



NATHÁLIA GOMES MATTOS

**ESTUDO DA COMPATIBILIDADE ENTRE CLONES DE *Coffea*
canephora POR MEIO DE MARCADORES SNPs**

**LAVRAS - MG
2018**

NATHÁLIA GOMES MATTOS

**ESTUDO DA COMPATIBILIDADE ENTRE CLONES DE *Coffea canephora* POR MEIO
DE MARCADORES SNPs**

Dissertação apresentada à Universidade Federal
de Lavras, como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia
Vegetal, para obtenção do título de mestre.

Alan Carvalho Andrade
Orientador

**LAVRAS - MG
2018**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Mattos, Nathalia Gomes.

Estudo da compatibilidade entre clones de *Coffea canephora*
por meio de marcadores SNPs / Nathalia Gomes Mattos. - 2018.

70 p. : il.

Orientador(a): Alan Carvalho Andrade.

.
Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2018.

Bibliografia.

1. Café. 2. SNPs. 3. Compatibilidade. I. Andrade, Alan
Carvalho. . II. Título.

NATHÁLIA GOMES MATTOS

ESTUDO DA COMPATIBILIDADE ENTRE CLONES DE *Coffea canephora* POR MEIO DE MARCADORES SNPs

STUDY OF COMPATIBILITY BETWEEN *Coffea canephora* CLONES BY SNPs MARKERS

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Vegetal, para a obtenção do título de Mestre em Biotecnologia Vegetal.

APROVADA em 01 de Março de 2018.

Dr. Luciano Vilela Paiva – UFLA

Dr. Adriano Delly Veiga – Embrapa Café

Prof. Dr. Alan Carvalho Andrade
Orientador

**LAVRAS-MG
2018**

À minha família que sempre me apoiou incondicionalmente, confiando em mim, até mesmo quando eu chegava a duvidar da minha força e capacidade.

Dedico

AGRADECIMENTOS

À Deus por sempre iluminar meus caminhos e por fazer com que mais esse sonho se realizasse.

Aos meus pais, familiares e amigos, que mesmo a distância, me deram o suporte necessário para continuar.

Ao meu Orientador Dr Alan Carvalho Andrade, por toda a paciência e ensinamento.

À todos os meus amigos do Laboratório de Genética Molecular e também aos meus amigos do programa de Biotecnologia Vegetal.

Ao programa de Pós-graduação em Biotecnologia Vegetal, por todo o suporte fornecido.

À todos os professores que me auxiliaram nesta caminhada, dentro e fora da sala de aula.

À Universidade Federal de Lavras, por nos proporcionar um estudo de excelência, tornando-nos profissionais de qualidade.

Aos colaboradores deste projeto Consórcio Pesquisa Café, INCT-Café (CNPq/Fapemig), CAPES.

À InovaCafé, por nos proporcionar a instalação para que o nosso trabalho fosse realizado, e a todos os seus funcionários.

Aos contribuintes que pagam os impostos para que a nossa Universidade seja mantida.

À todos que de maneira direta ou indireta contribuíram para que esse trabalho fosse realizado.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

MUITO OBRIGADA!

Comece fazendo o que é necessário, depois o que é possível, e de repente você estará fazendo o impossível (São Francisco de Assis).

RESUMO

Coffea canephora é uma planta perene, pertencente à família *Rubiaceae*, diploide ($2n = 2 \times = 22$), alógama, que apresenta alta variabilidade genética, e por consequência, sua lavoura é formada a partir de clones. No cenário mundial, o café é uma das *commodities* agrícolas mais importantes e o Brasil é o maior produtor, com cerca de 30% da produção mundial. *C. canephora* corresponde a 37% da produção mundial e 24% da brasileira. A espécie *C. canephora* apresenta autoincompatibilidade do tipo gametofítica, onde o grão de pólen não deve compartilhar o mesmo alelo da planta receptora. O presente trabalho estudou a compatibilidade existente entre 13 clones de *C. canephora*, denominados CCEs, por meio de marcadores SNPs. A metodologia utilizada foi eficiente em reconstruir o pedigree de progênies de 10 clones CCE, identificando corretamente o parental materno na quase totalidade das plantas analisadas. Os resultados obtidos, também sugerem uma similaridade genotípica de 99,8 % entre os clones CCE04 e CCE11, sugerindo que essas plantas podem ser idênticas. As análises de parentais realizadas com o programa Cervus, mostrou-se eficiente em inferir sobre a compatibilidade entre os clones testados, no qual o clone CCE07 se mostrou compatível com todos os outros CCEs testados, o que poderia indicar um alto potencial produtivo deste clone, o que foi confirmado com dados experimentais.

Palavras-chave: Café. SNP. Compatibilidade.

ABSTRACT

Conilon coffee belongs to the *Coffea canephora* species, which is a diploid ($2n = 2 \times = 22$), perennial, allogamous plant with a high genetic variability. Accordingly, the production of clonal varieties is of great value for the success of crop. Coffee is one of the most important agricultural commodities in the world. Brazil is the largest producer, responding by 30% of the world production. *C. canephora* comprises 37% of the world production and 24% of the Brazilian coffee production. *C. canephora* has gametophytic self-incompatibility, when haploid pollen matches one of the same allele present in the diploid style causing pollen rejection. Therefore, the objective of this work was to study the compatibility between 13 clones of *C. canephora*, denominated CCEs, by SNPs markers. Our methodology was efficient to reconstruct the pedigree of 10 CCEs progenies, identifying correctly the maternal parent in most analyzed plants for all CCEs, with the use of SNPs markers. Results have also shown a genotypic similarity of 99.8% between CCE04 and CCE11 clones, suggesting that these plants may be identical. Parental analyzes performed with the Cervus Software proved to be efficient to inferring the compatibility between all tested clones, and the CCE07 clone was compatible with all other CCEs tested, which could indicate a high productive potential for this clone, which was experimentally confirmed.

Keywords: Coffee. SNP. Compatibility.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Grupos de distribuição da diversidade de <i>Coffea canephora</i>	16
Figura 2- Estrutura básica da flor do café.....	17
Figura 3 – Esquema do mecanismo de autoincompatibilidade gametofítica.	22
Figura 4 – Campo experimental da Embrapa Cerrados, Planaltina-DF	29
Figura 5 – Croqui da disposição das plantas no campo experimental da EMBRAPA Cerrados, Planaltina - DF.....	30
Figura 6 – Esquema da coleta de sementes em Planaltina – DF, que foram encaminhadas para formar o campo experimental em Unai – MG.....	30
Figura 7 – Esquema da disposição das plantas no campo experimental com o percentual de paternidade dos clones CCE.....	55
Figura 8 - Diagrama indicando a compatibilidade entre os clones CCE.....	57
Figura 9 – Média de produtividade dos clones CCEs, em litros por planta entre os anos de 2014 e 2017.	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Amostras que apresentaram taxa de chamada inferior a 97%	33
Tabela 2 – Quantidade de plantas que foram genotipadas e utilizadas nas análise de Pedigree	34
Tabela 3 – Classificação dos SNPs com a utilização do programa Affymetrix	34
Tabela 4 – Análise de concordância entre os clones CCE de acordo com SNPs polimórficos de alta resolução (continua).....	35
Tabela 5 – Análise de Pedigree com o programa Cervus para a progênie CCE01	37
Tabela 6 – Análise de Pedigree com o programa Cervus para a progênie CCE03	39
Tabela 7 – Análise de Pedigree com o programa Cervus para a progênie CCE04	41
Tabela 8 – Análise de Pedigree com o programa Cervus para a progênie CCE05	43
Tabela 9 – Análise de Pedigree com o programa Cervus para a progênie CCE06	45
Tabela 10 – Análise de Pedigree com o programa Cervus para a progênie CCE07	47
Tabela 11 – Análise de Pedigree com o programa Cervus para a progênie CCE08	49
Tabela 12 – Análise de Pedigree com o programa Cervus para a progênie CCE12	51
Tabela 13 – Análise de Pedigree com o programa Cervus para a progênie CCE13	53
Tabela 14 – Frequência de Paternidade dos clones CCEs analisados, apresentada em porcentagem (%) dos descendentes analisados.	54
Tabela 15 – Produtividade em litros por planta dos clones CCEs entre os anos de 2014 e 2017 ..	59

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	14
2.1 O cafeeiro e a sua importância econômica.....	14
2.2 Taxonomia e diversidade genética	14
2.4 Botânica floral e polinização do cafeeiro <i>C. canephora</i>	17
2.5 Autoincompatibilidade em plantas (AI).....	19
2.5.1 Autoincompatibilidade Gametofítica (AIG)	20
2.5.2 Autoincompatibilidade em <i>C. canephora</i> Pierre	22
2.6 Projeto Genoma Brasileiro do Café.....	24
2.7 Sequenciamento do Genoma Estrutural de <i>C. canephora</i>	24
2.8 Marcadores moleculares.....	25
2.9 SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms)	26
3 OBJETIVO GERAL	28
3.1 Objetivos Específicos	28
4 MATERIAIS E MÉTODOS	29
4.1 Material Vegetal.....	29
4.2 Extração de DNA	31
4.3 Genotipagem	31
4.4 Análise com o programa de bioinformática Axiom™ Analysis Suite 2.0 para a seleção de SNPs ...	31
4.5 Seleção de SNPs.....	32
4.6 Análise de Pedigree com o software Cervus 3.0.6.....	32
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	33
5.1 Análise com Axiom™ Analysis Suite 2.0.....	33
5.2 Seleção dos SNPs.....	34
5.3 Análises de Pedigree com o programa Cervus.....	36
5.4 Análises de Compatibilidade entre os clones de <i>C. canephora</i>	54
6 CONCLUSÃO	60
BIBLIOGRAFIA.....	61
APÊNDICE A	67

1 INTRODUÇÃO

O cafeeiro é uma planta perene, pertencente à família *Rubiaceae*, subfamília *Ixoroideae*, tribo *Coffeae*, a qual é composta por dois gêneros: *Coffea L.* e *Psilanthus Hook f.*. Originário do continente africano, apresenta 126 espécies identificadas, no entanto a produção de café comercial é formada basicamente por apenas duas delas, a arábica (*Coffea arabica*) e a canéfora (*Coffea canephora*) (DAVIS, 2010; DAVIS et al., 2006).

Coffea L. é caracterizado por plantas dicotiledôneas, de folhas persistentes e flores hermafroditas, porte arbustivo ou arbóreo e caule lenhoso (FAZUOLI et al., 2000).

A variedade botânica Conilon pertence à espécie *C. canephora*, é uma planta alógama, e apresenta alta variabilidade genética, e por consequência, uma lavoura formada a partir de sementes pode apresentar plantas com características muito diversificadas (BERTRAND et al., 2003; ESPINDULA et al., 2011; TEIXEIRA; ROCHA; RAMALHO, 2011).

O café, no cenário mundial, é uma das commodities agrícolas mais importantes, sendo o segundo produto primário a ser comercializado em valor, perdendo apenas para o petróleo, afirmando assim sua importância para a economia mundial (BAKER et al., 2001). Neste contexto, o Brasil tem grande participação, visto que, é o maior produtor, com cerca de 30% da produção mundial (CECAFÉ, 2018).

As espécies arábica e conilon, representam cerca de 64,5% e 35,5% da produção mundial, respectivamente, de acordo com os dados obtidos no Cecafé (Conselho dos Exportadores de Café do Brasil). No último ano, foram produzidos 44,97 milhões de sacas, destas 30,7 milhões foram exportadas, atendendo aos 127 países que consomem o café brasileiro. No Brasil a produção de arábica é em torno de 76%, enquanto a de canéfora é de 24% (CECAFÉ, 2018).

Ainda de acordo com o Cecafé foi realizada uma estimativa para a produção da safra de 2018, que está estimada entre 54,44 e 58,51 milhões de sacas beneficiadas de 60 quilos de café, um aumento que representa de 21,1 a 30,1% comparado a safra passada. Desta maneira, a área total utilizada com a cultura deve ser de 2,2 milhões de hectares (286,5 mil hectares em formação e 1,92 milhão hectares em produção) (CECAFÉ, 2018).

