

VARIABILIDADE GENÉTICA EM GENÓTIPOS DE CAFÉ RESISTENTES À FERRUGEM UTILIZADOS EM PROGRAMAS DE MELHORAMENTO

Mariana Thereza Rodrigues Viana^{1*}; Janine Magalhães Guedes²; Janaína Mauri³;
Elisângela Aparecida Siva⁴; Dalysse Toledo Castanheira¹; Tamara Cubiaki Pires da Gama¹;
Rubens José Guimarães⁵.

SAP 17314 Data envio: 13/07/2017 Data do aceite: 05/01/2018
Sci. Agrar. Parana., Marechal Cândido Rondon, v. 17, n. 1, jan./mar., p. 80-89, 2018

RESUMO - Objetivou-se com esse trabalho caracterizar e determinar a diversidade genética, com base na anatomia foliar, entre acessos de café resistentes a ferrugem, do Banco de Germoplasma de Minas Gerais, utilizados em programas de melhoramento genético. Para as avaliações anatômicas foram utilizados 20 acessos de cafeeiros, que são utilizados por instituições de pesquisa em programas de melhoramento genético visando resistência a ferrugem. Foram coletadas oito folhas completamente expandidas de cada acesso, do terceiro nó de ramos plagiotrópicos, do terço médio das plantas. Posteriormente as folhas foram levadas ao laboratório onde foram realizadas as análises. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, considerando 20 acessos e 3 repetições. Os acessos estudados apresentaram ampla variabilidade genética, em relação as características anatômicas foliares. Os acessos Villa Sarchi, Híbrido de Timor UFV 376-31, Híbrido de Timor UFV 427-15 e F840 x Híbrido de Timor UFV 457-12 tiveram seis maiores médias entre as dez características anatômicas avaliadas. Os acessos Villa Sarchi (MG 210), F840 x Híbrido Timor UFV 457-13 (MG 503) e Híbrido Timor UFV 376-31 (MG 279) além de apresentarem as maiores médias com base nas características anatômicas também estão entre os mais divergentes de acordo com os agrupamentos utilizados, sendo portanto, materiais potenciais para futuros cruzamentos com o objetivo de integrar programas de melhoramento genético.

Palavras-chave: anatomia foliar, banco de germoplasma, divergência.

GENETIC VARIABILITY IN COFFEE GENOTYPES RESISTANT TO RUST USED TO IMPROVEMENT PROGRAMS

ABSTRACT - The objective of this work was to characterize and determine the genetic diversity, based on the leaf anatomy, between rust resistant coffee accessions, from the Germplasm Bank of Minas Gerais, used in breeding programs. For the anatomical evaluations, 20 accessions of coffee trees were used, which are used by research institutions in breeding programs for resistance to rust. Eight fully expanded leaves were collected from each access, from the third node of plagiotropic branches, from the middle third of the plants. Afterwards the leaves were taken to the laboratory where the analyzes were performed. The experimental design was completely randomized, considering 20 accessions and 3 replicates. The studied accesses presented a wide genetic variability, in relation to the anatomical foliar characteristics. The accessions Villa Sarchi, Hybrids of Timor UFV 376-31, Hybrids of Timor UFV 427-15 and F840 x Hybrids of Timor UFV 457-12 had six major averages among the ten anatomical characteristics evaluated. The accesses Villa Sarchi (MG 210), F840 x Hybrid Timor UFV 457-13 (MG 503) and Hybrid Timor UFV 376-31 (MG 279) besides presenting the highest averages based on the anatomical characteristics are also among the most divergent according to the groupings used, and therefore, potential materials for future crosses with the objective of integrating breeding programs.

Key words: divergence, germplasm bank, leaf anatomy.

INTRODUÇÃO

Uma das causas da queda da produtividade das lavouras brasileiras é a ferrugem alaranjada (*Hemileia vastatrix* Berk. & Br.), que é a principal doença do cafeeiro

(*Coffea arabica* L.). Em regiões cafeeiras onde as condições climáticas são favoráveis a doença, os prejuízos, atingem em média 35% da produtividade (ZAMBOLIM, 2003). Embora, o uso de fungicidas seja bastante efetivo, a

¹Doutoranda, Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais, Brasil. E-mail: marianatr@gmail.com, dalyssecastanheira@hotmail.com, tcubiaki@hotmail.com. *Autor para correspondência.

²Bolsista BDTI II, Inct/Café, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais, Brasil. E-mail: janine_guedes@yahoo.com.br

³Doutora em Botânica Aplicada, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais, Brasil. E-mail: janainamauri@yahoo.com.br

⁴Pós-doutoranda PNP/Capes, Universidade Federal de Lavras (UFLA), Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais, Brasil. E-mail: casag@hotmail.com

⁵Professor Titular, Departamento de Agricultura (DAG), Universidade Federal de Lavras (UFLA), Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais, Brasil. E-mail: rubensjoseguimaraes@gmail.com

resistência da planta tem sido uma forma mais eficiente de controle da ferrugem, visto que, minimiza o uso de produtos no manejo da cultura cafeeira (CARVALHO et al., 2012).

Os trabalhos de melhoramento genético do cafeeiro visando resistência à ferrugem foram iniciados no Brasil em 1954, no Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) e resultaram em materiais com fatores simples de resistência vertical, distribuídos no início da década de 1970 com a denominação de Iarana (CARVALHO et al., 1975). Com o passar dos anos, outras linhas de pesquisas foram desenvolvidas nos programas de melhoramento do cafeeiro, e atualmente, a maioria das cultivares resistentes à ferrugem, no Brasil, tem como fonte de resistência o material denominado de Híbrido de Timor, um cruzamento natural entre *Coffea arabica* L. cv. Typica e *C. canephora* Pierre (robusta).

A utilização dessas fontes de resistência, só é possível, devido ao uso da variabilidade genética, funcionando como uma estratégia eficiente para o sucesso nos programas de melhoramento do cafeeiro (ROCHA et al., 2013).

