup>
Altura da planta	5	OPS10a OPU09	18,96	11,2147	82,3535	13,98	-9,1343
Posição da ramificação primária	6	OPAV09a OPAE09	4,01	8,8199	4,2155	9,61	-0,0408
Número de ramos laterais	4	OPD14 OPS07b	5,01	13,7219	16,4223	18,12	-2,8658

<sup>1/</sup>: GL = grupo de ligação;

<sup>2/</sup>: cM = centiMorgan;

<sup>3/</sup>: LR = razão de verossimilhança;

<sup>4/</sup>: g = efeito conjunto de a e d.

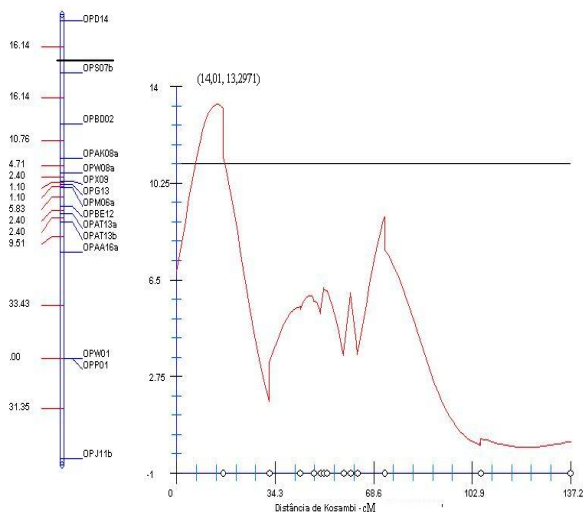
A metodologia de mapeamento por intervalo simples (épocas 1 a 5), detectou e identificou 8 regiões, associadas aos locos controladores da expressão de cinco das nove características avaliadas, respectivamente: época 1 - DICP (GL 4 e 6) e PRAP (GL 6); época 2 - PRAP (GL 6) e NNRL (GL 9); época 3 - DICP (GL 7) e PRAP (GL 5); época 4 - PRAP (GL 5) e NRAL (GL 4); e época 5 - ALTP (GL 5), PRAP (GL 6) e NRAL (GL 4). São considerados QTLs, apenas, aquelas regiões de valores de LR superiores ao LR crítico, determinado pelo teste de qui-quadrado com 1 grau de liberdade e nível de significância de 10% para o mapa (Quadro 12). Esta metodologia confirmou as associações envolvendo os marcadores ligados, flanqueando as regiões dos QTLs candidatos acima mencionados. Por outro lado, a metodologia de mapeamento por intervalo simples confirmou, apenas, algumas das associações detectadas

pela marca simples. As possíveis explicações para tal fato são: a baixa saturação do mapa e o número reduzido de progênies.

O valor da proporção fenotípica explicada por cada marcador, além do efeito da região ou do marcador na média do fenótipo foram, respectivamente: época 1 - 3,21% e -4,341 para os locos OPD14 e OPS07b associados ao DICP (GL 4); 13,04 % e -8,2592 para os locos OPAE09 e OPZ09 associados ao DICP (GL 6); e de 11,16% e -0,0456 para os locos OPAV09a e OPAE09 associados a PRAP (GL 6). Nas demais épocas os valores foram: época 2 - 9,17% e -0,0397 para os locos OPAV09a e OPAE09 associados ao PRAP (GL 6), 8,54% e 1,6112 para o loco OPAK08b associado ao loco NNRL (GL 9); época 3 - 12,35% e -9,965 para os locos OPX10 e OPM18 associados ao DICP (GL 7) e 14,64% -0,0475 para os locos OPV17 e OPS10a associados a PRAP (LG 5); época 4 - 16% e -0,0517 para os locos OPV17 e OPS10 a associado a PRAP (GL 5) e 15,67% e -2,1684 para os locos OPD14 e OPS07b associados ao NRAL (GL 4); e época 5 - 13,98% e -9,1343 para os locos OPS10a e OPU09 associados ao ALTP (GL 5); 9,61% e -0,0408 para os locos OPAV90a e OPAE09 associados a PRAP (GL 6), e 18,12% e -2,8658 para os locos OPD14 e OPS07b associados ao NRAL (GL 4).

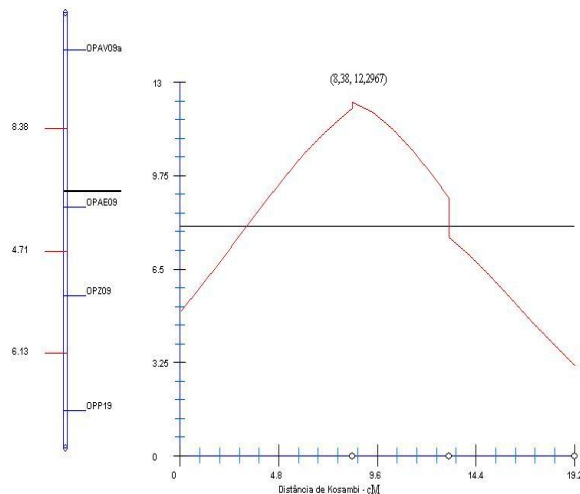
As Figuras 2 a 6, mostram os QTLs candidatos detectados nas diferentes épocas, utilizando a metodologia de mapeamento por intervalo simples.

**Característica: Diâmetro da copa**



**A Característica: Diâmetro da copa**

**B**



**Característica: Posição da ramificação primária**

**C**

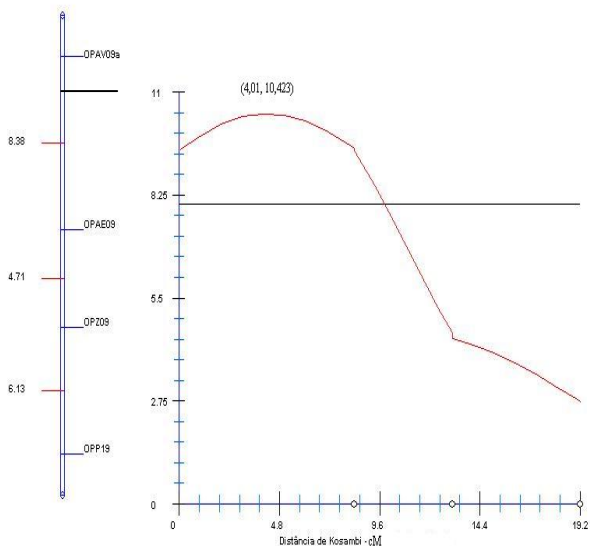
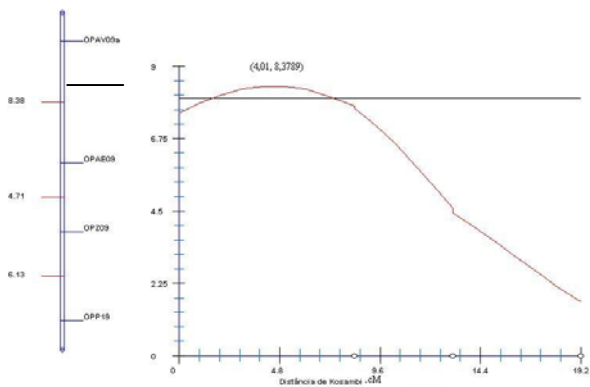


Figura 2 – Mapeamento por intervalo simples indicando a presença de QTLs candidatos para as características A: diâmetro da copa associado aos locos OPD14 e OPS07b (GL 4), B: diâmetro da copa associado aos locos OPAE09 e OPZ09 (GL 6), e C: posição da ramificação primária associada aos locos OPAV09a e OPAE09 (GL 6), considerando a época 1 (50 meses). Nestas figuras na ordenada está disposto a escala dos valores de LR para cada grupo de ligação analisado. Na abscissa está a representação do grupo de ligação e as distâncias em centiMorgans. A linha horizontal indica o valor de LR e o limite de significância estatístico para cada grupo de ligação. A região acima do limite de LR é candidata a conter um QTL.

**Característica: Posição da ramificação primária**



**A Característica: Número de nós nos ramos laterais**

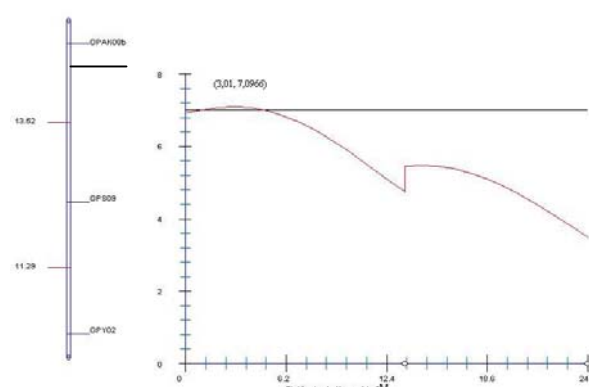
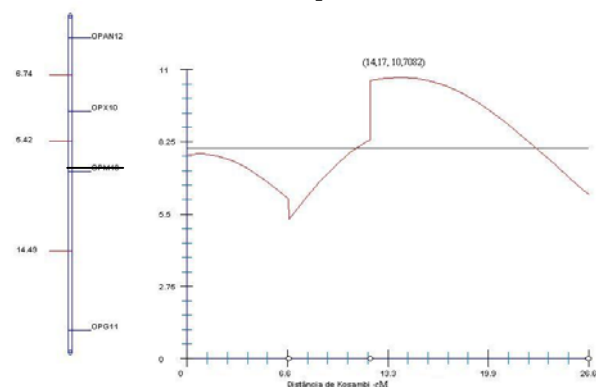


Figura 3 – Mapeamento por intervalo simples indicando a presença de QTLs candidatos para as características A: posição da ramificação primária associada aos locos OPAV09a e OPAE09 (GL 6), e B: número de nós nos ramos laterais associado ao loco OPAK08b (GL 9), considerando a época 2 (53 meses).

**Característica: Diâmetro da copa**



**A Característica: Posição da ramificação primária**

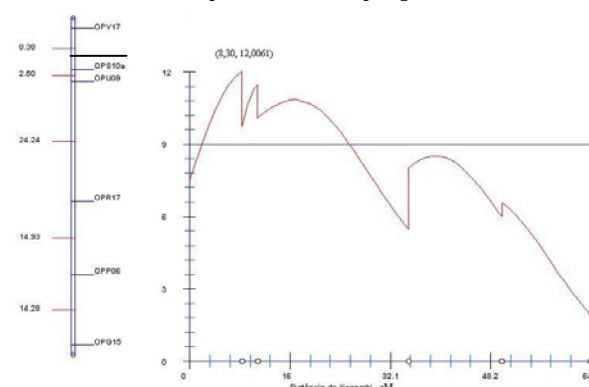
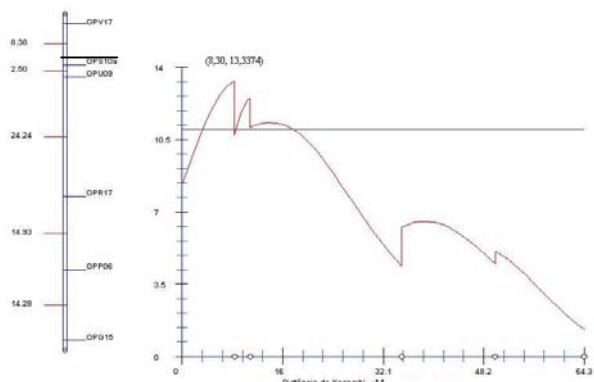


Figura 4 – Mapeamento por intervalo simples indicando a presença de QTLs candidatos para as características A: diâmetro da copa associado aos locos OPX10 e OPM18 (GL 7), e B: posição da ramificação primária associada aos locos OPV17 e OPS10a (GL 5), considerando a época 3 (56 meses).

**Característica: Posição da ramificação primária**



**A Característica: Número de ramos laterais**

**B**

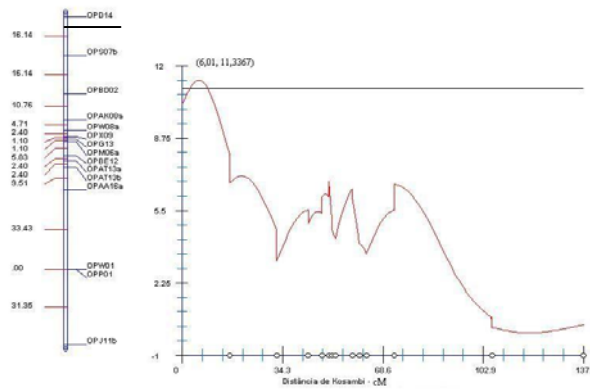
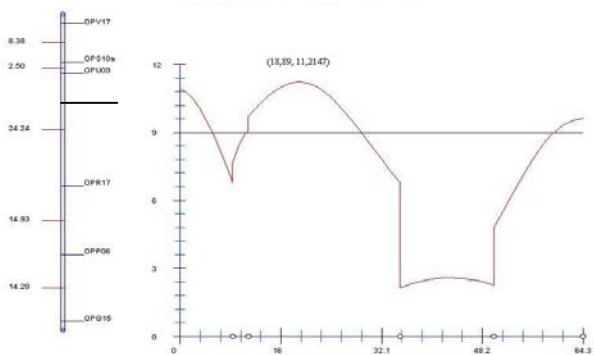


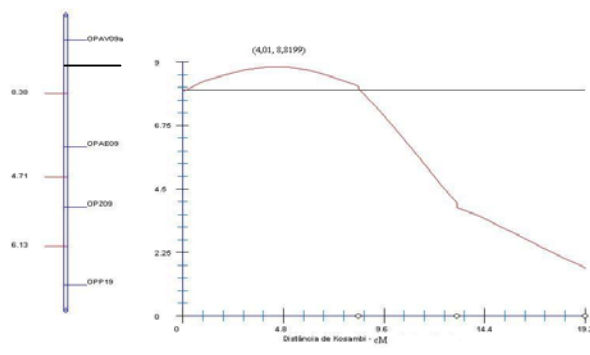
Figura 5 – Mapeamento por intervalo simples indicando a presença de QTLs candidatos para as características A: Posição da ramificação primária associada aos locos OPV17 e OPS10a (GL 5), e B: número de ramos laterais associado aos locos OPD14 e OPS07b (GL 4), considerando a época 4 (59 meses)

**Característica: Altura da planta**



**A Característica: Posição da ramificação primária**

**B**



**Característica: Número de ramos laterais**

**C**

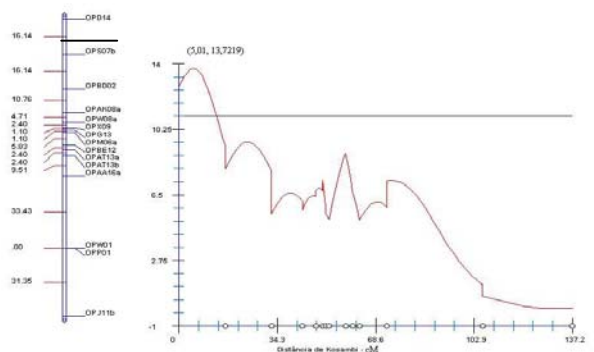


Figura 6 – Mapeamento por intervalo simples indicando a presença de QTLs candidatos para as características A: altura da planta associado aos locos OPS10a e OPU09 (GL 5), B: Posição da ramificação primária associada aos locos OPAV09a e OPAE09 (GL 6), e C: número de ramos laterais associado aos locos OPD14 e OPS07b, considerando a época 5 (62 meses).

Analisando as Figuras 2 a 6, verifica-se que a metodologia de mapeamento por intervalo simples (épocas 1 a 5) detectou e identificou regiões associadas aos seguintes QTLs candidatos, nas cinco sucessivas épocas, respectivamente: época 1 - DICP (GL 4), DICP (LG 6) e PRAP (GL 6); época 2 - PRAP (GL 6) e NNRL (GL 9); época 3 - DICP (GL 7) e PRAP (GL 5); época 4 - PRAP (GL 5) e NRAL (GL 4); época 5 - ALTP (GL 5), PRAP (GL 6), e NRAL (GL 4).

Vale ressaltar que embora a metodologia de mapeamento por intervalo simples não detectou QTLs consistentes, nas cinco sucessivas épocas de avaliação, ela apontou locos candidatos relacionados à variação de cinco dentre as nove características avaliadas. Após esta análise preliminar, todas as regiões do genoma tiveram sua posição e efeitos reavaliados, por meio da metodologia de mapeamento por intervalo composto.

#### **4.6. Mapeamento de QTLs utilizando a metodologia de Mapeamento por intervalo composto**

Os procedimentos de regressão “stepwise” e algumas vezes, a metodologia de marcas simples indicaram cofatores, os quais foram utilizados no mapeamento por intervalo composto, objetivando à redução da variância residual e aumento no valor de LR (Quadro 14). Tais procedimentos promoveram os maiores valores de LR, em relação ao uso de marcadores não ligados. Segundo JANSEN; STAM (1994), o número de marcadores na regressão não deve ultrapassar  $2\sqrt{n}$ , em que  $n$  é o número de indivíduos.

O Quadro 14 resume os resultados apresentados por meio da metodologia de mapeamento por intervalo composto, para as diferentes características nas cinco épocas.

Quadro 14 – Associações entre marcadores e fenótipos detectadas por meio da metodologia de mapeamento por intervalo composto, indicando valores máximo de LR, a proporção da variância fenotípica explicada por cada marcador ( $R^2$ ) e o efeito da região ou do marcador na média do fenótipo, para as diferentes características.

Época 1 - 50 meses								
Fenótipo	GL <sup>1/</sup>	Marcadores entre o intervalo	Posição <sup>2/</sup> cM	LR <sup>3/</sup>	Média	R <sup>2</sup> (%)	g <sup>4/</sup>	Cofatores utilizados/ Grupo de ligação
Posição da ramificação primária	5	OPV17 OPS10a	8,38	9,352	4,1981	12,25	-0,0511	OPAA16a (4) OPBD05 (1) <sup>5/</sup>
Posição da ramificação primária	6	OPAV09a OPAE09	3,01	8,694	4,2022	9,59	-0,0434	OPAA16a (4)
Altura do primeiro ramo	9	OPAK08b	0,00	7,1185	41,4877	8,27	4,091	OPZ09 (6)
Época 2 - 53 meses								
Fenótipo	GL <sup>1/</sup>	Marcadores entre o intervalo	Posição <sup>2/</sup> cM	LR <sup>3/</sup>	Média	R <sup>2</sup> (%)	g <sup>4/</sup>	Cofatores utilizados/ grupo de ligação
Diâmetro da copa	7	OPM18	12,17	10,8971	57,7705	14,75	-8,1611	OPS07b (4) OPY02 (9) <sup>5/</sup> OPBC18(3) <sup>5/</sup>
Posição da ramificação primária	5	OPV17 OPS10a	8,30	10,1953	4,2032	12,87	-0,0514	OPAA16a (4)
Posição da ramificação primária	6	OPAV09a OPAE09	4,01	8,7577	4,2052	10,21	-0,0428	OPY17a (2)
Número de nós nos ramos laterais	9	OPAKO8b	0,00	7,2267	15,5699	9,01	1,532	OPBF18 (2)
Altura do primeiro ramo	9	OPAK08b	0,00	7,169	41,511	8,32	4,1079	OPZ09 (6)

<sup>1/</sup>: GL = grupo de ligação;

<sup>2/</sup>: cM = centiMorgan;

<sup>3/</sup>: LR = razão de verossimilhança;

<sup>4/</sup>: g = efeito conjunto de a e d.

<sup>5/</sup>: cofatores estabelecidos pelas análises de marca simples.

Quadro 14 – Continuação...

Época 2 - 53 meses								
Fenótipo	GL <sup>1/</sup>	Marcadores entre o intervalo	Posição <sup>2/</sup> cM	LR <sup>3/</sup>	Média	R <sup>2</sup> (%)	g <sup>4/</sup>	Cofatores utilizados/ grupo de ligação
Diâmetro do caule	6	OPAE09 OPZ09	11,383	11,3838	1,2007	14,52	-0,1699	OPI20 (10) OPV17 (5)
Época 3 - 56 meses								
Fenótipo	GL <sup>1/</sup>	Marcadores entre o intervalo	Posição <sup>2/</sup> cM	LR <sup>3/</sup>	Média	R <sup>2</sup> (%)	g <sup>4/</sup>	Cofatores utilizados/ grupo de ligação
Diâmetro da copa	7	OPX10 OPM18	12,15	11,4471	60,9587	16,02	-9,9939	OPS07b (3) OPJ17 (3) OPY02 (9)
Posição da ramificação primária	5	OPV17 OPS10a	8,30	10,339	4,2157	13,03	-0,0437	OPAV09a (6) <sup>5/</sup>
Número de nós nos ramos laterais	9	OPAK08b	0,00	7,3161	16,5471	9,00	1,6612	OPBF18 (2)
Altura do primeiro ramo	9	OPAK08b	0,00	7,2493	42,0109	8,41	4,105	OPZ09 (6)
Época 4 - 59 meses								
Fenótipo	GL <sup>1/</sup>	Marcadores entre o intervalo	Posição <sup>2/</sup> cM	LR <sup>3/</sup>	Média	R <sup>2</sup> (%)	g <sup>4/</sup>	Cofatores utilizados/ grupo de ligação
Posição da ramificação primária	5	OPV17 OPS10a	8,30	12,8245	4,2152	16,48	-0,0528	OPY17a (2)
Altura do primeiro ramo	9	OPAK08	0,00	7,2852	42,0457	8,44	4,1201	OPZ09(6)

<sup>1/</sup>: GL = grupo de ligação;

<sup>2/</sup>: cM = centiMorgan;

<sup>3/</sup>: LR = razão de verossimilhança;

<sup>4/</sup>: g = efeito conjunto de a e d.

