

AVALIAÇÃO FENOTÍPICA DE UMA POPULAÇÃO DE *Coffea canephora* VAR. CONILON CULTIVADA EM ALTITUDE ELEVADA, VISANDO UM PROGRAMA DE SELEÇÃO GENÔMICA AMPLA (SGA) EM CAFEIEIRO¹

Fernanda de Araújo Carneiro², Érica Cristina da Silva Rêgo³, Tatiana Santos Costa⁴, Sinara de Aquino Oliveira⁵, Karoline Estefani Duarte⁶, Omar Cruz Rocha⁷, Gustavo Costa Rodrigues⁸, Milene Alves de Figueiredo Carvalho⁹, Pierre Marraccini¹⁰, Dario Grattapaglia¹¹, Gabriel Ferreira Bartholo¹², Antônio Fernando Guerra¹³, Alan Carvalho Andrade¹⁴

¹Trabalho financiado pelo Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do Café – Consórcio Pesquisa Café e INCT-Café (CNPq/FAPEMIG)

²Bolsista Consórcio Pesquisa Café, fearca14@gmail.com

³Bolsista Consórcio Pesquisa Café, ecsr@gmail.com

⁴Bolsista CAPES, Doutoranda, tatianaitase@gmail.com

⁵Bolsista CAPES, Mestranda, sinarinha2009@gmail.com

⁶Bolsista CAPES, Mestranda, karollduarte31@gmail.com

⁷Pesquisador, Doutorando, Embrapa Cerrados, Planaltina-DF, omar.rocha@embrapa.br

⁸Pesquisador, PhD, Embrapa Informática Agropecuária, Campinas-SP, gustavo.rodrigues@embrapa.br

⁹Pesquisador, PhD, Embrapa Café, Brasília-DF, milene.carvalho@embrapa.br

¹⁰Pesquisador, PhD, Cirad UMR DAP Montpellier-FR, marraccini@cirad.fr

¹¹Pesquisador, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília-DF, dario.grattapaglia@embrapa.br

¹²Pesquisador, PhD, Embrapa Café, Brasília-DF, gabriel.bartholo@embrapa.br

¹³Pesquisador, PhD, Embrapa Café, Brasília-DF, antonio.guerra@embrapa.br

¹⁴Pesquisador, PhD, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília-DF, alan.andrade@embrapa.br

RESUMO: Considerada a bebida não alcoólica mais popular e regularmente consumida por 40% da população, o café ocupa uma posição de destaque na economia sendo um dos mais importantes produtos de exportação mundial. Sua produção está sujeita a oscilações regulares devido ao ciclo bienal da planta, e também a fatores abióticos, como o estresse hídrico e altas temperaturas. Visando-se o estabelecimento de ferramentas de auxílio para se acelerar o melhoramento genético desta espécie, avanços significativos em genômica do cafeeiro têm ocorrido nos últimos anos. Como exemplo, pode-se citar a recente conclusão do sequenciamento do genoma completo de *Coffea canephora*, que servirá de referência para utilização em trabalhos avançados de genética molecular, aplicados diretamente ao melhoramento genético desta espécie, tais como o estabelecimento de programas de seleção genômica ampla (SGA) em cafeeiro. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi a caracterização fenotípica de uma população de *C. canephora*, com cerca de 1300 indivíduos, cultivada em Planaltina-DF (1175m de altitude) no campo experimental da Embrapa Cerrados. As avaliações iniciaram em 2012, observando-se características como vigor, seca de ponteiro, ramificação secundária, presença de ferrugem, precocidade do fruto e carga. Além disso, a produção (em litros – L) de cada planta foi medida (2012 e 2013). No ano de 2012, uma amostra 3L de frutos de cada planta selecionada após a colheita, foi despulpada, para realização da classificação, peneira e peso de 100 grãos. O potencial hídrico foliar de antemanhã (Ψ_m) de uma amostra de plantas também foi avaliado no período de seca dos anos de 2012 e 2013. Os resultados obtidos até o momento, nos permite concluir que existe potencial para o cultivo em condições irrigadas, de *C. canephora* em altitudes elevadas e que, a população em estudo apresenta diversidade fenotípica adequada para a implementação de um programa de seleção genômica ampla em cafeeiro.