Pesquisas sobre as características estruturais dos vegetais e a relação com a produção vegetal vêm revelando aspectos interessantes que colaboram com a possibilidade de minimizar o uso de defensivos agrícolas, proporcionar aumento de produtividade das plantas, além de contribuir para o entendimento do dinamismo do vegetal frente às condições impostas pelos cultivos (SILVA et al., 2005; STANGARLIN et al., 2011; MUSSURY et al., 2012).

A quantidade, o tamanho e o período de abertura dos estômatos podem proporcionar resistência a certos patógenos, já que, sendo uma abertura natural certamente será local de penetração. Cultivares com maior número de células, ou células com paredes mais espessas do parênquima paliádico têm demonstrado maior resistência a certos patógenos (SILVA et al., 2005; STANGARLIN et al., 2011; MUSSURY et al., 2012).

Poucos são os trabalhos disponíveis na literatura que se destinam ao estudo da anatomia foliar comparando diferentes genótipos. O estudo das características anatômicas foliares são importantes para se compreender a relação entre a localização, disposição, composição e espessura das estruturas foliares e o desenvolvimento vegetal, a fim de orientar em estudos na área da fitopatologia, melhoramento genético e nutrição mineral foliar, além de contribuir para a sustentabilidade no processo produtivo (LOURENÇO et al., 2011).

Diante do exposto, a caracterização da anatomia foliar e a predição da variabilidade genética em genótipos resistentes a ferrugem de um Banco de Germoplasma de café são estratégias importantes para o avanço das pesquisas no melhoramento genético de plantas, com menor tempo e com menor dispêndio de recursos.

Para predizer a variabilidade genética em programas de melhoramento genético, tem sido usada a divergência genética, por meio de técnicas multivariadas. Estas técnicas, além de permitirem integrar as múltiplas informações de um conjunto de caracteres extraídas das unidades experimentais, são importantes principalmente no planejamento de programas de melhoramento e na definição de estratégias de trabalho (IVOGLO et al., 2008; MOREIRA et al., 2009; AZEVEDO et al., 2013).

Objetivou-se com esse trabalho caracterizar e determinar a diversidade genética com base na anatomia foliar entre genótipos de café resistentes a ferrugem do Banco de Germoplasma de Minas Gerais.

MATERIAL E MÉTODOS

O Banco de Germoplasma (BAG) de café do estado de Minas Gerais foi instalado em 2004, na Fazenda Experimental da Epamig em Patrocínio (MG), localizada na região do Alto Paranaíba, situada a 18° 59' 26" de latitude sul e 48° 58' 9,5" de longitude oeste, altitude local de aproximadamente 1000 metros. O solo é do tipo latossolo vermelho amarelo distroférico. O relevo é de topografia plana com ligeira inclinação.

O clima do município de Patrocínio é classificado como Clima Mesotérmico Subtropical Temperado, com chuvas de verão, inverno seco e verão quente (*Wca*), segundo Köppen (1948).

Atualmente, o banco conta com aproximadamente 1500 acessos e apresenta uma grande variabilidade genética, principalmente materiais utilizados como fontes de resistência a doenças. Neste trabalho, foram selecionados e avaliados 20 acessos de cafeeiros, que são utilizados por instituições de pesquisas em programas de melhoramento genético visando resistência a ferrugem (Tabela 1).

Cada acesso no campo foi composto por 10 plantas, sendo consideradas como parcela útil as oito plantas centrais. Foram coletadas oito folhas completamente expandidas, do terceiro nó de ramos plagiotrópicos, do terço médio das plantas, realizadas todas do mesmo lado da planta, mantendo-se um padrão de coleta. Em laboratório, as folhas foram tomadas ao acaso, sendo avaliadas três folhas de cada acesso, sendo cada folha considerada como uma repetição.

As folhas coletadas foram fixadas em álcool 70% ($v v^{-1}$) (JOHANSEN, 1940) e após 72 horas colocadas em nova solução de álcool 70% ($v v^{-1}$) visando a conservação do material, em temperatura ambiente até a data das análises. As seções transversais foram obtidas em micrótomo de mesa tipo LPC. Os cortes foram clarificados em solução de hipoclorito de sódio 50% e lavados por três vezes em água destilada. As seções foram coradas com solução de safranina e azul de astra (azul de astra 0,1% e safranina 1% na proporção 7:3) (KRAUS; ARDUIN, 1997), sendo posteriormente montadas em lâminas semipermanentes com glicerol 50% ($v v^{-1}$) (KRAUS; ARDUIN, 1997).

TABELA 1 - Acessos de cafeeiros selecionados do Banco de Germoplasma de Minas Gerais, em Patrocínio, MG.

Números	Tratamentos	Genótipos
1	MG 149	Iarana 1973-74 MS
2	MG 150	Iarana 1973/74 IAC 1110
3	MG 210	Villa Sarchi
4	MG 211	Villa Sarchi
5	MG 279	Híbrido Timor UFV 376-31
6	MG 291	Híbrido Timor UFV 379-07
7	MG 292	Híbrido Timor UFV 380-05
8	MG 302	Híbrido Timor UFV 427-01
9	MG 304	Híbrido Timor UFV 427-15
10	MG 412	Híbrido Timor UFV 450-63
11	MG 417	Híbrido Timor
12	MG 485	Mundo Novo S _H 2-S _H 3
13	MG 493	K 7 x Híbrido Timor UFV 452-11
14	MG 502	F840 x Híbrido Timor UFV 457-12
15	MG 503	F840 x Híbrido Timor UFV 457-13
16	MG 580	<i>Dilla & Alghe</i> x H. Timor UFV 400-03
17	MG 582	<i>Dilla & Alghe</i> x H. Timor UFV 400-07
18	MG 1060	Obatã IAC 1669-20
19	MG 1063	Sarchimor IAC 1669-1-6 C 1004
20	MG 1133	Catimor UFV 393-03

As secções paradérmicas foram obtidas na epiderme da face abaxial, na região mediana foliar, utilizando-se lâmina de aço. Posteriormente, as secções foram clarificadas em solução a 50% de hipoclorito de sódio, lavadas em água destilada e coradas com safranina 1% (KRAUS; ARDUIN, 1997), tendo as lâminas sido montadas em glicerina a 50%. Foram preparadas três lâminas por folha e avaliados três campos por lâmina. Posteriormente foram observadas e fotografadas em microscópio óptico, modelo Olympus BX 60, acoplado à câmera digital Canon A630 para a captura das imagens.

