

CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE CULTIVARES DE CAFÉ RESISTENTES À FERRUGEM¹

Tiago Vieira Sousa²; Eveline Teixeira Caixeta³; Emilly Ruas Alkimim⁴; Antonio Carlos Baião de Oliveira⁵; Antonio Alves Pereira⁶; Eunize Maciel Zambolim⁷; Laércio Zambolim⁸; Ney Sussumu Sakiyama⁹

¹Trabalho financiado pelo Consórcio Brasileiro de Pesquisa & Desenvolvimento/Café, INCT Café, CNPq e Fapemig.

²Doutorando do programa de Genética e Melhoramento, Universidade Federal de Viçosa-UFV, tiagronomia@yahoo.com.br.

³Pesquisadora, DSc, Embrapa Café, Brasília-DF, eveline.caixeta@embrapa.br, autor correspondência.

⁴Doutoranda do programa de Genética e Melhoramento, UFV, emillyalkimim@yahoo.com.br.

⁵Pesquisador, DSc, Embrapa Café, Brasília-DF, baião.embrapa@gmail.com.

⁶Pesquisador, DSc, Epamig, Viçosa, pereira@epamig.br.

⁷Pesquisadora, DSc, Bioagro, UFV, Viçosa, eunize@ufv.br.

⁸Professor, PhD, Departamento Fitopatologia, UFV, Viçosa, zambolim@ufv.br.

⁹Professor, DSc, Departamento Fitotecnia, UFV, Viçosa, sakiyama@ufv.br.

RESUMO: Os ganhos alcançados com o melhoramento genético do cafeeiro no Brasil resultaram na obtenção de cultivares com potencial produtivo muito superior ao das cultivares tradicionais. Atualmente, 123 cultivares de *C. arabica* estão registradas, destas oito são protegidas. Para que uma cultivar possa ser registrada e ou protegida é obrigatório que ela seja distinta, homogênea e estável (DHE). Na comprovação de DHE de uma cultivar são usados descritores mínimos, sendo que os marcadores morfológicos tem sido os mais utilizados. No entanto, as cultivares comerciais são cada vez mais próximas fenotipicamente, o que dificulta a discriminação precisa desses materiais por meio desses descritores. Assim sendo, uma alternativa que venha auxiliar nos testes de DHE é de extrema necessidade e proporcionará grandes benefícios. Nesse sentido, o uso de marcadores moleculares pode discriminar com maior precisão e segurança as cultivares as quais se deseja registrar e ou a proteger. Nesse contexto, o presente trabalho objetivou estabelecer um conjunto de marcadores microsatélite para a caracterização molecular (*fingerprinting*) de cultivares de café portadores de resistência à ferrugem (*Hemileia vastatrix* Berk. et Br.). Foram analisadas 34 cultivares/progênes de *C. arabica* portadoras de resistência à ferrugem. Trinta e um *primers* microsatélites foram testados, 27 amplificaram, sendo 20 polimórficos. Foi construído um dendrograma e estabelecido o perfil molecular das cultivares. Com os resultados obtidos, demonstrou-se que os marcadores microsatélites são capazes de diferenciar genótipos aparentados e próximos fenotipicamente, podendo ser utilizados como ferramenta auxiliar nos testes de DHE das cultivares. Além disso, foi estabelecido um conjunto de marcadores microsatélites sendo discriminadas 29 das 34 cultivares de *C. arabica*.

PALAVRAS-CHAVE: Melhoramento do cafeeiro, marcador SSR, *fingerprinting* de cultivares.