Neste contexto, a produção do Conilon está estimada entre 12,7 e 13,96 milhões de sacas. A estimativa é de que as produtividades sejam melhores em função da expectativa de melhores condições climáticas, da recuperação do potencial de produtividade das lavouras do Espírito Santo e da Bahia, juntamente com o aumento da produtividade de Rondônia resultante do plantio

clonal e investimentos na lavoura. O Espírito Santo aparece como destaque, visto que embora a área plantada seja 1,7% menor, espera-se um aumento na produtividade entre 19,4 a 31,2% (CECAFÉ, 2018).

Para o melhoramento e desenvolvimento de variedades clonais, o principal método é a seleção clonal via reprodução assexuada. Processo que se inicia com a formação de uma população base, avaliação e seleção dos melhores indivíduos, clonagem por estaquia e plantio em local separado, avaliação agrônômica e testes de compatibilidade (Veiga, comunicação pessoal).

Desta maneira a produção de mudas se apresenta como um dos fatores de grande importância para a produção de canéfora, garantindo, deste modo uma uniformidade nos vários caracteres de interesse, visto que a produção de mudas por estacas permite uma cópia semelhante à planta materna (BERGO et al., 2002). Quando se implanta uma lavoura proveniente de uma variedade clonal, onde as mudas são oriundas de um trabalho prévio de seleção de plantas matrizes, estas apresentam as seguintes vantagens em relação à de sementes: maior produtividade, maior uniformidade de maturação, melhor qualidade do grão, ciclo diferenciado de maturação e programação escalonada de colheita, proporcionando o sucesso na formação da lavoura (ESPINDULA et al., 2011).

Várias espécies vegetais alógamas, desenvolveram a capacidade de se evitar a autofecundação, como uma forma de evitar os efeitos deletérios da endogamia (CASTRIC; VEKEMANS, 2004). Quando a planta fértil recebe seu próprio pólen, a autoincompatibilidade (AI), um mecanismo fisiológico, impede que se formem sementes viáveis (SCHIFINO-WITTMANN; DALL'AGNOL, 2002). Devreux et al., 1959, concluiu que após a autopolinização, o tubo polínico não se desenvolvia impedindo o grão de pólen de alcançar o ovário. Este mecanismo de autoincompatibilidade também foi proposto para *C. canephora* (BERTHAUD, 1980; LASHERMES et al., 1996; NOWAK et al., 2011).

Na cafeicultura clonal, quando estes, não são compatíveis a produtividade e a qualidade dos grãos devido a menor eficiência da polinização são comprometidas e há um aumento na taxa de grãos do tipo moca, que possuem uma menor qualidade, além de redução no potencial produtivo (FERRÃO et al., 2007).

Diante desta problemática, o presente trabalho visou estudar a compatibilidade existente entre 13 clones de *C. canephora* por meio de marcadores SNPs, objetivando auxiliar os programas de melhoramento genético, na escolha dos melhores genótipos para se compor uma

nova variedade clonal. Vale ainda ressaltar, que o desenvolvimento de ferramentas moleculares que possam auxiliar na predição da compatibilidade entre clones de *C. canephora* terão, certamente, um alto potencial de aplicação prática nos programas de melhoramento genético dessa espécie.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 O cafeeiro e a sua importância econômica.

Planta nativa do continente africano, o cafeeiro foi introduzido no Brasil no ano de 1723 por meio de mudas provenientes da Guiana Francesa. Primeiramente esta implantação ocorreu no estado do Maranhão e posteriormente propagou-se para os estados vizinhos, em pequenas proporções, atingindo o estado da Bahia apenas no ano de 1773. Concomitantemente, algumas sementes da cultura foram transportadas do Maranhão para o Rio de Janeiro, o que permitiu a instalação da cultura na Serra do Mar (ALONSO-SALCES et al., 2009).

No ano de 1825, as plantações alcançaram o Vale da Paraíba e também os estados de Minas Gerais e São Paulo. Como consequência, a produção estendeu-se para o centro-sul, onde encontrou condições climáticas altamente favoráveis, chegando ao norte do Rio de Janeiro e ao Espírito Santo em 1920. Na história econômica e social do país, a cadeia produtiva do café se destaca desde a época colonial, contudo, a exportação de café passou por momentos de instabilidade, próximo ao ano de 1930, onde houve um período de decréscimo em virtude do surgimento das crises internacionais (ALONSO-SALCES et al., 2009).

Atualmente, o café é uma das *commodities* agrícolas mais importantes no mundo, sendo responsável por quase metade do total das exportações dos produtos tropicais, além de, ser o segundo maior, no mercado mundial de produtos naturais, situando-se apenas atrás do petróleo, e tornou-se a fonte de renda para muitos países em desenvolvimento (BRASIL, 2018).

As produções de café do Brasil, Vietnã e Colômbia, juntos, impactam de mais de 50% da produção mundial, onde o Brasil, no ano de 2017, foi o maior produtor participando com cerca de 32,40% do valor total da produção mundial (CECAFE, 2018). Apesar de diversos fatores abióticos como seca e geada e, de fatores bióticos como pragas e doenças terem determinado oscilações na sua produção total, o Brasil ainda ocupa uma posição dominante no mercado mundial (CONAB, 2018; CECAFE, 2018).

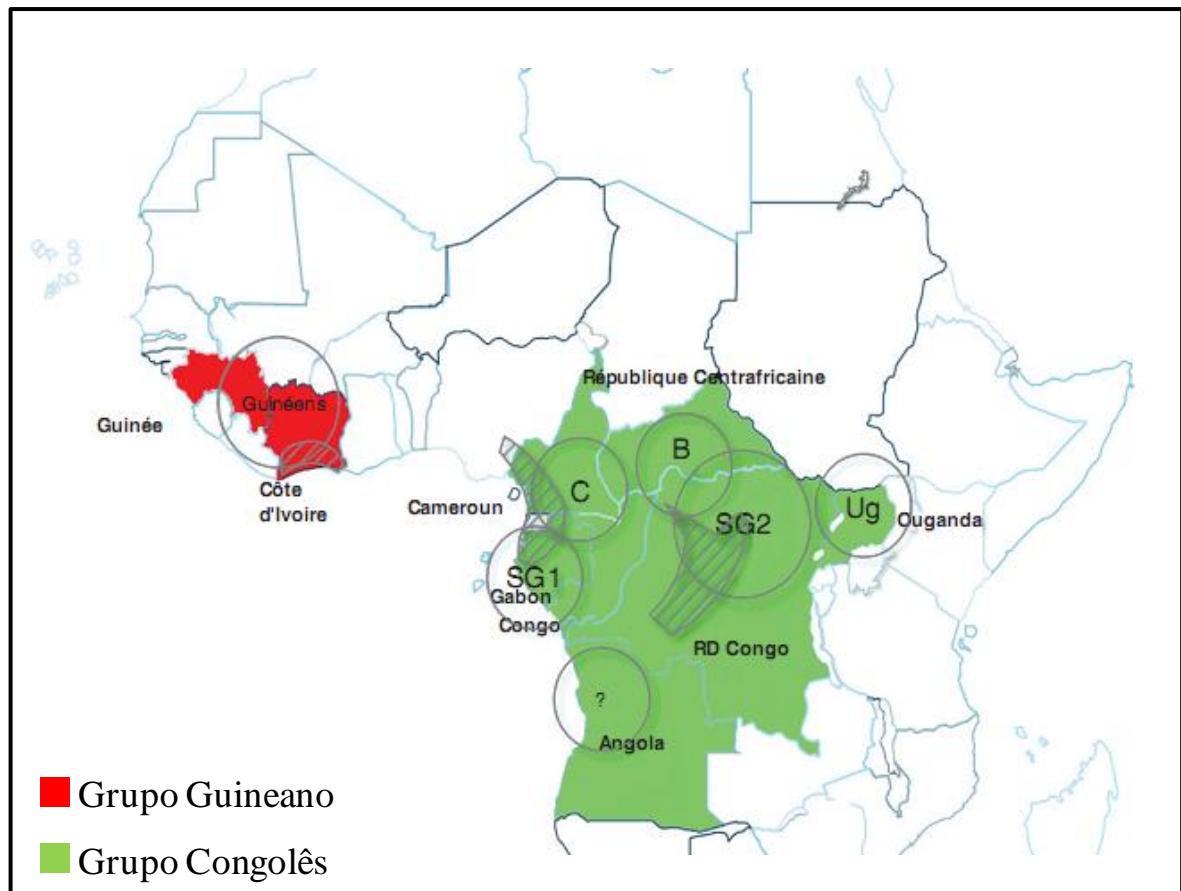
2.2 Taxonomia e diversidade genética

O café é uma planta perene que pertence à ordem *Gentianales*, família *Rubiaceae*, subfamília *Ixoroideae* e tribo *Coffea*, a qual é composta por dois gêneros: *Coffea* e *Psilanthus*,

estes juntos, abrangem mais de 126 espécies (DAVIS et al., 2011). O gênero *Coffea*, possui seu centro de origem na África, e abrange as três espécies utilizadas mundialmente para a produção de bebida do café: *C. arabica*, *C. canephora* e *C. liberica* (DAVIS et al., 2006). Na classificação botânica, as plantas de *Coffea* são dicotiledôneas, possuem folhas persistentes e flores hermafroditas, apresentam porte arbustivo ou arbóreo e caule lenhoso (FAZUOLI et al., 2000).

As plantas que compõem a espécie *C. canephora* são diploides ($2n = 2 \times = 22$), alógamas, o que proporciona uma alta taxa de variabilidade genética, lavando assim a uma maior capacidade de se adaptar às mais variadas condições climáticas (BERTRAND et al., 2003). Elas se adéquam muito bem às planícies equatoriais, onde o ambiente é quente e úmido. Esta espécie possui dois grupos de classificação, estabelecidos de acordo com sua origem geográfica, denominados de Congolês e Guineano (DUSSERT et al., 1999; MONTAGNON; CUBRY; LEROY, 2012) (FIGURA 1). O grupo Congolês apresenta vários subgrupos dentre os quais existem dois de maior importância: o subgrupo SG1 apresenta como característica a tolerância a seca, está localizado na região mais litorânea da bacia do rio Congo; o subgrupo SG2 apresenta sensibilidade a seca e está localizado na floresta equatorial, a qual apresenta índices pluviométricos elevados e bem distribuídos ao longo do ano (MONTAGNON, 2000; FAZUOLI et al., 2007).

Figura 1 - Grupos de distribuição da diversidade de *C. canephora*.



Legenda: Em vermelho, origem geográfica do pool guineano. Em verde, origem geográfica dos grupos genéticos (circulados) do pool congolês. O grupo formado por cafeeiros selvagens de Angola ainda está em estudo. As áreas hachuradas correspondem à zonas de refúgio durante o período de glaciação, ocorrido há 20.000 anos.

Fonte: MONTAGNON; CUBRY; LEROY (2012-adaptada)

Estudos de filogenia mostram que as plantas de Conilon presentes no Brasil são geneticamente semelhantes àsquelas do subgrupo SG1 de *C. canephora* (LAMBOT et al., 2008). Nesta variedade botânica, é possível encontrar plantas tolerantes à seca, pois essas plantas apresentam um mecanismo de maior controle sobre o seu sistema de transpiração (DAMATTA; RAMALHO, 2006). Assim, as plantas de Conilon são plantas adaptadas à regiões de baixa altitude, que possuem temperaturas médias anuais elevadas (de 22°C a 26°C), e, principalmente, em regiões com um período seco mais prolongado (FAZUOLI, 1986).