As imagens foram analisadas com o software específico para análise de imagens UTHSCSA-Imagetool, obtendo-se a avaliação dos seguintes tecidos: espessura da epiderme da face abaxial (EAB), espessura da epiderme da face adaxial (EAD), espessura do parênquima paliçádico (PPA), espessura do parênquima esponjoso (PEP), espessura do mesofilo (MÊS), número de vasos do xilema (NVX), diâmetro dos vasos do xilema (DVX) e espessura do floema (EFL). Nas secções paradérmicas, foram analisados: densidade estomática (DEN) (número de estômatos por mm²) e diâmetro polar dos estômatos (DPE), diâmetro equatorial dos estômatos (DEE) que resultaram na funcionalidade estomática (FUN) (diâmetro polar/diâmetro equatorial dos estômatos) e índice estomático (IE) $(NE/NE+CE) \times 100$, onde NE é o número de estômatos e CE é o número de células epidérmicas.

Foi realizada a análise de variância (ANOVA) considerando o delineamento inteiramente casualizado, contendo 20 genótipos e 3 repetições. Após a análise de variância as médias foram submetidas ao teste Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade de erro.

A análise de divergência genética entre os acessos foi feita com base na matriz de distância genética por meio da distância generalizada de *Mahalanobis* (D_{2ii}^2). Para facilitar as comparações e interpretações foram utilizadas

técnicas de agrupamento como o método hierárquico UPGMA e o método de otimização agrupamento de *Tocher*. A importância relativa das características foi calculada utilizando o método proposto por Singh (1981), que se baseia na partição do total das estimativas das distâncias D_{ii}^2 , considerando todos os possíveis pares de indivíduos, para a parte devida a cada característica.

Todas as análises foram realizadas utilizando o aplicativo computacional em genética e estatística (Programa Genes, CRUZ, 2008).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre as onze características anatômicas avaliadas houve diferença significativa entre as médias para espessura da EAD, EAB, PPA, PEP, MÊS, NVX, DVX, EFL e INE, ao nível de 5% de probabilidade de erro pelo teste F (Tabela 2).

Resultados semelhantes foram observados por Castanheira et al. (2016) que ao estudarem progênies de cafeeiro arábica tolerantes ao estresse hídrico observaram variabilidade entre as características anatômicas estudadas. Esses resultados indicaram variabilidade genética nas características anatômicas dos genótipos de café estudados, com influência direta na fisiologia das plantas e apresentam como consequentemente condições favoráveis para o estudo da divergência genética.

O coeficiente de variação ambiental (C_{Ve}) oscilou entre 3,17% para a característica MÊS, a 14,89% para a característica INE, indicando menor influência do ambiente sobre a primeira característica e maior sobre a segunda (Tabela 2). Essas estimativas para as diferentes características avaliadas caracterizam a predominância de variabilidade genética em relação a ambiental.

Verificaram-se coeficientes de herdabilidade (h^2) variando de 97,44% para a característica MES a 28,88% para a característica ESF (Tabela 2). O coeficiente de

herdabilidade representa a confiabilidade com o qual o valor fenotípico representa o valor genotípico, assim,

características com alto h^2 refletem a menor influência do ambiente (IVOGLO et al., 2008).

TABELA 2 - Resumo da análise de variância, herdabilidade no sentido amplo (h^2), estimativas do coeficiente de variação ambiental (CVe) e razão do coeficiente genético e experimental (CVg/CVe) das 10 características anatômicas foliares⁽¹⁾ avaliadas em 20 acessos de café arábica do Banco de Germoplasma de Minas Gerais, Patrocínio (MG).

	Quadrados médios										
	GL	EAD	EAB	PPA	PEP	MES	NVX	DVX	EFL	DEN	INE
Acessos	19	13,48**	9,18**	332,52**	2086,08**	654,82**	6,48**	198,98**	0,01**	2590,30**	3845,99*
Resíduo	40	4,78	2,02	9,41	232,31	16,75	1,33	10,55	0,01	621,56	1840,24
Médias		24,83	18,14	56,11	261,25	129,26	15,11	58,40	1,63	172,01	288,02
h^2		64,52	77,97	97,17	88,86	97,44	79,36	94,69	28,88	76,00	52,15
CVe (%)		8,81	7,84	5,47	5,83	3,17	7,64	5,56	7,08	14,49	14,89
CVg/CVe		0,78	1,09	3,38	1,31	1,63	3,56	1,13	2,43	1,03	0,60

*GL = graus de liberdade, EAD = espessura da epiderme da face adaxial, EAB = espessura da epiderme da face abaxial, PPA = espessura do parênquima paliçádico, PEP = espessura do parênquima esponjoso, MÉS = espessura do mesofilo, NVX = número de vasos do xilema, DVX = diâmetro de vaso do xilema, EFL = espessura do floema, DEN = densidade estomática, INE = índice estomático.

As características PPA e PEP apresentaram coeficientes de herdabilidade de 97,17% e 88,86% respectivamente. Maiores espessuras desses tecidos funcionam como uma barreira estrutural podendo conferir a planta uma maior resistência a penetração ou a colonização de patógenos (STANGARLIN et al., 2011).

Dentre as características avaliadas, com exceção do INE, todas apresentaram as razões dos coeficientes genéticos e experimental (CVg/CVe) próximo ou maior que 1, o que caracteriza fatores genéticos predominantes sobre fatores ambientais. Embora o índice estomático tenha sido muito utilizado para comparar diferentes materiais genéticos, é um valor razoavelmente constante, sendo afetado em grande parte por variações ambientais, principalmente umidade (QUEIROZ-VOLTAN et al., 2012).