PALAVRAS-CHAVE: *Coffea canephora*, caracterização fenotípica, produtividade, tolerância à seca

PHENOTYPIC EVALUATION OF A *Coffea canephora* VAR. CONILON POPULATION, CULTIVATED AT HIGH ALTITUDE, AIMING AT A GENOME-WIDE SELECTION PROGRAM FOR COFFEE

ABSTRACT: Considered the most popular and non-alcoholic drink regularly consumed by 40% of the population, the Coffee occupies a prominent position in the economy being one of the world's most important export products. Their production is subject to regular oscillations due to the biennial cycle of the plant, and also the abiotic factors, such as water stress and high temperatures. Aiming at the establishment of tools to help accelerate the genetic improvement of this species, significant advances in coffee genomics have occurred in recent years. As an example, one can cite the recent completion of the complete genome sequencing of *Coffea canephora*, which will serve as a reference work for use in advanced molecular genetics, applied directly to the genetic improvement of this species, such as the establishment of genome-wide selection programs (GWS) in coffee. In that sense, the objective of this study was to characterize the phenotype of a population of *C. canephora*, with about 1300 individuals, cultivated in Planaltina-DF (1175m altitude) in the experimental field of Embrapa Cerrados. Evaluations started in 2012, evaluating characteristics such as vigor, drought pointer, secondary branching, occurrence of leaf-rust, precocity and fruit load. Furthermore, for two consecutive years, 2012 and 2013, the production (in liters - L) of each plant was measured. In 2012, a sample 3L of fruits of each plant selected after harvest, were shelled, to perform the classification, sieve and 100-grain weight. The

predawn leaf water potential (Ψ_{am}) of a sample of plants was also evaluated in the drought season of 2012 and 2013. The results obtained so far, allow us to conclude that there is potential for cultivation, under irrigated conditions, *C. canephora* at high altitudes and that the studied population phenotypic diversity seems suitable for the implementation of a genome-wide screening program in coffee.

KEYWORDS: *Coffea canephora*, phenotype evaluation, productivity, drought tolerance.

INTRODUÇÃO

Dentre as mais de 100 espécies que pertencem ao gênero *Coffea*, duas espécies, o tetraploide *Coffea arabica* L. ($2n=4x=44$) e o diploide *C. canephora* Pierre ex A. Froehner ($2n=2x=22$), são cultivadas comercialmente e ocupam uma posição estratégica na economia mundial (HENDRE et al, 2008). O Brasil ocupa a primeira posição na produção e exportação dessa commodity, contribuindo com 35% da produção mundial, e é o segundo maior consumidor, ficando atrás somente dos Estados Unidos (ICO, 2013). *C. arabica* lidera a produção mundial, representando 65%, apresentando grãos com qualidade superior devido a seu menor amargor e teor de cafeína (LEROY et al, 2011). *C. canephora* é mais resistente a doenças, pragas (VIEIRA et al, 2006) e mais tolerante ao estresse hídrico, sendo amplamente cultivado em áreas propensas à seca (PINHEIRO et al, 2004), porém possui um sabor mais adstringente e um maior teor de cafeína, muito utilizado na produção de café solúvel e no preparo de blends (HATANAKA et al., 1999; FITTER e KAPLINSKY, 2001; WALLER et al, 2007). A produção mundial anual de café está sujeita a oscilações regulares devido ao ciclo bienal da planta e também a fatores abióticos (MARRACCINI et al, 2011; 2012). Dentre estes, o estresse hídrico e altas temperaturas são os que possuem maiores influências no desenvolvimento e produção da planta (DAMATTA E RAMALHO, 2006; DAMATTA, 2004). Com o aumento do consumo desta bebida, a introdução de características agronômicas desejáveis como produtividade, tamanho do grão, qualidade da bebida, teor de cafeína, resistência a doenças e tolerância a estresse abióticos é alvo prioritário dos programas de melhoramento genético do cafeeiro (RIBAS et al, 2006; VIEIRA et al, 2006). Visando-se o estabelecimento de ferramentas de auxílio para se acelerar o melhoramento genético desta espécie, avanços significativos em genômica do cafeeiro têm ocorrido nos últimos anos (LASHERMES et al, 2008). Como exemplo, pode-se citar a recente conclusão do sequenciamento do genoma completo de *Coffea canephora*, que servirá de referência para utilização em trabalhos avançados de genética molecular, aplicados diretamente ao melhoramento genético desta espécie, tais como o estabelecimento de programas de seleção genômica ampla (SGA) em cafeeiro. Neste sentido, o objetivo deste trabalho foi a caracterização fenotípica de uma população de *C. canephora*, com cerca de 1300 indivíduos, cultivada em Planaltina-DF (1175m de altitude) no campo experimental da Embrapa Cerrados, com vistas ao estabelecimento de um programa de seleção genômica ampla (SGA) em cafeeiro.