<sup>5/</sup>: cofatores estabelecidos pelas análises de marca simples.

Quadro 14 – Continuação...

Fenótipo	Época 5 - 62 meses							Cofatores utilizados/ grupo de ligação
	GL <sup>1/</sup>	Marcadores entre o intervalo	Posição <sup>2/</sup> cM	LR <sup>3/</sup>	Média	R <sup>2</sup> (%)	g <sup>4/</sup>	
Posição da ramificação primária	5	OPV17 OPS10a	8,30	9,5031	4,2082	12,42	-0,0511	OPAA16a (4) OPBD05 (1)
Posição da ramificação primária	6	OPAV09a OPAE09	5,01	9,2232	4,2121	12,77	-0,049	OPC02 (2)
Altura do primeiro ramo	9	OPAK08	0,00	7,2733	42,0391	8,43	4,114	OPZ09 (6)

<sup>1/</sup>: GL = grupo de ligação;

<sup>2/</sup>: cM = centiMorgan;

<sup>3/</sup>: LR = razão de verossimilhança;

<sup>4/</sup>: g = efeito conjunto de a e d.

<sup>5/</sup>: cofatores estabelecidos pelas análises de marca simples.

A metodologia de mapeamento por intervalo composto, relacionado às épocas 1 a 5, detectou e identificou seis regiões relacionadas com os locos controladores da expressão de cinco das nove características avaliadas cinco sucessivas épocas, respectivamente: época 1 - PRAP (GL 5) (OPV17 e OPS10a), CRPL (GL 6) (OPAV09a e OPAE09) e ALPR (LG 9) (OPAK08b); época 2 - DICP (GL 7) (OPM18), PRAP (GL 5) (OPV17 e OPS10a), PRAP (GL 6) (OPAV09a e OPAE09), NNRL (GL 9) (OPAK08), ALPR (GL 9) (OPAK08b) e DIAC (GL 9) (OPAE09 e OPZ09); época 3 - DICP (GL 7) (OPX10 e OPM18), CRPL (GL 5) (OPV17 e OPS10a), NNRL (GL 9) (OPAK08) e ALPR (GL 9) (OPAK08); época 4 - PRAP (GL 5) (OPV17 e OPS10a), e ALPR (GL 9) (OPAK08b); e época 5 - PRAP (GL 5) (OPV17 e OPS10a), PRAP (GL 6) (OPAV09a e OPAE09), e ALPR (GL 9) (OPAK08).

O valor da proporção fenotípica explicada por cada marcador, além do efeito da região ou do marcador na média do fenótipo, nas cinco sucessivas épocas foram, respectivamente: época 1 - 12,25% e - 0,0511 para os locos OPV17 e OPS 10a associados a PRAP (GL 5), 9,59% e - 0,0434 para os locos OPAV09a e OPAE09 associados a PRAP (GL 6), 8,27% e 4,091 para o loco OPAK08b associado a ALPR; época 2 - 14,75% e -8,1611 para o loco OPM18 associado ao DICP (GL7), 12,87% e -0,0514 para os locos OPV 17 e OPS10a associados a PRAP (GL 5), 10,21% e - 0,0428 para os locos OPAV09a e OPAE09 associados a PRAP (GL 6), 9,01% e 1,532 para o loco OPAK08b associado ao NNRL (GL 9), 8,32% e 4,1079 para o loco

OPAK08b associado a ALPR (GL 9), 14,52% e - 0,1699 para os locos OPAE09 e OPZ09 associados ao DIAC (GL 6); época 3 - 16,02% e - 9,9939 para os locos OPX10 e OPM18 associados ao DICP (GL 7), 13,03% e - 0,0437 para os locos OPV17 e OPS10a associados a PRAP (LG 5), 9,00% e 1,6612 para o loco OPAK08b associado ao NNRL, e 8,41% e 4,105 para o loco OPAK08b associado ao ALPR (GL 9); época 4 - 16,48% e - 0,0528 para os locos OPV17 e OPS10a associado ao PRAP (GL 5), 8,44% e 4,1201 para o loco OPAK08b associado a ALPR (GL 9); e época 5 -12,42% e - 0,0511 para os locos OPV17 e OPS10a associados ao PRAP (GL 5), 12,77% e - 0,049 para os locos OPAV09a e OPAE09 associados a PRAP (GL 6), e 8,43% e 4,114 para o loco OPAK08b associado a ALPR (GL 9).

A metodologia de mapeamento por intervalo composto não indicou regiões relacionadas aos locos controladores da expressão das características DICP (GLs 4 e 6 - época 1), NRAL (GL 4 - época 4), NRAL (GL 4) e ALTP (GL 5) (época 5), previamente detectados por meio das metodologias de marca simples e mapeamento por intervalo simples. No entanto, confirmou quatro QTLs candidatos relacionados aos locos controladores da expressão das características PRAP (GL 6 - épocas 1, 2 e 5), DICP (GL 7 - épocas 2 e 3), NNRL (GL 9 - épocas 2 e 3) e DIAC (GL 6 - época 2), sendo que destes, apenas o DIAC, não foi detectado pela metodologia de mapeamento por intervalo simples. A metodologia de mapeamento por intervalo composto permitiu também a detecção e identificação de dois QTLs consistentes relacionadas aos locos controladores da expressão das características PRAP (GL 5 - épocas 1 a 5) e ALPR (GL 9 - épocas 1 a 5), sendo que destes, apenas o QTL associado a ALPR não foi detectado e identificado por meio da metodologia de mapeamento por intervalo simples.

No presente estudo, os QTLs candidatos relacionados à expressão das características DICP (GLs 4 e 6 - época 1), PRAP (GL 5 - épocas 3 e 4) e outro PRAP (GL 6 - épocas 1, 2 e 5) detectados por meio do mapeamento por intervalo simples, bem como o QTL consistente detectado a partir do mapeamento por intervalo composto associado a PRAP (GL 5 - épocas 1 a 5) e o outro QTL candidato ligado a PRAP (GL 6) (épocas 1, 2 e 5) estão localizados em 2 grupos de ligação diferentes. Não foram encontradas informações sobre estes locos em cafeeiro, na literatura disponível. Por outro lado, ROCHA (2004) em estudos sobre eucalipto observou quatro QTLs relacionados à expressão da característica densidade da madeira, localizados em quatro grupos de ligação diferentes, enquanto VERHAEGEN et al. (1997), citado por ROCHA

(2004) também identificaram três QTLs em idade adulta, associados com à esta característica em eucalipto, localizados em dois grupos de ligação diferentes.

A metodologia de mapeamento por intervalo composto, além de detectar QTLs candidatos relacionados à variação de cinco das nove características avaliadas, apontou um QTL associado a PRAP e um outro ligado a ALPR, consistentes (épocas 1 a 5), situados nos grupos de ligação 5 e 9 do mapa parcial da população segregante 3 (RC<sub>1</sub>), respectivamente. Tais QTLs explicam entre 12,25% a 16,48% e 8,27% a 8,44% da variação fenotípica das características PRAP, associada aos locos OPV17 e OPS10a, assim como a ALPR associada ao loco OPAK08b, respectivamente. A consistência de tais locos também foi confirmada por meio da metodologia de marca simples quando considerou ( $P < 0,01$ ) (Quadro 6), exceto a ALPR, cuja consistência foi confirmada a partir da mesma metodologia, porém considerando ( $P < 0,05$ ) (dados não apresentados).

Comparando os resultados obtidos por ambas as metodologias de mapeamento, percebe-se que a metodologia de mapeamento por intervalo simples detectou e identificou oito QTLs candidatos relacionados com a expressão de cinco das nove características avaliadas. Por outro lado, a metodologia de mapeamento por intervalo composto detectou e identificou dois QTLs consistentes e outros quatro QTLs candidatos relacionados com a expressão de cinco das nove características avaliadas, nas cinco sucessivas épocas.

A metodologia de marca simples indicou que todas as características avaliadas são de natureza quantitativa e, portanto, influenciadas por vários locos de efeitos menores. As metodologias de mapeamento por intervalo simples e mapeamento por intervalo composto não indicaram QTLs de efeitos maiores, mesmo para as características que apresentaram elevadas estimativas de repetibilidade (Capítulo 1 – Quadro 5).

Os marcadores associados às diferentes características por meio da metodologia de marca simples estão localizados em um grupo de ligação. Representam portanto, uma região genômica, quando analisadas pelo mapeamento por intervalo simples e mapeamento por intervalo composto, sendo detectado apenas um QTL em cada um dos grupos de ligação influenciando essas características (épocas 1 a 5).

As estimativas de LR e R<sup>2</sup> obtidas a partir do mapeamento por intervalo simples para a característica PRAP (GL 6), associada aos locos OPAV09a e OPAE09 (épocas 1 e 5), apresentaram valores superiores aos obtidos a partir do mapeamento por intervalo composto.

Tal fato sugere que os cofatores aumentaram a variância residual, resultando em diminuição do LR. Por outro lado, as estimativas destes dois parâmetros relacionadas aos locos controladores da expressão das características PRAP (GL 6) associada aos locos OPAV09a e OPAE09 (época 2), NNRL (GL 9) associado ao loco OPAK08b (época 2) e DICP (GL 7) associado aos locos OPX10 e OPM18 (época 3), apresentaram valores superiores aos obtidos a partir do mapeamento por intervalo simples. Constata-se que a presença dos cofatores, neste caso, é justificada, pois, eles reduziram a variância residual, aumentando, conseqüentemente, os valores de LR e  $R^2$ .

As Figuras 7 a 10 mostram os QTLs candidatos, detectados por meio da metodologia de mapeamento por intervalo composto nas diferentes épocas.

**Característica: Posição da ramificação primária A**

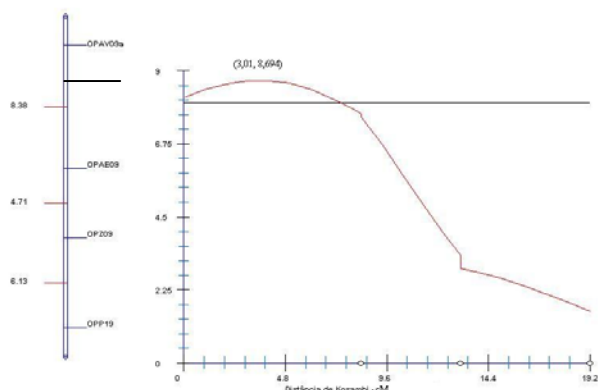
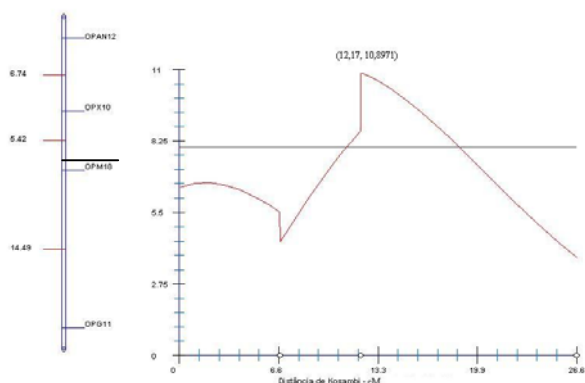


Figura 7 – Mapeamento por intervalo composto indicando a presença de QTL candidato para a característica A: posição da ramificação primária associada aos locos OPAV09a e OPAE09 (LG 6), considerando a época 1 (50 meses). Nesta figura na ordenada está disposto a escala dos valores de LR para o grupo de ligação analisado. Na abscissa está a representação do grupo de ligação e as distâncias em centimorgans. A linha horizontal indica o valor de LR e o limite de significância estatístico para cada grupo de ligação. A região acima do limite de LR é candidata a conter um QTL.

**Característica: Diâmetro da copa**



**A Característica: Posição da ramificação primária**

**B**

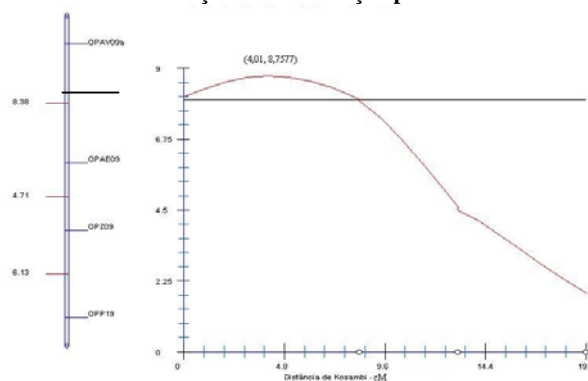


Figura 8 – Mapeamento por intervalo composto indicando a presença de QTLs candidatos para as características A: diâmetro da copa associado ao loco OPM18 (GL 7), B: posição da ramificação primária associada aos locos OPAV09a e OPAE09 (GL 6), C: número de nós nos ramos laterais associado ao loco OPAK08b (LG 9), e D: diâmetro do caule associado aos locos OPAE09 e OPZ09 (GL 6), considerando a época 2 (53 meses).

Figura 8 – Continuação...

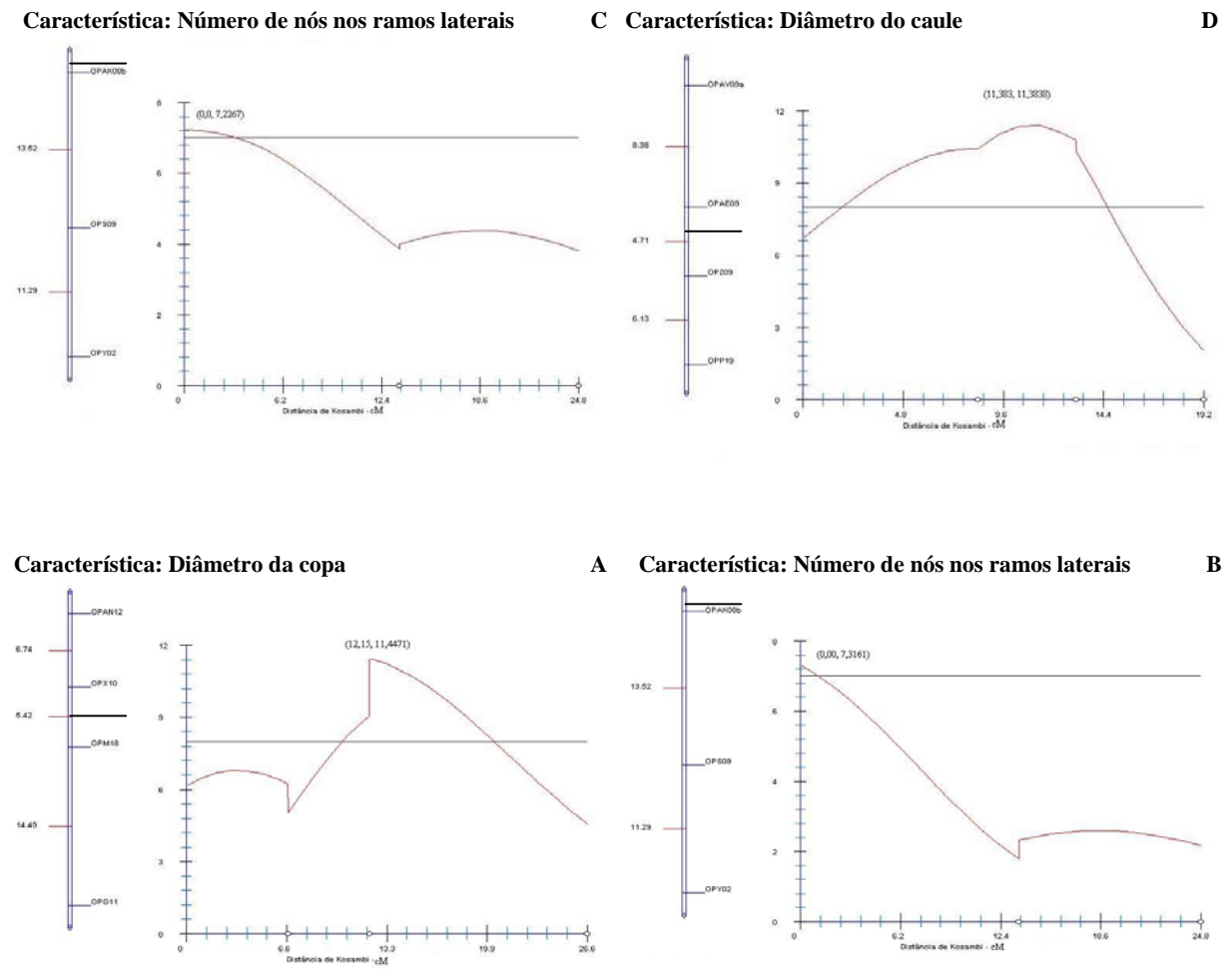


Figura 9 – Mapeamento por intervalo composto indicando a presença de QTLs candidatos para as características A: diâmetro da copa associado aos locos OPX10 e OPM18 (GL 7), e B: número de nós nos ramos laterais associado ao loco OPAK08b (GL 9), considerando a época 3 (56 meses).

**Característica: Posição da ramificação primária**

**A**

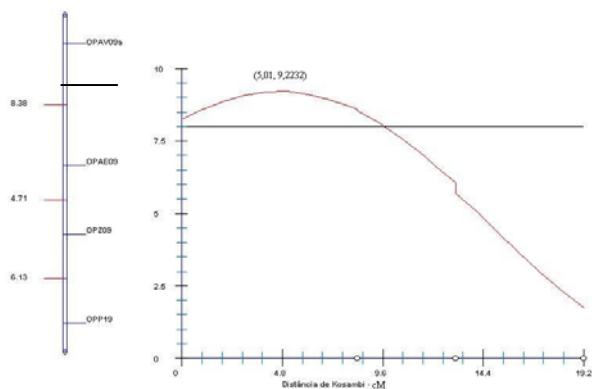
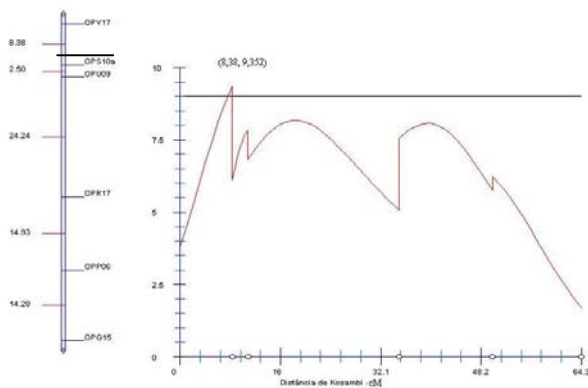


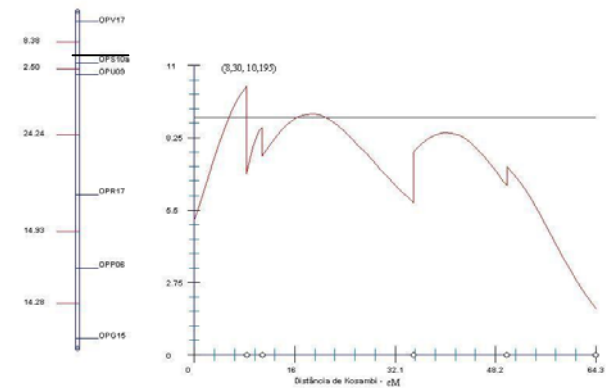
Figura 10 – Mapeamento por intervalo composto indicando a presença de QTL candidato para a característica A: posição da ramificação primária associado aos locos OPAV09a e OPAE09 (GL 6), considerando a época 5 (62 meses).

Nas Figuras 11 e 12, verifica-se que a metodologia de mapeamento por intervalo composto, possibilitou a detecção e identificação de dois QTLs consistentes nas cinco sucessivas épocas de avaliação. O primeiro associado a PRAP (GL 5) e o segundo ligado a ALPR (GL 9), respectivamente.