De acordo com Ferrão et al. (2008), índice de herdabilidade (h^2) maior que 0,7 é considerado favorável para um programa de melhoramento em café. Sendo assim, materiais genéticos que apresentam alto coeficiente de herdabilidade (h^2) e relação CVg/CVe para determinadas características, indicam chance de sucesso de seleção em programas de melhoramento genético.

Na Tabela 3, é apresentado o resultado da aplicação do teste Skott-Knott, a 5% de probabilidade de erro, para as 10 características avaliadas. Os acessos Villa Sarchi (MG 210), Híbrido de Timor UFV 376-31 (MG 279), Híbrido de Timor UFV 427-15 (MG 304) e F840 x Híbrido de Timor UFV 457-13 (MG 503) apresentaram seis maiores médias entre as dez características avaliadas e foram alocados em um mesmo grupo.

O acesso Villa Sarchi (MG 210) apresentou maiores médias para as características EAD, PPA, PEP, MES, DEN e INE. Atualmente a maioria das cultivares resistentes à ferrugem, no Brasil, tem como fonte de resistência o material denominado de Híbrido de Timor.

Neste trabalho, dois materiais obtiveram resultados interessantes: o acesso Híbrido de Timor UFV 376-31 (MG 279) e o acesso Híbrido de Timor UFV 427-15 (MG 304).

O acesso Híbrido de Timor UFV 376-31 (MG 279) apresentou maiores médias para as características EAD, PEP, MES, NVX, DEN e INE, já o acesso Híbrido de Timor UFV 427-15 (MG 304) apresentou maiores médias para EAD, PEP, MES, DVX, ESF e INE.

Outro material que se sobressaiu em relação aos demais foi o acesso F840 x Híbrido de Timor UFV 457-13 (MG 503), que apresentou maiores médias para EAD, EAB, PEP, MES, EFL e INE.

A epiderme adaxial funciona como uma barreira, atenuando a radiação incidente, sendo assim maiores espessuras desse tecido podem conferir a planta redução da taxa transpiratória (CASTANHEIRA et al., 2016). Aumento da espessura do parênquima paliçádico e consequentemente aumento do limbo foliar constitui característica importante ao processo fotossintético, esperando-se assim maior taxa fotossintética (NASCIMENTO et al., 2006). Maior espessura dos tecidos do limbo foliar pode favorecer uma maior capacidade fotossintética por promover uma maior quantidade de espaços para alocação de cloroplastos, podendo aumentar a fotossíntese potencial da planta (RIBEIRO et al., 2012).

Com relação aos tecidos de condução, o aumento da espessura do floema e maior diâmetro de vasos de xilema pode otimizar a fotossíntese, e consequentemente promover um maior crescimento e desenvolvimento da planta (RIBEIRO et al., 2012). O maior espessamento do floema permite maior translocação de fotoassimilados (PEREIRA et al., 2008), que são importantes para a manutenção do crescimento da planta e desenvolvimento dos frutos em uma relação fonte-dreno (CASTRO et al., 2009).

TABELA 3 - Médias de 10 características anatômicas foliares avaliadas em 20 acessos de café arábica do Banco de Germoplasma de Minas Gerais, Patrocínio (MG).

Acessos	Genótipos	Características*									
		EAD (μm)	EAB (μm)	PPA (μm)	PEP (μm)	MES (μm)	NVX	DVX (μm)	EFL (μm)	DEN (mm^2)	INE (%)
MG 149	Iarana 1973-74 MS	22,54 b	15,39 b	40,92 d	160,2 b	205,8 b	102,6e	13,7 b	48,4 d	187,28 b	15,9 a
MG 150	Iarana 1973/74 IAC 1110	20,38 b	17,42 b	68,21 b	204,2 a	267,5 a	120,3b	13,2 b	51,3 c	179,13 b	19,4 a
MG 210	Villa Sarchi	26,91 a	17,83 b	85,90 a	218,1 a	295,0 a	136,3b	14,8 b	52,3 c	215,78 a	22,8 a
MG 211	Villa Sarchi	24,61 b	19,57 a	50,49 d	185,8 b	234,5 b	110,3e	14,6 b	46,3 d	170,99 b	19,3 a
MG 279	Híbrido Timor UFV 376-31	24,85 b	18,47 a	56,74 c	220,4 a	277,7 a	141,0a	14,5 b	65,4 b	207,63 a	16,23 a
MG 291	Híbrido Timor UFV 379-07	22,7 b	16,98 b	49,34 d	237,7 a	287,2 a	142,0a	14,4 b	64,8 b	244,27 a	18,85 a
MG 292	Híbrido Timor UFV 380-05	22,9 b	16,48 b	53,50 c	208,1 a	260,1 a	132,6b	16,3 a	63,5 b	138,42 b	14,48 a
MG 302	Híbrido Timor UFV 427-01	25,34 a	19,22 a	45,89 d	217,3 a	261,5 a	136,0b	14,8 b	60,9 b	162,85 b	19,92 a
MG 304	Híbrido Timor UFV 427-15	26,16 a	17,36 b	58,43 c	231,6 a	295,6 a	137,0b	15,9 a	68,0 a	179,13 b	21,23 a
MG 412	Híbrido Timor UFV 450-63	25,97 a	19,42 a	65,30 b	197,1 b	253,3 b	102,6e	13,3 b	43,7 d	130,28 b	16,97 a
MG 417	Híbrido Timor	23,83 b	15,85 b	48,23 d	189,9 b	235,3 b	135,2b	16,4 a	48,6 d	207,63 a	19,73 a
MG 485	Mundo Novo S _H 2-S _H 3	23,10 b	15,59 b	64,97 b	219,9 a	284,4 a	145,0a	14,6 b	58,7 b	166,92 b	19,65 a
MG 493	K7 x H. Timor UFV452-11	22,66 b	20,65 a	49,70 d	213,7 a	271,1 a	143,0a	14,9 b	53,5 c	162,85 b	19,61 a
MG 502	F840 x H. Timor UFV457-12	23,91 b	19,02 a	48,94 d	203,7 a	244,7 b	135,6b	13,7 b	54,0 c	154,70 b	18,47 a
MG 503	F840 x H. Timor UFV457-13	27,72 a	21,41 a	59,03 c	217,1 a	266,1 a	101,0e	14,2 b	69,7 a	146,56 b	19,35 a
MG 580	D. & Alge x H. Timor UFV 400-03	23,05 b	16,64 b	46,51 d	187,5 b	232,0 b	144,6a	17,6 a	70,6 a	162,85 b	19,34 a
MG 582	D.&Alge x H.Timor UFV 400-07	27,29 a	20,63 a	55,85 c	169,8 b	223,6 b	130,0c	18,2 a	64,6 b	134,35 b	19,43 a
MG 1060	Obatã IAC 1669-20	27,58 a	17,37 b	68,84 b	227,5 a	301,9 a	124,6c	14,6 b	62,8 b	175,06 b	21,17 a
MG 1063	Sarchimor IAC1669-1- 6C 1004	25,69 a	18,01 b	57,32 c	226,3 a	279,9 a	143,3a	15,2 b	56,3 c	170,99 b	20,79 a
MG 1133	Catimor UFV 393-03	28,42 a	19,49 a	48,04 d	198,9 a	247,8 b	121,6d	17,9 a	63,8 b	142,49 b	18,16 a
MÉDIAS		24,83	18,14	56,10	206,7	261,3	129,26	15,12	58,41	172,01	19,05