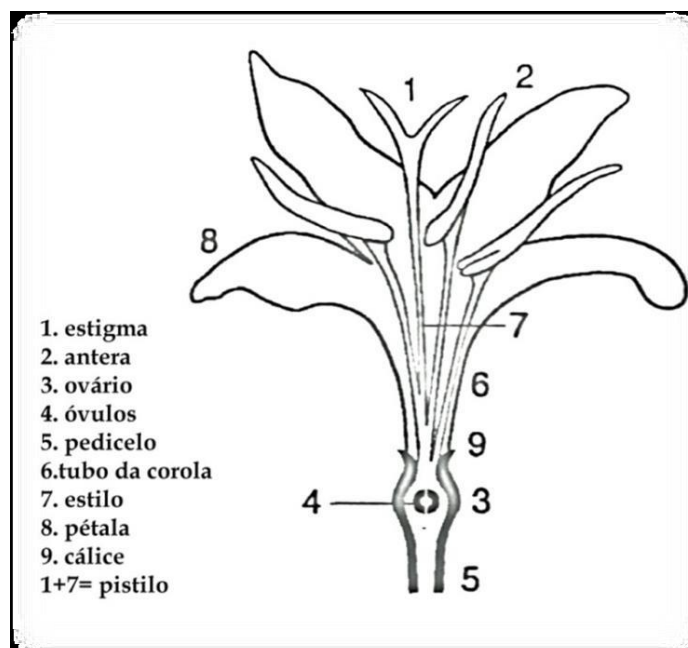
2.4 Botânica floral e polinização do cafeeiro *C. canephora*

As flores do cafeeiro, por conterem as estruturas reprodutivas da planta, são de extrema importância para garantir a reprodução da espécie e a produção dos frutos. A flor é composta por cinco pétalas brancas que se fundem a corola formando um cálice aderido sobre o ovário, o que classifica o mesmo como ovário ínfero (FIGURA 2).

Os estames são compostos por filetes, estruturas finas e delgadas, que sustentam as anteras, produtoras dos grãos de pólen, e se localizam próximos ao estigma da flor. O estigma, bífido, encontra-se sobre o estilo ou estilete, um prolongamento na forma de um tubo fino, que está ligado às cavidades do ovário por meio do tecido estigmatóide ou de transmissão, o qual possui dois canais independentes. O estigma, o estilete e o ovário juntos compõem o que chamamos de pistilo (ALLARD, 1971).

O ovário é do tipo bilocular, apresentando duas cavidades separadas que separadamente, abriga dois óvulos. Essas cavidades comunicam-se com o estilete por canais distintos, o que faz com que a polinização dos dois óvulos seja independente, podendo ocorrer nos dois, apenas em um ou até mesmo em nenhum. A fertilização depende do transporte e germinação dos grãos de pólen e do desenvolvimento dos tubos polínicos de grãos de pólen compatíveis com o estigma da flor.

Figura 2- Estrutura básica da flor do café



Fonte: adaptado de Charrier e Eskes (2009).

Quando os frutos são desenvolvidos a partir da fertilização dos dois óvulos, irão dar origem a um grão com a superfície dorsal convexa e a ventral plana com uma ranhura central no sentido longitudinal, nomeado grãos do tipo “chato”. No entanto, quando os frutos possuem apenas um óvulo fertilizado produz um grão que apresenta uma ranhura central no sentido longitudinal e um formato ovóide, denominado de grão tipo “moca”.

Segundo Charrier e Vigreux (1972) a dispersão do pólen feita pelo vento é efetiva em distâncias de até 50 metros. As abelhas e outros insetos, que podem também transportar os grãos de pólen e sua efetividade chega até 700 metros de distância (ESCH; BURNS,1996).

O *C. canephora* possui floração gregária, onde todas as plantas individuais, numa certa extensão geográfica, florescem ao mesmo tempo (MENDES,1949). As flores abrem no começo da manhã e permanecem abertas ao longo do dia. Quando ocorre a fertilização as anteras ficam escuras. Alguns dias após a floração a corola branca se solta juntamente com as outras partes da flor, apenas o ovário continua aderido a planta. O estigma pode continuar receptivo por até seis dias após a abertura floral (FERRÃO et al,2007b).

As espécies do gênero *Coffea* normalmente produzem grãos de pólen com três núcleos, um vegetativo e dois germinativos, os quais correspondem às células reprodutivas que podem fecundar o óvulo. Esta estrutura tricelular se encontra protegida por uma parede interna de celulose chamada de intina, que é um invólucro resistente que apresenta ceras e proteínas em sua constituição e uma camada externa denominada de exina, a qual apresenta rugas que favorecem a fixação dos grãos de pólen (FERRÃO et al., 2007a).

Da mesma forma, as células epidérmicas do estigma são alongadas de maneira que formam papilas, que são pelos longos e ramificados que irão favorecer a aderência dos grãos de pólen. O estigma é constituído por um tecido glandular secretor de substâncias que produzem um ambiente adequado à germinação dos grãos de pólen. Enquanto o estigma possui a função de recepção dos grãos de pólen, o estilo apresenta tecidos que possibilitam a passagem dos tubos polínicos. O tecido do estigma está ligado à cavidade do ovário por meio do tecido estigmatóide, por onde os tubos polínicos desenvolvidos passam após seu crescimento celular.

O tubo polínico é formado pelos grãos de pólen que aderem ao estigma após a polinização, germinam e se desenvolvem através do estilete, por quimiotropismo em direção ao ovário, levando um núcleo vegetativo e um núcleo germinativos. Quando o tubo polínico alcança o óvulo, ele o penetra e libera as células espermáticas no interior do saco embrionário. Uma das células espermáticas fecunda a oosfera, dando origem ao zigoto principal e a outra célula fecunda duas células fusionadas de origem materna, originando um núcleo triploide

(3n), denominado célula mãe do albúmen ou célula mãe do endosperma secundário (CONAGIN; MENDES, 1961).

A célula mãe do albúmen, após a fecundação, por meio de mitoses sucessivas irá origem ao endosperma, um tecido de reserva. Por outro lado, o zigoto irá se dividir e dará origem ao embrião, que paralisa o seu desenvolvimento e entra em estado de latência. O conjunto embrião, endosperma e tegumento é o que chamamos de semente, que em condições favoráveis poderá germinar.

2.5 Autoincompatibilidade em plantas (AI)

Diversas espécies vegetais são dispostas de mecanismos fisiológicos, de base genética, o qual impede a fertilização das flores a partir de grãos de pólen oriundos da própria planta. A autoincompatibilidade (AI) ainda pode ser definida como a incapacidade de uma planta fértil originar sementes após ser fertilizada por seu próprio pólen (SCHIFINO-WITTMAN; DALL'AGNOL, 2002). Esta característica está presente no sistema reprodutivo de várias espécies cultivadas, tais como o girassol, o cacau, o maracujá, entre outras incluindo o *Coffea canephora* (BREWBAKER, 1957; DE NETTANCOURT, 1997). A AI auxilia a alogamia e a manutenção da variabilidade genética em populações naturais, e pode ser considerada como um fator determinante no sucesso evolutivo das angiospermas (BREWBAKER, 1957; HESLOP-HARRISON HESLOP-HARRISON, 1983).

O gene S é o responsável pela expressão dessa característica e evoluiu a partir de origens independentes na evolução das plantas com flores, por diversas vezes (CHARLESWORTH; AWADALLA, 1998). Segundo Schifino-Wittmann e Dall'Agnol (2002), a AI ainda pode resultar em uma certa ineficiência reprodutiva.

O gene S possui mais de 100 formas alélicas diferentes em trevo vermelho (*Trifolium pratense*) (LAWRENCE, 1996). Enquanto que em *C. canephora* diferentes trabalhos sugerem que há de três a seis alelos que determinam o sucesso da fecundação (CONAGIN; MENDES, 1961; BERTHAUD; CHARRIER, 1988). Esse mecanismo tem ação pré-zigótica atuando na possibilidade de fecundação dos gametófitos (grãos de pólen). Segundo Ferrão et al. (2004), os mecanismos pré-zigóticos conferem uma vantagem adaptativa maior para as espécies visto que não comprometem os óvulos, reduzindo conseqüentemente a produção de frutos, quando os processos são comparados aos que atuam após a fecundação, impedindo o desenvolvimento dos zigotos (pós-zigóticos). A AI também pode ser definida como heteromórfica, quando há a modificação floral ou homomórfica, quando não existem

modificações florais resultantes entre as plantas (SCHIFINO-WITTMANN e DALL'AGNOL, 2002).

Existem dois tipos de AI nas angiospermas, a gametofítica onde a especificidade da polinização é determinada pelo alelo S do grão do pólen, e a esporofítica, na qual o controle genético é determinado pelo genótipo da planta adulta que deu origem ao grão de pólen (BUENO; MENDES; CARVALHO 2006).

No que diz respeito à autoincompatibilidade gametofítica (AIG) a polinização é determinada pela expressão do gene S do genoma haploide do grão do pólen. Por outro lado, na autoincompatibilidade esporofítica (AIE) é devido à interação das proteínas produzidas pela planta doadora, expressas na camada externa do grão de pólen, com o estigma da planta receptora (FRANCESCHI; DONDINI; SANZOL, 2012).

Há três mecanismos de autoincompatibilidade diferentes bem caracterizados:

- Modelo Brassicaceae: No qual, o sistema do tipo esporofítico (AIE) de expressão é governado por um único gene multialélico altamente polimórfico, que codifica para um receptor de membrana e um fator de ligação, determinando assim a especificidade entre as papilas estigmáticas e o grão de pólen (DOUGHTY, J. et al., 1998);
- Modelo Papaveraceae: Neste sistema, um receptor transmembrana realiza o reconhecimento de proteínas expressas pelo gene S e desencadeia uma rota de transdução de sinais, mediada por um gradiente de ânions de cálcio bivalentes (Ca^{2+}), o que resulta na inibição do tubo polínico incompatível (WHEELER et al., 1999);
- Modelo Solanacea, Rosacea e Rubiaceae: É o sistema de autoincompatibilidade gametofítica (AIG), que está presente no *C. canephora*, a reação de autoincompatibilidade é comandada por uma RNase (glicoproteína com função enzimática), esta é expressa pelo gene S nos pistilos e degradam o RNA sintetizado pela célula vegetativa resultando na morte do tubo polínico (SCHIFINO-WITTMANN; DALL'AGNOL, 2002).

2.5.1 Autoincompatibilidade Gametofítica (AIG)

O fenótipo do grão de pólen é a principal diferença entre o sistema esporofítico e o gametofítico, neste ele é determinado pelo alelo do gene S que está presente no genoma haploide do grão de pólen. De acordo com Sassa, Kakui e Minamikawa (2010), as proteínas de reconhecimento atuam nesses sistemas de maneiras distintas. Os fatores inibidores ou seus precursores, no sistema AIG, são expressos após a anáfase da primeira divisão meiótica

durante a microesporogênese, enquanto que, no sistema esporofítico os fatores são produzidos antes da divisão reducional que ocorre na anáfase I. Deste modo, no sistema gametofítico são produzidos dois pares de esporos fenotipicamente diferentes na tétrade enquanto no sistema esporofítico todos os esporos apresentam o mesmo fenótipo (BREWBAKER, 1957).

O gene multialélico da autoincompatibilidade gametofítica é identificado pela letra S do inglês “Sterility locus” (BERTHAUD; CHARRIER, 1988) e seu polimorfismo determina a interação entre os grãos de pólen e o estigma, que está associado à expressão de uma glicoproteína como a S-RNase citotóxica na fração pólen e pistilo (SASSA; KAKUI; MINAMIKAWA, 2010). O estilete, que possui o mesmo alelo do pólen desencadeia uma reação de autoincompatibilidade que está relacionada à parada no desenvolvimento do tubo polínico. Esta paralisação no crescimento é devido à ação de ribonucleases que degradam o RNA ribossômico impedindo o crescimento do tubo polínico (CASTRIC; VEKEMANS, 2004). Entretanto, há casos de controle bifatorial e até mesmo polifatorial da AIG, o mais conhecido é o sistema de dois locos, presente na família Poaceae. (POEHLMAN; SLEPER, 1995).