Característica: Posição da ramificação primária

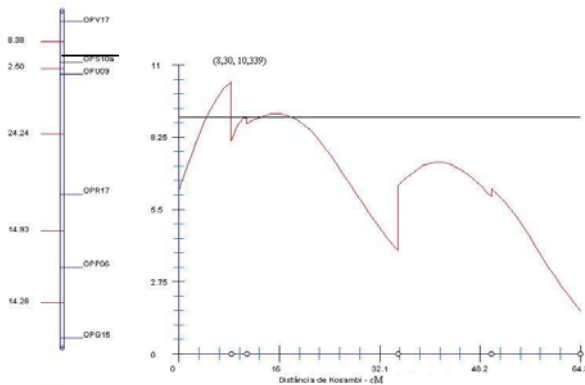


A Característica: Posição da ramificação primária

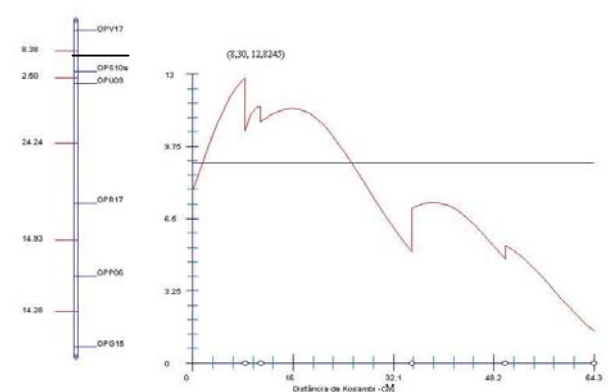


B

Característica: Posição da ramificação primária

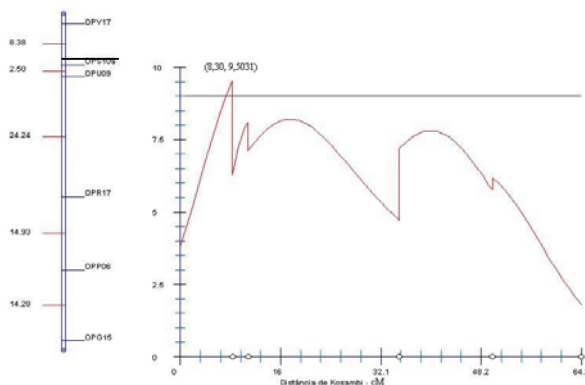


C Característica: Posição da ramificação primária



D

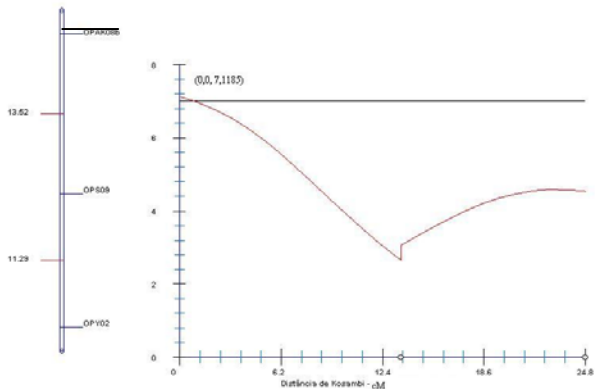
Característica: Posição da ramificação primária



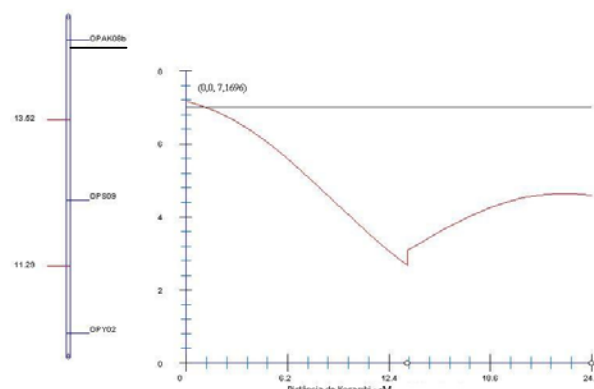
E

FIGURA 11 – Mapeamento por intervalo composto indicando a presença de QTL consistente (épocas 1 a 5) para a característica posição da ramificação primária associada aos locos OPV17 e OPS10a (GL 5). As letras A a E mostram a consistência de tal QTL nas cinco épocas individuais de avaliação, respectivamente: A: época 1 - 50 meses, B: época 2 - 53 meses, C: época 3 - 56 meses, D: época 4 - 59 meses, e E: época 5 - 62 meses.

Característica: Altura do primeiro ramo

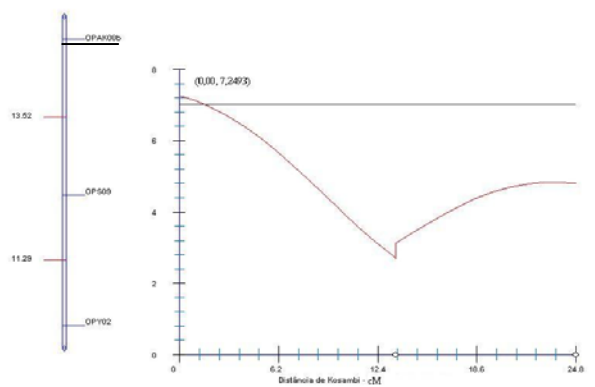


A Característica: Altura do primeiro ramo

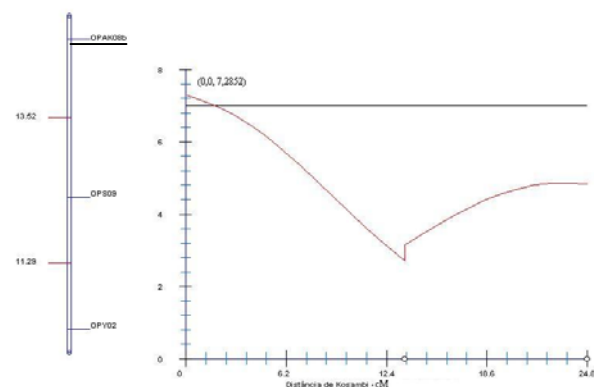


B

Característica: Altura do primeiro ramo

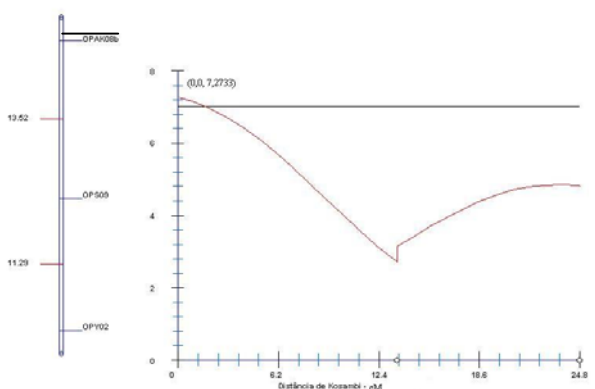


C Característica: Altura do primeiro ramo



D

Característica: Altura do primeiro ramo



E

FIGURA 12 – Mapeamento por intervalo composto indicando a presença de QTL consistente (épocas 1 a 5) para a característica altura do primeiro ramo associado aos loco OPAK08b (GL 9). As letras A a E mostram a consistência de tal QTL nas cinco épocas individuais de avaliações, respectivamente: A: época 1 - 50 meses, B: época 2 - 53 meses, C: época 3 - 56 meses, D: época 4 - 59 meses, e E: época 5 - 62 meses.

SIVIERO et al. (2002), utilizando a metodologia de mapeamento por intervalo composto, detectou dois QTLs no mapa de *Poncirus trifoliata* cv. “Rubidoux”, associados às características frutificação e produção de sementes a partir de uma progênie de 82 plantas, obtidas do cruzamento entre *Citrus sunki* vs. *Poncirus trifoliata*. SIVIERO, CRISTOFANI e MACHADO (2003), estudando a mesma progênie, observaram dois QTLs associados ao enraizamento de estacas. Tais QTLs foram responsáveis por 20,9% e 15,8% da variação fenotípica total para o enraizamento de estacas, respectivamente.

#### **4.7. Correlação fenotípica entre as características agronômicas**

Os coeficientes de correlações fenotípicas entre as nove características agronômicas são apresentados no Capítulo 2 (Quadro 4), cujos valores foram testados pelo teste *t* a 1% e 5% de probabilidade. Embora os valores absolutos dos coeficientes, nas cinco épocas de avaliação na população segregante 3, RC<sub>1</sub> tenham sido reduzidos, treze coeficientes de correlação fenotípica foram significativos a 1% e outros três foram significativos a 5%, considerando a época 1. Nas demais épocas, os resultados foram: época 2 - quinze e oito coeficientes foram significativos, respectivamente a 1% e 5%; época 3 - dezessete coeficientes foram significativos, a 1%; época 4 - dezessete e um coeficientes foram significativos, respectivamente a 1% e 5%; e época 5 - dezesseis e dois coeficientes foram significativos, respectivamente a 1 e 5%.

As baixas magnitude das correlações envolvendo as diferentes características, além da baixa saturação do mapa, não permitiram verificar se tais características exibiam QTLs mapeados nas mesmas posições do genoma.

Estudos demonstram que características correlacionadas apresentam freqüentemente, QTLs mapeados nas mesmas posições no genoma (PATERSON et al., 1991; XIAO, YUAN; TANKSLEY, 1996). Por outro lado, existem relatos do efeito pleiotrópico de QTLs em milho (VELDBOOM; LEE; WOODMAN, 1994), em arroz (XIAO et al., 1996) e em cana-de-açúcar (GUIMARÃES, 1999).

Conclui-se que, entre as três metodologias de mapeamento (marca simples, mapeamento por intervalo simples e mapeamento por intervalo composto) utilizadas no presente estudo, apenas duas (marca simples e mapeamento por intervalo composto) foram concordantes quanto à detecção e identificação de dois QTLs consistentes nas cinco épocas, sendo o primeiro associado a PRAP e o segundo ligado a ALPR. Tais QTLs consistentes estão situados nos

grupos de ligação 5 e 9 do mapa parcial da população segregante 3, RC<sub>1</sub>, respectivamente. Eles explicam entre 12,25% a 16,48% e 8,27% a 8,44% da variação fenotípica das características PRAP, associada aos locos OPV17 e OPS10a e de ALPR associada ao loco OPAK08b, respectivamente. Devido à baixa saturação do mapa, o número reduzido de progênies e utilização de apenas um tipo de marcador (dominante) não foi possível detectar os outros QTLs, previamente detectados pela metodologia de marca simples. Neste contexto, além da utilização de outros marcadores, são necessários os estudos de progênies maiores para se ter acurácia no estudo de mapeamento de QTL.

Para implementação de procedimentos de seleção assistida, alguns aspectos devem ser considerados, pois, além do tamanho da amostra, a técnica de marcadores utilizada (*RAPD*) e a pouca saturação do mapa apresentam implicações para o desenvolvimento de marcas para auxiliar a seleção. Neste sentido, a reprodutibilidade da técnica de *RAPD* pode ser controlada por meio do desenvolvimento de marcadores *SCAR*, sintetizados a partir do conhecimento da seqüência de bases dos fragmentos de DNA amplificados pela técnica de *RAPD*. A baixa saturação do mapa apresenta implicações quanto ao desenvolvimento de marcadores para a seleção assistida, uma vez que dificulta a utilização de pares de marcas nos procedimentos de seleção, sabidamente mais eficientes do que procedimentos utilizando uma única marca. A seleção simultânea de outras características correlacionadas, assim como a validação dos dois QTLs consistentes para outras populações e outros ambientes, é importante para o desenvolvimento de marcas a serem incorporadas nesses programas. A integração de mapas de ligação, se possível, é uma ferramenta promissora neste processo.

## 5. CONCLUSÕES

(1). As três metodologias de mapeamento utilizadas (marca simples, mapeamento por intervalo simples e mapeamento por intervalo composto) identificaram marcadores moleculares ligados a características de importância agronômica em cafeeiro.

(2). As metodologias de marca simples e mapeamento por intervalo composto possibilitaram a detecção e identificação de dois QTLs consistentes, nas cinco sucessivas épocas de avaliação, sendo o primeiro associado à posição da ramificação primária e o segundo ligado à altura do primeiro ramo. Tais QTLs estão situados nos grupos de ligação 5 e 9 do mapa parcial da população segregante 3 (RC<sub>1</sub>), respectivamente, explicando, entre 12,25% a 16,48% e 8,27% a 8,44% da variação fenotípica das características posição da ramificação primária associada aos locos OPV17 e OPS10a e altura do primeiro ramo associada ao loco OPAK08b, respectivamente.

(3). A metodologia de mapeamento por intervalo simples foi a menos consistente quanto à detecção e identificação de QTLs, nas cinco épocas.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGWANDA, C.; LASHERMES, P.; TROUSLOT, P.; COMBES, M.C.; CHARRIER, A. Identification of RAPD markers for resistance to Coffee Berry Disease, *Colletotrichum kahawae*, in *Arabica coffee*. **Euphytica**, v. 97, p. 241-248, 1997.

ALLARD, R.W. **Princípios do melhoramento genético das plantas**. Trad. BLUMENSCHNEIN, A, et al., São Paulo, 1971. Edgard Blucher Ltda, 381 p. 1971.

ARENDONK, J.A.M.; TIER, B.; KINGHORN, B.P. Use of multiple genetic markers in prediction of breeding values. **Genetics**, v. 137, p. 319-329, 1994.

BECKAMANN, J.S.; SOLLER, M. Toward a unified approach to genetic mapping of eukaryotes based on sequence tagged microsatellite sites. **Biotechnology**, v.8, p.930-932, 1990.

BERNATZKY, R.; TANKSLEY, S.D. Toward a saturated linkage map of tomato based on isozymes and random cDNA sequences. **Genetics**, v. 112, p. 887-898, 1986.

BOTSTEIN, D.; WHITE, R.L.; SCOLNICK, M.; DAVIS, R.W. Construction a of a genetic map in man using restriction fragment length polymorphisms. **American Journal of Human Genetics**, v.32, p.314-331, 1980.

BRONDANI, C. **Desenvolvimento de marcadores microssatélites, construção de mapa genético interespecífico de *Oryza glumaepatula* x *Oryza sativa* e análise de QTLs para caracteres de importância agrônômica**. 2000. 226p. Tese (Doutorado) – Universidade de Brasília, 2000.

BURR, B.; BURR, F.A.; TONPSNON, K.H.; ALBERTSEN, M.C.; STUBER, C.W. Gene mapping with recombinant inbreds in maize. **Genetics**, v.118, p.519-526, 1988.

BYRNE, M.; MURREL, J.C.; ALLEN, B. An integrated genetic linkage map for *Eucalyptus* using RFLP, RAPD and isozyme markers. **Theor. Appl. Genet.**, v. 91, p. 869-875, 1995.

CABRAL, T.AT. **Padrões moleculares, diversidade genética e mapa parcial de ligação do cafeeiro**. Viçosa, 2001, 112p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, 2001.

CARVALHO, A. Taxonomia de *Coffea arabica* L. VI Caracteres morfológicos dos haplóides. **Bragantia**, v. 12, n. 4-6, p. 201-212, 1952.

CARVALHO, A; KRUG, C.A. Genética de *Coffea*, XII Hereditariedade da cor amarela da semente. **Bragantia**, v. IX, p. 193-203, 1949

CERVIGNI, G.D.L. **Análise genômica da resistência às raças 3 e 9 do nematóide de cisto e avaliação da variabilidade genética de caracteres agrônômicos em soja**. 2003. 82 p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2003.

CHARRIER, A; BERTHAUD, J. Botanical classification of coffee, In: CLIFFORD, M.N.; WILLSON, K.C. **Coffee: botany biochemistry and production of beans and beverage**. The AVI Publishing Company, Inc, Westport, connectient, USA. p.13-47, 1985.

CHEN, S.; LIN, X.H.; XU, C.G.; ZHANG, Q. Improvement of bacterial blight resistance of ‘Minghui 63’, an elite restorer line of hybrid rice, by molecular marker-assisted selection. **Crop Science**, 40:239-244. 2000.

Companhia Nacional do Abastecimento – CONAB, **Cafés do Brasil**, safra 2003/2004, Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Disponível em: << [http\www.conab.gov.br](http://www.conab.gov.br) >>: Acesso em Junho de 2004.

CONAGIN, C.H.T.M.; MENDES, A.J.T. Pesquisas citológicas e genéticas em três espécies de *Coffea*. Auto-incompatibilidade em *Coffea canephora*. **Bragantia**, v. 20, p. 787-804, 1961.

CORRÊA, R.X. **Genes de resistência a doenças do feijoeiro: identificação de marcadores moleculares, organização e identificação de análogos**. Viçosa, 1999. 116p. Tese (Doutorado), Universidade Federal de Viçosa, 1999.

DE VICENTE, M.C.; TANKSLEY, S.D. QTL analysis of transgressive segregation in an interspecific tomato cross. **Genetics**, v. 134, p. 585-596, 1993.

DEVOS, D.M.; MILLAN, T.; GALE, M.D. Comparative RFLP maps of the homoeologous group-2 chromosomes of wheat, rye and barley. **Theoretical and Applied Genetics**, v.85, p.784-792, 1993.

DINIZ, L.E.C. **Mapeamento físico da região cromossômica próxima ao gene de resistência a *Meloidogyne exigua* (MEX-1) em *Coffea arabica* L.** 2004, 101 p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2004.

EATHINGTON, S.R.; DUDLEY, J.W.; RUFENER, G.K. Usefulness of marker-QTL association in early generation selection. **Crop Science**, v. 37, p. 1686-1693. 1997.

EDWARDS, M.D.; STUBER, C.S.; WENDEL, J.F. Molecular-marker-facilitated investigations of quantitative trait loci in maize. I - Numbers, genomic distribution and types of gene action. **Genetics**, v. 130, p. 113-125, 1987.

ELLIS, T.H.N.; TURNER, L.; HELLENS, R.P.; LEE, D.; HARKER, C.L.; ENARD, C.; DOMONEY, C.; DAVIES, D.R. Linkage maps in pea. **Genetics**, v.130, p.649-663, 1992.

EMERSON, R.A.; BEADLE, G.W.; FRASER, A.C. A summary of linkage studies in maize. **Cornell Univ. Agr. Exp. Sta. Memoir 180, 1935.**

ERNST, C.A.; CLAYTON, K.A.; REN, R. et al. Evaluation of marker assisted selection for introgression of commercially important genes into elite germoplasm. In: INTERNATIONAL PLANT AND ANIMAL GENOME CONFERENCE, 9., 2001, San Diego, **Abstracts**. Disponível em: <<[http://www.intl-pag.org/pag/9/abstracts/P3b\\_08.html](http://www.intl-pag.org/pag/9/abstracts/P3b_08.html)>>. Acesso em: 10 fev. 2001.

FALCONER, D. S. **Introdução à genética quantitativa**. Trad. de Martinho de Almeida e Silva e José Carlos Silva. 1ª. ed. Viçosa, UFV: Impr. Univ., 1987. 279p.

FALEIRO, F.G.; RAGAGNIN, V.A.; CARVALHO, G.A.; PAULA JÚNIOR, T.J.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. development of common bean lines resistant to rust and anthracnose by molecular markers-assisted backcrossing. **Annual Report of The Bean Improvement Cooperative**, v. 44, p. 109-110, 2001.

FAZUOLI, L.C.; MEDINA-FILHO, H.P.; GONÇALVES, W.; GUERREIRO-FILHO, O.; SILVAROLLA, M.B. Melhoramento do cafeeiro: variedades tipo arábica obtidas no Instituto Agrônomo de Campinas. **In: ZAMBOLIM, L (Ed). O estado da arte de tecnologias na produção de café. p. 253-287, 2002.**

FELDMAN, M. Cytogenetic activity and mode of action of the pairing homoeologous (*Ph1*) gene of wheat. **Crop Sci**, v. 33, p. 894-897, 1993.

FERNANDES, D.; LAHSERMES, O. Molecular tools for improving coffee (*coffea arabica* L.) resistance to parasite. In: JAINS, S.M.; BRAR, D.S.; AHLOOWALIA, B.S. (Eds.) “**Molecular technique in crop improvement**”. The Netherlands: Kluwer academic Publisher, Dordrecht, 2002, p. 327-346.

FERREIRA, D.F. **Eficiência de métodos de mapeamento de locos quantitativos (QTLs) e da seleção assistida por marcadores moleculares através de simulação**. Piracicaba: ESALQ, 1995. 210 P. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 1995.

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao Uso de Marcadores Moleculares em Análise Genética**. 2ed. EMBRAPA, 1998. 220p.

GADISH, I., ZAMIR, D. Differential zygotic abortion in an interespecific *Lycopersicum* cross. **Genome**, v. 29, p. 262-269, 1986.

GELDERMANN, H. Investigations on inheritance of quantitative characters in animals by gene markers, I, Methods. **Theor. Appl. Genet.**, v. 46, n.1, p.319-330, 1975.

GILMELFARB, A.; LANDE, R. Simulation of marker assisted selection for non additive traits genetic. **Research Camb.**, v. 64, p. 127-136, 1994.

GRASSIAS, M.; KAMMACHER, P. Observations sur la conjugaison chromossomique de *Coffea arabica* L. **Café Cacao Thé**, v, 19, n, 3, p, 177-190, 1975.

GRATTAPAGLIA, D.; SEDEROFF, R. Genetic linkage maps of *Eucalyptus grandis* and *E. urophylla* using a pseudo-testcross mapping strategy and RAPD markers. **Genetics**, v. 137, p. 1121-1137, 1994.

GUIMARÃES, C.T. **Mapeamento comparativo e detecção de QTLs em cana-de-açúcar utilizando marcadores moleculares**. Viçosa, MG: UFV, 1999. 70 p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, 1999.

HAYWARD, M.D.; McADAM, N.J.; JONES, J.G.; EVANS, C.; EVANS, G.M.; FORSTER, J.W.; USTIN, A.; HOSSIN, K.G.; QUADER, B.; STAMMERS, M.; WILL, J.K. Genetics markers and the selection of quantitative traits in forage grasses. **Euphytica**, v. 77, n.3, p. 269-275, 1994.

HELENTJARIS, T.; WEBER, D.; WRIGHT, S. Identification of the genomic locations of duplicate nucleotide sequence in maize by analysis of restriction fragment length polymorphisms. **Genetics**, v.118, p.353-363, 1988.

HOSPITAL, F.; CHEVALET, C.; MULSANT, P. Using markers in gene introgression breeding programs. **Genetics**, v. 132, p. 1199-1210, 1992.

JANSEN, R.C. Interval mapping of multiple quantitative trait loci. **Genetics**, v. 135, p.205-211, 1993.

JANSEN, R.C.; STAM, P. High resolution of quantitative trait into multiple loci via interval mapping. **Genetics**, v. 136, p. 1447-1455, 1994.