*H. Timor = Híbrido Timor, EAD = espessura da epiderme da face adaxial, EAB = espessura da epiderme da face abaxial, PPA = espessura do parênquima paliádico, PEP = espessura do parênquima esponjoso, MES = espessura do mesofilo, NVX = número de vasos do xilema, DVX = diâmetro de vasos do xilema, EFL = espessura do floema, DEN = densidade estomática, INE = índice estomático. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro.

Dessa forma, maiores espessuras desses tecidos, podem apresentar maiores incrementos na produtividade (CASTRO et al. 2009). Além disso, maior densidade estomática pode permitir uma abertura em um espaço de tempo menor permitindo uma captação adequada de CO₂, evitando a transpiração, assim, a planta pode apresentar

uma maior capacidade fotossintética (BATISTA et al., 2010).

Para INE, não houve separação das médias em grupos distintos. Lima et al. (2010) concluíram que a maior quantidade de estômatos apresenta um efeito parcial na resistência de pimentão ao oídio causado por *Oidiopsis*

haplophylli, o que não se pode constatar nesse trabalho, embora, a ferrugem penetre por aberturas naturais como estômatos, na cultura do café não há uma relação entre número de estômatos e resistência à ferrugem.

Acuña et al. (1998) estudaram a possível relação entre o nível de suscetibilidade e o índice estomático de café constatou que o número de estômatos e o número de células epidérmicas não estão associadas com características de resistência da planta. A resistência estrutural dos estômatos citadas por alguns autores, pode estar ainda, associada ao tamanho da abertura do ostíolo ou ao tempo de abertura do estômato.

Assim, a utilização de características anatômicas foliares é potencial na caracterização de genótipos em programas de melhoramento genético, obtendo uma maior exploração de materiais avaliados, auxiliando em trabalhos de pré-melhoramento, na busca por características de resistência a patógenos, cultivares adaptadas as principais regiões produtoras de café, aliadas a produtividade.

Para o estudo da divergência genética, as medidas de dissimilaridade, estimadas pela distância generalizada de *Mahalanobis* (D^{2ii}), entre os pares de genótipos componentes dos vinte acessos avaliados, apresentaram uma elevada variação (8,19 a 664,29), indicando a ampla variabilidade genética entre os acessos (Tabela 4). Esses resultados corroboram Azevedo et al. (2014), estudando genótipos de couve encontraram valores de 15,25 a 661,9, o que, segundo Benitez et al. (2011), indica a presença de ampla divergência genética entre os genótipos estudados.

Os acessos MG 149 (Iarana 1973-74 MS) e MG 210 (Villa Sarchi) foram considerados os mais dissimilares entre si, com uma distância genética de 664,29 com base na distância generalizada de *Mahalanobis*, e os acessos MG 302 (Híbrido Timor UFV 427-01) e MG 502 (F840 x Híbrido Timor UFV 457-12) foram os mais similares, em razão de ter exibido a menor distância média entre os pares de distâncias estimadas (8,19).

A dissimilaridade entre os acessos MG 149 (Iarana 1973-74 MS) e MG 210 (Villa Sarchi) pode ser explicada em partes pela origem deste material, já que o primeiro foi desenvolvido pelo IAC com sementes de cafeeiros provenientes da África, e o segundo é uma mutação da cultivar Bourbon descoberta na Costa Rica.

O agrupamento pelo método de Tocher, utilizando-se como medida de dissimilaridade genética a distância generalizada de *Mahalanobis*, caracterizou a formação de cinco grupos de acessos. O coeficiente de correlação cofenético (CCC) entre a matriz de *Mahalanobis* e a matriz de agrupamento UPGMA quando maior que 0,7 indica que o método de agrupamento utilizado foi adequado, neste trabalho obteve-se um CCC de 0,75 indicando adequação do método de agrupamento.

Maior parte dos acessos ficou alocada no grupo um, sendo este grupo constituído por 11 dos 20 acessos estudados (Tabela 5). O que indica que embora haja acessos com grande divergência entre si, a maioria é similar, devido ao café ser uma cultura que apresenta base genética estreita (BERTHAUD e CHARRIER, 1988).

Resultados semelhantes foram encontrados por Silva et al. (2011), em um experimento com cana-de-açúcar, também Azevedo et al. (2014) com genótipos de couve e Guedes et al. (2013) avaliando cafeeiros do germoplasma Maragogipe.

Com o objetivo de se obter um grau de confiabilidade mais elevado no agrupamento dos acessos pela dissimilaridade genética, foi também aplicado o método de *UPGMA*, cujo dendograma encontra-se na Figura 1. O diagrama de *UPGMA* apresentou elevado grau de ramificação em função da ampla diversidade observada entre os acessos estudados resistentes a ferrugem. Os resultados foram similares aos observados pelo método de *Tocher*, principalmente quando se estabeleceu o limite mínimo de 35% de similaridade entre os acessos.