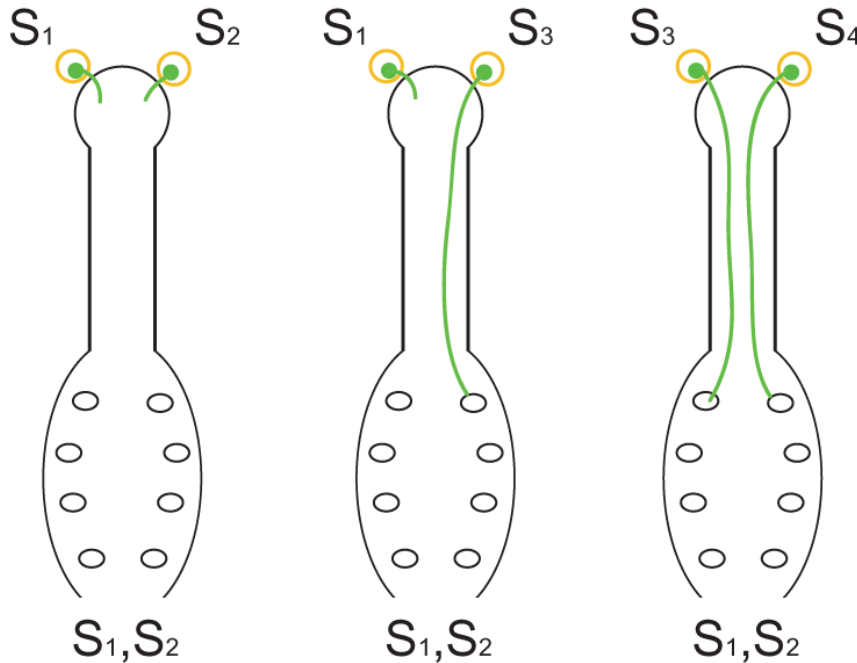
Neste sistema, um dos alelos de ambos os genes presentes no pólen haploide e no estigma diploide podem sinalizar a paralisação dos tubos polínicos, quando isso ocorre e os alelos dos genes S ou o Z não apresentam correspondência com os alelos do estigma, o cruzamento é compatível (POEHLMAN; SLEPER, 1995).

Em plantas da família Solanaceae ocorre o controle bifatorial da AIG. Foram descritos quatro diferentes genes que controlam a AIG em *Beta vulgaris esculenta* (beterraba) (DE NETTANCOURT, 1997; RICHARDS, 1997) e também em *Ranunculus repens*, uma planta tetraplóide (LUNDQVIST, 1998).

Vale ainda reforçar que, na autoincompatibilidade gametofítica o desenvolvimento dos tubos polínicos só ocorrerá se o alelo presente no grão de pólen haploide for diferente dos dois alelos presentes no estilete diploide (FIGURA 3). Espécies de importância econômica, incluindo o *C. canephora* fazem parte destas famílias citadas à cima e apresentam autoincompatibilidade gametofítica. Nessas famílias a reação de incompatibilidade é comandada por uma RNase (glicoproteína com função enzimática), expressa pelo gene S nos pistilos que degradam o RNA sintetizado pela célula vegetativa resultando na morte do tubo polínico (ANDERSON et al., 1989). As RNases estão presentes ao longo da superfície das papilas estigmáticas, passando pelo tecido condutor do estilete e chega até o ovário, coincidindo com o trajeto do tubo polínico. Segundo Haring et al. (1990) as RNases paralisam o crescimento do tubo polínico por meio da degradação do RNA, associado a um

gradiente de Ca^{2+} também associado à reação de AI (WHEELER et al., 1999).

Figura 3 – Esquema do mecanismo de autoincompatibilidade gametofítica.



Legenda: A planta de genótipo S1S2 produz grãos de pólen com alelos S1 ou S2, os quais, por serem idênticos aos alelos S presentes no estigma, não podem germinar (esquerda). Se sobre o estigma de uma planta S1S2 chegam grãos de pólen de uma planta com genótipo S1S3, 50% dos mesmos (aqueles com o alelo S3) poderão germinar e efetuar a polinização, incompatibilidade parcial (centro). Se sobre os estigmas da planta de genótipo S1S2, chegam grãos de pólen de outra planta com genótipo S3S4, a totalidade dos grãos de pólen poderão germinar, já que não há identidade entre os alelos S dos grãos de pólen e do estigma (direita).

2.5.2 Autoincompatibilidade em *C. canephora* Pierre

O *C. canephora* apresenta autoincompatibilidade do tipo gametofítica favorecendo desta maneira a alogamia e contribuindo para a manutenção da variabilidade genética. Nesta espécie, a autoincompatibilidade tem sua expressão governada por apenas um gene multialélico identificado pela letra S (BERTHAUD; CHARRIER, 1988). Esta reação está relacionada com o não desenvolvimento do tubo polínico ao longo do estilete, pois este possui o mesmo alelo do pólen. Ribonucleases degradam o RNA ribossômico resultando na paralisação do crescimento do tubo polínico (CASTRIC; VEKEMANS, 2004).

Pesquisas apontam evidências filogenéticas de que a homologia do gene S das Solanaceas e das Rosaceas apresentem uma única origem evolutiva, desenvolvida a partir de uma antiga linhagem ancestral Eudicotiledônea, que deu origem a dois clados principais Rosídeas e Asterídeas, ao qual pertence a espécie *C. canephora* (NOWAK et al., 2011).

A RNase T2 é uma ribonuclease que possui atividade seletiva e pode ser expressa em diversos tipos de tecidos, em resposta ao stress físico ou induzido por patógenos (WHEELER, et al.,1999). Estudos bioquímicos e funcionais a cerca destas proteínas apontam vários sítios ativos e conservados. Há três classes (I, II, ou III), com base em estrutura conservada e história evolutiva no qual as ribonucleases podem ser agrupadas (NOWAK et al., 2011). As RNases T2 são expressas constitutivamente e podem conter cinco regiões conservadas que se distinguem por aminoácidos específicos e por apresentarem uma ou duas regiões de elevada variabilidade genética que podem ser exploradas no estudo do seu polimorfismo (SASSA; KAKUI; MINAMIKAWA, 2010).

Em *C. canephora* é observado um baixo polimorfismo alélico, contrariando expectativas teóricas que apontavam este gene apresentando alto polimorfismo, o sugere que esta espécie passou por um gargalo genético em seu passado (NOWAK et al., 2011). O gene S é colocado sob seleção negativa dependente da frequência, o que significa que a frequência de um alelo é inversamente proporcional ao seu valor adaptativo (FALCONER, 1981). Ou seja, indivíduos em uma população, que são portadores de formas alélicas mais raras, se beneficiam da maior frequência de potenciais plantas doadoras de pólen, fazendo com que a taxa de fecundidade de um indivíduo seja inversamente proporcional à frequência do alelo na população.

Diante disso, algumas condições têm implicações importantes: nenhuma das formas alélicas pode se fixar na população, a taxa de mudança é maior do que em um loco neutro e os indivíduos da população serão altamente heterozigóticos. Além do fator autoincompatibilidade, o *C. canephora*, também apresenta outros mecanismos que favorecem a polinização cruzada, tais como, a abundante produção de pólen e o florescimento sincronizado (CHARRIER; BERTHAUD, 1988).

Embora haja poucos trabalhos mensurado o efeito prejudicial da incompatibilidade em café Conilon (FERRÃO et al., 2007b; BRAGANÇA et al., 2001), o plantio de genótipos não compatíveis pode aumentar a taxa de grãos tipo moca e diminuir a produtividade de grãos. Na cafeicultura clonal, quando há o plantio de clones não compatíveis, a produtividade e a qualidade dos grãos da lavoura podem ser comprometidas devido ao isolamento de plantas não compatíveis. Na composição de uma cultivar clonal, os clones devem ser selecionados considerando sua capacidade de polinização (FERRÃO et al., 2007b). O reduzido número de trabalhos científicos disponíveis na literatura contrasta com a expressiva variabilidade genética dessa espécie.

Conagin e Mendes (1961) apontam o trabalho realizado por Von Faber em 1910, que

descreveu o desenvolvimento dos tubos polínicos no momento da polinização, como um dos primeiros trabalhos a observar a autoincompatibilidade em cafeeiro. Devreux et al (1959) observaram que o tubo polínico não se desenvolvia, impedindo que o grão de pólen chegasse até o ovário após a autopolinização. Conagin e Mendes (1961) e Berthaud e Charrier (1988) apontaram evidências que a autoincompatibilidade em *C. canephora* é governada pela ação de um único gene S, com três formas alélicas (S1, S2, S3). Mais recentemente, no centro de origem e de diversificação desta espécie, Omolaja e Fawole (2004) quantificaram a interação de cinco formas alélicas na expressão desta característica. Lashermes et al. (1996) usando populações duplo-haploides, homozigotas para o gene S conseguiram identificar um marcador molecular associado a essa característica. Ramalho, Santos e Pinto (2008) descreveram que a incompatibilidade deve-se a ação de glicoproteínas específicas no estigma da flor que interagem com as proteínas dos alelos S idênticos formando de dímeros.

2.6 Projeto Genoma Brasileiro do Café

Uma parceria entre o CBP&D-Café (Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do Café), a FAPESP (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo), a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, além de outras instituições federais, que tinham por objetivo anotar e caracterizar detalhadamente as funções dos milhares de genes ligados aos diferentes processos, ao desenvolvimento e aos metabólitos das plantas de café, resultou na iniciativa pioneira do Projeto Genoma Brasileiro do Café (BRASIL, 2018)

Os pesquisadores obtiveram ESTs (*Expressed Sequence Tags*) que puderam ser agrupados em 17.982 *contigs* e em 32.155 *singlets* (VIEIRA et al., 2006). Com estes resultados criou-se uma plataforma de dados, que permitiu a identificação de cerca de 33.000 unigenes distintos e permitiu a realização de vários outros estudos moleculares em café. De maneira geral, o projeto fortaleceu a capacidade de pesquisa em diversas áreas, entre elas a genômica (BARRETO et al., 2011), a biologia estrutural (VIEIRA et al., 2006) e a bioinformática (LIMA et al., 2011).

2.7 Sequenciamento do genoma estrutural de *C. canephora*

O sequenciamento do *C. canephora* foi realizado a partir de 54,4 milhões de *reads* pelo método do pirosequenciamento, Roche 454, acrescido de 143.605 *reads* de cromossomo bacteriano artificial, geradas por sequenciamento com Sanger dupla haplóide, o que

representou uma cobertura de aproximadamente 30x o genoma de 710 Mb. E como informações adicionais, foram utilizados dados de sequenciamento por Illumina (60x) para melhorar a montagem (DENOEUDE, et al. 2014).

Os resultados foram 25.216 *contigs* e 13.345 *scaffolds* com um comprimento total de 568.6 Mb (80% de 710 Mb), incluindo 97 Mb (17%) de lacunas *intercontig*. Oitenta por cento da montagem está em 635 *scaffolds* e o N50 (o tamanho do *scaffold* acima do qual 50% do comprimento total da montagem da sequência pode ser encontrado) é de 1,26 Mb. O mapeamento genético de alta densidade que abrangeu 349 *scaffolds* e aproximadamente 64% da montagem (364 Mb) e 86% dos genes anotados foi ancorados nos 11 cromossomos de *C. canephora*. Mais de 96% dos *scaffolds* maiores que 1 Mb foram ancorados. Foram anotados 25.574 genes codificadores de proteínas, 92 microRNA precursores, 2.573 do genoma de transferências de organelas para o núcleo. E aproximadamente 50% do genoma foi representado por elementos transponíveis, dos quais 85% são retrotransposições de repetição terminal longa (LTR) (DENOEUDE, et al. 2014).

2.8 Marcadores moleculares

Tecnologias que visam realizar a análise molecular da variabilidade do DNA permitem a determinação de pontos de referência nos cromossomos denominados “marcadores moleculares”. Diante da posse destas marcas, os pesquisadores que trabalham no melhoramento genético, podem utilizar deste recurso para ter melhor acurácia no processo de seleção, ao invés de se utilizar apenas do fenótipo (KUMAR, 1999).

Os marcadores de DNA vêm sendo utilizados para diversas finalidades, entre as quais podemos citar: análises de divergência genética (CATTANEO, 2001), mapeamento genético (RAFALSKI, 2002), filogenia (GEHRIG; ROSICKER; KLUGE, 1997) e melhoramento genético (SANTOS, 2000). Em todos estes estudos busca-se identificar variações que estão presentes nas sequências genômicas e que estas, possam ser relacionadas com o fenótipo previamente observado. Pode-se ainda dizer que, visam minimizar os problemas que podem estar associados aos métodos de melhoramento clássico, como o trabalho longo no campo, o tempo e os custos de produção, principalmente, no que diz respeito a culturas perenes (RAFALSKI, 2002, GEHRIG; ROSICKER; KLUGE, 1997, SANTOS, 2000).

Um dos primeiros trabalhos que se tem registro do uso de marcadores moleculares para o estudo da diversidade genética foi realizado em *C. arabica*, no qual os autores utilizaram de marcadores RAPD (“Random Amplified Polymorphic DNA”) (LASHERMES,

1996). Em *C. canephora*, um dos primeiros estudos foi realizado por Dusset et al. (1999), com marcadores RFLP (“Restriction Fragment Length Polymorphism”) (BORÉM; CAIXETA, 2009).