MATERIAL E MÉTODOS

A população utilizada nesse estudo está localizada em um campo experimental da Embrapa Cerrados, em Planaltina/DF. De um total de 3500 indivíduos que formam a população, 400 indivíduos foram selecionados inicialmente, a partir de uma avaliação em campo, realizada em 2012, segundo os critérios: vigor, seca de ponteiro, ramificação secundária, presença de ferrugem, precocidade do fruto e carga. Para essas plantas selecionadas, em 2012 e 2013, a produção (em litros – L) foi medida. Utilizando os dados de produção de 2012 e após o levantamento das condições dessas plantas diante do estresse hídrico em que são submetidas, aproximadamente 50 a 60 dias, 17 plantas foram selecionadas para avaliar o potencial hídrico foliar de antemanhã (Ψ_{am}), conforme descrito em MARRACCINI et al (2012) e VIEIRA et al (2013). Esse dado fisiológico foi obtido nos anos de 2012 e 2013. Ainda para essas 17 plantas, no ano de 2013, outra avaliação em campo foi realizada, observando-se critérios como o número de hastes, quantidade de folhas (1-baixa; 2-média; 3-alta), cor das folhas (VE-verde escuro; V-verde; A-amarelada), tamanho das folhas (P-pequena; M-média; G-grande), danos sofridos pela seca/frio (1-baixo; 2-médio; 3-alto) e presença de ferrugem (0-imune; 1-baixo, 2-médio; 3-alto). As medidas de potencial e avaliação em campo foram realizadas ao final do período de estresse hídrico em que a população é submetida.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A distribuição de frequência dos dados médios de produção de cerca de 1300 indivíduos, obtidos nas safras 2011/2012 e 2012/2013, apresentados na figura 1, indicam a população em estudo é adequada para estudos posteriores de seleção genômica, com uma variabilidade fenotípica para essa característica próxima da distribuição normal.

Os dados de potencial hídrico de antemanhã e produção, para as 17 plantas que foram selecionadas para a realização dessas análises, estão apresentados nas Figuras 2 e 3. Na Figura 2 é possível observar que as plantas L12P57, L12P100 e L15P14 tiveram os menores valores de potencial hídrico em 2012 e 2013, quando comparadas com as demais plantas. Para essas três plantas é possível notar que, em 2013, o potencial foi maior do que em 2012, supondo que houve adaptação dessas plantas de um ano para o outro. Para as outras 14 plantas o potencial hídrico de 2013 foi menor do que o de 2012, o que pode ser devido a uma maior intensidade de estresse ocorrido neste ano.