Variabilidade genética em...

VIANA, M. T. R. et al. (2018)

TABELA 4 - Dissimilaridade entre 20 acessos de café arábica do Banco de Germoplasma de Minas Gerais, com base na distância generalizada de *Mahalanobis* (D^{2ii}), Patrocínio (MG).

	MG 149	MG 150	MG 210	MG 211	MG 279	MG 291	MG 292	MG 302	MG 304	MG 412	MG 417	MG 485	MG 493	MG 502	MG 503	MG 580	MG 582	MG 1060	MG 1063	MG 1133
MG 149	0	297.1	664.2	90.3	235.6	206.7	184.6	183.2	352.9	220.5	127.7	422.9	301.8	176.28	287.26	265.98	301.97	401.75	337.35	169.18
MG 150		0	105.3	98.9	142.8	182.7	99.8	129.6	77.9	50.7	150.2	57.1	97.8	102.34	127.72	214.48	164.36	37.43	72.44	167.97
MG 210			0	332.5	259.1	349.4	254.4	304.3	136.8	225.6	320.9	75.4	200.6	276.77	334.23	347.17	252.84	71.51	132.50	345.50
MG 211				0	151.8	166.8	80.6	66.5	146.6	46.7	64.8	181.9	103.4	47.11	91.51	156.86	116.92	156.97	118.76	62.56
MG 279					0	14.0	40.6	61.7	83.8	234.7	63.7	108.3	85.5	76.75	211.48	87.27	145.30	151.73	85.74	116.00
MG 291						0	60.9	74.3	121.7	277.5	73.4	159.6	120.4	95.89	235.09	109.68	204.76	206.09	127.68	141.88
MG 292							0	20.2	45.6	144.6	41.4	77.8	54.3	28.60	121.12	35.53	62.79	104.51	47.64	38.69
MG 302								0	58.6	149.9	42.7	104.2	36.0	8.19	117.26	37.39	60.11	130.66	45.10	28.71
MG 304									0	158.1	121.4	25.4	53.3	71.19	123.72	74.14	68.86	30.05	20.05	84.9
MG 412										0	169.5	163.4	151.2	112.96	85.72	267.24	167.84	102.9	136.5	143.4
MG 417											0	140.3	71.9	36.92	209.62	70.17	98.90	189.5	85.0	63.9
MG 485												0	53.4	94.27	207.68	126.27	110.83	35.4	19.0	156.7
MG 493													0	27.31	193.38	83.35	74.64	103.2	17.0	89.8
MG 502														0	126.27	60.33	65.26	126.2	39.1	43.1
MG 503															0	194.89	142.26	114.9	163.5	88.2
MG 580																0	46.23	179.5	77.2	44.0
MG 582																	0	121.7	61.4	31.0
MG 1060																		0	53.2	148.0
MG 1063																			0	86.9
MG 1133																				0

TABELA 5 - Grupos formados de acordo com o método de Tocher, baseado na distância (D^2) de Mahalanobis, dos 20 acessos de café arábica avaliados do Banco Ativo de Germoplasma de Minas Gerais, Patrocínio (MG).

Grupos	Acessos
1	MG 302 MG 502 MG 292 MG 580 MG 1133 MG 417 MG 493 MG 1063 MG 582 MG 304 MG 279
2	MG 485 MG 1060 MG 150 MG 210
3	MG 211 MG 412 MG 503
4	MG 149
5	MG 291

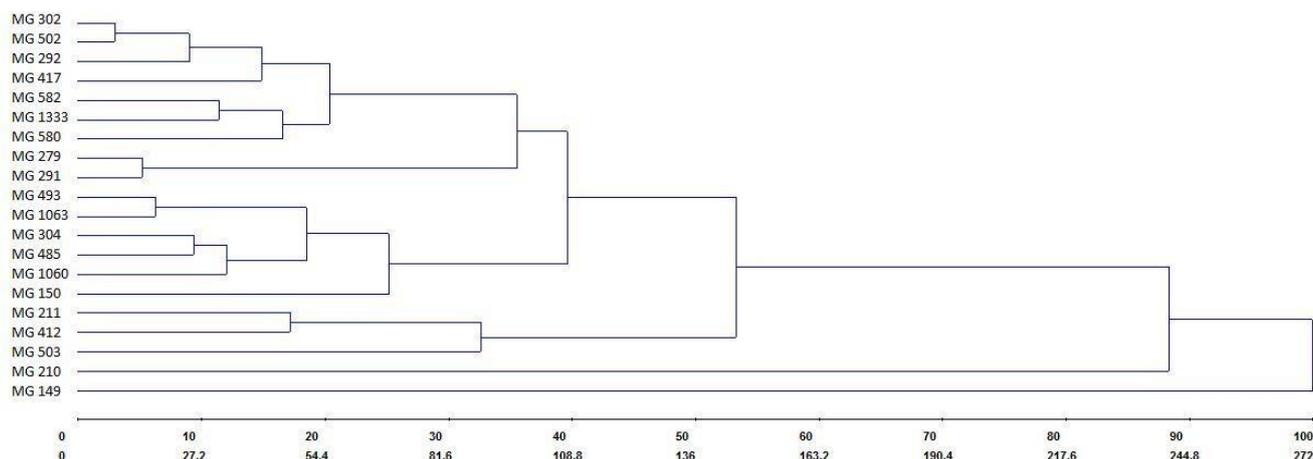


FIGURA 1 - Dendrograma do agrupamento de 20 acessos de café arábica do Banco de Germoplasma de Minas Gerais pelo método UPGMA, obtido a partir da distância generalizada de Mahalanobis, Patrocínio (MG).