MOLECULAR CHARACTERIZATION OF COFFEE CULTIVARS RESISTANT TO RUST

ABSTRACT: The gains achieved with coffee breeding in Brazil resulted in the development of cultivars with productive potential much higher than the traditional cultivars. Currently, 123 cultivars of *C. arabica* are registered, from these eight are protected. To register and protect the cultivar is mandatory that it be distinct, uniform and stable (DUS). For this, minimum descriptors are used, and morphological markers have been routinely used. However, the commercial cultivars are phenotypically close and it affects the precise discrimination of these genetic materials by the morphological descriptors. An alternative which can assist the DUS test is the use of molecular marker. These markers can discriminate more accurately and safely the cultivars. In this context, this study aimed to establish a set of microsatellite markers for molecular characterization (*fingerprinting*) of *coffee* cultivars carrying rust resistance (*Hemileia vastratrix* Berk. Et Br). We analyzed 34 cultivars / progenies of *C. arabica* carrying rust resistance. Thirty-one microsatellite primers were tested and 20 of them amplified polymorphic bands. We constructed an dendrograma and established the molecular profile of the cultivars. It was demonstrated that the microsatellite markers are able to differentiate genotypes that are phenotypically close related, so they can be used as an auxiliary tool in the DUS test of cultivars. Furthermore, we established a set of microsatellite markers able to discriminat 29 of 34 *C. arabica* cultivars.

KEY WORDS: Coffee breeding, SSR marker, *fingerprinting* of cultivars.

INTRODUÇÃO

O gênero *Coffea* é representado por mais de 100 espécies (DAVIS *et al.*, 2006). No entanto, as espécies cultivadas, *C. arabica* L. e *C. canephora* Pierre são as de maior importância econômica, embora outras espécies tenham uma valiosa reserva de genes para diferentes propostas do melhoramento genético. A espécie *C. arabica* é a mais comercializada mundialmente, devido a sua superioridade na qualidade da bebida (SONDAHL e LAURITIS, 1992; NEBESNY e BUDRYN, 2006). No Brasil, a produção de café arábica em 2012 foi de 38,34 milhões de sacas, correspondendo a 75,74 % da produção brasileira (CONAB, 2013).

Pesquisas na área do melhoramento genético do cafeeiro no Brasil resultaram na obtenção de cultivares com potencial produtivo muito superior ao das cultivares tradicionais. Houve um acréscimo de aproximadamente 400% na produtividade da cultivar Mundo Novo em relação à variedade Typica (CARVALHO, 1981) Atualmente estão registradas 123 cultivares de *C. arabica* (BRASIL, 2013) que apresentam elevada produtividade e vigor, excelente qualidade de bebida e adaptadas às mais diversas regiões edafoclimática brasileira. Dentre as cultivares registradas, 71 apresentam resistência ou tolerância à ferrugem do cafeeiro, considerada a principal doença dessa cultura.

Apesar do número de cultivares disponíveis, o material genético possui fenótipo semelhante. Isso se deve à base genética estreita da espécie e o processo de melhoramento, que direciona a genótipos cada vez mais próximo fenotipicamente. Assim, a discriminação e identificação correta das cultivares pelos seus descritores morfológicos é dificultada. A busca por descritores que permitam, de forma racional e prática, discriminar as diversas cultivares de café terá grande utilidade nos programas de melhoramento desta espécie, evitando problemas com a Lei de Proteção de Cultivares de nº 9.456, em vigor no Brasil desde 1997.

Uma alternativa que pode complementar os descritores morfológicos para essa espécie é o uso de marcadores moleculares. Esses marcadores têm permitido identificar, com precisão, as variações genéticas presentes no DNA de um organismo (CAIXETA *et al.*, 2009) e, portanto, vem sendo utilizados desde 2009 pelo Serviço Nacional de Proteção de Cultivares (BRASIL, 2011). Os marcadores moleculares vêm sendo aplicados na proteção de cultivares como ferramentas auxiliares nas análises, como na comprovação da origem genética da cultivar, na identificação de cultivares em casos de uso indevido e em atividades de fiscalização. Diante do exposto, o presente trabalho objetiva estabelecer um conjunto de marcadores microssatélite para a caracterização molecular (*fingerprinting*) de cultivares de café resistentes à ferrugem (*Hemileia vastatrix* Berk. et Br.).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudadas 26 cultivares e cinco progênies elite resistentes à ferrugem, além de três cultivares suscetíveis a essa doença. Das três cultivares suscetíveis à ferrugem escolhidas, duas são Catuaí, pertencente ao grupo das cultivares mais plantadas no Brasil e a outra Bourbon considerada padrão para qualidade de bebida. Os 34 cafeeiros foram selecionadas para o estudo devido sua importância e por serem de difícil discriminação fenotípica. A dificuldade na discriminação fenotípica é resultante da base genética estreita inerente a essa espécie e por serem oriundas de mesma fontes de resistência ou fontes muito aparentadas. Os progenitores resistentes utilizados nos vários programas de melhoramento no Brasil são derivados do Híbrido de Timor ou de Icatu.