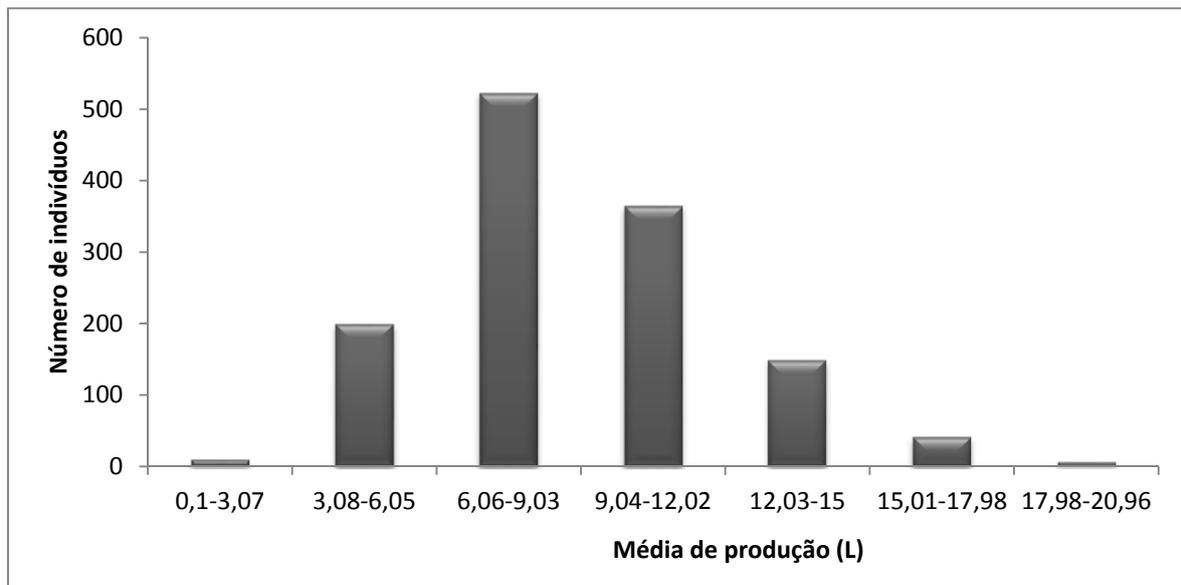


Figura 1. Distribuição de frequência da média da produção (em litros) de cerca de 1300 indivíduos, coletados nas safras 2011/2012 e 2012/2013

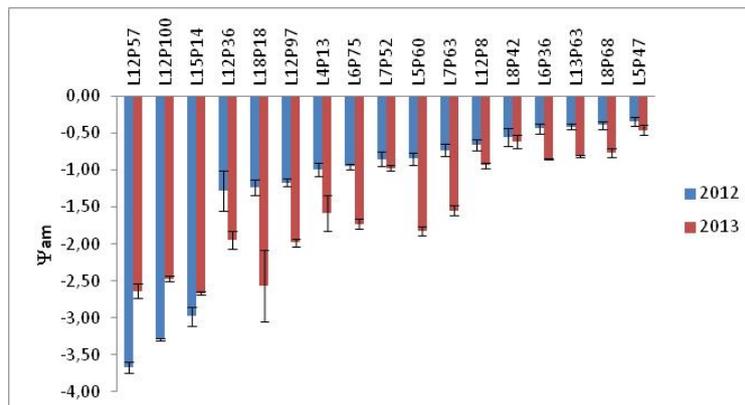


Figura 2. Potencial hídrico de antemanhã (Ψ_{am}) avaliado nos anos de 2012 e 2013.

A Figura 2 apresenta os dados de produção dessas plantas para os dois anos avaliados e demonstram o ciclo bienal que a planta possui, onde em um ano ela produz mais e em outro menos. Somente as plantas L12P57 e L6P75 tiveram uma produção homogênea para os dois anos, 7 e 8 litros respectivamente.