Este método de agrupamento permitiu a formação de seis grupos distintos, sendo o grupo I composto por sete acessos (MG 302, MG 502, MG 292, MG 417, MG 582, MG 1333 e MG 508), o grupo II composto por dois acessos (MG 279 e MG 291), o grupo III composto por 6 acessos (MG 493, MG 1063, MG 304, MG 485, MG 1060 e MG 1060), grupo IV composto por 3 acessos (MG 211, MG 412 e MG 503), o grupo V (MG 210) e VI (MG 149) tiveram apenas um acesso cada. Os sete acessos do grupo I também permaneceram no mesmo agrupamento de Tocher, indicando que os possíveis cruzamentos entre acessos desse grupo diminuem a possibilidade de obtenção de genótipos com características anatômicas foliares divergentes.

Nesse método os acessos MG 210 (Villa Sarchi) e MG 149 (Iarana 193-74 MS) foram considerados os mais divergentes. O acesso MG 149 (Iarana 193-74 MS), embora não tenha apresentado maiores médias de características de anatomia foliar, permaneceu isolado nos dois agrupamentos. Porém, esse acesso apresentou as menores médias para as características em estudo, diante

disso, não deve ser utilizado como fonte de melhoramento para as características citadas. As novas fontes de melhoramento devem ser materiais divergentes, mas que reúnem características de interesse.

Alguns autores também encontraram semelhança entre os métodos de agrupamento estudados, como Ivoglo et al. (2008) trabalhando com café arábica e Guedes et al. (2013) em um experimento de divergência genética entre cafés do germoplasma Maragogipe.

Para o estudo da importância relativa das características a análise foi feita pelo método de Singh, utilizando todas as características, e estimando-se sua contribuição relativa. Os resultados demonstraram que as características que proporcionaram maiores contribuições relativas foram espessura do parênquima paliádico (24,32%), número de vasos do xilema (22,46%) e espessura do mesofilo (17,41%). Enquanto espessura da epiderme da face adaxial (0,94%), espessura da epiderme da face abaxial (1,76%), diâmetro de vasos de xilema (3,88%) apresentaram as menores contribuições (Tabela 6)

TABELA 6 - Contribuição relativa de 10 características anatômicas foliares para a divergência dos 20 acessos de café arábica do Banco de Germoplasma de Minas Gerais, Patrocínio (MG).

Variáveis*	S.j	S.j (%)
EAD	257.78	0,94
EAB	483.09	1,76
PPA	6673.82	24,32
PEP	1149.10	4,19
MÊS	4778.63	17,41
NVX	6163.98	22,46
DVX	1065.97	3,88
EFL	2499.20	9,1
DEN	2405.93	8,77
INE	1968.00	7,17

*EAD = espessura da epiderme da face adaxial, EAB = espessura da epiderme da face abaxial, PPA = espessura do parênquima paliádico, PEP = espessura do parênquima esponjoso, MÊS = espessura do mesófilo, NVX = número de vasos do xilema, DVX = diâmetro de vasos do xilema, EFL = espessura do floema, DEN = densidade estomática, INE = índice estomático, S.j = medida da importância relativa da característica em estudo.

CONCLUSÕES

Os acessos Villa Sarchi (MG 210), F 840 x Híbrido Timor UFV 457-13 (MG 503) e Híbrido Timor UFV 376-31 (MG 279), além de apresentarem as maiores médias com base nas características anatômicas também estão entre os mais divergentes, de acordo com os agrupamentos utilizados, sendo, portanto, materiais potenciais para futuros cruzamentos com o objetivo de integrar programas de melhoramento genético, visando resistência à ferrugem.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACUÑA, R.S.; ACUÑA, A.S.; ZAMBOLIM, L. Índice estomático em materiais genéticos de café resistentes o susceptíveis a la roya. **Bioagro**, Viçosa, v.10, n.2, p.57-61, 1998.

AZEVEDO, A.M.; ANDRADE JÚNIOR, V.C.; FERNANDES, J.S.C.; PEDROSA, C.E.; VALADARES, N.R.; FERREIRA, M.A.M.; MARTINS, R.A.V. Divergência genética e importância de caracteres morfológicos em genótipos de couve. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.32, n.1, p.48-54, 2014.

AZEVEDO, A.M.; ANDRADE JÚNIOR, V.C.; OLIVEIRA, C.M.; FERNANDES, J.S.C.; PEDROSA, C.E.; DORNAS, M.F.S.; CASTRO, B.M.C. Seleção de genótipos de alface para cultivo protegido: divergência genética e importância de caracteres. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.31, n.2, p.260-265, 2013.

BALIZA, D.P.; CUNHA, R.L.; CASTRO, E.M.; BARBOSA, J.P.R.A.D.; PIRES, M.F., GOMES, R.A. Trocas gasosas e características estruturais adaptativas de cafeeiros cultivados em diferentes níveis de radiação. **Coffee Science**, Lavras, v.7, n.3, p.250-258, 2012.

BATISTA, L.A.; GUIMARÃES, R.J.; PEREIRA, F.J.; RODRIGUES CARVALHO, G.; CASTRO, E.M.D. Anatomia foliar e potencial hídrico na tolerância de

cultivares de café ao estresse hídrico. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.41, n.3, p.475-481, 2010.

BENITEZ, L.C.; RODRIGUES, I.C.S.; ARGE, L.W.P.; RIBEIRO, M.V.; BRAGA, E.J.B. Análise multivariada da divergência genética de genótipos de arroz sob estresse salino durante a fase vegetativa. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v.42, n.2, p.409-416, 2011.

BERTHAUD, J.; CHARRIER, A. **Genetic resources of Coffea**. In: CLARKE, R. J.; MACRAE, R. (Eds.) *Coffee*. London: Elsevier Applied Science, 1988. v.4, p.1-42.

CARVALHO, A.; FAZUOLLI, L.C.; MÔNACO, L.C. Características do cultivar Iarana de *Coffea arabica*. **Bragantia**, Campinas, v.34, n.17, p.263-272, 1975.

CARVALHO, A.M.; MENDES, A.N.G.; BOTELHO, C.E.; OLIVEIRA, A.C.B.; REZENDE, J.C.; REZENDE, R.M. Desempenho agrônomico de cultivares de café resistentes à ferrugem no Estado de Minas Gerais, Brasil. **Bragantia**, Campinas, v.71, n.4, p.481-487, 2012.