Essas 34 cultivares/progênies (Tabela 1) compõem o Ensaio Nacional de Cultivares, o qual está instalado nas principais regiões produtoras de café no Brasil. O mesmo encontra-se em andamento e justifica a importância desses materiais no território brasileiro.

Para as análises em laboratório, folhas jovens e completamente desenvolvidas de cada cultivar/progênie foram coletadas, congeladas a -80 °C, liofilizadas, trituradas e conservadas a -20 °C. O DNA genômico foi extraído conforme protocolo descrito por Diniz *et al.* (2005) e amplificado com 31 marcadores microssatélites, seguindo metodologia de Missio *et al.* (2010).

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

Foi avaliado *bulk* constituídos por seis plantas de cada cultivar/progênie. Os dados foram codificados como codominantes. Assim, se o loco apresentasse quatro alelos, obteve-se a representação 11, 22, 33 e 44 para as formas homocigotas e 12, 13, 14, 23 e 24 para as heterocigotas.

Todas as análises foram realizadas pelo programa computacional GENES (CRUZ, 2013). Um dendrograma foi construído, utilizando a técnica de agrupamento UPGMA, a partir dos valores da matriz de distância. Para o cálculo da distância apenas bandas polimórficas foram consideradas na análise.

Também foi definido um conjunto marcadores a serem utilizados na discriminação das cultivares/linhagens utilizadas nesse estudo, estabelecendo o padrão de marcas para cada cultivar (*Fingerprinting*). Apenas *primers* polimórficos foram considerados nas análises.

Tabela 1. Cafeeiros utilizados na análise dos marcadores moleculares.

Nº	Cultivar ou Progênie	Instituição de Origem	Número Registro	Resistência à ferrugem ¹	Fonte de resistência
1	Catuaí Vermelho IAC 144	IAC	02934	S	-

2	Catuai Vermelho IAC 15	IAC	02927	S	-
3	Bourbon Amarelo UFV 535	UFV	-	S	-
4	Catuai Amarelo 2SL	MAPA/Fundação Procafé	04915	MR	Icatu
5	Catucaiam 24137	MAPA/Fundação Procafé	28888	MR	Icatu
6	Catucaiam 2015479	MAPA/Fundação Procafé	28885	MR	Icatu
7	Catuai 785-15	MAPA/Fundação Procafé	04996	MR	Icatu
8	Catuai Vermelho 20/15	MAPA/Fundação Procafé	04910	MR	Icatu
9	Sabiá tardio	MAPA/Fundação Procafé	04992	MR	CIFC 832/1 ²
10	IBC-Palma-2	MAPA/Fundação Procafé	04998	MR	CIFC 832/1
11	Acauã	MAPA/Fundação Procafé	04995	R	CIFC 832/2 ²
12	Tupi Amarelo IAC 5162	IAC	-	R	CIFC 832/2
13	Tupi IAC 1669-33	IAC	02957	R	CIFC 832/2
14	IAC 125 RN	IAC	28587	R	CIFC 832/2
15	Obatã IAC 1669-20	IAC	02956	R	CIFC 832/2
16	Obatã Amarelo IAC 4932	IAC	-	MR	CIFC 832/2
17	Iapar 59	IAPAR	02324	R	CIFC 832/2
18	IPR 98	IAPAR	09950	R	CIFC 832/2
19	IPR 99	IAPAR	09949	MR	CIFC 832/2
20	IPR 100	IAPAR	09948	MR	BA-10
21	IPR 103	IAPAR	09945	MR	Icatu
22	IPR 104	IAPAR	09944	R	CIFC 832/2
23	Oeiras MG 6851	EPAMIG/UFV	04755	MR	CIFC 832/1
24	Catiguá MG1	EPAMIG/UFV	18632	R	UFV440-10 ²
25	Catiguá MG2	EPAMIG/UFV	18633	R	UFV440-10
26	MGS Catiguá 3	EPAMIG/UFV	22098	R	UFV440-10
27	Sacramento MG1	EPAMIG/UFV	18631	R	UFV438-52 ²
28	Araponga MG1	EPAMIG/UFV	18635	R	UFV446-08 ²
29	Pau Brasil MG1	EPAMIG/UFV	18634	R	UFV442-34 ²
30	Paraíso MG H 419-1	EPAMIG/UFV	15981	R	UFV445-46 ²
31	H 419-3-3-7-16-4-1	EPAMIG/UFV	-	R	UFV445-46
32	H 419-10-6-2-5-1	EPAMIG/UFV	-	R	UFV445-46
33	H 419-10-6-2-10-1	EPAMIG/UFV	-	R	UFV445-46
34	H 419-10-6-2-12-1	EPAMIG/UFV	-	R	UFV445-46