JEFFREYS, A.J.; WILSON, V.; THEIN, S.L. Hypervariable “minisatellite” regions in human DNA. **Nature**, v.314, p.67-73, 1985.

JUNGHANS, D.T. seleção assistida por marcadores. Mesa-redonda. In: **2º Congresso brasileiro de Melhoramento de Plantas**. Porto Seguro-BA: Sociedade Brasileira de Melhoramento de Plantas, 2003. CD-Rom. Arquivo:mesa 7 coord.pdf.

KANTETY, R.V.; ZENG, X.; BENNETZEN, J.L.; ZEHR, B.E. Assessment of genetic diversity in dent and popcorn (*Zea mays* L.) inbred lines using inter-simple sequence repeat (ISSR) amplification. **Molecular Breeding**, v.1, p.365-373, 1995.

- KAO, C.H.; ZENG, Z.B.; TEASDALE, R.D. Multiple interval mapping for quantitative trait loci. **Genetics**, v.152, p.1203-1216, 1999.
- KEIM P.; SCUPP, J.M; TRAVIS, S.E.; CLAYTON, K. & WEBB, D.M. A high-density soybean genetic map based upon AFLP markers. **Crop Science**, v.37, n.2, p. 537-543, 1997.
- KEIM, P.; SHOEMAKER, R.; PALMER, R. Restriction fragment length polymorphism diversity in soybean. **Theor. Appl. Genet.**, v. 77, p. 786-792, 1989.
- KOSAMBI, D.D. The estimation of map distances from recombination values. **Am. Eugen.**, v.12, p.172-175, 1944.
- KRUG, C.A. **Genética de Coffea**. Campinas: Boletim Técnico do IAC, n. 26, p. 1-39, 1936.
- KRUG, C.A.; CARVALHO, A. The genetic of *Coffea*. **Advanc. Genet.**, v. 4, p. 127-158, 1951.
- KRUG, C.A.; MENDES, A.J.T. Cytological observation in *Coffea* . IV. **J. Genet.**, v. 39, p. 189-203, 1940.
- KRUG, C.A; CARVALHO, A. Melhoramento do cafeeiro, V melhoramento por hibridação. **Bragantia**, v. 12, n. 4-6, p.141-151, 1952.
- KY, C.L.; BARRE, P; LORIEUX, M.; TROUSLOT, P.; AKAFFOU, S.; LOUARN, J.; CHARRIER, A.; HAMON, S.; NOIROT, M. Interspecific genetic linkage map, segregation distortion and genetic conversion in coffee (*Coffea* sp). **Theor. Appl. Gen.**, v.101, n.4, p.669-676, 2000.
- LANAUD, C.; RITERUCCI, A.M.; N'GORAN, A.K.J.; CLEMENT, D.; FLAMENT, M.H.; LAURENT, V.; FLAQUE, M. A genetic linkage map of *Theobroma cacao* L. **Theoretical and Applied Genetics**, v.91, n.6/7, p.987-993, 1995.
- LANDE, R.; THOMPSON, R. Efficiency of marker-assisted selection in improvement of quantitative traits. **Genetics**, v.124, n.3, p.743-756, 1990.
- LANDER, E.S.; BOTSTEIN, D. Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. **Genetics**, v.121, p.185-199, 1989.
- LANDER, E.S.; GREEN, P.; ABRAHAMSON, J.; BARLOW, A.; DALY, M.J.; LINCOLN, S.E.; NEWBURG, L. Mapmaker: an interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations. **Genomics**, v. 1, p. 174-181, 1987.
- LANZA, M.A.; GUIMARÃES, C.T.; SCHUSTER, I. Aplicações de marcadores moleculares no melhoramento genético. **Informe Agropecuário**, v. 21, n. 204, P. 97-108, 2000.
- LASHERMES, P. Breeding tools for durable resistance to nematodes (*Melodogyne* spp) of coffee varieties. IN: **PROC. EEPF 2002 (6<sup>th</sup> Conference of European Foundation for Plant Pathology) : Disease Resistance in Plant Pathology** (September 8-14, 2002, Prague, République Tchèque), Résumé W-4, page 120, 2002.

- LASHERMES, P. Breeding tools for durable resistance to nematodes (*Melodogyne* spp) of coffee varieties. **Plant Protection Science**, sous presse, 2003.
- LASHERMES, P.; ANDREZEJEWSKI, S.; BERTRAND, B.; COMBES, M.C.; DUSSERT, S.; GRAZIOSI, G.; TROUSLOT, P.; ANTHONY, F. Molecular analysis of introgressive breeding in coffee (*Coffea arabica* L.). **Theor. Appl. Gen.**, v. 100, p. 139-146, 2000.
- LASHERMES, P.; COMBES, M.C.; PRAKASH, P.; TROUSLOT, P.; LORIEUX, M.; CHARRIER, A. Genetic linkage map of *Coffea canephora*: effect of segregation in male and female meioses. **Genome**, v. 44, p. 589-596, 2001.
- LASHERMES, P.; COMBES, M.C.; ROBERT, J.; TROUSLOT, P.; D'HONT, A.; ANTHONY, F.; CHARRIER, A. Molecular characterization an origin of the *Coffea arabica* L. genome. **Mole. Gen. Genet.**, v. 261, p. 259-266, 1999.
- LASHERMES, P.; TROUSLOT, P.; ANTHONY, F. COMBES, M.C. & CHARRIER, A. Genetic diversity for RAPD markers between cultivated and wild accessions of *Coffea arabica*. **Euphytica**, v.87, p.59-64, 1996.
- LEE, M. DNA markers and plant breeding programs. **Agronomy Journal**, v. 55, p. 265-344, 1995.
- LESPINASSE, D.; RODIER-GOULD, M.; GRIVET, L.; LECONTE, A.; LEGNATE, H.; SEGUIN, M. A saturated genetic linkage map of rubber tree (*Hevea* spp.) based on RFLP, AFLP, microsatellite, and isozyme markers. **Theor. Appl. Genet**, v. 100, p. 127-138, 2000.
- LEWIN, B; GENES V. New York: Oxford University Press, 1994, 950p.
- LITT, M.; LUTY, J.A. A hypervariable microsatellite revealed by *in vitro* amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. **Am. J. Hum. Genet.**, v. 44, n.03, p. 937-1401, 1989.
- LIU, B. H. Statistical genomics: linkage, mapping, and QTL analysis. CRC press Ed. **Boca Raton**, Florida, USA (1998). 611p.
- LIU, B-H.; KNAPP, S.J. Mendel: a program for Mendelian segregation and linkage analysis of individual or multiple progeny populations using log-likelihood ratios. **Journal Heredity**, v.81, p. 407, 1992.
- LUSH, J.L. **Melhoramento dos animais domésticos**. Rio de Janeiro, RJ: Sedagra, 1964. 570p.
- LYNCH, M.; WALSH, B. **Genetics and analysis of quantitative genetics**. Sunderland, USA: Sinauer Associates, Inc. Ed., 1998, 990p.
- MACARTHUR, J.W. Linkage groups in tomato. **J. Genet**, 29:123-133, 1934.

MEDINA-FILHO, H.P.; CARVALHO, A.; SONDAHL, M.R.; FAZUOLI, L.C.; COSTA, W.M. Coffee breeding and related evolutionary aspects. In: JANICK, J. (Ed.) **Plant breeding Reviews**, Westport, AVI, 1984, v.2, p. 157-193, 1984.

MELO, L.C. **Mapeamento de QTLs em feijoeiro, por meio de marcadores RAPD, em diferentes ambientes**. 2001, Lavras. 148p. Tese (Doutorado) Universidade Federal de Lavras.

MELOTTO, M.; ALFANADOR, L.; KELLY, J.D. Development of SCAR marker linked to the gene in common bean. **Genome**, v. 39, n. 4, p. 1216-1219, 1996.

MILACH, S.C.K. **Seleção assistida por marcadores moleculares em programas de melhoramento genético vegetal**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p. 1-3, 2001.

MIRANDA, F.D. de. **Uso de marcadores RAPD para mapeamento de QTLs que determinam teor de proteína em soja**. Viçosa, MG: UFV, 2002. 112p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, 2002.

MÔNACO, L.C. Melhoramento do cafeeiro: XVII. Seleção do café maragogipe. **Bragantia**, V.19, N.1, P. 459-492, 1960.

MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G.; PIOVESAN, N.D.; SCHUSTER, I.; OLIVEIRA, M.G.A.; SEDIYAMA, C.S. **Programa de melhoramento genético da qualidade da soja para agroindústria em desenvolvimento na UFV**. In: CD do 1º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas, 2001.

MORENO, G.; CORTINA, H.; ALVARADO, G.; GAITAN, A. Utilization de los recursos genéticos de café em el programa de mejoramento genético de *C. arabica*, em Colombia. In: **Atelier sur l' amélioration durable du caféier Coffea arabica**, 2000. CATIE, TURRIALBA, COSTA RICA, p. 33-38.

MULLIS, K.; FALOONA, F. Specific synthesis of DNA in vitro via a Polymerase Catalysed Chain Reaction. **Methods Enzymol**, v.55, n. 2, p.335-350, 1987.

NODARI, R.O.; TASI, S.M.; GILBERTSON, R.L.; GEPTS, P. Towards an integrated linkage map of common bean, 2. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 85, n. 5, p. 513-520, 1993.

O'DONOUGHUE, L.S.; KIANIAN, S.F.; RAYAPATI, P.J.; PENNER, G.A.; SORRELLS, M.E.; TANKSLEY, S.D.; PHILLIPS, R.L.; RINES, H.W.; LEE, M.; FEDAK, G.; MOLNAR, S.J.; HOFFMAN, D.; SALAS, C.A.; WU, B.; AUTRIQUE, E.; DEYNZE, V. A molecular linkage map of cultivated oat. **Genome**, v. 38, p.368-380, 1995.

OLIVEIRA, A.C. Construção de mapas em plantas. In: Milach, S. C.D. **Marcadores moleculares em plantas**. Porto Alegre, RS:UFRGS, 1998, p.41-56.

OLIVEIRA, A.C.B.; SAKIYAMA, N.S.; RUFINO, R. J.N.; ZAMBOLIM, L. Recuperação assistida por marcadores RAPD do genótipo recorrente em população de retrocruzamento. In: III Simpósio de Pesquisa dos cafés do Brasil - Workshop Internacional de café & Saúde. **Anais...** Porto Seguro-Ba. Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do café, 2003b. p. 103.

OLIVEIRA, A.C.B.de; SAKIYAMA, N.S.; DINIZ, L.E.C.; ZAMBOLIM, L. Progressos no mapa de ligação gênica de *Coffea arabica* L. obtido com base em marcadores RAPD. In: III Simpósio de Pesquisa dos cafés do Brasil - Workshop Internacional de café & Saúde, **Anais...** Porto Seguro-Ba. Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do café, 2003a, p.102.

OROZCO-CASTILLO, C.; CHALMERS, K.J.; WAUGH, R POWEL, W. Detection of genetic diversity and selective gene introgression in coffee using RAPD markers. **Theor. Appl. Genet.**, v. 87, p. 934-940, 1994.

OSBORN, T.C.; ALEXANDER, D.C.; WILLIAMS, B. Identification of restriction fragment length polymorphism linked to genes controlling soluble solids content in tomato fruit. **Theor. Appl. Genet.**, v. 73, p. 350-356, 1987.

PAILLARD, M.; LAHSERMES, P.; PÉTIARD, V. Construction of a molecular map in coffee. **Theor. Appl. Genet.**, v.93, n.1-2, p.41-47, 1996.

PARAN, I.; MECHELMORE, R.W. Development of reliable PCR-based markers linked to downy mildew resistance genes in lettuce. **Theor. Appl. Genet.**, v. 85, p. 985-993, 1993.

PATERSON, A.H. **Genome mapping in plants**. San Diego: academic, 1996. 330 p.

PATERSON, A.H. **Molecular dissection of complex traits**. Boca Raton, Florida, CRC Press LLC, 1998. 305 p.

PATERSON, A.H.; DAMON, S.; HEWITT, J.D.; ZAMIR, D.; RAQBINOWITCH, H.D. Mendelian factors underlying quantitative traits in tomato comparison across species, generations and environments. **Genetics**, v. 127, p.181-197, 1991.

PATERSON, A.H.; LANDER, E.S.; HEWITT, J.D.; PETERSON, S.; LINCOLN, S.E.; TANKSLEY, S.D. Resolution of quantitative traits into Mendelian factors by using a complete linkage map of restriction fragment length polymorphisms. **Nature**, v. 335, p. 721-726, 1988.

PEARL, H.M.; NAGAI, C.; MOORE, P.H.; STEIGER, D.L.; OSGOOD, R.V.; MING, R. Construction of a genetic map for arabica coffee. **Theor. Appl. Genet.**, v. 108, p. 829-835, 2004.

PEREIRA, .A.A; MOURA, W.de.M.; ZAMBOLIM, L.; SAKIYAMA, N.S.; CHAVES, G.M. Melhoramento genético do cafeeiro no Estado de Minas Gerais - Cultivares lançados e em fase de obtenção. In: ZAMBOLIM. L. (Ed.). O estado da arte de tecnologias na produção de café. p. 253-287, 2002.

PEREIRA, .A.A; MOURA, W.de.M.; ZAMBOLIM, L.; SAKIYAMA, N.S.; CHAVES, G.M. Melhoramento genético do cafeeiro no Estado de Minas Gerais - Cultivares lançados e em fase de obtenção. In: ZAMBOLIM. L. (Ed.). O estado da arte de tecnologias na produção de café. p. 253-287, 2002.

PEREIRA, M.G. Novas tecnologias no melhoramento de plantas (Mesa-redonda). In: **2º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas**. Porto Seguro-BA: Sociedade Brasileira de melhoramento de Plantas, 2003. CD-Rom. Arquivo: mesa 6 coord.pdf.

PINTO-MAGLIO, C.A.F.; CRUZ, N.D. Pachytene chromosome morphology in *Coffea* L, II, *C. arabica* L, complement. **Caryologia**, v. 51, n. 1, p. 19-35, 1998.

QUEIROZ, V. T. **Mapeamento genético do cacauero e identificação de QTLs para resistência à vassoura-de-bruxa**. Viçosa, 2000. 65p. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, 2000.

RAMAN, H.; READ, B.J. Efficient marker assisted selection for resistance to barley yellow dwarf virus using leaf tissue and sap as templates in barley. **Barley Genetics Newsletter**, 29:8-12. 1999.

REINISCH, A.J.; DONG, J.M.; BRUBAKER, C.L.; STELLY, D.M.; WENDEL, J.F.L.; PATERSON, A.H. A detailed map of cotton, *Gossypium hirsutum* x *G. barbadense*: chromosome organization and evolution in disomic polyploidy genome. **Genetics**, v.138, p.829-847, 1994.

RIJO, L. Observações citológicas no cafeeiro "Híbrido de Timor". **Portugaliae Acta Biologica**, Serie A, v. 13, n. 1-2, p. 157-168, 1974.

RILEY, R.; CHAPMAN, V. Genetic control of the cytologically diploid behavior of hexaploid wheat. **Nature**, v.132, p. 713-715, 1958.

RILEY, R.; CHAPMAN, V.; KIMBER, G. Position of the gene determining the diploid-like meiotic behavior of wheat. **Nature**, v.186, p. 59-160, 1960.

ROCHA, R.B. **Mapeamento de QTL's para características de qualidade da madeira e de crescimento em híbridos (*Eucalyptus grandis* x *Eucalyptus urophylla*)**. 2004. 77p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2004.

RUAS, P.M.; RUAS, C.F.; AZEVEDO, L.B.; CARVALHO, V.P.; RUAS, E.; SERA, T. Identificação de marcador molecular ligado ao porte de planta em *C. arabica*. In: I simpósio de Pesquisas dos cafés do Brasil, Poços de Caldas, MG, 2000. **Resumos Expandidos...** Brasília, DF. EMBRAPA Café/MINASPLAN, 2000, p. 527-530.

SAIKI, R.K.; GELFAND, D.H.; STOEFFL, S.; SHCARF, S.J.; HIGUCHI, G.; HORN, G.T.; MULLIS, K.B.; ERLICH, H.A. Primer directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. **Science**, v.239, n.4839, p.487-491, 1988.

SAKIYAMA, N. Marcadores de DNA para melhoramento do cafeeiro. In: III SEMINÁRIO INTERNACIONAL SOBRE BIOTECNOLOGIA NA AGROINDÚSTRIA CAFEEIRA, Londrina, PR, 1999. **Anais...** Londrina, PR, IAPAR/IRD, 1999. P. 115-119.

SCHNEIDER, K.A.; BROTHERS, M.E.; KELLY, J.D. Marker-assisted selection to improve drought resistance in common bean. **Crop Science**, 37:51-60. 1997.

SCHUSTER, I.; CRUZ, C.D. **Estatística genômica aplicada a populações derivadas de cruzamentos controlados**. Viçosa: UFV, 2004. 568p.

SILVA, J.A.G.; SORRELS, M.; BURNQUIST, W.L.; TANKSLEY, S. D. RFLP linkage map and genome analysis of *Saccharum spontaneum*. **Genome**, v.36, p.782-791, 1994.

SIVIERO, A.; CRISTOFANI, M.; BOAVA, L.P.; MACHADO, M.A. Mapeamento de QTLs associados à produção de frutos e sementes em híbridos de *Citrus Sunki* vs. *Poncirus trifoliata*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 24, n. 3, p. 741-743, 2002.

SIVIERO, A.; CRISTOFANI, M.; MACHADO, M.A. QTL associated with rooting stem cutting from *Citrus sunki* vs. *Poncirus trifoliata* hybrids. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 3, n. 1, p. 83-88, 2003.

SOARES, T.C.B. **Mapeamento de locos que controlam o conteúdo de proteína em soja**. Viçosa, MG: UFV, 2000. 58p. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) ) - Universidade Federal de Viçosa, 2000.

SQUILASSI, M.G.; GRATTAPAGLIA, D. Mapping QTL, using linkage disequilibrium and a efficiency of early marker assisted selection in *Eucalyptus*. In: PLANT AND ANIMAL GENOME, 5, San Diego, 1997. **Abstracts**. San Diego, 1997. p. 296.

STAM, P. Construction of integrated genetic linkage maps by means of a new computer package: JoinMap. **The Plant Journal**, v. 3, n. 5, p. 739-744, 1993.

STROMBERG, L.D.; DUDLEY, J.W.; RUFENER, G.K. comparing conventional early generation selection with molecular marker assisted selection in maize. **Crop Science**, v. 34, p. 1221-1225, 1994.

STUBER, C. Some perspective on using molecular markers for enhancing plant breeding. In: PLANT AND ANIMAL GENOME CONFERENCE, 8, , San Diego, 2000. **Resumos**. San Diego, 2000. p. 46.

SYBENGA, J. **General cytogenetics**. North Holland Publ, Amsterdam, 359p. 1972.

TANKSLEY, S.D. Mapping polygenes. **Annual Reviews of Genetic**, v.27, p.205-233, 1993.

TANKSLEY, S.D. Rice molecular map. In: PHILLIPS, R.L.; VASIL, I.K.; **DNA-Based Markers in Plants**. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publisher, 1994a. p.286-290.

TANKSLEY, S.D. Tomato molecular map. In: PHILLIPS, R.L.; VASIL, I.K. **DNA-Based Markers in Plants**. Dordrecht. The Netherlands: Kluwer Academic Publisher, 1994b. p.310-326.

TANKSLEY, S.D.; MEDINA-FILHO, H.; RICK, C.M. Use of naturally occurring enzyme variation to detect and map genes controlling quantitative traits in na interespecific backcross of tomato. **Heredity**, v. 49, p. 11-25, 1982.

TEDESCO, SAKIYAMA, N.S.; ZAMBOLIM, L.; FONTES, J.R.M.; TEIXEIRA, T.A.; PEREIRA, A.A.; SAKIYAMA, C.C.H. Mapeamento de gene de resistência à ferrugem-do-

cafeeiro (*Hemileia vastatrix* Berk et Br.) com marcador RAPD. **Genet. Molec. Biol.**, v. 22, n. 3, p. 280, 1999.

TINGEY, S.; DEL TUFO, J.P. Genetic analysis with Random Amplified Polymorphic DNA markers. **Plant Physiology**, v.101, p.439-352, 1993.

VALLEJOS, C.E.; SAKIYAMA, N.S.; CHASE, C.D. A molecular marker-based linkage map of *Phaseolus vulgaris* L. **Genetics**, v.131, p.733-740, 1992.

VELDBOOM, L.R.; LEE, M.; WOODMAN, W.L. Molecular-markers-facilitated studies an elite maize populations, I, Linkage analysis and determination of QTL for morphological traits. **Theor. Appl. Genet.**, v.89, p. 7-16, 1994.

VILARINHO, L.B.O. **Cultivares-ponte de feijoeiro, resistência à mancha-ângular e mapeamento de QTLs**. Viçosa, MG: UFV, 2004. 81p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, 2004.

VIRK, P.S.; FOR-LLOYD, B.V.; NEWBURY, H.J. Mapping AFLP markers associated with subspecific differentiation of *Oryza sativa* (rice) and an investigation of segregation distortion. **Heredity**, v.81, p. 613-620, 1998.

VISSCHER, P.M.; HALEY, C.S.; THOMPSON, R. Marker assisted introgression in backcross breeding programs. **Genetics**, v. 144, p. 1923-1932, 1996.

WANG, D.; KARLE, R.; BRETTIN, T.S.; IEZZONI, A.F. Genetic linkage map in sour cherry using RFLP markers. **Theor. Appl. Genet.**, v. 97, p. 1217-1224, 1998.