CASTANHEIRA, D.T.; REZENDE, T.T.; BALIZA, D.P.; GUEDES, J.M.; CARVALHO, S.P.; GUIMARÃES, R.J.; VIANA, M.T.R. **Coffee Science**, Lavras, v.11, n.3, p.374-385, 2016.

CASTRO, E.M.; PEREIRA, F.J.; PAIVA, R. **Histologia vegetal: estrutura e função de órgãos vegetativos**. Lavras: UFLA, 2009. 234p.

CRUZ, C.D. **Programa Genes: aplicativo computacional em genética estatística**. Viçosa, MG: UFV. Software, 2008.

FERRÃO, R.G.; CRUZ, C.D.; FERREIRA, A.; CECON, P.R.; FERRÃO, M.A.G.; FONSECA, A.F.A. D; CARNEIRO, P.C.S.; SILVA, M.F. Genetic parameters in Conilon coffee. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.43, n.1, p.61-69, 2008.

GUEDES, J.M.; VILELA, D.J.M.; REZENDE, J.C.; SILVA, F.L.; BOTELHO, C.E.; CARVALHO, S.P.

- Divergência genética entre cafeeiros do germoplasma Maragogipe. **Bragantia**, Campinas, v.72, n.2, p.127-132, 2013.
- IVOGLO, M.I.L.A.N.A.G.; FAZUOLI, L.C.; BAIÃO DE OLIVEIRA, A.C.; BOLLER GALLO, P.A.U.L.O.; MISTRO, J.C.; BERNADETE SILVAROLLA, M.A.R.I.A.; TOMA-BRAGHINI, M.A.S.A. Divergência genética entre progênies de café robusta. **Bragantia**, Campinas, v.67, n.2, p.823-831, 2008.
- JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. 2^a ed. New York: McGraw Hill, 1940. 523 p.
- KÖPPEN, W. **Climatologia**: con un estudio de los climas de la tierra. Mexico: Fondo de Cultura Económica, 1948. 478 p.
- KRAUS, J.E.; ARDUIM, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédica: Edur, 1997. 198 p.
- LIMA, M.L.P.; LOPES, C.A.; CAFÉ FILHO, A.C. Padrão estomático de *Capsicum ssp.* resistentes e suscetíveis a *Oidiopsis haplophylli*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.36, n.1, p.25-29, 2010.
- LOURENÇO, H.A.O.; VASCONCELOS FILHO, S.C.; VASCONCELOS, J.M.; CAMPOS, H.D. Anatomia foliar de diferentes cultivares de soja e sua relação com incidência e severidade de doenças. **Global Science and Technology**, Rio Verde, v.4, n.3, p.37-47, 2011.
- MOREIRA, R.M.P.; FERREIRA, J.M.; TAKAHASHI, L.S.A.; VANCONCELOS, M.E.C.; GEUS, L.C.; BOTTI, L. Potencial agrônomo e divergência genética entre genótipos de feijão-vagem de crescimento determinado. **Semina: ciências agrárias**, Londrina, v.30, n. suplemento 1, p.1051-1060, 2009.
- MUSSURY, R.M.; BETONI, R.; SILVA, M.A.; SCALON, S.P.Q. Anatomia foliar de soja infectada por *Phakopsora pachyrhizi* H. Sydow & Sydow e tratadas com extratos vegetais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.14, n.1, p.18-25, 2012.
- NASCIMENTO, E.A.; OLIVEIRA, L.E.M.; CASTRO, E.M.; DELÚ FILHO, N.; MESQUITA, A.C.; VIEIRA, C.V. Alterações morfofisiológicas em folhas de cafeeiro (*Coffea arabica*) consorciado com seringueira (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.). **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.3, p.852-857, 2006.
- PEREIRA, F.J.; CASTRO, E.M.; SOUZA, T.C.; MAGALHÃES, P.C. Evolução da anatomia radicular do milho 'Saracura' em ciclos de seleção sucessivos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.43, n.12, p.1649-1656, 2008.
- QUEIROZ-VOLTAN, R.B.; NARDIN, C.F.; FAZUOLI, L.C.; BRAGHINI, M.T. Anatomia foliar de mandioca em função do potencial para tolerância às diferentes condições ambientais. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v.43, n.2, p.354-361, 2012.
- RIBEIRO, M.N.O.; CARVALHO, S.P.; PEREIRA, F.J.; CASTRO, E.M. Anatomia foliar de mandioca em função do potencial para tolerância à diferentes condições ambientais. **Revista Ciência Agrônômica**, Fortaleza, v.43, n.2, p.354-361, 2012.
- ROCHA, R.B.; VIEIRA, D.S.; RAMALHO, A.R.; TEIXEIRA, A.L. Caracterização e uso da variabilidade genética de Banco Ativo de Germoplasma de *Coffea canephora* Pierre ex Froehner. **Coffee Science**, Lavras, v.8, n.4, p.478-485, 2013.
- SILVA, G.C.; OLIVEIRA, F.J.; ANUNCIÇÃO FILHO, C.J.; NETO, D.E.S.; MELO, L.J.O.T. Divergência genética entre genótipos de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v.6, n.1, p.52-58, 2011.
- SILVA, L.M.; ALQUINI, Y.; CAVALLET, V.J. Inter-relações entre anatomia vegetal e produção vegetal. **Acta Botânica Brasílica**, Porto Alegre, v.19, n.1, p.183-194, 2005.
- SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. **The Indian Journal of Genetic and Plant Breeding**, New Delhi, v.41, n.2, p.237-245, 1981.
- STANGARLIN, J.R.; KUHN, O.J.; TOLEDO, M.V.; PORTZ, R.L.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; PASCHOLATI, S.F. A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, Marechal Cândido Rondon, v.10, n.1, p.18-46, 2011.
- ZAMBOLIM, L.; VALE, F.X.R. Estratégias múltiplas no manejo integrado de doenças do cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.28, n.1, p.137-153, 2003.