¹S = Suscetível; MR = Moderadamente resistente; R = Resistente; ²Acessos de Híbrido de Timor.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um total de 31 *primers* foram analisados nos 34 cafeeiros, sendo que quatro deles não apresentaram bandas nítidas e, portanto, foram descartados. Do restante, 20 marcadores foram polimórficos (Tabela 2).

Tabela 2. Marcadores SSR analisados nas cultivares em estudo e o números de alelos amplificados por cada loco

Nº	Primer	Nº de alelos/Loco	Nº	Primer	Nº de alelos/Loco
1	EST-SSR 001	2	17	EST-SSR 074	2
2	EST-SSR 002	3	18	EST-SSR 077	2
3	EST-SSR 006	3	19	EST-SSR 096	4
4	EST-SSR 023	2	20	SSR 16	2
5	EST-SSR 025	2	21	SSR 95	3
6	EST-SSR 029	2	22	SSR-08	Monomórfico
7	EST-SSR 030	2	23	SSRCa 04	Monomórfico
8	EST-SSR 031	2	24	SSRCa 11	Monomórfico
9	EST-SSR 032	3	25	SSRCa 15	Monomórfico
10	EST-SSR 035	2	26	SSRCa 18	Não amplificou
11	EST-SSR 046	2	27	SSRCa 19	Não amplificou
12	EST-SSR 054	Monomórfico	28	SSRCa 23	Não amplificou
13	EST-SSR 061	2	29	SSRCa 40	Monomórfico
14	EST-SSR 062	2	30	SSRCa 46	Não amplificou
15	EST-SSR 063	Monomórfico	31	SSRCa 52	4
16	EST-SSR 069	3	--	--	--

Ao analisar os 20 marcadores microssatélites polimórficos, 47 bandas foram amplificadas. Foi observada média de 2,35 bandas por *primer*, variando entre duas a quatro bandas. A percentagem de *primers* polimórficos foi de 74,04%. No

entanto, isso não indica alta variabilidade entre as cultivares/progênes avaliadas, uma vez que os *primers* utilizados nesse estudo foram selecionados por serem polimórficos em outros estudos. Capucho (2008), em trabalho com população F₂ resultante do cruzamento entre Catuaí Amarelo IAC 64 (UFV 2148-57) e Híbrido de Timor UFV 443-03 obteve 7,34% de polimorfismo em 286 *primers* SSR. Número reduzido de loci SSR polimórficos para *C. arabica* também foi observado por Vieira *et al.* (2010).