WELSH, J.; McCLELLAND, M. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. **Nucl. Acids Res.**, v.18, p. 7213-7218, 1990.

WILLIAMS, J.G.K.; KUBELIK, A.R.; LIVAK, K.J.; RAFALSKI, J.A.; TINGEY, S.V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, v.18, p.6531-6535, 1990,

XIAO, J.; LI, J.; YUAN, L.; TANKSLEY, S.D. Identification of QTLs affecting traits of agronomic importance in a recombinant inbred population derived from a subspecific rice cross. **Theor. Appl. Genet.**, v.92, n.01, p.230-244, 1996.

XIE, C. ; XU, S. Efficiency of multistage marker assisted selection in the improvement of multiple quantitative traits. **Heredity**, v. 80, p. 489-498, 1998a.

XIE, C.; XU, S. strategies of marker-aided recurrent selection. **Crop Science**, v. 38, P. 1526-1535, 1998b.

XU, Y.; ZHU, L.; XIAO, J.; HUANG, N.; McCOUCH, S.R. Chromosomal regions associated with segregation distortion of molecular markers in F<sub>2</sub>, backcross, double haploids, and recombinant inbred populations in rice (*Oryza sativa* L.). **Mol. Gen. Genet.**, v. 253, p. 535-545, 1997.

YOUNG, N.D. Cautiously optimistic vision for marker assisted breeding. **Molecular Breeding**, v.5, p.505-510, 1999.

YOUNG, N.D.; QTL mapping and quantitative disease resistance in plants. **Annual Review Phytopathology**, v. 34, p. 479-501, 1996.

YU, K.F.; DEYNZE, A.V.; PAULS, K.P. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis, In: YU, K.F.; DEYNZE, A.V.; PAULS, K.P. **Methods in plant molecular biology and biotechnology**. New York: CRC, 1993, p. 287-301.

ZABEAU, M. Selective restriction fragment amplification: a general method for DNA fingerprinting. **European Patent Application 0534858 A1**, 1993.

ZAMIR, D.; TADMOR, Y. Unequal segregation of nuclear genes in plants. **Bot. Gaz.**, v. 147, p. 355-358, 1986.

ZENG, Z.B. Precision mapping of quantitative trait loci. **Genetics**, v.136, p.1457-1468, 1994.

ZENG, Z.B. Theoretical basis of precision mapping of quantitative trait loci. **Proceedings of the National Academy of Science United States of America**, v.90, p.10972-10976, 1993.

## **CAPÍTULO 4**

### **MAPEAMENTO DE QTLs EM POPULAÇÃO SEGREGANTE F<sub>2</sub> DE CAFÉ ARÁBICA**

#### **RESUMO**

O estudo de locos controladores de características quantitativas (QTLs) associado ao uso de mapas genéticos, obtidos por marcadores moleculares, possibilita identificar, mapear e quantificar o efeito dos QTLs. O presente trabalho teve como objetivo a identificação e a caracterização de QTLs associados às características altura da planta (ALTP), diâmetro da copa (DICP), vigor vegetativo (VIVG), posição da ramificação primária (PRAP), número de ramos laterais (NRAL), número de nós no ramo principal (NNRP), número de nós nos ramos laterais (NNRL), altura do primeiro ramo (ALPR) e diâmetro do caule (DIAC). As avaliações fenotípicas foram realizadas em cinco sucessivas épocas de avaliação (17 a 29 meses), com intervalo de três meses entre avaliações, exceto para o DIAC que foi avaliado em quatro épocas, sendo estas iniciadas a partir da segunda época de avaliação das demais características. Utilizou-se a população segregante 4 (F<sub>2</sub>) com 47 plantas. Esta população segregante foi obtida, a partir da autofecundação controlada de uma planta F<sub>1</sub> (H 464-2), a qual originou-se do cruzamento “Mundo Novo IAC 464-18 x Híbrido de Timor UFV 440-22”. As plantas apresentavam idade inicial de 17 meses, sendo que as avaliações foram realizadas aos 17, 20, 23, 26 e 29 meses de

idade. Foi desenvolvido um mapa parcial de ligação *RAPD*, utilizando-se *LOD score* mínimo (logaritmo na base 10 da razão entre a probabilidade de que os marcadores estejam ligados e a probabilidade de que eles não estejam ligados) de 3,0 e *r* (frequência máxima de recombinação entre o QTL e o marcador) de 0,40. Foram obtidos 97 marcadores *RAPD*, apresentando segregação 3:1 ( $P < 0,01$ ), os quais foram utilizados na construção do mapa, sendo que 35 não mostram-se ligados aos grupos formados. Sessenta e dois marcadores resultaram em 13 grupos de ligação, cobrindo 339,71 cM. Nos cinco primeiros grupos obtidos, a densidade de marcadores foi boa. A distância média entre dois marcadores adjacentes foi 6,93 cM. O maior intervalo entre dois marcadores adjacentes foi 20,58 cM, sendo que 97,96% dos intervalos não excederam 20 cM. Além de indicar marcadores consistentes, que explicam as variações das características ALTP, DICP, PRAP, NRAL, NNRP, NNRL e ALPR para a população segregante 4 ( $F_2$ ) (épocas 1 a 5), a metodologia de marca simples discriminou três marcadores associados a mais de uma característica, indicando efeitos pleiotrópicos no controle genético dessas características. Estes marcadores são: a) OPAL12 associado a PRAP e a ALPR; b) OPAX20 associado ao NRAL e ao NNRP; e c) OPAR02 associado ao NNRL e a ALPR. As metodologias de marca simples, mapeamentos por intervalo simples e intervalo composto detectaram e identificaram um QTL, associado à ALPR. Este QTL foi consistente nas cinco sucessivas épocas de avaliação, e está presente no grupo de ligação 4 do mapa parcial da população segregante 4 ( $F_2$ ). Este QTL explica entre 29,14% a 29,41% (épocas 1 e 2) e 30,32% a 30,45% (épocas 3 a 5) da variação fenotípica da característica ALPR associada aos locos OPAE05 e OPG14. O número reduzido de QTL identificado é devido à baixa saturação do mapa, ao número reduzido de progênies e à utilização de apenas um tipo de marcador (dominante). O número de grupos de ligação obtidos na população em estudo, como também na população 3 ( $RC_1$ ) é inferior ao correspondente número haplóide de cromossomos de *Coffea arabica* L. Assim, o genoma da espécie foi, parcialmente, explorado e muitas regiões ainda não foram identificadas.

Palavras-chave: café, marcador molecular, características quantitativas, mapa de ligação.

## MAPPING OF QTLs IN SEGREGANT POPULATION F<sub>2</sub> OF ARABIC COFFE

### ABSTRACT

The study of quantitative loci characteristics (QTLs) associated with the use of genetic maps obtained from molecular markers allow to identify, to map and quantify the effect of QTLs. The present study had the objective to identify and to characterize the effect of QTLs associated with the characteristics height plant, canopy diameter, vegetative vigor, position of the primary ramification, number of lateral branches, number of nodes on the main branch, number of nodes on the lateral branches, height of the first branch and stem diameter. The phenotypic evaluations of these characteristics were done in five seasons (17 to 29 months) with three months between them except for the stem diameter which was evaluated in four seasons initiated from the second seasons of the other characteristics. It was used the segregant population 4 (F<sub>2</sub>) with 47 plants. This segregant population was obtained from a controlled self-fecundation of a plant F<sub>1</sub> (H 464-2) which was originated from the cross “Mundo Novo IAC 464-18 x Híbrido de Timor UFV 440-22”. The plants were 17 months old and the evaluations starting on 17, 20, 23, 26 and 29 months. A parcial map of ligation *RAPD* was developed using the minimum value 3.0 for *LOD score* ( $\log_{10}$  for the ratio between the probability that the markers were ligated and the probability that they were not) and *r* (maximum frequency of recombination between the QTL and the marker) of 0.40. A total of 97 *RAPD* markers showing segregation 3:1 ( $P < 0,01$ ) were

used to construct a map with 35 of them not ligated to formed groups. Sixty-two markers resulted on 13 groups of ligation covering 339.71 cM. The five first groups obtained showed a good density of markers. The mean distance between the two adjacent markers was 6.93 cM. The longest interval between two adjacent markers was 20.58 cM with 97.96% of the intervals not exceeding 20 cM. The methodology of simple markers showed three markers associated with more than one characteristics besides to indicate consistent markers that explain the variation on the following characteristics: height plant, canopy diameter, position of the primary ramification, number of lateral branches, number of nodes on the main branch, number of nodes on lateral branches and height of the first branch indicating pleiotropic effects on the genetic control of these characteristics. The markers are: OPAL12 associated with the position of the primary ramification and the height of the first branch; OPAX20 associated with number of lateral branches and number of nodes on the main branch; and OPAR02 associated with the number of nodes on the lateral branches and height of the first branch. The methodologies of simple markers and simple interval mapping and composite interval mapping allowed the detection and identification of one QTL associated with the height of the first branch. This QTL was consistent at the five seasons of evaluations and is present on the group of ligation 4 of the parcial map of the segregant population 4 ( $F_2$ ). This QTL explain from 29.14% to 29.41% (seasons 1 and 2) and from 30.32% to 30.45% (seasons 3 and 5) of the phenotypic variation of the characteristics height of the first branch associated with the loci OPAE05 and OPG14. The reduced number of QTL identified is due to the low saturation of the map, the reduced number of progenies and the use of a single kind of marker (dominant). The number of groups of ligation obtained on the population used in this study as well as on the population 3 ( $RC_1$ ) is lower that the correspondent number of haploid cromossomes of *Coffea arabica* L. Therefore, the genome of this specie was partially explored and many regions were not identified yet.

Key words: Coffee, molecular marker, quantitative characteristics, map of ligation.

## 1. INTRODUÇÃO

O melhoramento genético de qualquer espécie vegetal, baseado em seleção fenotípica, depende da habilidade do pesquisador em estimar a proporção de uma característica de interesse que é determinada por fatores genéticos herdáveis. Portanto, vale ressaltar este componente da proporção do fenótipo, determinada por fatores ambientais. No caso de características de herança complexa, nas quais o componente ambiental é importante, o melhorista pode encontrar dificuldades para exercer seleção adequada. Nesses casos, a seleção fenotípica pode ser facilitada pelo uso de marcadores de DNA, que estejam próximos, ou flanqueando os QTLs de interesse. aplicando a metodologia de marca simples, é possível testar associações entre os marcadores e os valores fenotípicos das características avaliadas, enquanto a aplicação de metodologias de mapeamento por intervalo simples e mapeamento por intervalo composto, confirma essas associações, previamente detectadas por meio da marca simples, além de possibilitar a determinação da posição e do efeito dos marcadores, que flanqueiam as regiões dos QTLs candidatos. Estes dois últimos tipos de análise requerem a obtenção das distâncias de recombinação entre dois marcadores adjacentes e portanto, necessitam da construção de um mapa de ligação, envolvendo todos os marcadores ligados da população segregante em estudo.

O presente trabalho objetivou-se construir um mapa de ligação para o café arábica, a partir de uma população segregante  $F_2$  e identificar QTLs associados às características

agronômicas altura da planta, diâmetro da copa, vigor vegetativo, posição da ramificação primária, número de ramos laterais, número de nós no ramo principal, número de nós nos ramos laterais, altura do primeiro ramo e diâmetro do caule.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Material genético

No presente trabalho, foi utilizada a população segregante 4 ( $F_2$ ) com 47 plantas. Esta população segregante foi obtida, a partir da autofecundação controlada de uma planta  $F_1$  (H 464-2), proveniente do cruzamento “Mundo Novo IAC 464-18 x Híbrido de Timor UFV 440-22”. O cultivar “Mundo Novo IAC 464-18” (FAZUOLI et al., 2002) corresponde a uma recombinação resultante de um cruzamento natural entre as variedades Sumatra e Bourbon Vermelho de café arábica. O “Híbrido de Timor UFV 440-22” (PEREIRA et al., 2002) originou-se de uma introdução, registrada como UFV 440. Essa introdução originou-se de uma progênie de cafeeiros, selecionados na Estação Regional de Uige (ERU) pertencente ao Instituto de café de Angola, com o registro ERU 209, a qual é proveniente da introdução CIFC 2570.

O cultivar “Mundo Novo IAC 464-18”, embora seja produtivo e apresente alelos desejáveis e de interesse para o programa de melhoramento genético do cafeeiro da UFV, é susceptível ao fungo *Hemileia vastatrix* Berk. et Br., causador da ferrugem alaranjada do cafeeiro, que é a principal doença do cafeeiro arábica em nível mundial. As populações derivadas do Híbrido de Timor apresentam diferentes combinações dos genes de resistência a este

patógeno, favorecendo sua utilização em programas de retrocruzamento, em que os alelos favoráveis presentes nessas populações possam ser introgrididos em materiais-elites, como o “Mundo Novo IAC 464-18”. Dessa forma, a população segregante, obtida a partir do cruzamento entre estes dois materiais, oferece possibilidade para mapeamento de regiões genômicas associadas à resistência a este patógeno e a outras características agronômicas.

Segundo WU et al. (1992), uma população de mapeamento constituída por 47 plantas não fornece a precisão de mapeamento, requerida em espécies poliplóides. No entanto, o tamanho das populações utilizadas no mapeamento genético de algumas culturas têm oscilado entre 47 (TULSIERAM et al., 1992) e 138 plantas (KISS et al., 1993).

### **2.1.1. Avaliações fenotípicas**

Na população segregante 4 ( $F_2$ ), foram avaliadas as seguintes características agronômicas: altura da planta (ALTP), diâmetro da copa (DICP), vigor vegetativo (VIVG), posição da ramificação primária (PRAP), número de ramos laterais (NRAL), número de nó no ramo principal (NNRP), número de nós nos ramos laterais (NNRL), altura do primeiro ramo (ALPR) e diâmetro do caule (DIAC). A descrição detalhada destas características é apresentada no item 3.1. (Capítulo 1).

### **2.1.2. Extração de DNA**

A extração de DNA das 47 plantas da população segregante 4 ( $F_2$ ) foi realizada, conforme metodologia descrita no item 3.1.2 (Capítulo 3).

### **2.1.3. Amplificação do DNA e análise eletroforética dos produtos**

As reações de amplificação das 47 plantas da população segregante 4 ( $F_2$ ) e as análises eletroforéticas foram realizadas, conforme descrito no item 3.1.3 (Capítulo 3).

#### **2.1.4. Construção do mapa de ligação**

Os polimorfismos *RAPD* gerados foram classificados de acordo com genitor de origem. Os marcadores originados do genitor “Mundo Novo IAC 464-18” foram codificados com o número 1 e aqueles provenientes do genitor “Híbrido de Timor UFV 440-22” foram codificados com o número 0. Os fragmentos presentes no “Mundo Novo IAC 464-18” e no  $F_1$  (H 464-2) e que segregaram na população segregante 4 ( $F_2$ ) foram recodificados, para serem utilizados no programa QMOL 2004.2.1. Assim, os marcadores com o número 1 receberam a codificação 4 e os marcadores com o número 0 receberam a codificação 2. Foram avaliados, apenas, os marcadores em fase de aproximação.

A definição dos parâmetros *LOD score* mínimo de 3,0 e *r* (máxima frequência de recombinação entre o QTL e o marcador) de 0,40 para o agrupamento dos marcadores foi a mesma adotada por CABRAL (2001). A função de Kosambi (KOSAMBI, 1944) foi usada para conversão das taxas de recombinação em distância de mapa em cM (centiMorgan). Para determinação da ordem mais provável dos marcadores, em cada grupo, utilizou-se o método SARF, conforme descrito no item 3.1.4 (Capítulo 3).

##### **2.1.4.1. Denominação dos marcadores no mapa de ligação**

Os marcadores *RAPD* foram identificados com as letras do *primer* da série Operon.

#### **2.1.5 Teste de normalidade**

As nove características agronômicas foram avaliadas, quanto à normalidade, pelo teste de Lilliefors. As estimativas de simetria e curtose, também foram consideradas para facilitar comparações entre as distribuições observadas. Tais testes foram realizados conforme SCHUSTER; CRUZ (2004).

### **2.1.6 Identificação e mapeamento de QTLs**

Primeiramente, foram realizados estudos de repetibilidade de todos os dados fenotípicos da população segregante 4,  $F_2$  (épocas 1 a 5) (Capítulo 1 – Quadro 6). Correlações entre as nove características também foram obtidas (Capítulo 2 – Quadro 5). Posteriormente, todos os marcadores com segregação mendeliana 3:1 foram avaliados, para determinar associações com as nove características, utilizando a metodologia de marca simples e considerando as probabilidades ( $P < 0,05$  e  $P < 0,01$ ), na tentativa de detecção dos QTLs candidatos. A análise de regressão linear simples também foi realizada com o objetivo de comprovar os resultados das análises de variância e, adicionalmente, para determinação do  $R^2$ .

As informações do mapa de ligação foram utilizadas, para mapear os QTLs ao longo dos grupos de ligação, por meio das metodologias de mapeamento por intervalo simples (LANDER; BOTSTEIN, 1989) e mapeamento por intervalo composto (ZENG, 1993, 1994; JANSEN; STAM, 1994). Todas as análises moleculares foram realizadas utilizando-se o programa GQMOL 2004.2.1 (<http://www.ufv.br/dbg/gqmol/gqmol.htm>), em desenvolvimento na Universidade Federal de Viçosa.

### **2.1.7. Determinação do ponto de corte para o mapeamento de QTLs**

A significância de um QTL é atribuída pela razão de verossimilhança entre a probabilidade de existência do QTL e a probabilidade de que nenhum QTL existe em determinada posição do mapa de ligação. A estatística LR está associada ao qui-quadrado ( $\chi^2$ ) com 2 graus de liberdade, para o caso de mapeamento considerando-se a população  $F_2$ . O nível crítico foi estabelecido, conforme ZENG (1994), utilizando nível de significância ( $\alpha$ ) de 10% para o mapa.

### **2.1.8 Mapeamento de QTLs utilizando a metodologia de marca simples**

As análises de marca simples foram realizadas, conforme descrito no item 3.1.8 (Capítulo 3).

### **2.1.9 Mapeamento de QTLs utilizando a metodologia de mapeamento por intervalo simples**

A presença do QTL foi testada, utilizando-se a razão de verossimilhança, assumindo QTL ligado na hipótese alternativa e ausência de QTLs na hipótese nula. Sob hipótese nula, a distribuição esperada de LR é assintoticamente  $\chi^2$ , com 2 graus de liberdade para a  $F_2$ , pois, os parâmetros “a” (efeito aditivo) e “d” (efeito devido à dominância) são estimados no modelo completo, mas não no modelo reduzido (ausência de QTL).

A localização mais provável do QTL foi estimada, utilizando-se a função de verossimilhança e plotando uma curva para cada cM do genoma, em valores de LR.

### **2.1.10. Mapeamento de QTLs utilizando a metodologia de mapeamento por intervalo composto**

As análises de mapeamento por intervalo composto foram realizadas, conforme descrito no item 3.1.10 (Capítulo 3).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Detecção de polimorfismos e seleção de *primers* *RAPD*

Dos 400 *primers* *RAPD* avaliados, pertencentes aos *kits* OPAA, OPAC, OPAE, OPAF, OPAG, OPAH, OPAI, OPAJ, OPAK, OPAL, OPAN, OPAP, OPAQ, OPAR, OPAS, OPAT, OPAU, OPAV, OPAW, OPAX, 85 (21,25%), foram selecionados por amplificar fragmentos polimórficos específicos presentes no Mundo Novo IAC 464-18 e F<sub>1</sub> (H 464-2) e ausentes no Híbrido de Timor 440-22. Destes, 42 (49,41%) foram selecionados por apresentarem padrão de polimorfismo mais intenso e reprodutível. Estes 42 novos *primers*, selecionados a partir deste estudo, deram origem a 58 marcadores *RAPD* (1,38 fragmento polimórfico por *primer*). Dos 74 *primers* polimórficos, obtidos por CABRAL (2001) (Quadro 2 - Capítulo 3), 35 (47,30%) foram reproduzidos pela técnica de *RAPD* e deram origem a 39 marcadores *RAPD* (1,11 fragmento polimórfico por *primer*). Um total de 97 marcadores *RAPD* polimórficos foi avaliado pelo teste qui-quadrado ( $P < 0,01$ ), para segregação mendeliana esperada de 3:1. Marcadores *RAPD* selecionados, a partir do trabalho desenvolvido por CABRAL (2001), são identificados com um asterisco, enquanto os novos marcadores selecionados a partir deste estudo são identificados com dois asteriscos, conforme se observa no Quadro 1.

QUADRO 1 - Marcadores *RAPD* originados do genitor “Mundo Novo IAC 464-18” segregando na proporção mendeliana esperada (3:1) e o valor de qui-quadrado significativo a  $P < 0,01$ . O número “2”, representa o alelo presente no “Híbrido de Timor UFV 440-22” e o número “4”, representa o alelo presente no “Mundo Novo IAC 464-18”. O número “9”, representa a classe dos genótipos que falharam na reação de amplificação. *Primer* com mais de um produto polimórfico foi identificado com as letras a, b, c e d.