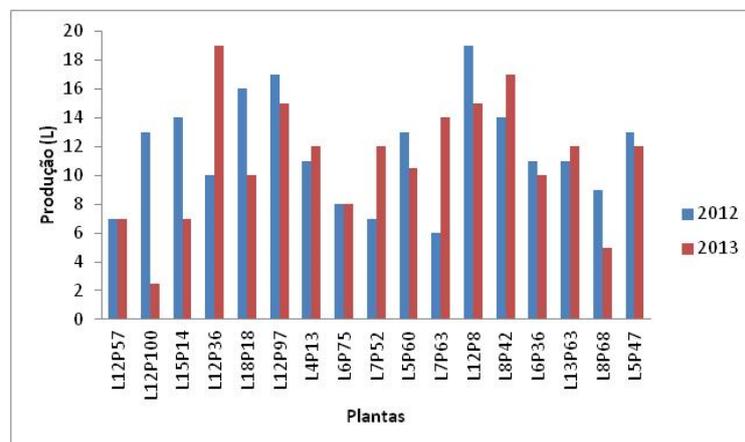


Figura 3. Produção, em litros (L), nos anos de 2012 e 2013.

A média de produção referente aos dois anos avaliados está apresentada na Figura 4. Destaca-se a planta L12P8 como sendo a mais produtiva, produzindo, em média, para os dois anos avaliados 17L. Outra característica importante para essa planta é que, além de ser produtiva, ela se mantém entre as plantas com maior potencial hídrico, demonstrando que consegue suportar o período de estresse hídrico sem afetar a produção.

Já as três plantas que possuíam os menores potenciais hídricos em 2012 e 2013, L12P57, L12P100 e L15P14, estão entre as plantas que possuem também as menores médias de produção.

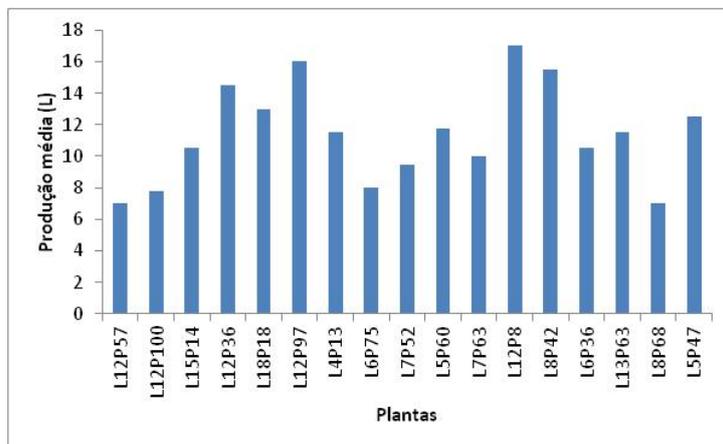


Figura 4. Média de produção, em litros (L), para as plantas selecionadas, referente aos anos de 2012 e 2013.

A avaliação fenotípica realizada em campo, representada na Tabela 1, foi importante para confirmar os dados obtidos de potencial hídrico. É possível observar que as plantas com os menores potenciais, ou seja, as que mais sentiram os efeitos causados pelo estresse hídrico e pelo frio, que estão expostas durante meados de junho, julho, agosto e início de setembro, apresentaram características como folhas amareladas, número de folhas reduzido e danos causados pelos estresses abióticos (seca/frio) elevados. Já as plantas que apresentaram, na avaliação fenotípica, quantidade de folhas elevada, coloração verde ou verde escuro e poucos danos causados pela seca/frio, foram as plantas com os maiores potenciais hídricos. Ainda, observando na tabela, os dados para a planta mais produtiva, L12P8, é possível confirmar que esta possui características semelhantes às plantas com os maiores potenciais hídricos.

Tabela 1 Avaliação fenotípica, das plantas selecionadas, segundo os critérios: número de hastes, quantidade, cor e tamanho das folhas, danos causados por frio/seca e presença de ferrugem.