A média de bandas obtida por *primer* (2,35) indicou haver estreita base genética entre as cultivares/progênes avaliadas. Isso pode ser explicado pelo baixo número de plantas que foram introduzidas no Brasil sendo estas, a base genética das cultivares atuais. Nesse sentido, segundo Setotaw *et al.* (2013) a base genética de 121 cultivares lançadas no Brasil entre 1939 e 2009 é devida a apenas 13 diferentes genitores. Esses autores ainda verificaram que sete genitores contribuíram com 97,55% da base genética das cultivares *C. arabica* do Brasil.

Para a construção do dendrograma e estabelecimento do padrão molecular (*fingerprinting*) das cultivares, foram considerados apenas os marcadores microssatélites polimórficos e que se comportaram como diploides e codominantes. Dessa forma, dos 20 marcadores polimórficos analisados, 16 foram selecionados. Eliminou-se os EST-SSR 006, EST-SSR 069, EST-SSR 096, SSRCa 52, que amplificaram três ou quatro bandas por indivíduo.

Pela análise do dendrograma e efetuando-se um corte a 40% da dissimilaridade máxima verificada no último nível de fusão (0,41), observou-se a formação de 14 grupos (Figura 1). Nove cultivares/progênes (10, 11, 19, 24, 25, 26, 27, 30, 32) formaram grupos unitários, sendo separadas das demais. Formaram-se três grupos composto por duas cultivares/progênes cada. O primeiro grupo compreendeu as cultivares 17 (Iapar 59) e 22 (IPR 104). Essas cultivares foram desenvolvidas pelo programa de melhoramento do IAPAR e também apresentam a mesma origem genética, ou seja, ambas são derivadas do germoplasma Sarchimor (Villa Sarchi x Híbrido de Timor). O segundo grupo agrupou as cultivares 13 (Tupi IAC 1669-33) e 14 (IAC 125 RN) enquanto o terceiro grupo foi formado pelas progênes 33 (H 419-10-6-2-10-1) e 34 (H 419-10-6-2-12-1).

Um grupo foi formado por três cultivares 12 (Tupi Amarelo IAC 5162), 18 (IPR 98) e 29 (Pau Brasil MG1). Um último grupo foi formado pelas demais cultivares. Este pode ser dividido em dois subgrupos. Um destes, constituído pelas cultivares/progênes 1, 2, 3, 6, 9, 15, 16, 28, 31 e o outro pelas cultivares 4, 5, 7, 8, 20, 21, 23. No primeiro subgrupo, as cultivares Catuaí Vermelho IAC 144 (1), Catuaí Vermelho IAC 15 (2) e a progênie Bourbon Amarelo UFV 535 (3), são suscetíveis à ferrugem. Além disso, duas dessas são cultivares do grupo Catuaí. Dessa forma é esperada alta similaridade entre as mesmas. A cultivar Catucaiam 2015479 (6) foi originada a partir de cruzamento, em que um dos genitores era uma cultivar Catuaí. O mesmo ocorreu com a origem da cultivar Obatã IAC 1669-20 (15). A cultivar Obatã Amarelo IAC 4932 (16) originou-se de um provável cruzamento natural entre Obatã 1669-20 com Catuaí Amarelo. A cultivar Araponga MG1 (28) é resultado do cruzamento artificial entre a cultivar Catuaí Amarelo IAC 86 e o Híbrido de Timor UFV 446-08. Outro acesso do germoplasma Híbrido de Timor foi utilizado no cruzamento que originou-se a progênie H 419-3-3-7-16-4-1 (31).

Foi possível distinguir 29, das 34 cultivares/progênes avaliadas. Não foi possível distinguir as cultivares Catuaí Vermelho IAC 144, Catuaí Vermelho IAC 15 e a progênie H 419-3-3-7-16-4-1, pois a distância entre elas foi zero. A similaridade (100%) entre as cultivares Catuaí Vermelho IAC 144, Catuaí Vermelho IAC 15, pode ser explicada pelo fato que essas, são derivadas de uma mesma planta (H 2077-2). Características fenotípicas da progênie H 419-3-3-7-16-4-1 demonstram a proximidade desta em relação às cultivares Catuaí, corroborando com a alta similaridade verificada entre esses materiais nesse estudo. A distância entre as cultivares Catucaí Amarelo 2SL e Catucaiam 24137 também foi zero. As cultivares do grupo Catucaí são derivadas do cruzamento entre o germoplasma Icatu e Catuaí, ou seja, possível razão pela qual foi observada a similaridade de 100%. Além disso, ambas apresentam grande semelhança nas características fenotípicas. A dissimilaridade obtida no último nível de fusão foi de 0,41.