Os marcadores moleculares têm como objetivo, revelar a variabilidade em nível do DNA e se diferenciam pelo método utilizado, variando em custo, facilidade de uso, e a reprodutibilidade. No entanto, para que estes possam ser utilizados, faz-se necessário que se encontre uma diferença entre os indivíduos (polimorfismo) (BORÉM; CAIXETA, 2009).

Ainda entre as técnicas de detecção de polimorfismos podem-se citar outros dois tipos de marcadores: os SNPs (“Single Nucleotide Polymorphism”) e os microssatélites (SSR: “Simple Sequence Repeat”), marcadores que são altamente polimórficos e que permitem a cobertura ampla sobre o genoma do organismo (SANTOS et al., 2005).

2.9 SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms)

Os SNPs tornaram-se a principal escolha entre os pesquisadores, devido à alta frequência no genoma. Esses polimorfismos são detectados com as análises de ESTs disponíveis (análises *in silico*) ou nas sequências de DNA genômico (gDNA). Os SNPs mais comuns são os de transição, onde uma purina é substituída por outra purina (A <-> G) ou uma pirimidina por outra pirimidina (C <-> T), e de transversão em que uma base purínica é substituída por uma pirimídica ou vice-versa.

Os SNPs são as formas mais abundantes de variação encontradas no genoma. Desta forma eles podem ser utilizados em análises de: diversidade genética e caracterização de recursos genéticos, filogenia, diagnóstico e identificação de cultivares e construção de mapas que apresentam alta densidade de marcadores e ainda no melhoramento, a partir do uso da seleção assistida por marcadores (RAFALSKI, 2002). A seleção assistida por marcadores (MAS) fornece a oportunidade de acelerar os processos de desenvolvimento de novas cultivares de café (ANDRADE, 2007).

Marcadores convencionais, tais como os polimorfismos de fragmentos de restrição (RFLPs), os DNA polimórficos amplificados ao acaso (RAPDs), os polimorfismos amplificados a partir do tamanho do fragmento (AFLPs) e sequências de repetições simples (SSRs), geralmente não são se localizam sequência codante dos genes de interesse. Ao contrário do que acontece com os SNPs, pois a alta cobertura destes no genoma permite que sejam encontrados também em regiões gênicas, e geralmente estes é que são úteis em programas de seleção assistida (ANDERSEN; LÜBBERSTEDT, 2003). Desta forma, SNPs

que alteram o aminoácido codificado, são chamados não sinônimos, e podem trazer modificações estruturais e funcionais nas proteínas. Entretanto, SNPs nas regiões codantes, mas que não alteram o aminoácido codificado são classificados como sinônimos, enquanto os SNPs das regiões não codantes são chamados de anônimos (RAFALSKI, 2002).

A pressão de seleção influencia tanto o número quanto a distribuição de SNPs. Quando essas mutações ocorrem dentro de um gene, podem alterar a formação da respectiva proteína. No entanto, os SNPs também podem ser encontrados fora das sequências codantes, tal como, no promotor (BARKER et al., 2003). Os SNPs, sendo conhecidos e mapeados, podem ser utilizados para avaliar a diversidade nucleotídica de determinada cultura, desde que se tenha um prévio conhecimento das sequências (RAFALSKI, 2002). Após a identificação dos SNPs, faz-se necessário que eles sejam validados, ou seja, que sua frequência seja determinada em um grupo de indivíduos, para que desta forma sua natureza polimórfica possa ser comprovada (BARKER et al., 2003).

Os projetos de sequenciamento genômico, nos últimos anos, geraram uma quantidade enorme sequencias nucleotídicas, sendo essas, a partir de ESTs e também de genomas estruturais. A utilização dessas informações disponíveis, juntamente com as ferramentas de bioinformática existentes, propiciou a identificação de SNPs e de novos marcadores microssatélites (SSR). A identificação de SNPs por meio do uso de ESTs tem sido utilizada em várias espécies de importância agrícola, como por exemplo, trigo (SOMERS, 2003), cana-de-açúcar (GRIVET et al., 2003), milho (USECHE et al., 2001), e café (YANAGUI et al., 2009, FREIRE, et al., 2013, ALVES, et al 2017).

O sequenciamento do genoma de referência do *C. canephora* possibilitou recursos para que ANDRADE et al., em 2017, desenvolvesse um chip (26K Axiom SNP (Affymetrix)), a partir do re-sequenciamento, onde os SNPs encontram-se distribuídos ao longo do genoma possibilitando a genotipagem. Esta ampla coleção de SNPs validados constituem uma importante ferramenta para estudos de biologia molecular e genética de populações com espécies de café, visto que possuem um baixo custo, alta densidade de marcadores, polimorfismo e velocidade de geração de dados, além de a plataforma possuir alta precisão e reprodutibilidade. Sua validação resultou em 24 073 SNPs (94,6%) convertidos com êxito nos 25.456 SNPs da matriz. 20,982 marcadores (87,1%) foram classificados com alta resolução, dos quais 19.586 (81,4%) eram polimórficos.

3 OBJETIVO GERAL

Caracterizar a compatibilidade gametofítica entre clones de *C. canephora* por meio da utilização de marcadores moleculares SNPs.

3.1 Objetivos Específicos

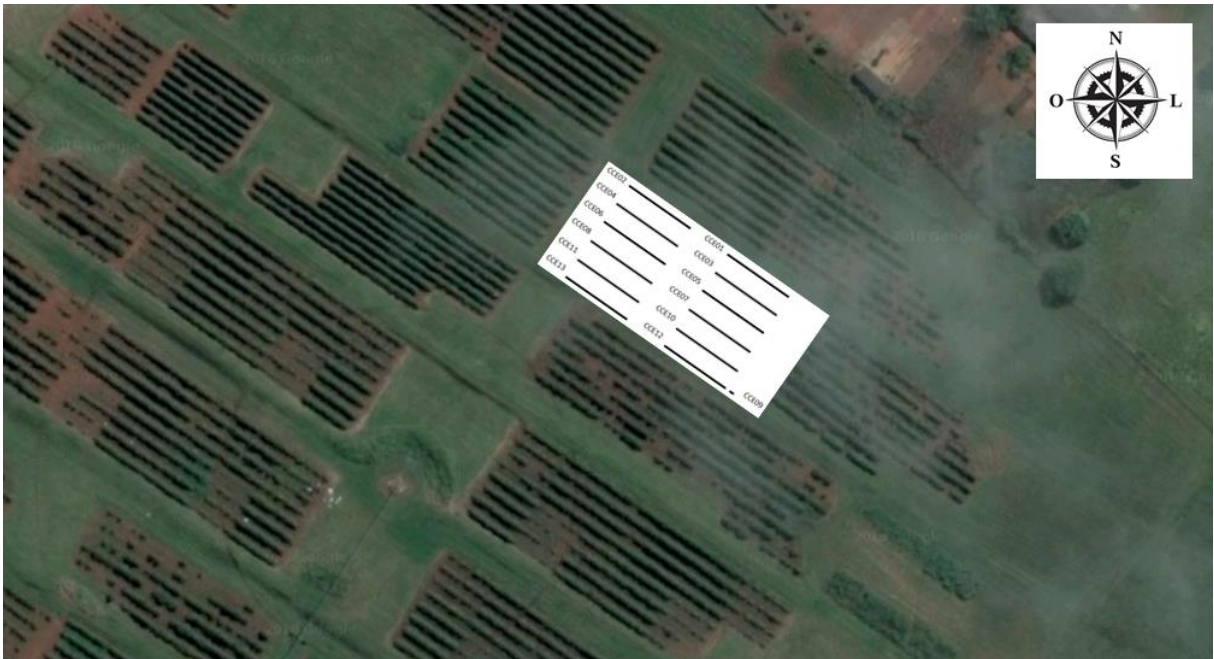
- Reconstruir o pedigree de cerca de 580 indivíduos oriundos de uma progênie proveniente de um campo isolado de 13 clones de *C. canephora*.
- Identificar os clones de *C. canephora* com maior compatibilidade gametofítica.
- Validar a utilização de marcadores SNPs para estudos de compatibilidade, visando auxiliar na seleção de clones a compor uma nova variedade clonal.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Material Vegetal

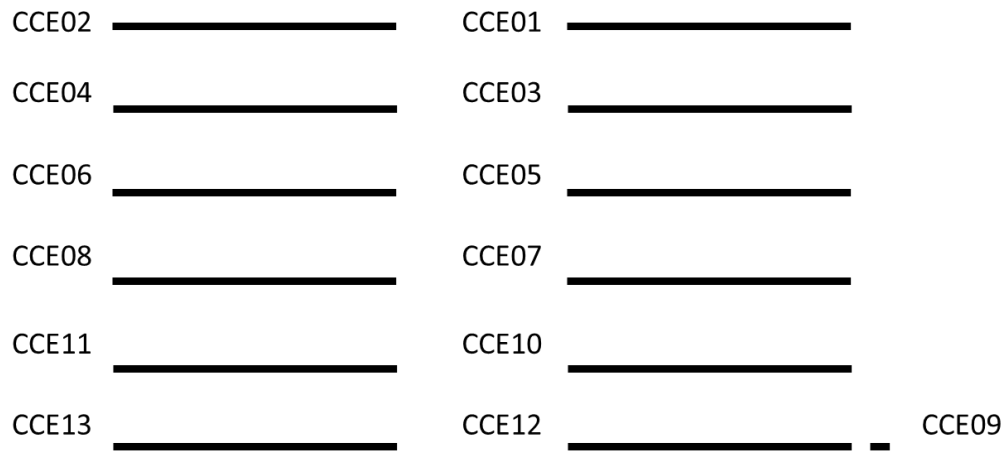
Para os estudos foram utilizados 13 clones de *C. canephora*, nomeados CCE, que são os possíveis parentais e estão localizados em um campo experimental na Embrapa Cerrados, em altitude de 1000m, em Planaltina-DF (FIGURA 4). Cada linha de CCE é composta por uma parcela com 10 plantas, com exceção do clone CCE09, que apresenta apenas uma planta, como pode ser observado na Figura 5. Para cada clone foram colhidas as sementes das plantas matrizes na parcela, e 100 progênies de meios-irmãos foram plantadas, em linhas separadas pelo parental feminino, em um campo experimental no município de Unaí-MG (FIGURA 6).

Figura 4 – Campo experimental da Embrapa Cerrados, Planaltina-DF



Fonte: Adaptado do Google Maps (2018)

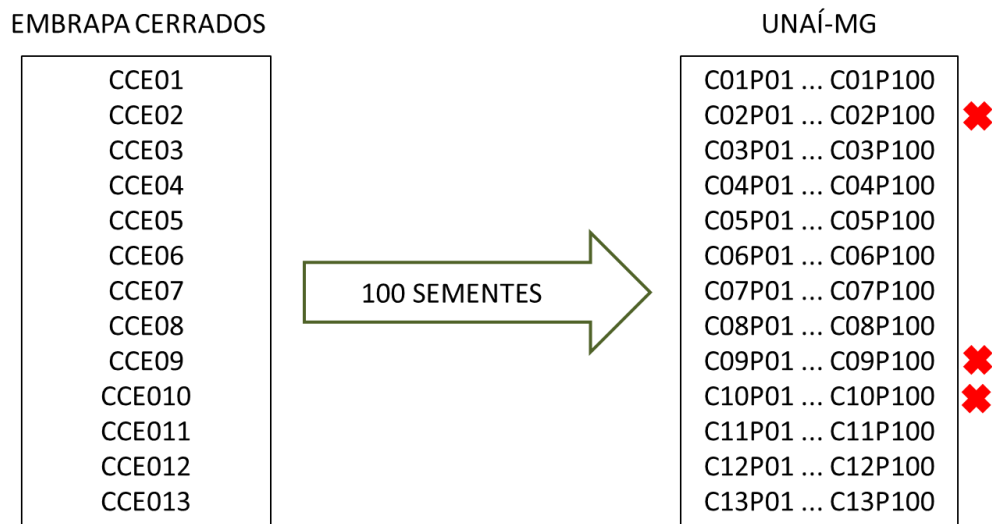
Figura 5 - Croqui da disposição das plantas no campo experimental da EMBRAPA Cerrados, Planaltina - DF



Legenda: Cada linha grande representa uma parcela composta por dez clones. A linha pequena representa um único clone.