<i>Primer</i> <sup>1/</sup>	4	2	9	$\chi^2$	Probabilidade (%)	<i>Primer</i> <sup>1/</sup>	4	2	9	$\chi^2$	Probabilidade (%)
OPB20*	34	13	-	0,1770	67,3700 <sup>ns</sup>	OPW08*	30	17	-	3,1280	7,6974 <sup>ns</sup>
OPA01*	30	16	1	2,3480	12,5458 <sup>ns</sup>	OPZ06*	34	13	-	0,1770	67,3700 <sup>ns</sup>
OPG15*	31	11	5	0,0320	85,8586 <sup>ns</sup>	OPP08*	34	13	-	0,1770	67,3700 <sup>ns</sup>
OPC02*	28	14	5	0,1556	21,2317 <sup>ns</sup>	OPG14*	35	12	-	0,0070	93,2885 <sup>ns</sup>
OPD14*	30	12	5	0,2860	59,2980 <sup>ns</sup>	OPZ14*	34	13	-	0,1770	67,3700 <sup>ns</sup>
OPK13*	32	15	-	1,1990	27,3605 <sup>ns</sup>	OPBA06*	33	14	-	0,5740	44,8489 <sup>ns</sup>
OPJ17*	34	12	1	0,0290	86,4813 <sup>ns</sup>	OPY17*	31	16	-	2,0500	15,2242 <sup>ns</sup>
OPL11*	28	13	6	0,9840	32,1277 <sup>ns</sup>	OPBD02*	34	13	-	0,1777	67,3700 <sup>ns</sup>
OPG13*	35	12	-	0,0070	93,2885 <sup>ns</sup>	OPBE12*	33	14	-	0,5740	44,8489 <sup>ns</sup>
OPI20*	35	12	-	0,0070	93,2885 <sup>ns</sup>	OPBF18*	31	16	-	2,050	15,2242 <sup>ns</sup>
OPO06*	35	12	-	0,0070	93,2885 <sup>ns</sup>	OPBG19*	32	15	-	1,1990	27,3605
OPM18*	35	12	-	0,0070	93,2885 <sup>ns</sup>	OPS09*	36	11	-	0,0640	80,0542 <sup>ns</sup>
OP015a*	29	18	-	4,4330	3,5258 <sup>ns</sup>	OPH08*	30	17	-	3,1280	7,6974 <sup>ns</sup>
OPO15b*	32	15	-	1,1990	27,3605 <sup>ns</sup>	OPT06*	32	15	-	1,1990	27,3605 <sup>ns</sup>
OPP16a*	37	10	-	0,3480	55,5522 <sup>ns</sup>	OPBD05*	28	16	3	3,0300	8,1723 <sup>ns</sup>
OPP16b*	35	12	-	0,0070	93,2885 <sup>ns</sup>	OPY01*	29	14	4	1,3100	25,2381 <sup>ns</sup>
OPV07*	37	10	-	0,3480	55,5522 <sup>ns</sup>	OPM06a*	35	12	-	0,0070	93,2885 <sup>ns</sup>
OPV08*	36	11	-	0,0640	80,0542 <sup>ns</sup>	OPM06b*	32	15	-	1,1990	27,3605 <sup>ns</sup>
OPP06a*	28	19	-	5,9650	1,45960 <sup>ns</sup>	OPR17*	40	7	-	2,5600	10,9579 <sup>ns</sup>
OPP06b*	34	13	-	0,1770	67,3700 <sup>ns</sup>	OPAV06a**	33	14	-	0,5740	44,8489 <sup>ns</sup>
OPAW12**	32	15	-	1,1990	27,3605 <sup>ns</sup>	OPAV06b**	34	13	-	0,1770	67,3700 <sup>ns</sup>
OPAH09**	31	16	-	2,0500	15,2242 <sup>ns</sup>	OPAV06c**	33	14	-	0,5740	44,8489 <sup>ns</sup>
OPAHA11**	36	11	-	0,0640	80,0542 <sup>ns</sup>	OPAV06d**	34	13	-	0,1770	67,3700 <sup>ns</sup>
OPAL17**	34	13	-	0,1770	67,3700 <sup>ns</sup>	OPAF03a**	36	9	2	0,6000	43,8578 <sup>ns</sup>
OPAT02**	34	13	-	0,1770	67,3700 <sup>ns</sup>	OPAF03b**	31	14	2	0,8960	34,3777 <sup>ns</sup>
OPAI09**	32	15	-	1,1990	27,3605 <sup>ns</sup>	OPAG08**	35	12	-	0,0070	93,2885 <sup>ns</sup>
OPAI15a**	30	17	-	3,1280	7,6974 <sup>ns</sup>	OPAN12**	36	11	-	0,0640	80,0542 <sup>ns</sup>
OPAI15b**	33	14	-	0,5740	44,8489 <sup>ns</sup>	OPAL12**	35	12	-	0,0070	93,2885 <sup>ns</sup>

<sup>1/</sup> \* = Marcadores *RAPD* estabelecidos a partir do estudo de CABRAL (2001);

\*\* = Novos marcadores *RAPD* estabelecidos a partir deste estudo.

QUADRO 1 - Continuação...

<i>Primer</i> <sup>LL</sup>	4	2	9	$\chi^2$	Probabilidade (%)	<i>Primer</i> <sup>LL</sup>	4	2	9	$\chi^2$	Probabilidade (%)
OPAI18a**	37	10	-	0,3480	55,5522 <sup>ns</sup>	OPAT13a**	29	18	-	4,4330	3,5258 <sup>ns</sup>
OPAI18b**	36	11	-	0,0640	80,0542 <sup>ns</sup>	OPAT13b**	34	13	-	0,1777	67,3700 <sup>ns</sup>
OPAA16a**	32	14	1	0,7250	39,4627 <sup>ns</sup>	OPAU10**	34	13	-	0,1777	67,3700 <sup>ns</sup>
OPAA16b**	34	12	1	0,0290	86,4813	OPAU14**	36	11	-	0,0640	80,0542 <sup>ns</sup>
OPAC15**	34	13	-	0,1770	67,3700 <sup>ns</sup>	OPAV09**	33	14	-	0,5740	44,8489 <sup>ns</sup>
OPAE07**	35	12	-	0,0070	93,2885	OPAV17**	28	19	-	5,9650	1,45960 <sup>ns</sup>
OPAE05**	36	11	-	0,0640	80,0542 <sup>ns</sup>	OPAE09**	34	13	-	0,177	67,3700 <sup>ns</sup>
OPAE03**	33	14	-	0,5740	44,8489 <sup>ns</sup>	OPAF10a**	35	12	-	0,0070	93,2885 <sup>ns</sup>
OPAF16**	37	10	-	0,3480	55,5522 <sup>ns</sup>	OPAF10b**	35	12	-	0,0070	93,2885
OPAF15a**	36	10	1	0,2610	60,9523 <sup>ns</sup>	OPAK02a**	28	19	-	5,9650	1,45960 <sup>ns</sup>
OPAF15b**	35	11	1	0,0290	86,4813 <sup>ns</sup>	OPAK02b**	32	15	-	1,1990	27,3605 <sup>ns</sup>
OPAR03**	41	6	-	3,7520	5,2752 <sup>ns</sup>	OPAN05a**	30	17	-	3,1280	7,6974 <sup>ns</sup>
OPAR18**	32	15	-	1,1990	27,3605 <sup>ns</sup>	OPAN05b**	30	17	-	3,1280	7,6974 <sup>ns</sup>
OPAJ13**	31	16	-	2,0500	15,2242 <sup>ns</sup>	OPAN07a**	30	16	1	2,3480	12,5458 <sup>ns</sup>
OPAS06**	38	9	-	0,8580	35,4255 <sup>ns</sup>	OPAN07b**	31	15	1	1,4200	23,3356 <sup>ns</sup>
OPAT14**	31	16	-	2,0500	15,2242	OPAP20a**	35	12	-	0,0070	93,2885 <sup>ns</sup>
OPAV05**	32	15	-	1,1990	27,3605 <sup>ns</sup>	OPAP20b**	37	10	-	0,3480	55,5522 <sup>ns</sup>
OPAX20**	32	14	1	0,7250	39,4627 <sup>ns</sup>	OPAP20c**	31	16	-	2,0500	15,2242 <sup>ns</sup>
OPAR02**	31	15	1	1,4200	23,3356 <sup>ns</sup>	OPAJ11a**	31	16	-	2,0500	15,2242 <sup>ns</sup>
OPAA10**	32	15	-	1,1990	27,3605 <sup>ns</sup>	OPAJ11b**	28	19	-	5,9650	1,4596 <sup>ns</sup>
OPAQ19**	33	14	-	0,5740	44,8489 <sup>ns</sup>						

<sup>LL</sup> \* = Marcadores *RAPD* estabelecidos a partir do estudo de CABRAL (2001);

\*\* = Novos marcadores *RAPD* estabelecidos a partir deste estudo.

Em café robusta, PAILLARD; LASHERMES; PÉTIARD (1996) observaram taxa de polimorfismo com marcadores *RAPD* igual a 29%, em uma população de duplos haplóides. Em café arábica, CABRAL (2001) observou taxa de polimorfismo igual a 21,5%, em uma população de retrocruzamento 1 (RC<sub>1</sub>).

### 3.2. Construção do mapa de ligação

Para construção do mapa, foram utilizados os 97 marcadores *RAPD* que segregaram 3:1 (Quadro 1). Destes 97 marcadores, 35 não mostraram-se ligados aos grupos formados. Os outros 62 marcadores foram mapeados em treze grupos de ligação (GLs), cobrindo 339,71 cM. A

Figura 1 ilustra o mapa de ligação parcial, obtido a partir da população segregante 4 ( $F_2$ ) com 62 marcadores *RAPD* distribuídos em 13 GLs .

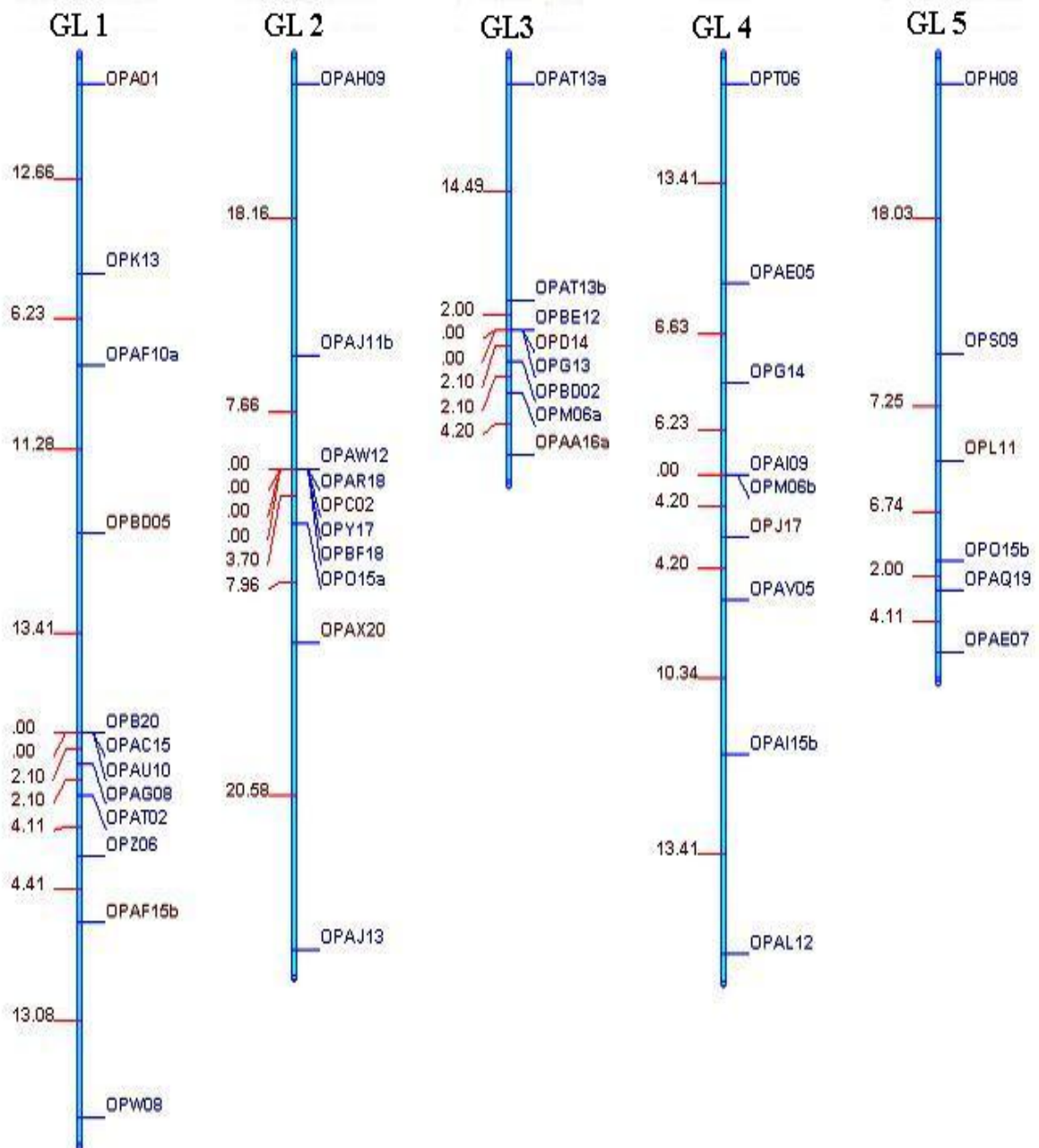
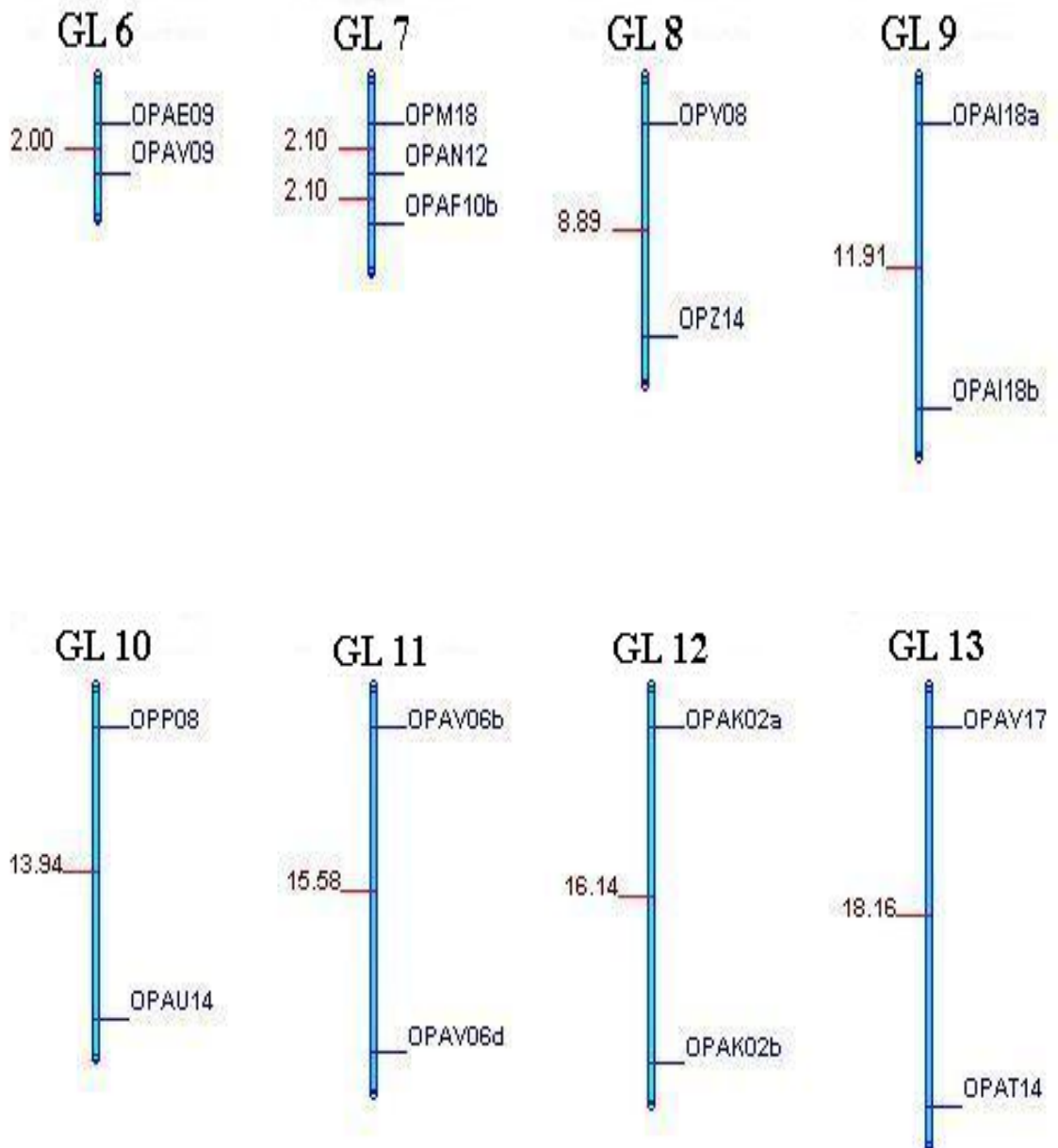


Figura 1 – Mapa parcial de ligação gênica de café arábica com base em marcadores *RAPD*, obtido a partir da autofecundação controlada de uma planta  $F_1$  (H 464-2), originada do cruzamento “Mundo Novo IAC 464-18 x Híbrido de Timor UFV 440-22”. Os marcadores *RAPD* estão indicados no lado direito de cada grupo de ligação, e as distâncias em cM, no lado esquerdo de cada grupo.

Figura 1 – continuação....



Considerando todos os grupos, a distância média entre dois marcadores foi 6,93 cM e, dentro de cada grupo, a distância média variou de 2,0 cM (GL 6) a 18,16 cM (GL 13). O maior intervalo entre dois marcadores foi de 20,58 cM (GL 2), sendo que 97,96% dos intervalos foram menores do que 20 cM, o que torna este mapa apropriado para o mapeamento de QTLs, cujos modelos admitem intervalos de até 20 cM entre marcadores.

Os mapas de ligação são baseados na frequência de recombinação entre dois marcadores adjacentes, apresentando, normalmente, variações no tamanho e no comprimento dos GLs, de acordo com o nível de saturação do mapa e com a natureza dos marcadores utilizados no mapeamento. A diferença observada entre o número de GLs obtidos (13) e o número de cromossomos da espécie *C. arabica* ( $n = 22$ ) é devida à baixa saturação do mapa, ao tipo de marcador utilizado e ao tamanho da amostra. A maior densidade de marcadores foi observada nos LGs 1 a 5. Os demais marcadores distribuíram-se nos oito GLs, contendo entre três ou dois marcadores cada. Portanto, o número de grupos de ligação obtidos no presente estudo é inferior ao correspondente número haplóide de cromossomos (22). Sendo assim, o genoma de *C. arabica*, foi parcialmente, explorado e muitas regiões ainda não foram identificadas.

### 3.3 Teste de normalidade

Em analogia ao exposto no item 4.3 (Capítulo 3), a característica VIVG (épocas 1 a 5) foi a única que mais se desviou da distribuição normal, o que leva à rejeição da hipótese, mesmo a 1% de probabilidade. As estimativas de simetria e curtose confirmaram que esta característica foi a mais divergente, em relação à distribuição normal. Embora as características PRAP, NNRP, NNRL (época 1) tenham sido significativas para o teste de Lilliefors, as estimativas de curtose e simetria estão dentro do padrão de distribuição normal. O mesmo foi observado para as características PRAP, NRAL e NNRP (época 2), PRAP, NRAL e NNRP (épocas 3 a 5) e para o DIAC (épocas 4 e 5) (dados não apresentados).

As possíveis explicações para a não normalidade dos dados da característica VIVG são as mesmas apresentadas no item 4.3 (Capítulo 3).

Para que um marcador seja eficiente na seleção indireta, é essencial que ele seja herdável e de fácil avaliação. Outro ponto fundamental é que o marcador esteja intimamente ligado ao alelo, que se deseja selecionar, pois, assim eles tendem a ficar juntos e sempre que um indivíduo

expressar o fenótipo do marcador, ele deverá também ser portador do alelo de interesse (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998; LANZA; GUIMARÃES; SHUSTER, 2000).

No Capítulo 1 (Quadros 6 e 7) são apresentadas as estimativas dos coeficientes de repetibilidade e seus respectivos coeficientes de determinação para as nove características agronômicas, avaliadas neste estudo. Segundo essas análises, os coeficientes de repetibilidade ( $r$ ) e seus respectivos coeficientes de determinação ( $R^2$ ) variaram de 0,80 (91,40%) para o NNRP a 0,99 (99,97%) para a ALPR. Para o DIAC, as estimativas de  $r$  variaram de 0,84 a 0,85 e os valores de  $R^2$  oscilaram de 95% a 99,97%. As correlações fenotípicas ( $r_f$ ) entre essas características, também, foram avaliadas. Embora os valores absolutos dos coeficientes de correlação fenotípica entre estas características sejam reduzidos (épocas 1 a 5), algumas características exibiram valores de  $r_f$  significativos a 1% de probabilidade pelo teste  $t$  (Capítulo 2 - Quadro 5).

### **3.4. Mapeamento de QTLs utilizando a metodologia de marca simples**

A metodologia de marca simples indicou associações significativas ( $P < 0,05$ ) entre marcadores e a variação das nove características avaliadas nas diferentes épocas (dados não apresentados). Nos Quadros 2 a 7 são apresentadas as associações significativas ( $P < 0,01$ ) entre marcadores e a variação das diferentes características avaliadas pela marca simples, nas diferentes épocas.