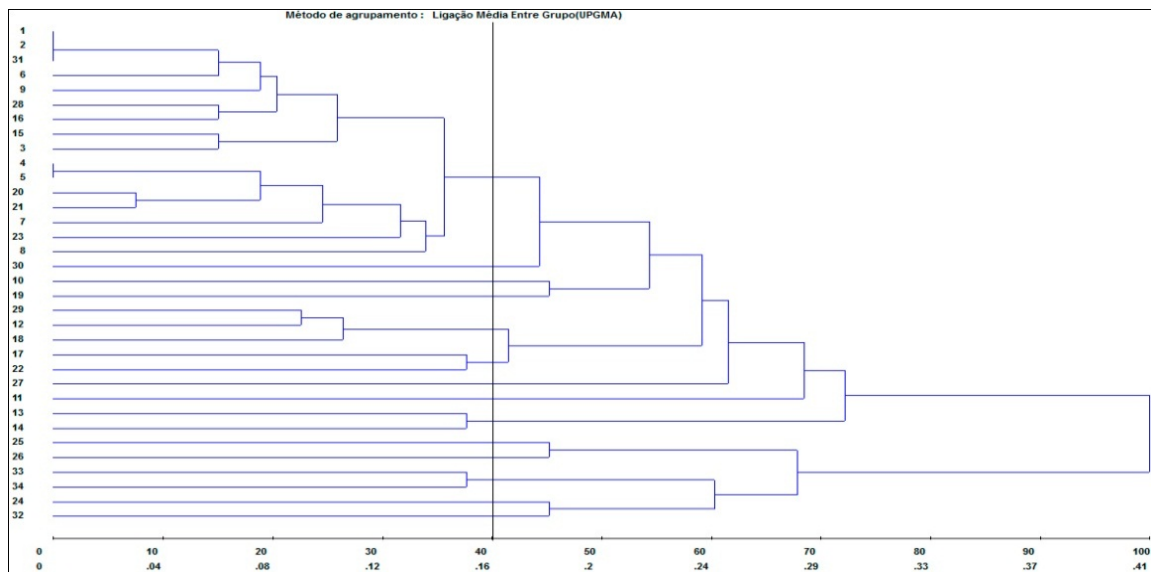


Figura 1. Dendrograma baseado na análise de marcadores microsatélites em 34 cultivares de *C. arabica*, obtido pela técnica UPGMA e com base na matriz de dissimilaridade do complemento aritmético do índice não ponderado.

Foram obtidos 31 perfis moleculares distintos (Tabela 3) por meio do *bulk* dos dados dos indivíduos de uma cultivar/progênie. Um único perfil molecular foi obtido para as cultivares Catuaí Vermelho IAC 144, Catuaí Vermelho IAC 15 e a progênie H 419-3-3-7-16-4-1. Dessa forma, assim como no dendrograma, essas cultivares/progênie não foram discriminadas. O mesmo ocorreu para as cultivares Catuaí Amarelo 2SL e Catucaiam 24137. Os indivíduos de genótipos homocigotos 11, 22 e 33, foram representados por 1, 2 e 3, respectivamente. Cada genótipo recebeu uma cor distinta.

Tabela 3. Perfil molecular das cultivares/progênie obtidos pelo *bulk* dos dados dos indivíduos de *C. arabica*.