Fonte: Da autora (2018)

Figura 6 - Esquema da coleta de sementes em Planaltina – DF, que foram encaminhadas para formar o campo experimental em Unaí – MG.



Fonte: Da autora (2018)

Amostras foliares dos possíveis parentais e das progênes foram coletadas, dessecadas em sílica gel e enviadas ao Laboratório de Genética Molecular, localizado no prédio da Agência de Inovação do Café (InovaCafé), na Universidade Federal de Lavras, onde as análises seguintes foram realizadas.

4.2 Extração de DNA

O DNA genômico das folhas de *C. canephora* foram extraídos conforme o protocolo de Russell et al. 2010 (INGLIS; PAPPAS; GRATTAPAGLIA, 2016).

4.3 Genotipagem

A genotipagem foi realizada para os 13 clones, nomeados CCE, que são os possíveis parentais. E juntamente, foram selecionadas aleatoriamente plantas da progênie de meios-irmãos, no entanto, não possuíamos plantas da progênie de meios-irmãos com o parental feminino de 3 clones, CCE02, CCE09 e CCE10, pois foram excluídos em uma seleção prévia realizada pelo melhorista. Desta maneira, foram genotipadas 59 plantas da progênie de meios-irmãos da planta parental materna CCE01, e 58 plantas da progênie de meios-irmãos das demais parentais maternas, CCE03, CCE04, CCE05, CCE06, CCE07, CCE08, CCE11, CCE12, CCE13.

Os clones de *C. canephora* em estudo foram genotipados usando-se o chip Axiom® EMBR5SNP Arrays para avaliar os SNPs (ANDRADE et al, 2017).

4.4 Análise com o programa de bioinformática Axiom™ Analysis Suite 2.0 para a seleção de SNPs

O software Affecron® GeneChip® Command Console (AGCC) foi utilizado para processar os dados brutos de hibridização, clusterização dos dados e para a chamadas dos genótipos. Amostras com um valor controle de qualidade <0,82 e taxa de chamada de amostra <0,97 foram excluídas da análise adicional da genotipagem.

Executando-se o guia de genotipagem (“Axiom Best Practices Genotyping Workflow”), os SNPs podem ser classificados em seis classes de qualidade de acordo com seu desempenho de agrupamento em relação a várias medidas de controle de qualidade. Estas classes são: (1) "Poly High Resolution" (PHR), que são polimórficos e passam no controle de qualidade (QC); (2) "No Minor Homozygote" (NMH), que passam no QC, mas apenas dois clusters são observados; (3) "Off-Target Variant" (OTV), que possui um cluster adicional de baixa intensidade resultante de ligeiros desajustes entre a sonda e as seqüências para esse grupo de indivíduos; (4) "Mono High Resolution" (MHR), o qual o QC é obtido, mas são

monomórficos; (5) "CallRate Below Threshold" (CRBT), onde a taxa de chamada de genótipos é inferior a 97%; e (6) "Other", onde o padrão de cluster SNP resultante não se enquadra em nenhuma das classes anteriores.

4.5 Seleção de SNPs

Selecionou-se SNPs que pertenciam a classe PHR de acordo com a análise dos parentais, CCE. Foram mantidos apenas SNPs que apresentaram alta qualidade, ($GQ > 98$) e taxa de chamada, "CallRate" de 100%, de maneira, que fossem minimizados os erros da genotipagem.

4.6 Análise de Pedigree com o software Cervus 3.0.6

Os dados provenientes da análise anterior foram informados ao Software Cervus, para processamento dos alelos da progênie e possíveis parentais, resultando na análise de Pedigree.

No programa Cervus primeiramente calculou-se a frequência alélica com o teste estatístico LOD, foi informado para isto, o genótipo dos indivíduos e o número de *locus* utilizado. Logo em seguida foi realizada uma simulação do parentesco com 10.000 indivíduos, neste caso utilizou dados dos 12 candidatos a possíveis parentais paternos, a proporção dos exemplares requerida de 0,99, a proporção de locus mínima de 0,80 e de erros de 0,01 e ainda, os níveis de confiança relaxado foi de 80% e o estrito de 95%. Por último, realizaram-se as análises para encontrar o pedigree com base nos dados prévios obtidos pelo programa.

Para as análises de compatibilidade, somente foram considerados parentais identificados com uma taxa de divergência entre os alelos (*mismatch*) menor que 1%.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Análise com Axiom™ Analysis Suite 2.0

Utilizando-se o software Axiom™ Analysis Suite 2.0, foi realizada uma análise com os dados de genotipagem gerados pela empresa Affymetrix, sendo que algumas amostras de DNA foliar das plantas de café conilon, apresentaram a taxa de chamada da amostra “QC call_rate” abaixo de 97% e conseqüentemente foram excluídas, pois não se obteve os dados de genotipagem das mesmas, conforme descrito abaixo (TABELA 1).

Tabela 1 - Amostras que apresentaram taxa de chamada inferior a 97%

Sample Filename	Pass/Fail	QC call_rate
C03P09	Fail	92,613
C03P10	Fail	94,381
C03P26	Fail	61,563
C03P39	Fail	29,182
C03P42	Fail	89,815
C03P45	Fail	82,950
C04P53	Fail	93,422
C11P58	Fail	95,634
C12P26	Fail	95,455
C12P41	Fail	80,832
C13P48	Fail	96,865

Fonte: Da autora (2018)

Desta forma, após a exclusão das plantas descritas na Tabela 1, devido ao critério de “QC call_rate” abaixo de 97%, estão apresentados na Tabela 2 as plantas da progênie de meios-irmãos resultantes para as análises de Pedigree com o programa Cervus.

Tabela 2 – Quantidade de plantas que foram genotipadas e utilizadas na análise de Pedigree

Parental materno da qual foram colhidas às sementes	Número de meios-irmãos enviados para a genotipagem	Número de meios-irmãos utilizados para realizar Pedigree
CEE01	59	59
CEE03	58	52
CEE04	58	57
CEE05	58	58
CEE06	58	58
CEE07	58	58
CEE08	58	57
CEE12	58	56
CEE13	58	57

Fonte: Da autora (2018)

5.2 Seleção dos SNPs

Uma análise qualitativa dos SNPs das plantas CCE foi realizada e o resultado está apresentado na Tabela3.

Tabela 3 – Classificação dos SNPs com a utilização do programa Affymetrix

Conversion Type	Count	Percentage
MonoHighResolution	9786	38,443%
NoMinorHom	8312	32,652%
PolyHighResolution	5354	21,032%
Other	1047	4,11%
CallRateBelowThreshold	554	2,176%
OTV	403	1,583%

Fonte: Da autora (2018)

Foram selecionados apenas os SNPs que pertenciam à classe PHR. Deste conjunto, descartou-se ainda, os que apresentaram baixa qualidade, ($GQ < 98$) e os que não apresentaram taxa de chamada “CallRate” de 100%, de maneira, que fosse minimizado o impacto de erros

da genotipagem.

Os dados de classificação dos SNPs variam de acordo com a população em estudo, no caso da Tabela 3, foram analisados apenas os 13 CCEs, possíveis parentais da população em estudo, que são clones pré-selecionados do programa de melhoramento da Embrapa Cerrados sendo que se esperava uma proximidade entre os mesmos. Essa expectativa foi confirmada com os resultados, visto que os SNPs analisados em sua maioria eram monomórficos, cerca de 38%, enquanto que cerca de 21% eram polimórficos de alta resolução (TABELA 3).

Com o conjunto total de SNPs, foi realizada uma análise de concordância entre os indivíduos CCEs (TABELA 4). Pode-se observar, pelos dados apresentados na Tabela 4, que os clones CCE 04 e CCE11 apresentaram uma similaridade de genótipo de 99,814% entre os 25.456 SNPs totais analisados, nos permitindo concluir que esses clones são idênticos. Desta maneira, o clone CCE11 foi retirado das análises seguintes e foi mantido apenas o CCE 04 como possível parental.

Tabela 4 – Análise de concordância entre os clones CCE de acordo com SNPs polimórficos de alta resolução (continua)

Base	Reference	% Concordance	Base	Reference	% Concordance
CCE04	CCE11	99,814	CCE09	CCE07	70,970
CCE01	CCE10	81,502	CCE01	CCE06	70,904
CCE06	CCE03	80,819	CCE02	CCE03	70,876
CCE05	CCE09	77,837	CCE01	CCE13	70,766
CCE08	CCE06	76,847	CCE13	CCE09	70,752
CCE12	CCE02	76,416	CCE12	CCE08	70,687
CCE06	CCE07	76,044	CCE05	CCE07	70,640
CCE10	CCE09	76,002	CCE06	CCE09	70,499
CCE08	CCE03	75,976	CCE03	CCE09	70,464
CCE13	CCE06	75,945	CCE01	CCE07	70,388
CCE01	CCE08	75,916	CCE10	CCE07	70,182
CCE12	CCE06	75,816	CCE10	CCE03	70,124
CCE10	CCE05	75,800	CCE13	CCE10	70,069
CCE03	CCE07	75,361	CCE06	CCE10	69,938
CCE12	CCE13	75,266	CCE01	CCE03	69,870
CCE02	CCE09	75,230	CCE13	CCE07	69,760
CCE08	CCE07	75,209	CCE12	CCE07	69,568
CCE02	CCE07	74,915	CCE04	CCE05	57,834
CCE12	CCE09	74,864	CCE05	CCE11	57,830
CCE02	CCE05	74,845	CCE10	CCE11	57,235
CCE13	CCE03	74,766	CCE04	CCE10	57,188
CCE01	CCE05	74,734	CCE01	CCE04	56,868

CCE12	CCE05	74,457	CCE01	CCE11	56,853
CCE12	CCE01	74,354	CCE09	CCE11	56,778
CCE08	CCE10	74,333	CCE04	CCE09	56,776
CCE01	CCE02	74,300	CCE12	CCE04	56,283
CCE02	CCE10	74,100	CCE12	CCE11	56,267
CCE12	CCE10	73,807	CCE02	CCE11	55,987
CCE12	CCE03	73,720	CCE04	CCE02	55,935
CCE01	CCE09	73,583	CCE08	CCE04	54,984
CCE08	CCE05	72,624	CCE08	CCE11	54,970
CCE13	CCE08	72,254	CCE06	CCE11	54,802
CCE08	CCE09	72,039	CCE04	CCE06	54,769
CCE13	CCE05	71,906	CCE03	CCE11	53,653
CCE13	CCE02	71,761	CCE04	CCE03	53,609
CCE08	CCE02	71,683	CCE13	CCE11	53,563
CCE05	CCE03	71,344	CCE13	CCE04	53,556
CCE06	CCE05	71,253	CCE07	CCE11	52,914
CCE02	CCE06	71,249	CCE04	CCE07	52,880

Fonte: Da autora (2018)

5.3 Análises de Pedigree com o programa Cervus

A partir dos dados de genotipagem obtidos e filtrados, da população e dos possíveis parentais descritos na tabela 2, foi realizada uma análise de pedigree com o programa Cervus, utilizando-se uma seleção de 583 SNPs (APÊNDICE A).

Como pode ser observado na Tabela 5, o programa foi 100% eficiente em encontrar a planta parental materna CCE01 para a sua progênie, não apresentando nenhuma divergência (*mismatch*) entre os genótipos do parental materno e sua descendência. No entanto, em alguns casos foram encontrados divergências (*mismatches*) na identificação do possível parental paterno, sendo que neste caso, somente foram considerados aqueles com uma taxa de divergência menor que 1% (< 6 SNPs).

De toda a progênie de meios-irmãos analisada do clone CCE01, três plantas apresentaram um valor de *mismatch* acima de cinquenta SNPs, e desta forma, foram excluídas das análises posteriores de compatibilidade. Os dados obtidos por essas três plantas, sugere a ocorrência de pólen externo ao dos parentais analisados, sugerindo que exista uma fonte de contaminação de pólen de canéfora próxima.