Quadro 2 – Mapeamento de QTLs da característica altura da planta avaliada na população segregante 4, F<sub>2</sub> de café arábica avaliada em cinco épocas (17 meses - época 1, 20 meses - época 2, 23 meses - época 3, 29 meses - época 4 e 32 meses - época 5), utilizando as metodologias de análise de variância e de regressão linear simples.

Altura da planta – época 1 (17 meses)					
Marca	Prob(F) <sup>1/</sup>	Média(2)	Média(4)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação <sup>2/</sup>
OPB20	0,0067 **	60,3460	50,5790	15,2416	1
OPG15	0,0012 **	62,4000	50,6290	23,4140	NL
OPAC15	0,0067 **	60,3460	50,5790	15,2416	1
OPAU10	0,0067 **	60,3460	50,5790	15,2416	1
OPW08	0,0082 **	58,9470	50,0700	14,5284	1
OPZ06	0,0067 **	60,3460	50,5790	15,2416	1

Época 2 – 20 meses					
Marca	Prob(F) <sup>1/</sup>	Média(2)	Média(4)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação <sup>2/</sup>
OPG15	0,0060 **	70,2730	60,8870	17,3852	NL

Época 3 – 23 meses					
Marca	Prob(F) <sup>1/</sup>	Média(2)	Média(4)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
-	-	-	-	-	-

Época 4 – 26 meses					
Marca	Prob(F) <sup>1/</sup>	Média(2)	Média(4)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
-	-	-	-	-	-

Época 5 – 29 meses					
Marca	Prob(F) <sup>1/</sup>	Média(2)	Média(4)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
-	-	-	-	-	-

<sup>1/</sup>: \*\* = significativo a 1% de probabilidade;

<sup>2/</sup>: NL = não ligado.

Quadro 3 – Mapeamento de QTLs da característica diâmetro da copa avaliada na população segregante 4, F<sub>2</sub> de café arábica avaliada em cinco épocas (17 meses - época 1, 20 meses - época 2, 23 meses - época 3, 29 meses - época 4 e 32 meses - época 5), utilizando as metodologias de análise de variância e de regressão linear simples.

Diâmetro da copa época: época 1 – 17 meses					
Marca	Prob(F) <sup>1/</sup>	Média(2)	Média(4)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
-	-	-	-	-	-

Época 2 – 20 meses					
Marca	Prob(F) <sup>1/</sup>	Média(2)	Média(4)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
OPAF10a	0,0092 **	75,8330	61,5400	14,1500	1

Época 3 – 23 meses					
Marca	Prob(F) <sup>1/</sup>	Média(2)	Média(4)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
OPA01	0,0051 **	80,7310	65,8270	16,5177	1
OPAF10a	0,0083 **	82,7580	67,5060	14,4761	1
OPAT02	0,0093 **	82,0150	67,3410	14,1009	1

<sup>1/</sup>: \*\* = significativo a 1% de probabilidade.

QUADRO 3 – Continuação...

Época 4 – 26 meses					
Marca	Prob(F) <sup>1%</sup>	Média(2)	Média(4)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
OPA01	0,0043 **	83,8250	68,2070	17,0768	1
OPK13	0,0093 **	83,9800	69,4310	14,1147	1
OPS09	0,0087 **	61,7180	77,8500	14,3166	5
OPAF10a	0,0034 **	86,9750	69,6510	17,5106	1
OPAT02	0,0075 **	85,3150	69,7760	14,8266	1

Época 5 – 29 meses					
Marca	Prob(F) <sup>1%</sup>	Média(2)	Média(4)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
OPA01	0,0035 **	86,7690	70,3030	17,8102	1
OPK13	0,0075 **	86,9670	71,5660	14,8410	1
OPS09	0,0078 **	63,5450	80,4330	14,7220	5
OPAF10a	0,0024 **	90,2250	71,7690	18,6492	1
OPAT02	0,0063 **	88,3150	71,9560	15,4200	1

<sup>1%</sup>: \*\* = significativo a 1% de probabilidade;

QUADRO 4 – Mapeamento de QTLs da característica número de ramos laterais avaliada na população segregante 4, F<sub>2</sub> de café arábica avaliada em cinco épocas (17 meses - época 1, 20 meses - época 2, 23 meses - época 3, 29 meses - época 4 e 32 meses - época 5), utilizando as metodologias de análise de variância e de regressão linear simples.

Número de ramos laterais: época 1 – 17 meses					
Marca	Prob(F) <sup>1%</sup>	Média(2)	Média(4)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
-	-	-	-	-	-

Época 2 – 20 meses					
Marca	Prob(F) <sup>1%</sup>	Média(2)	Média(4)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
OPC02	0,0086 **	10,3570	12,9640	16,0357	2

Época 3 – 23 meses					
Marca	Prob(F) <sup>1%</sup>	Média(2)	Média(4)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
OPAX20	0,0049 **	12,0710	14,8750	16,6059	2

Época 4 – 26 meses					
Marca	Prob(F) <sup>1%</sup>	Média(2)	Média(4)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
OPAX20	0,0098 **	15,7860	18,6880	14,2068	2

Época 5 – 29 meses					
Marca	Prob(F) <sup>1%</sup>	Média(2)	Média(4)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
-	-	-	-	-	-

<sup>1%</sup>: \*\* = significativo a 1% de probabilidade;

QUADRO 5 – Mapeamento de QTLs da característica número de nós no ramo principal avaliada na população segregante 4, F<sub>2</sub> de café arábica avaliada em cinco épocas (17 meses - época 1, 20 meses - época 2, 23 meses - época 3, 29 meses - época 4 e 32 meses - época 5), utilizando as metodologias de análise de variância e de regressão linear simples.

Número de nós no ramo principal: época 1 – 17 meses					
Marca	Prob(F) <sup>1/</sup>	Média(2)	Média(4)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
-	-	-	-	-	-
Época 2 – 20 meses					
Marca	Prob(F) <sup>1/</sup>	Média(2)	Média(4)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
-	-	-	-	-	-
Época 3 – 23 meses					
Marca	Prob(F) <sup>1/</sup>	Média(2)	Média(4)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
OPAX20	0,0090 **	7,1430	8,3750	14,4958	2
Época 4 – 26 meses					
Marca	Prob(F) <sup>1/</sup>	Média(2)	Média(4)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
OPAX20	0,0042 **	9,0710	10,7190	17,1809	2
Época 5 – 29 meses					
Marca	Prob(F) <sup>1/</sup>	Média(2)	Média(4)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
-	-	-	-	-	-

<sup>1/</sup>: \*\* = significativo a 1% de probabilidade.

QUADRO 6 – Mapeamento de QTLs da característica número de nós nos ramos laterais avaliada na população segregante 4, F<sub>2</sub> de café arábica avaliada em cinco épocas (17 meses - época 1, 20 meses - época 2, 23 meses - época 3, 29 meses - época 4 e 32 meses - época 5), utilizando as metodologias de análise de variância e de regressão linear simples.

Número de nós nos ramos laterais: época 1 – 17 meses					
Marca	Prob(F) <sup>1/</sup>	Média(2)	Média(4)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação <sup>2/</sup>
-	-	-	-	-	-
Época 2 – 20 meses					
Marca	Prob(F) <sup>1/</sup>	Média(2)	Média(4)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
OPAX20	0,0090	10,9290	13,8440	14,5225	2
Época 3 – 23 meses					
Marca	Prob(F) <sup>1/</sup>	Média(2)	Média(4)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação
-	-	-	-	-	-
Época 4 – 26 meses					
Marca	Prob(F) <sup>1/</sup>	Média(2)	Média(4)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação <sup>2/</sup>
OPK13	0,0056 **	18,667	15,438	15,8544	1
OPS09	0,0071 **	13,818	17,278	15,0131	5
OPAF10a	0,0018 **	19,333	15,486	19,6951	1
OPAT02	0,0091 **	18,769	15,588	14,1669	1
OPR17	0,0094 **	19,857	15,875	14,0643	NL

<sup>1/</sup>: \*\* = significativo a 1% de probabilidade;

<sup>2/</sup>: NL = não ligado.

Quadro 6 – Continuação...

Época 5 – 29 meses					
Marca	Prob(F) <sup>1/</sup>	Média(2)	Média(4)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação <sup>2/</sup>
OPS09	0,0040 **	14,364	18,444	16,9509	5
OPAE07	0,0062 **	14,667	18,457	15,5111	5
OPAF10a	0,0097 **	20,167	16,571	13,9544	1
OPAQ19	0,0093 **	15,071	18,515	14,0833	5

<sup>1/</sup>: \*\* = significativo a 1% de probabilidade;

<sup>2/</sup>: NL = não ligado.

Quadro 7 – Mapeamento de QTLs da característica altura do primeiro ramo avaliada na população segregante 4, F<sub>2</sub> de café arábica avaliada em cinco épocas (17 meses - época 1, 20 meses - época 2, 23 meses - época 3, 29 meses - época 4 e 32 meses - época 5), utilizando as metodologias de análise de variância e de regressão linear simples.

Altura do primeiro ramo: época 1 – 17 meses					
Marca	Prob(F) <sup>1/</sup>	Média(2)	Média(4)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação <sup>2/</sup>
OPAA16a	0,0068 **	23,3570	27,5250	15,4937	3
OPAE05	0,0034 **	29,8820	25,1140	17,5169	4
OPAF15a	0,0038 **	22,3200	27,0420	17,5541	NL
OPG14	0,0022 **	29,8250	24,9970	19,0486	4
OPAI15b	0,0070 **	29,1070	25,0090	15,0974	4

Época 2 – 20 meses					
Marca	Prob(F) <sup>1/</sup>	Média(2)	Média(4)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação <sup>2/</sup>
OPAA16	0,0070 **	23,3710	27,5250	15,4112	3
OPAE05	0,0034 **	29,8820	25,1190	17,5026	4
OPAF15	0,0039 **	22,3400	27,0420	17,4333	NL
OPG14	0,0022 **	29,8250	25,0030	19,0322	4
OPAI15b	0,0070 **	29,1070	25,0150	15,0755	4

Época 3 – 23 meses					
Marca	Prob(F) <sup>1/</sup>	Média(2)	Média(4)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação <sup>2/</sup>
OPAA16	0,0077 **	23,8570	27,934	15,0575	3
OPAE05	0,0025 **	30,4090	25,539	18,5780	4
OPAF15	0,0036 **	22,7800	27,497	17,7145	NL
OPG14	0,0019 **	30,2920	25,440	19,5543	4
OPAI15b	0,0069 **	29,5360	25,467	15,1300	4

Época 4 – 26 meses					
Marca	Prob(F) <sup>1/</sup>	Média(2)	Média(4)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação <sup>2/</sup>
OPAA16a	0,0077 **	23,857	27,934	15,0575	3
OPAE05	0,0025 **	30,409	25,539	18,578	4
OPAF15a	0,0036 **	22,780	27,497	17,7145	NL
OPG14	0,0019 **	30,292	25,440	19,5543	4
OPAI15b	0,0069 **	29,536	25,467	15,1300	4

Época 5 – 29 meses					
Marca	Prob(F) <sup>1/</sup>	Média(2)	Média(4)	R <sup>2</sup> (%)	Grupo de ligação <sup>2/</sup>
OPAA16a	0,0077 **	23,857	27,934	15,0575	3
OPAE05	0,0025 **	30,409	25,539	18,5780	4
OPAF15a	0,0036 **	22,780	27,497	17,7145	NL
OPG14	0,0019 **	30,292	25,440	19,5543	4
OPAI15b	0,0069 **	29,536	25,467	15,1300	4

<sup>1/</sup>: \*\* = significativo a 1% de probabilidade;

<sup>2/</sup>: NL = não ligado.

A metodologia de marca simples indicou, na época 1, seis marcadores associados à característica ALT ( $P < 0,01$ ), sendo um não ligado, os quais explicam de 14,53% a 23,41% da variação fenotípica desta característica. Nas demais épocas, o número de marcadores que mostraram tal associação foram: época 2 - um marcador não ligado, explicando 17,39% da variação fenotípica desta característica. Nas épocas 3, 4 e 5, nenhum marcador demonstrou tal associação.

Associado ao DICP, na época 1, não encontraram-se marcadores. Nas demais épocas, o número de marcadores que mostraram esta associação foram: época 2 - um marcador mostrou tal associação ( $P < 0,01$ ) e explica 14,15% da variação fenotípica desta característica; época 3 - três marcadores explicam de 14,10% a 16,52% da variação fenotípica desta característica; época 4 - cinco marcadores explicam de 14,11% a 17,51% da variação fenotípica desta característica; época 5 - cinco marcadores explicam de 14,72% a 18,65% da variação fenotípica desta característica.

Nas épocas 1 e 5, observa-se que não houve marcadores associados ao NRAL. Nas épocas 2 a 4, um marcador exibiu tal associação ( $P < 0,01$ ) e explica 16,04%, 16,61% e 14,21% da variação fenotípica desta característica, respectivamente.

Nas épocas 1, 2 e 5, observa-se que não houve marcadores associados ao NNRP. Nas épocas 3 e 4, um marcador exibiu tal associação ( $P < 0,01$ ) e explica 14,50% e 17,18% da variação fenotípica desta característica, respectivamente.

Verifica-se, nas épocas 1 e 3, que não houve marcadores associados ao NNRL. Nas demais épocas, o número de marcadores apresentando tal associação foram: época 2 - um marcador ( $P < 0,01$ ) e explica 14,52% da variação fenotípica desta característica; época 4 - cinco marcadores, sendo um não ligado, explicam de 14,06% a 19,70% da variação fenotípica desta característica; época 5 - quatro marcadores explicam de 13,95% a 16,95% da variação fenotípica desta característica.

Associados ao ALPR, foram encontrados cinco marcadores ( $P < 0,01$ ), sendo um não ligado, explicam de 15,10% a 19,05% da variação fenotípica desta característica. Nas demais épocas, o número de marcadores apresentando tal associação foram: época 2 - cinco marcadores, sendo um não ligado, explicam 15,08% a 19,03% da variação fenotípica desta característica; época 3 - cinco marcadores, sendo um não ligado, explicam 15,13% a 19,55% da variação fenotípica desta característica; época 4 - cinco marcadores, sendo um não ligado, explicam

15,06% a 19,55% da variação fenotípica desta característica; época 5 - cinco marcadores, sendo um não ligado, explicam 15,06% a 19,55% da variação fenotípica desta característica.

Associados às características VIVG, PRAP e DIAC (épocas 1 a 5), não encontraram-se marcadores ( $P < 0,01$ ). Por outro lado, quando se considerou probabilidade  $P < 0,05$ , dentre as nove características avaliadas, apenas o DIAC (época 3) não mostrou associação com alguns dos marcadores analisados (dados não apresentados).

Em analogia ao apresentado no item 4.4 (Capítulo 3), a metodologia de marca simples indicou marcadores importantes para a expressão das características avaliadas. Embora fossem significativos a 1% e 5% esses marcadores, não agruparam em nenhum grupo. A presença de marcadores não ligados e relacionados a maioria das características quantitativas sugere que mais de uma região do genoma está relacionada à expressão destas características.

Além de indicar marcadores consistentes, que explicam as variações das características ALTP, DICP, PRAP, NRAL, NNRP, NNRL e ALPR para a população segregante 4 ( $F_2$ ) (épocas 1 a 5), a marca simples discriminou três marcadores associados a mais de uma característica, indicando efeitos pleiotrópicos no controle genético destas características. Tais marcadores são: a) OPAL12 associado a PRAP e a ALPR; b) OPAX20 associado ao NRAL e ao NNRP; e c) OPAR02 associado ao NNRL e ao ALPR (Quadro 8).

Quadro 8 – Marcadores que explicam as variações das características consistentes para a população segregante 4 ( $F_2$ ) nas épocas 1 a 5.

Características	Marcadores
Altura da planta	OPG15, OPAN07b e OPW08
Diâmetro da copa	OPB20, OPK13, OP16a, OPAC15, OPAG08, OPAU10, OPAF10a, OPAT02 e OPZ06
Posição da ramificação primária	OPAL12 e OPAI18a
Número de ramos laterais	OPAX20
Número de nós no ramo principal	OPAX20
Número de nós nos ramos laterais	OPAR02
Altura do primeiro ramo	OPAE05, OPG14, OPAL12 e OPAR02

Todas as características avaliadas neste estudo são de natureza quantitativa, sendo, portanto, influenciadas por vários locos de efeitos menores, conforme se observa nos Quadros 2

a 7. No presente estudo, não foram detectados QTLs de efeitos maiores, mesmo com as altas estimativas de repetibilidade exibidas por algumas das características avaliadas (Capítulo 1 - Quadro 6). Tal fato pode ser justificado pela baixa saturação do mapa genético e o tamanho da amostra.

Em analogia ao exposto para a população segregante 3 ( $RC_1$ ), item 4.4 (Capítulo 3), a análise da média dos genótipos para cada marcador, que se apresentou associado ao fenótipo (análise de variância) indicou que a média dos indivíduos que possuem a marca (genótipo: AA ou Aa) é, na maioria das vezes, inferior ao valor médio observado nos indivíduos que não a possuem (genótipo: aa).

Para posicionar os QTLs ao longo dos grupos de ligação e aumentar a precisão das estimativas de efeito e posição, foram utilizadas as metodologias de mapeamento por intervalo simples (LANDER; BOTSTEIN, 1989) e mapeamento por intervalo composto (ZENG, 1993, 1994; JANSEN; STAM, 1994).

### **3.5. Mapeamento de QTLs utilizando a metodologia de mapeamento por intervalo simples**

No Quadro 9 são apresentados os números de marcadores e de intervalos presentes nos grupos de ligação (GLs) da população segregante 4 ( $F_2$ ), além dos valores de LR crítico.

Quadro 9 – Grupos de ligação, número de marcadores e de intervalos, e valores de LR crítico obtidos conforme ZENG (1994), considerando nível de significância ( $\alpha$ ) de 10% para o mapa e grau de liberdade de 2.

Grupo de ligação	Número de marcadores	Número de Intervalos	Valor de LR crítico
1	12	11	14,4340
2	10	9	14,0340
3	8	7	13,5300
4	9	8	13,7980
5	6	5	12,858
6	2	1	12,858
7	3	2	11,026
8	2	1	11,026
9	2	1	11,026
10	2	1	11,026
11	2	1	11,026
12	2	1	11,026
13	2	1	11,026

Analisando o Quadro 9, verifica-se que os cinco primeiros GLs apresentam maior número de marcadores e de intervalos.

Na análise de mapeamento por intervalo simples, foi detectado e identificado um QTL associado a ALPR. Tal QTL foi consistente nas cinco sucessivas épocas de avaliação e está presente no GL 4 da população segregante 4, F<sub>2</sub>. A proporção de variação fenotípica explicada por este QTL foi 29,41% (épocas 1 e 2) e 30,45% (épocas 3 a 5), respectivamente, como se observa no Quadro 10.

Quadro 10 – Associações entre marcadores e fenótipos detectadas por meio de mapeamento por intervalo simples, indicando valores máximo de LR, a proporção da variância fenotípica explicada pelo marcador ( $R^2$ ), o efeito aditivo (a) e devido aos desvios da dominância (d) da região ou do marcador na média do fenótipo, para a característica altura do primeiro ramo, considerando cinco épocas.

Época 1 – 17 meses								
Fenótipo	GL <sup>1/</sup>	Marcadores entre o intervalo	Posição <sup>2/</sup> cM	LR <sup>3/</sup>	Média	R <sup>2</sup> (%)	a	d
Altura do primeiro ramo	4	OPAE05 OPG14	13,41- 17,42	18,3227	40,4601	29,4	9,3975	-28,4667
Época 2 – 20 meses								
Fenótipo	GL <sup>1/</sup>	Marcadores entre o intervalo	Posição <sup>2/</sup> cM	LR <sup>3/</sup>	Média	R <sup>2</sup> (%)	a	d
Altura do primeiro ramo	4	OPAE05 OPG14	13,41- 17,43	18,3278	40,4689	29,41	9,4062	-28,4758
Época 3 – 23 meses								
Fenótipo	GL <sup>1/</sup>	Marcadores entre o intervalo	Posição <sup>2/</sup> cM	LR <sup>3/</sup>	Média	R <sup>2</sup> (%)	a	d
Altura do primeiro ramo	4	OPAE05 OPG14	13,41-17,43	19,2664	40,9905	30,45	9,4291	-28,6293
Época 4 – 26 meses								
Fenótipo	GL <sup>1/</sup>	Marcadores entre o intervalo	Posição <sup>2/</sup> cM	LR <sup>3/</sup>	Média	R <sup>2</sup> (%)	a	d
Altura do primeiro ramo	4	OPAE05 OPG14	13,41-17,43	19,2664	40,9905	30,45	9,4291	-28,6293
Época 5 – 29 meses								
Fenótipo	GL <sup>1/</sup>	Marcadores entre o intervalo	Posição <sup>2/</sup> cM	LR <sup>3/</sup>	Média	R <sup>2</sup> (%)	a	d
Altura do primeiro ramo	4	OPAE05 OPG14	13,41-17,43	19,2664	40,9905	30,45	9,4291	-28,6293

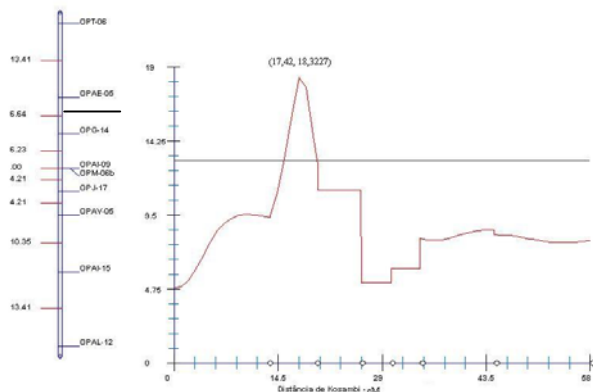
<sup>1/</sup>: GL = grupo de ligação;

<sup>2/</sup>: cM = centiMorgan;

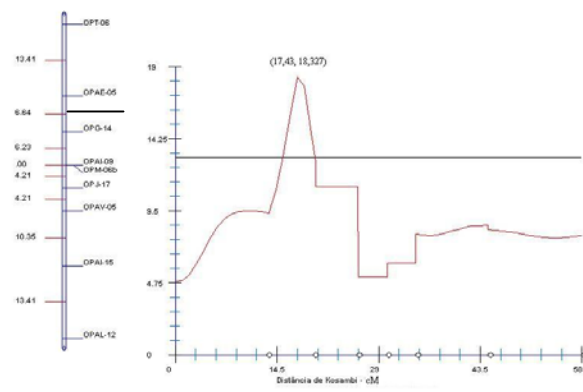
<sup>3/</sup>: LR = razão de verossimilhança..