Cultivar/progênie	Marcadores microsatélites															
	EST-SSR													SSR		
	001	002	023	025	029	030	031	032	035	046	061	062	074	077	16	95
1 Catuaí Vermelho IAC 144	2	3	2	12	2	2	12	1	2	1	1	2	2	1	1	1
2 Catuaí Vermelho IAC 15	2	3	2	12	2	2	12	1	2	1	1	2	2	1	1	1
3 Bourbon Amarelo UFV535	2	2	2	12	2	2	12	1	2	1	1	2	2	1	1	1
4 Catucaí Amarelo 2SL	2	3	2	12	2	2	12	1	2	1	1	2	2	1	2	13
5 Catucaiam 24137	2	3	2	12	2	2	12	1	2	1	1	2	2	1	2	13
6 Catucaiam 2015479	2	3	12	12	2	2	12	1	2	1	1	2	2	1	12	1
7 Catucaí 785-15	2	3	2	12	12	2	12	12	2	1	1	2	2	1	2	3
8 Catucaí Vermelho 20/15	2	3	1	12	2	2	12	1	2	1	1	2	2	1	2	1
9 Sabiá tardio	2	3	2	12	2	2	12	1	2	1	1	2	2	1	1	2
10 IBC-Palma-2	2	2	2	12	12	1	2	1	2	1	1	2	2	1	12	1
11 Acauã	12	1	2	12	2	1	12	3	2	1	1	2	2	1	2	12
12 Tupi Amarelo IAC 5162	2	23	2	12	2	2	12	13	2	12	1	2	2	1	12	1
13 Tupi IAC 1669-33	12	2	2	1	2	2	12	1	2	2	2	2	2	1	2	1
14 IAC 125 RN	2	3	2	1	2	2	12	3	2	2	2	2	2	1	2	1
15 Obatã IAC 1669-20	2	2	2	12	2	2	12	1	2	1	1	2	2	1	2	1
16 Obatã Amarelo 4932	2	23	2	12	2	12	12	1	2	1	1	2	2	1	1	1
17 Iapar 59	12	23	2	12	2	1	12	13	2	2	12	2	2	1	12	13
18 IPR 98	2	23	2	12	2	1	12	13	2	12	12	2	2	1	2	1
19 IPR 99	2	2	2	12	1	2	12	13	2	1	1	2	2	1	2	1
20 IPR 100	2	3	2	12	2	2	12	2	2	1	1	2	2	1	2	13
21 IPR 103	2	3	2	12	2	2	12	2	2	1	1	2	2	1	2	1
22 IPR 104	12	3	2	12	2	1	12	3	2	12	12	2	2	1	1	1
23 Oeiras MG 6851	2	3	2	12	2	12	12	1	2	1	1	2	2	1	12	3

24 Catiguá MG1	2	13	2	12	2	2	12	13	12	12	12	12	2	12	1	1
25 Catiguá MG2	2	3	2	12	2	2	12	3	12	12	2	1	1	12	2	1
26 MGS Catiguá 3	2	3	2	12	2	2	12	3	1	1	1	1	1	2	12	1
27 Sacramento MG1	12	13	2	12	12	2	12	13	1	1	1	2	2	1	12	1
28 Araponga MG1	2	23	2	12	2	2	12	1	2	1	1	2	2	1	1	13
29 Pau Brasil MG1	2	23	2	12	2	12	12	13	12	12	12	2	2	1	12	1
30 Paraíso MG H 419-1	2	3	2	12	2	2	12	1	12	12	12	2	2	1	2	13
31 H 419-3-3-7-16-4-1	2	3	2	12	2	2	12	1	2	1	1	2	2	1	1	1
32 H 419-10-6-2-5-1	1	13	2	12	2	2	12	13	1	12	12	12	12	12	2	1
33 H 419-10-6-2-10-1	1	1	2	12	2	2	12	3	1	2	2	12	1	2	12	1
34 H 419-10-6-2-12-1	2	1	2	12	2	2	12	3	1	2	2	12	12	12	1	1

CONCLUSÕES

1– Marcadores microssatélites são capazes de diferenciar genótipos aparentados e próximos fenotipicamente, podendo ser utilizados como ferramenta auxiliar nos testes de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade das cultivares os quais se pretende registra e ou a proteger.