Tabela 5 – Análise de Pedigree com o programa Cervus para a progênie CCE01

	Progênie	nº SNPS	1º Parental	≠ SNPs	LOD	Sig.	2º Parental	≠ SNPs	LOD	Sig.	≠ SNPs (Trio)	Trio LOD	Trio (Sig.)	Teste de Compatibilidade
1	C01P02+B236	583	CCE01	0	8,58E+15	*	CCE03	1	8,26E+14	*	1	2,11E+16	*	
2	C01P03+B704R	583	CCE01	0	4,79E+15	*	CCE03	1	4,47E+15	*	1	1,97E+16	*	
3	C01P05+B817	583	CCE01	0	6,88E+15	*	CCE03	1	4,02E+15	*	1	2,16E+16	*	
4	C01P08+B827	583	CCE01	0	1,32E+16	*	CCE05	0	1,33E+16	*	0	3,03E+16	*	
5	C01P09+B831	583	CCE01	0	7,91E+15	*	CCE03	1	3,51E+15	*	1	2,27E+16	*	
6	C01P12+B835	583	CCE01	0	7,58E+15	*	CCE03	1	4,64E+15	*	1	2,29E+16	*	
7	C01P14+B839	583	CCE01	0	9,42E+15	*	CCE04	70	0,00E+00		96	-1,54E+16	*	excluída
8	C01P15+B843	583	CCE01	0	7,97E+15	*	CCE07	0	5,15E+15	*	0	2,23E+16	*	
9	C01P17+B847	583	CCE01	0	7,06E+15	*	CCE03	1	2,16E+15	*	1	1,98E+16	*	
10	C01P18+B851	583	CCE01	0	9,90E+15	*	CCE02	0	8,04E+15	*	0	2,30E+16	*	
11	C01P19+B230	583	CCE01	0	8,68E+15	*	CCE07	0	4,07E+15	*	0	2,17E+16	*	
12	C01P22+B233	583	CCE01	0	5,98E+15	*	CCE03	1	3,82E+15	*	1	2,05E+16	*	
13	C01P23+B237	583	CCE01	0	6,40E+15	*	CCE03	1	4,14E+15	*	1	2,12E+16	*	
14	C01P24+B768	583	CCE01	0	1,63E+16	*	CCE10	0	1,73E+16	*	0	3,53E+16	*	
15	C01P25+B824	583	CCE01	0	7,42E+15	*	CCE03	1	1,16E+15	*	1	1,98E+16	*	
16	C01P26+B828	583	CCE01	0	7,07E+15	*	CCE07	0	6,34E+15	*	0	2,20E+16	*	
17	C01P28+B832	583	CCE01	0	9,83E+15	*	CCE02	0	7,92E+15	*	0	2,22E+16	*	
18	C01P30+B836	583	CCE01	0	9,80E+15	*	CCE05	0	1,40E+16	*	0	2,74E+16	*	
19	C01P31+B840	583	CCE01	0	1,52E+16	*	CCE10	0	1,62E+16	*	0	3,27E+16	*	
20	C01P32+B844	583	CCE01	0	1,43E+16	*	CCE09	51	0,00E+00		76	-5,63E+15	*	excluída
21	C01P33+B848	583	CCE01	0	4,88E+15	*	CCE03	1	5,01E+15	*	1	2,03E+16	*	
22	C01P34+B852	583	CCE01	0	8,13E+15	*	CCE07	0	5,61E+15	*	0	2,29E+16	*	
23	C01P35+B231	583	CCE01	0	1,14E+16	*	CCE12	0	1,23E+16	*	0	2,66E+16	*	
24	C01P36+B234	583	CCE01	0	1,17E+16	*	CCE02	0	9,19E+15	*	0	2,52E+16	*	
25	C01P37+B238	583	CCE01	0	5,98E+15	*	CCE03	1	4,45E+15	*	1	2,09E+16	*	
26	C01P38+B769	583	CCE01	0	8,52E+15	*	CCE04	0	1,77E+16	*	0	3,27E+16	*	
27	C01P41+B825	583	CCE01	0	8,28E+15	*	CCE07	0	4,29E+15	*	0	2,16E+16	*	
28	C01P42+B829	583	CCE01	0	5,74E+15	*	CCE03	1	4,02E+15	*	1	2,08E+16	*	
29	C01P43+B833	583	CCE01	0	1,16E+16	*	CCE05	0	1,43E+16	*	0	3,01E+16	*	
30	C01P44+B837	583	CCE01	0	1,14E+16	*	CCE02	0	1,05E+16	*	0	2,58E+16	*	
31	C01P45+B841	583	CCE01	0	5,68E+15	*	CCE03	1	2,84E+15	*	1	1,88E+16	*	
32	C01P46+B845	583	CCE01	0	1,06E+16	*	CCE02	0	9,77E+15	*	0	2,59E+16	*	
33	C01P47+B849	583	CCE01	0	7,70E+15	*	CCE03	1	2,40E+15	*	1	2,13E+16	*	
34	C01P48+B853	583	CCE01	0	1,12E+16	*	CCE12	0	1,14E+16	*	0	2,65E+16	*	
35	C01P49+B232	583	CCE01	0	1,53E+16	*	CCE10	0	1,62E+16	*	0	3,27E+16	*	
36	C01P50+B235	583	CCE01	0	7,50E+15	*	CCE03	1	2,56E+15	*	1	2,10E+16	*	
37	C01P51+B239	583	CCE01	0	6,56E+15	*	CCE03	1	2,98E+15	*	1	2,03E+16	*	
38	C01P52+B816	583	CCE01	0	6,93E+15	*	CCE03	1	3,39E+15	*	1	2,06E+16	*	
39	C01P53+B826	583	CCE01	0	7,95E+15	*	CCE03	1	3,06E+15	*	1	2,19E+16	*	
40	C01P54+B830	583	CCE01	0	5,92E+15	*	CCE03	1	3,33E+15	*	1	2,00E+16	*	
41	C01P55+B834	583	CCE01	0	6,73E+15	*	CCE03	1	2,50E+15	*	1	1,99E+16	*	
42	C01P56+B838	583	CCE01	0	7,77E+15	*	CCE07	0	5,90E+15	*	0	2,26E+16	*	
43	C01P58+B842	583	CCE01	0	8,10E+15	*	CCE03	1	3,19E+15	*	1	2,20E+16	*	
44	C1P1	583	CCE01	0	7,58E+15	*	CCE03	1	4,64E+15	*	1	2,29E+16	*	
45	C1P10	583	CCE01	0	6,06E+15	*	CCE03	1	3,78E+15	*	1	2,04E+16	*	
46	C1P11	583	CCE01	0	6,38E+15	*	CCE03	1	2,04E+15	*	1	1,95E+16	*	
47	C1P13	583	CCE01	0	1,15E+16	*	CCE09	56	0,00E+00		88	-1,24E+16	*	excluída
48	C1P16	583	CCE01	0	7,08E+15	*	CCE03	1	1,73E+15	*	1	2,01E+16	*	
49	C1P20	583	CCE01	0	1,34E+16	*	CCE12	0	6,06E+15	*	0	2,33E+16	*	
50	C1P21	583	CCE01	0	1,33E+16	*	CCE02	0	1,05E+16	*	0	2,92E+16	*	
51	C1P27	583	CCE01	0	6,71E+15	*	CCE03	1	5,73E+15	*	1	2,30E+16	*	
52	C1P29	583	CCE01	0	1,26E+16	*	CCE05	0	1,50E+16	*	0	3,18E+16	*	
53	C1P4	583	CCE01	0	1,29E+16	*	CCE02	0	1,11E+16	*	0	2,74E+16	*	
54	C1P40	583	CCE01	0	6,81E+15	*	CCE03	1	2,23E+15	*	1	1,97E+16	*	
55	C1P57	583	CCE01	0	7,15E+15	*	CCE07	0	7,25E+15	*	0	2,38E+16	*	
56	C1P6	583	CCE01	0	5,60E+15	*	CCE03	1	4,14E+15	*	1	2,04E+16	*	
57	C1P74	583	CCE01	0	9,72E+15	*	CCE02	0	1,09E+16	*	0	2,47E+16	*	
58	C1P76	583	CCE01	0	1,53E+16	*	CCE10	0	1,70E+16	*	0	3,44E+16	*	
59	C1P97	583	CCE01	0	1,05E+16	*	CCE12	0	1,13E+16	*	0	2,55E+16	*	

Fonte: Da autora (2018)

Da mesma maneira observada na análise com a progênie da planta CCE01, as análises realizadas com o programa Cervus foi 100% eficiente em encontrar corretamente, o parental materno CCE03 para a sua progênie, como informado na Tabela 6, não apresentando nenhum *mismatch* entre os genótipos da parental materna e sua respectiva progênie. Entretanto, na maioria dos casos, foram encontrados até dois *mismatches* (SNPs discordantes) entre os genótipos do provável parental paterno e seus descendentes, valor este, que está dentro do erro que foi considerado como aceitável para que o provável parental paterno fosse identificado.

Os dados apresentados na Tabela 6 ainda indicam que onze plantas apresentaram um valor de *mismatch* acima de vinte e oito SNPs, as quais foram excluídas do teste de paternidade, pois não foi possível inferir o parental paterno das mesmas. Os dados obtidos por essas onze plantas, confirmam a sugestão de ocorrência de pólen externo ao dos possíveis clones parentais analisados.