Nas Figuras 2 A, B, C, D e E, observa-se a presença de um QTL no mapa de ligação parcial da população segregante 4 (F<sub>2</sub>) ligado a ALPR. A identificação e detecção de apenas um QTL associado a ALPR, poderá ser o ponto de partida no processo de determinação de marcadores-QTL para esta característica, desde que se confirme a consistência de tal QTL em outras populações, com maior número de progênies e boa cobertura do genoma com outros tipos de marcadores.

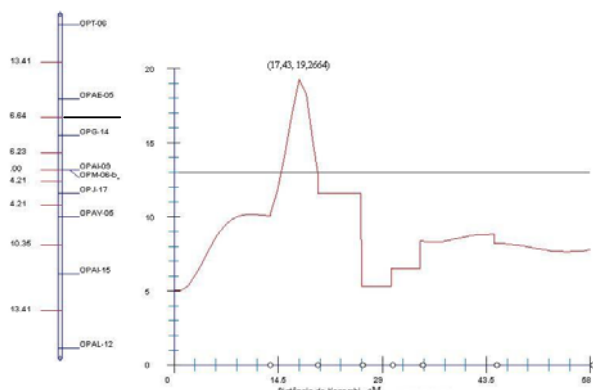
**Característica: altura do primeiro ramo (A)**



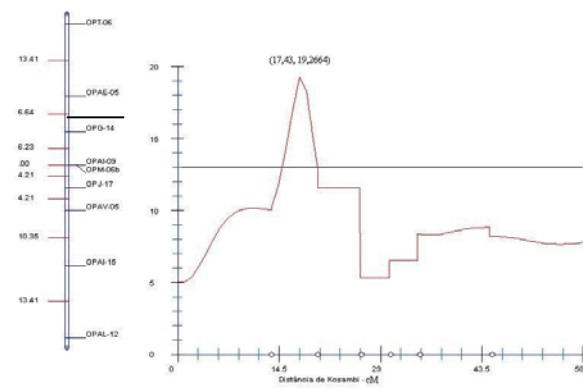
**Característica: altura do primeiro ramo (B)**



**Característica: altura do primeiro ramo (C)**



**Característica: altura do primeiro ramo (D)**



**Característica: altura do primeiro ramo (E)**

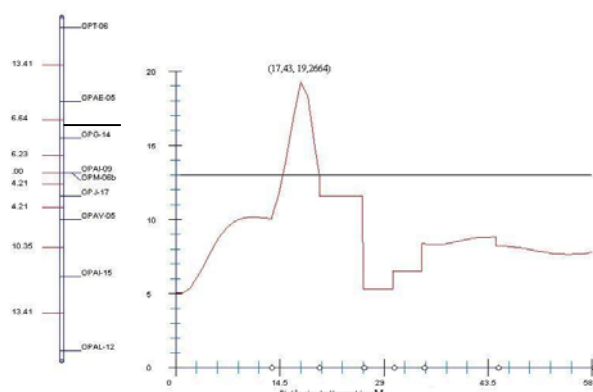


Figura 2 – Mapeamento por intervalo simples indicando a presença de QTL para a característica altura do primeiro ramo associada aos locos OPAE05 e OPG14 (GL 4) nas cinco épocas de avaliação denominadas A: época 1, B: época 2, C: época 3, D: época 4 e E: época 5, respectivamente, e a curva da razão de verossimilhança representada na figura à direita. Nestas figuras na ordenada está disposto a escala dos valores de LR para cada grupo de ligação analisado. Na abscissa está a representação do grupo de ligação e as distâncias em cM (centiMorgan). A linha horizontal indica o valor de LR e o limite de significância estatística para cada grupo de ligação. A região acima do limite de LR é candidata a conter um QTL.

A pouca acurácia de tal QTL, além da baixa saturação do mapa, dificulta sua implementação em procedimentos de seleção assistida. Na análise de QTL, importantes considerações são envolvidas na implementação dos testes estatísticos, tais como a normalidade dos dados fenotípicos, a herdabilidade das características avaliadas, o tamanho da amostra, e outros. Neste sentido, a distribuição é mais prejudicada, quando se utiliza um pequeno número de progênies, como no presente caso.

### 3.6. Mapeamento de QTLs utilizando a metodologia de mapeamento por intervalo composto

No Quadro 11, é apresentado um resumo dos resultados da metodologia de mapeamento por intervalo composto, para a característica ALPR nas cinco sucessivas épocas de avaliação.

Quadro 11 – Associações entre marcadores e fenótipos detectadas por meio de mapeamento por intervalo composto, indicando valores máximo de LR, proporção da variância fenotípica explicada pelo marcador ( $R^2$ ) e o efeito aditivo (a) e de dominância (d) da região ou do marcador na média do fenótipo, para a características altura da planta, em cinco épocas .

Época 1 – 17 meses									
Fenótipo	GL <sup>1/</sup>	Marcadores entre o intervalo	Posição <sup>2/</sup> cM	LR <sup>3/</sup>	Média	R <sup>2</sup> (%)	A	d	Cofatores utilizados/ grupo de ligação
Altura do primeiro ramo	4	OPAE05 OPG14	13,41- 17,43	17,6868	42,1949	29,14	7,7884	-25,0799	OPW08 (1)

Época 2 – 20 meses									
Fenótipo	GL <sup>1/</sup>	Marcadores entre o intervalo	Posição <sup>2/</sup> cM	LR <sup>3/</sup>	Média	R <sup>2</sup> (%)	A	d	Cofatores utilizados/ grupo de ligação
Altura do primeiro ramo	4	OPAE05 OPG14	13,41- 17,43	17,6868	42,1949	29,14	7,7884	-25,0799	OPW08 (1)

<sup>1/</sup>: GL = grupo de ligação;

<sup>2/</sup>: cM = centiMorgan;

<sup>3/</sup>: LR = razão de verossimilhança..

Quadro 11 – Continuação...

Época 3 – 23 meses									
Fenótipo	GL <sup>1/</sup>	Marcadores entre o intervalo	Posição <sup>2/</sup> cM	LR <sup>3/</sup>	Média	R <sup>2</sup> (%)	A	d	Cofatores utilizados/ grupo de ligação
Altura do primeiro ramo	4	OPAE05 OPG14	13,41-17,43	17,7081	42,7895	30,32	7,7427	-25,0896	OPW08 (1)
Época 4 – 26 meses									
Fenótipo	GL <sup>1/</sup>	Marcadores entre o intervalo	Posição <sup>2/</sup> cM	LR <sup>3/</sup>	Média	R <sup>2</sup> (%)	A	d	Cofatores utilizados/ grupo de ligação
Altura do primeiro ramo	4	OPAE05 OPG14	13,41-17,43	18,7081	42,7895	30,32	7,7427	-25,0896	OPW08 (1)
Época 5 – 29 meses									
Fenótipo	GL <sup>1/</sup>	Marcadores entre o intervalo	Posição <sup>2/</sup> cM	LR <sup>3/</sup>	Média	R <sup>2</sup> (%)	A	d	Cofatores utilizados/ grupo de ligação
Altura do primeiro ramo	4	OPAE05 OPG14	13,41-17,43	18,7081	42,7895	30,32	7,7427	-25,0896	OPW08 (1)

<sup>1/</sup>: GL = grupo de ligação;

<sup>2/</sup>: cM = centiMorgan;

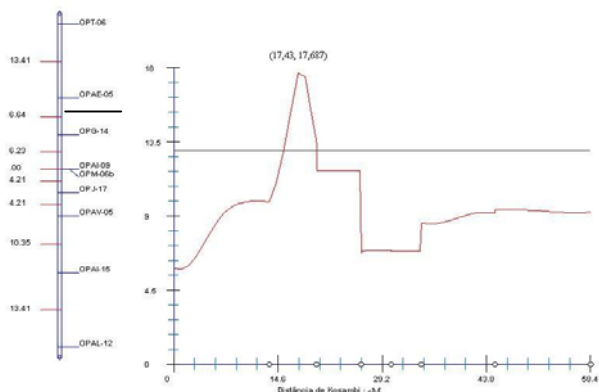
<sup>3/</sup>: LR = razão de verossimilhança.

Em analogia ao exposto para o mapeamento por intervalo simples, a análise de mapeamento por intervalo composto detectou apenas um QTL no mapa de ligação da população segregante 4 (F<sub>2</sub>), associado a ALPR (épocas 1 a 5). Este QTL localizado no GL 4 é responsável por 29,14% (épocas 1 e 2) e 30,32% (épocas 3 a 5) da variação fenotípica, explicada por este QTL nessas épocas, respectivamente.

Nas Figuras 3 A, B, C, D e E, observa-se a presença de um QTL no mapa parcial de ligação da população segregante 4 (F<sub>2</sub>), associado à característica ALPR. Tal QTL está localizado no GL 4, indicando que essa região poderá ser importante na seleção assistida por marcadores.

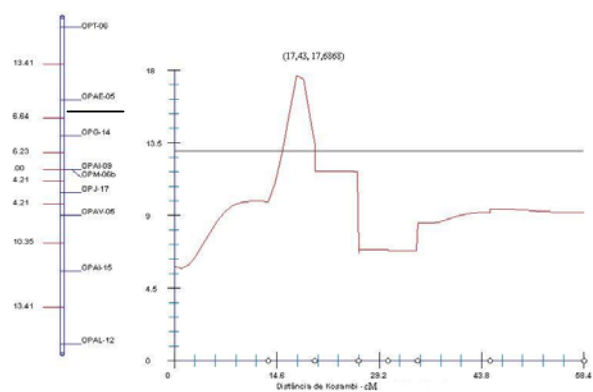
Característica: altura do primeiro ramo

(A)



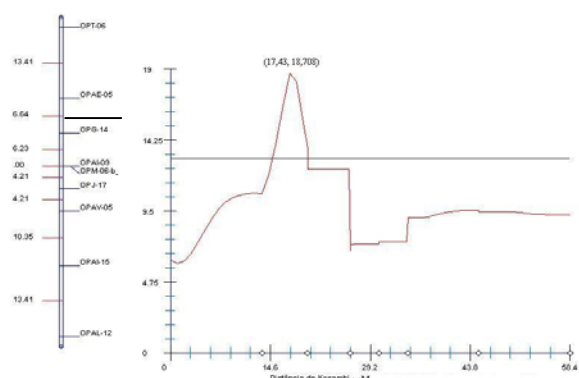
Característica: altura do primeiro ramo

(B)



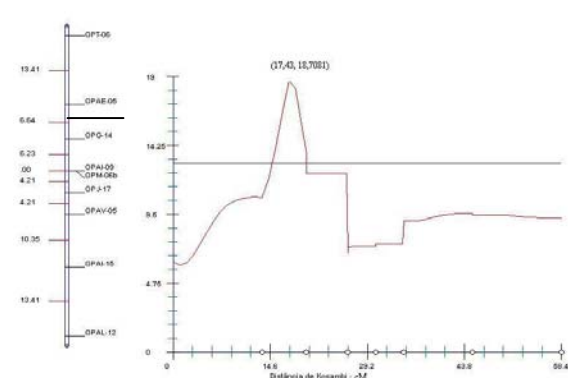
Característica: altura do primeiro ramo

(C)



Característica: altura do primeiro ramo

(D)



Característica: altura do primeiro ramo

(E)

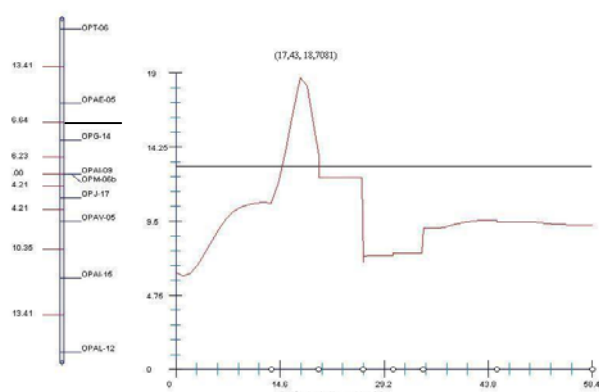


Figura 3 – Mapeamento por intervalo composto indicando a presença de QTL para a característica altura do primeiro ramo associada aos locos OPAE05 e OPG14 (GL 4) nas cinco épocas de avaliação denominadas A: época 1, B: época 2, C: época 3, D: época 4 e E: época 5, respectivamente, e a curva da razão de verossimilhança representada na figura à direita. Nestas figuras na ordenada está disposto a escala dos valores de LR para cada grupo de ligação analisado. Na abscissa está a representação do grupo de ligação e as distâncias em cM (centiMorgan). A linha horizontal indica o valor de LR e o limite de significância estatístico para cada grupo de ligação. A região acima do limite de LR é candidata a conter um QTL.

Os marcadores associados à característica ALPR, por meio das análises de marca simples (épocas 1 a 5), estão localizados no mesmo grupo de ligação. Representam uma região genômica, quando analisados por meio das metodologias de mapeamento por intervalo simples e pelo mapeamento por intervalo composto. Desta forma, apenas um QTL foi detectado e identificado no GL 4, influenciando tal característica.

O mapeamento por intervalo composto, em que marcadores próximos ao intervalo analisado são utilizados como cofatores, para contornar a variação genética dos outros possíveis QTLs, confirmou um QTL associado a ALPR. Tal QTL havia sido, previamente, detectado por meio das metodologias de marca simples e pelo mapeamento por intervalo simples.

As análises de mapeamento por intervalo simples e mapeamento por intervalo composto (épocas 1 a 5) indicaram efeitos genéticos aditivos e de dominância, cujos valores são positivos e negativos, respectivamente (épocas 1 a 5). Como o valor de “d” depende do grau de dominância e, neste estudo, este valor foi negativo, tal fato indica dominância do alelo  $A_2$  sobre o alelo  $A_1$ . Essas análises evidenciaram predominância de efeitos devido à dominância sobre os efeitos aditivos. Observa-se que as estimativas de LR e  $R^2$ , obtidas por meio das metodologias de mapeamento por intervalo simples e mapeamento por intervalo composto foram, concordantes (Quadros 10 e 11).

### **3.7. Correlações fenotípicas entre as características agronômicas**

Os coeficientes de correlações fenotípicas entre as nove características agronômicas avaliadas são apresentados no Capítulo 2 (Quadro 5), cujos valores foram testados pelo teste  $t$  a 1% e 5% de probabilidade. Embora os valores absolutos dos coeficientes de correlação nas cinco épocas de avaliação, na população segregante 4 ( $F_2$ ) tenham sido reduzidos, um coeficiente de correlação fenotípica foi significativo a 1% de probabilidade e outros dezesseis foram significativos a 5%, considerando-se a época 1. Nas demais épocas, os resultados foram: época 2 - quatro e vinte coeficientes foram significativos a 1% e 5%, respectivamente; época 3 - dois e vinte coeficientes foram significativos, a 1% e 5%, respectivamente; época 4 - dois e vinte coeficientes foram significativos a 1% e 5%, respectivamente; e época 5 - cinco e quinze coeficientes foram significativos a 1% e 5%, respectivamente.

As três metodologias de mapeamento (marca simples, mapeamento por intervalo simples e mapeamento por intervalo composto), utilizadas no presente estudo, foram concordantes quanto à detecção e identificação de um QTL no GL 4 associado a ALPR. Tal QTL foi consistente, nas cinco sucessivas épocas de avaliação e explica entre 29,14% a 29,41% (épocas 1 e 2) e entre 30,32% a 30,45% (épocas 3 a 5) da variação fenotípica desta característica. A baixa saturação do mapa, o tipo de marcador utilizado e o tamanho da amostra contribuiu para a não detecção dos outros QTLs, que se acredita serem de herança quantitativa, os quais foram previamente detectados pela metodologia de marca simples (Quadros 2 a 7).

Avaliando as duas populações segregantes ( $F_2$  e  $3,RC_1$ ), verificou-se que o número de grupos de ligação obtidos para as duas populações segregantes é inferior ao correspondente número haplóide de cromossomos (22). Portanto, conclui-se que o genoma de *C. arabica* foi parcialmente explorado e muitas regiões, ainda, não foram identificadas.

#### 4. CONCLUSÕES

(1). As três metodologias de mapeamento utilizadas (marca simples, mapeamento por intervalo simples e mapeamento por intervalo composto) identificaram marcadores moleculares ligados a características de importância agronômica em cafeeiro.

(2). As metodologias de marca simples, mapeamento por intervalo simples e mapeamento por intervalo composto detectaram e identificaram um QTL, associado à altura do primeiro ramo. Este QTL foi consistente nas cinco sucessivas épocas de avaliação, e está presente no grupo de ligação 4 do mapa parcial da população segregante 4 ( $F_2$ ), explicando entre 29,14% a 29,41% (épocas 1 e 2) e 30,32% a 30,45% (épocas 3 a 5) da variação fenotípica da característica altura do primeiro ramo, associada aos locos OPAE05 e OPG14.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CABRAL, T.A.T. **Padrões moleculares, diversidade genética e mapa parcial de ligação do cafeeiro**. Viçosa, 2001, 112P. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, 2001.

FAZUOLI, L.C.; MEDINA-FILHO, H.P.; GONÇALVES, W.; GUERREIRO-FILHO, O.; SILVAROLLA, M.B. Melhoramento do cafeeiro: variedades tipo arábica obtidas no Instituto Agronômico de Campinas. In: ZAMBOLIM, L (Ed). **O estado da arte de tecnologias na produção de café**, p. 253-287, 2002.

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao Uso de Marcadores Moleculares em Análise Genética**. 2ed. EMBRAPA, 1998. 220p.

JANSEN, R.C.; STAM, P. High resolution of quantitative trait into multiple loci via interval mapping. **Genetics**, v. 136, p. 1447-1455, 1994.

KISS, G.B.; CSANÁDI, G.; KÁLMÁN, K.; KALÓ, P.; OKRÉSZ, L. Construction of basic genetic for alfafa using RFLP, RAPD, isozyme and morphological markers. **Mol. Gen. Genet.**, v. 238, n.1, p. 129-137, 1993.

KOSAMBI, D.D. The estimation of map distances from recombination values. **Am. Eugen.**, v.12, p.172-175, 1944.

LANDER, E. S.; BOTSTEIN, D. Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. **Genetics**, v.121, p.185-199, 1989.

LANZA, M.A.; GUIMARÃES, C.T.; CHUSTER, I. Aplicações de marcadores moleculares no melhoramento genético. **Informe Agropecuário**, v. 21, n. 204, P. 97-108, 2000.

PAILLARD, M.; LAHSERMES, P.; PÉTIARD, V. Construction of a molecular map in coffee. **Theoretical and Applied Genetics**, v.93, n 1-2, p.41-47, 1996.

PEREIRA, .A.A; MOURA, W.de.M.; ZAMBOLIM, L.; SAKIYAMA, N.S.; CHAVES, G.M. Melhoramento genético do cafeeiro no Estado de Minas Gerais - Cultivares lançados e em fase de obtenção. In: ZAMBOLIM, L (Ed.).**O estado da arte de tecnologias na produção de café**, p. 253-287, 2002.

SCHUSTER, I.; CRUZ, C.D. **Estatística genômica aplicada a populações derivadas de cruzamentos controlados**. Viçosa: UFV, 2004. 568p.

TULSIERAM, L.K.; GLAUBITZ, J.C.; KISS, G.; CARLSON, J.E. Single tree genetic linkage mapping in conifers using haploid DNA from megagametophytes. **Bio/Techn.**, v. 10, n.3, p. 686-690, 1992.

WU, K.K.; BURNQUIST, W.L.; SORRELLS, M.E.; TEW, T.L.; MOORE, P.H.; TANKSLEY, S.D. The detection and estimation of linkage in polyploids using single-dose restriction fragments. **Theor. Appl. Genet.**, v. 83, n.3, p. 788-794, 1992.

ZENG, Z.B. Precision mapping of quantitative trait loci. **Genetics**, v.136, p.1457-1468, 1994.

ZENG, Z.B. Theoretical basis of precision mapping of quantitative trait loci. **Proceedings of the National Academy of Science United States of America**, v.90, p.10972-10976, 1993.