2 – Foi estabelecido o perfil molecular das cultivares/progênes em estudo. No entanto, se faz necessário o uso de outros marcadores microssatélites polimórficos, para gerar perfil molecular único para cada cultivar.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Cultivarweb, gerenciamento de informações**. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/php/snpc/cultivarweb/cultivares_registradas.php?txt_ordem=&postado=1&acao=pesquisar&first=C>. Acesso em: 02 jul. 2013.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Proteção de Cultivares no Brasil**. Brasília: MAPA/ACS, p.202, 2011.
- BRITO, G. G.; CAIXETA, E. T.; GALLINA, A. P.; MACIEL-ZAMBOLIM, E.; ZAMBOLIM, L.; DIOLA, V.; LOUREIRO, M. E. Inheritance of coffee leaf rust resistance and identification of AFLP markers linked to the resistance gene. **Euphytica**, v. 173, p. 255-264, 2010.
- CAIXETA, E. T.; OLIVEIRA, A. C. B.; BRITO, G. G.; SAKIYAMA, N. S. Tipos de marcadores moleculares. In: BORÉM, A.; CAIXETA, E. T. (Eds.). **Marcadores moleculares**. Viçosa, MG: DFT/UFV, 2009. p.11-93.
- CAPUCHO, A. S. **Herança e mapeamento de QTLs da resistência do Híbrido de Timor à ferrugem do cafeeiro**. 2008. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2008.
- CARVALHO, A. Novas variedades mais produtivas. **Agricultura Hoje**, São Paulo, v.6, n.68, p.32-34, 1981.
- CONAB 2013. Acompanhamento da safra brasileira – Safra 2013. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 04 abril 2013.
- CRUZ, C. D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**. v.35, n.3, p.271-276, 2013.
- DAVIS, A. P., GOVAERTS, R., BRIDSON, D. M., STOFFELEN, P. An annotated taxonomic conspectus of the genus *Coffea* (Rubiaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, 152, 465-512, 2006.
- DINIZ, L. E. C.; SAKIYAMA, N. S.; LASHERMES, P.; CAIXETA, E. T.; OLIVEIRA, A. C. B.; MACIEL-ZAMBOLIM, E.; LOUREIRO, M. E.; PEREIRA, A. A.; ZAMBOLIM, L. Analysis of AFLP markers associated to the *Mex-1* resistance locus in Icatu progenies. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, 5:387-393, 2005.
- MISSIO, R. F.; CAIXETA, E. T.; MACIEL-ZAMBOLIM, E.; ZAMBOLIM, L.; CRUZ, C. D.; SAKIYAMA, N. S. Polymorphic information content of SSR markers for *Coffea* spp. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, 10:89-94, 2010.
- NEBESNY, E.; BUDRYN, G. Evaluation of sensory attributes of coffee brews from robusta coffee roasted under different conditions. **European Food Research Technology**, Berlin, v. 224, n. 2, p. 159-165, 2006.
- SETOTAW, T. A.; CAIXETA, E. T.; PEREIRA, A. A.; OLIVEIRA, A. C. B.; CRUZ, C. D. MACIEL-ZAMBOLIM, E.; ZAMBOLIM, L.; SAKIYAMA, N. S. Coefficient of Parentage in *Coffea arabica* L. Cultivars Grown in Brazil. **Crop Sci**. 53:1237-1247 (2013).
- SONDAHL, M. R.; LAURITIS, J. A. Coffee. In: Hammerschlag, F. A. and Litz, R. E. (eds.). **Biotechnology of perennial fruit crops**. Cambridge, UK. C.A.B. International. p.401-420, 1992.
- VIEIRA, E., S. N.; VON PINHO, E. V. DE R.; CARVALHO, M. G. G.; ESSELINK, D. G. Development of microsatellite for identifying Brazilian *Coffea arabica* varieties. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 33, n. 3, p. 507-514, June 2010.