Linha	Planta	Nº de hastes	Quantidade de folhas	Cor das folhas	Tamanho das folhas	Danos causados frio/seca	Presença de ferrugem
4	13	2	2	A	M	1	1
5	47	4	3	VE	M	1	0
5	60	2	2	V	M	1	0
6	36	4	2	V	M	2	0
6	75	4	2	A	M	2	0
7	52	5	1	A	M	2	1
7	63	3	2	A	M	2	1
8	42	4	2	V	M	2	1
8	68	3	3	VE	M	1	1
12	8	4	3	VE	M	1	0
12	36	3	2	A	M	1	0
12	57	3	2	A	M	2	0
12	97	4	3	V	M	1	1
12	100	4	2	A	M	2	1
13	63	2	2	V	M	1	1
15	14	3	2	A	M	2	1
18	18	4	2	V	M	2	0

CONCLUSÕES

1. Os dados de produção obtidos até o momento, indicam que existe potencial para o cultivo em condições irrigadas, de *C. canephora* em altitudes elevadas.
2. A diversidade fenotípica observada nos dados de produção indica que a população em estudo é adequada para estudos posteriores de genotipagem em larga escala e construção de modelos preditivos, para o estabelecimento de um programa de seleção genômica em *C. canephora*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- DAMATTA, F. M. Ecophysiological constraints on the production of shaded and unshaded coffee: a review. **Field Crops Research**, v. 86, p. 99-114, 2004.
- DAMATTA, F.; RAMALHO, J. Impacts of drought and temperature stress on coffee physiology and production: a review. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v. 18, p. 55–81, 2006.
- FITTER, R.; KAPLINKSY, R. Who gains from product rents as the coffee market becomes more differentiated? A value-chain analysis. **IDS Bulletin**, v. 32, n. 3, 2001.
- HATANAKA, T. et al. Transgenic plants of coffee *Coffea canephora* from embryogenic callus via *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation. **Plant Cell Reports**, v. 19, p.106-110, 1999.
- HENDRE, P. S. et al. Development of new genomic microsatellite markers from robusta coffee (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner) showing broad cross-species transferability and utility in genetic studies. **BMC Plant Biology**, v. 8; p. 51, 2008.
- Internacional Coffee Organization - ICO. **Trade Statistics**. Disponível em: <http://www.ico.org/trade_statistics.asp?section=Statistics;%20http://www.ico.org/prices/po.htm> Acesso em: 21 de Agosto de 2013.
- LASHERMES P, ANDRADE AC, ETIENNE H. 2008. Genomics of coffee, one of the world's largest traded commodities. In: Moore H, Ming R, eds. **Genomics of tropical crop plants**. Berlin: Springer, 203–226.
- LEROY, T. et al. A. Improving the quality of African robustas: QTLs for yield- and quality-related traits in *Coffea canéfora*. **Tree Genetics & Genomes**, v. 7, p. 781–798, 2011.
- MARRACCINI, P. et al. Differentially expressed genes and proteins upon drought acclimation in tolerant and sensitive genotypes of *Coffea canephora*. **Journal of Experimental Botany**, v. 17, p. 1–22, 2012.
- MARRACCINI, P. et al. RBCS1 expression in coffee: *Coffea* orthologs, *Coffea arabica* homeologs, and expression variability between genotypes and under drought stress. **BMC Plant Biology**, v. 11, p. 85, 2011.
- PINHEIRO, H. A. et al. Drought tolerance in relation to protection against oxidative stress in clones of *Coffea canephora* subjected to long-term drought. **Plant Science**, v. 167, p.1307–1314, 2004.
- VIEIRA, L. G. E. et al. Brazilian coffee genome project: an EST-based genomic resource. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, v. 18, n. 1, p. 95-108, 2006.
- WALLER, J.M.; BIGGER, M.; HILLOCKS, R.J. Coffee pests, diseases and their management. Oxfordshire: **CAB International**, p.400, 2007.