Tabela 6 – Análise de Pedigree com o programa Cervus para a progênie CCE03

	Progênie	nº SNPs	1º Parental	≠ SNPs	LOD	Sig.	2º Parental	≠ SNPs	LOD	Sig.	≠ SNPs (Trio)	Trio LOD	Trio (Sig.)	Teste de Compatibilidade
1	C03P01+B846	583	CCE03	0	1,38E+16	*	CCE06	0	1,41E+16	*	0	3,06E+16	*	
2	C03P02+B850	583	CCE03	0	1,05E+16	*	CCE13	37	-8,09E+15	-	72	-6,17E+15	*	excluída
3	C03P03+B854	583	CCE03	0	4,58E+15	*	CCE01	2	5,02E+15	*	2	1,98E+16	*	
4	C03P04+B855	583	CCE03	0	7,13E+15	*	CCE02	2	6,19E+15	*	2	2,21E+16	*	
5	C03P05+B863	583	CCE03	0	1,16E+16	*	CCE13	0	1,09E+16	*	0	2,65E+16	*	
6	C03P06+B871	583	CCE03	0	5,73E+15	*	CCE01	54	0,00E+00		76	-1,32E+16	*	excluída
7	C03P07+B879	583	CCE03	0	6,65E+15	*	CCE05	70	0,00E+00		94	-1,80E+16	*	excluída
8	C03P08+B887	583	CCE03	0	1,38E+15	*	CCE01	2	5,70E+15	*	2	1,79E+16	*	
9	C03P11+M101	583	CCE03	0	5,93E+15	*	CCE09	43	-1,18E+16	-	58	-4,57E+15	*	excluída
10	C03P12+M109	583	CCE03	0	1,26E+16	*	CCE13	41	0,00E+00		67	-3,86E+15	*	excluída
11	C03P13+M117	583	CCE03	0	6,70E+15	*	CCE04	76	0,00E+00		96	-1,77E+16	*	excluída
12	C03P15+M125	583	CCE03	0	6,41E+15	*	CCE01	2	5,96E+15	*	2	2,26E+16	*	
13	C03P16+M133	583	CCE03	0	4,17E+15	*	CCE01	2	4,19E+15	*	2	1,88E+16	*	
14	C03P18+B856	583	CCE03	0	7,35E+15	*	CCE08	0	8,73E+15	*	0	2,25E+16	*	
15	C03P19+B864	583	CCE03	0	5,50E+15	*	CCE02	2	6,90E+15	*	2	2,11E+16	*	
16	C03P20+B872	583	CCE03	0	6,88E+15	*	CCE07	2	1,08E+16	*	2	2,45E+16	*	
17	C03P21+B880	583	CCE03	0	1,29E+16	*	CCE06	0	1,33E+16	*	0	2,91E+16	*	
18	C03P22+B888	583	CCE03	0	7,35E+15	*	CCE12	2	7,90E+15	*	2	2,26E+16	*	
19	C03P23+B896	583	CCE03	0	8,14E+15	*	CCE07	2	7,68E+15	*	2	2,25E+16	*	
20	C03P24+B1513	583	CCE03	0	5,81E+15	*	CCE10	38	0,00E+00		69	-8,30E+15	*	excluída
21	C03P25+M102	583	CCE03	0	1,16E+16	*	CCE13	0	1,09E+16	*	0	2,65E+16	*	
22	C03P27+M118	583	CCE03	0	1,09E+16	*	CCE13	29	-4,01E+15	-	61	-7,47E+14	*	excluída
23	C03P28+M126	583	CCE03	0	1,07E+16	*	CCE12	2	7,47E+15	*	2	2,41E+16	*	
24	C03P29+M134	583	CCE03	0	7,67E+15	*	CCE02	2	5,83E+15	*	2	2,12E+16	*	
25	C03P34+B857	583	CCE03	0	9,11E+15	*	CCE07	2	7,46E+15	*	2	2,30E+16	*	
26	C03P35+B865	583	CCE03	0	4,56E+15	*	CCE01	2	4,02E+15	*	2	1,89E+16	*	
27	C03P36+B873	583	CCE03	0	6,90E+15	*	CCE02	2	5,74E+15	*	2	2,10E+16	*	
28	C03P37+B881	583	CCE03	0	4,67E+15	*	CCE02	2	7,07E+15	*	2	2,06E+16	*	
29	C03P38+B889	583	CCE03	0	9,02E+15	*	CCE13	37	0,00E+00		101	-1,86E+16	*	excluída
30	C03P40+PRO_555/1	583	CCE03	0	2,10E+15	*	CCE04	2	1,19E+16	*	2	2,80E+16	*	
31	C03P41+M103	583	CCE03	0	4,83E+15	*	CCE01	2	4,17E+15	*	2	1,94E+16	*	
32	C03P43+M119	583	CCE03	0	9,49E+15	*	CCE05	66	0,00E+00		86	-1,31E+16	*	excluída
33	C03P44+M127	583	CCE03	0	3,88E+15	*	CCE05	2	9,80E+15	*	2	2,45E+16	*	
34	C03P46+B858	583	CCE03	0	1,53E+16	*	CCE06	0	1,43E+16	*	0	3,24E+16	*	
35	C03P47+B866	583	CCE03	0	1,01E+16	*	CCE07	2	7,35E+15	*	2	2,36E+16	*	
36	C03P48+B874	583	CCE03	0	9,02E+15	*	CCE08	0	5,66E+15	*	0	2,00E+16	*	
37	C03P49+B882	583	CCE03	0	8,03E+15	*	CCE07	2	1,11E+16	*	2	2,57E+16	*	
38	C3P14	583	CCE03	0	3,00E+15	*	CCE01	2	5,88E+15	*	2	1,99E+16	*	
39	C3P17	583	CCE03	0	3,93E+15	*	CCE05	2	8,00E+15	*	2	2,27E+16	*	
40	C3P31	583	CCE03	0	3,27E+15	*	CCE05	2	8,65E+15	*	2	2,31E+16	*	
41	C3P32	583	CCE03	0	3,13E+15	*	CCE01	2	5,51E+15	*	2	1,98E+16	*	
42	C3P33	583	CCE03	0	8,12E+15	*	CCE07	2	1,03E+16	*	2	2,49E+16	*	
43	C3P59	583	CCE03	0	9,08E+15	*	CCE07	2	7,60E+15	*	2	2,29E+16	*	
44	C3P60	583	CCE03	0	8,31E+15	*	CCE07	2	8,86E+15	*	2	2,43E+16	*	
45	C3P61	583	CCE03	0	8,07E+15	*	CCE07	2	9,47E+15	*	2	2,38E+16	*	
46	C3P80	583	CCE03	0	8,86E+15	*	CCE07	2	7,06E+15	*	2	2,22E+16	*	
47	C3P81	583	CCE03	0	2,15E+15	*	CCE04	2	1,11E+16	*	2	2,74E+16	*	
48	C3P83	583	CCE03	0	3,70E+15	*	CCE01	2	6,07E+15	*	2	2,03E+16	*	
49	C3P91	583	CCE03	0	7,46E+15	*	CCE01	71	0,00E+00		85	-1,86E+16	*	excluída
50	C3P95	583	CCE03	0	3,61E+15	*	CCE01	2	5,30E+15	*	2	1,92E+16	*	
51	C3P96	583	CCE03	0	1,29E+15	*	CCE04	2	1,26E+16	*	2	2,86E+16	*	
52	C3P98	583	CCE03	0	5,20E+15	*	CCE09	2	9,00E+15	*	2	2,32E+16	*	

Fonte: Da autora (2018)

No que diz respeito à progênie do clone CCE04, os resultados das análises de pedigree com o programa Cervus (TABELA 7), também apresentou-se altamente eficiente na identificação da planta parental materna CCE04 em 100 % dos casos, e com a taxa de *mismatch* entre a descendência e a parental materna igual a zero, assegurando a eficácia da técnica em identificar os possíveis parentais. Os *mismatches* entre o clone, provável parental paterno e seus descendentes foram aceitáveis, ficando em até dois SNPs de *mismatch*, em treze casos. Entretanto, dez plantas que apresentaram *mismatches* entre o provável parental paterno e os descendentes superiores a trinta e quatro SNPs, e conseqüentemente foram excluídas da análise de possível parental. Isso se deve ao fato dos valores de SNPs conflitantes serem ainda muito alto, não possibilitando que o possível parental fosse apontado. Este fato também corrobora com a ocorrência de pólen externo, distinto dos possíveis parentais analisados.

Tabela 7 – Análise de Pedigree com o programa Cervus para a progênie CCE04

	Progênie	nº SNPs	1º Parental	≠ SNPs	LOD	Sig.	2º Parental	≠ SNPs	LOD	Sig.	≠ SNPs (Trio)	Trio LOD	Trio (Sig.)	Teste de Compatibilidade
1	C04P01+B890	583	CCE04	0	1,73E+16	*	CCE02	0	9,01E+15	*	0	3,12E+16	*	
2	C04P02+B898	583	CCE04	0	2,06E+16	*	CCE01	0	9,47E+15	*	0	3,59E+16	*	
3	C04P05+M96	583	CCE04	0	1,09E+16	*	CCE06	2	1,49E+14	*	2	2,49E+16	*	
4	C04P08+M104	583	CCE04	0	1,34E+16	*	CCE02	0	8,50E+15	*	0	2,64E+16	*	
5	C04P11+M112	583	CCE04	0	1,74E+16	*	CCE02	0	9,84E+15	*	0	3,24E+16	*	
6	C04P12+M120	583	CCE04	0	2,12E+16	*	CCE01	44	-1,00E+16	-	52	1,11E+16	*	excluída
7	C04P13+M128	583	CCE04	0	1,84E+16	*	CCE02	0	9,06E+15	*	0	3,26E+16	*	
8	C04P14+M136	583	CCE04	0	1,60E+16	*	CCE02	0	1,04E+16	*	0	3,10E+16	*	
9	C04P15+B859	583	CCE04	0	2,01E+16	*	CCE01	55	-1,34E+16	-	74	1,40E+15	*	excluída
10	C04P17+B867	583	CCE04	0	1,77E+16	*	CCE02	0	9,90E+15	*	0	3,38E+16	*	
11	C04P18+B875	583	CCE04	0	1,90E+16	*	CCE02	0	8,52E+15	*	0	3,31E+16	*	
12	C04P19+B883	583	CCE04	0	1,91E+16	*	CCE02	0	7,17E+15	*	0	3,16E+16	*	
13	C04P20+B891	583	CCE04	0	1,48E+16	*	CCE07	0	4,08E+15	*	0	3,24E+16	*	
14	C04P21+B899	583	CCE04	0	9,64E+15	*	CCE06	2	-2,11E+14	-	2	2,27E+16	*	
15	C04P22+M97	583	CCE04	0	1,75E+16	*	CCE02	0	8,89E+15	*	0	3,19E+16	*	
16	C04P23+M105	583	CCE04	0	1,76E+16	*	CCE02	0	9,97E+15	*	0	3,32E+16	*	
17	C04P24+M113	583	CCE04	0	1,07E+16	*	CCE06	2	1,02E+14	*	2	2,53E+16	*	
18	C04P25+M121	583	CCE04	0	1,55E+16	*	CCE02	0	1,03E+16	*	0	3,03E+16	*	
19	C04P26+M129	583	CCE04	0	1,39E+16	*	CCE08	2	3,04E+15	*	2	2,51E+16	*	
20	C04P27+M137	583	CCE04	0	1,34E+16	*	CCE06	2	1,43E+14	*	2	2,81E+16	*	
21	C04P28+B860	583	CCE04	0	1,51E+16	*	CCE01	0	9,82E+15	*	0	2,99E+16	*	
22	C04P29+B868	583	CCE04	0	1,23E+16	*	CCE06	2	1,60E+14	*	2	2,69E+16	*	
23	C04P31+B876	583	CCE04	0	1,25E+16	*	CCE07	0	3,28E+15	*	0	2,83E+16	*	
24	C04P32+B884	583	CCE04	0	1,02E+16	*	CCE06	2	8,53E+13	*	2	2,38E+16	*	
25	C04P33+B892	583	CCE04	0	1,69E+16	*	CCE02	0	9,29E+15	*	0	3,14E+16	*	
26	C04P34+B911	583	CCE04	0	1,86E+16	*	CCE05	0	1,71E+16	*	0	3,84E+16	*	
27	C04P35+M98	583	CCE04	0	1,34E+16	*	CCE12	39	-1,12E+16	-	71	-6,70E+15	*	excluída
28	C04P38+M106	583	CCE04	0	1,53E+16	*	CCE12	0	9,06E+15	*	0	3,02E+16	*	
29	C04P39+M114	583	CCE04	0	8,40E+15	*	CCE03	1	2,80E+15	*	1	2,43E+16	*	
30	C04P44+M122	583	CCE04	0	1,23E+16	*	CCE03	1	2,64E+15	*	1	2,82E+16	*	
31	C04P46+M130	583	CCE04	0	1,66E+16	*	CCE02	0	9,47E+15	*	0	3,12E+16	*	
32	C04P47+M138	583	CCE04	0	1,46E+16	*	CCE07	0	3,00E+15	*	0	3,08E+16	*	
33	C04P48+B861	583	CCE04	0	1,43E+16	*	CCE02	0	1,18E+16	*	0	3,10E+16	*	
34	C04P49+B869	583	CCE04	0	1,20E+16	*	CCE13	57	0,00E+00		73	-6,81E+15	*	excluída
35	C04P50+B877	583	CCE04	0	1,72E+16	*	CCE12	0	9,24E+15	*	0	3,29E+16	*	
36	C04P51+B885	583	CCE04	0	1,77E+16	*	CCE02	0	9,81E+15	*	0	3,28E+16	*	
37	C04P52+B893	583	CCE04	0	1,35E+16	*	CCE13	51	0,00E+00		65	-1,64E+15	*	excluída
38	C04P54+M99	583	CCE04	0	1,66E+16	*	CCE02	0	7,97E+15	*	0	2,88E+16	*	
39	C04P55+M107	583	CCE04	0	1,24E+16	*	CCE06	2	1,37E+14	*	2	2,72E+16	*	
40	C04P59+M115	583	CCE04	0	2,19E+16	*	CCE12	0	6,67E+15	*	0	3,54E+16	*	
41	C04P60+M123	583	CCE04	0	1,84E+16	*	CCE02	0	1,09E+16	*	0	3,50E+16	*	
42	C04P61+M131	583	CCE04	0	1,36E+16	*	CCE13	57	0,00E+00		75	-4,56E+15	*	excluída
43	C4P10	583	CCE04	0	1,20E+16	*	CCE06	35	-1,48E+16	-	46	4,95E+15	*	excluída
44	C4P16	583	CCE04	0	1,88E+16	*	CCE02	0	9,46E+15	*	0	3,27E+16	*	
45	C4P3	583	CCE04	0	1,65E+16	*	CCE02	0	9,96E+15	*	0	3,17E+16	*	
46	C4P30	583	CCE04	0	1,05E+16	*	CCE13	45	0,00E+00		62	-3,37E+15	*	excluída
47	C4P37	583	CCE04	0	1,38E+16	*	CCE07	0	4,28E+15	*	0	3,08E+16	*	
48	C4P40	583	CCE04	0	1,07E+16	*	CCE06	2	1,24E+15	*	2	2,57E+16	*	
49	C4P43	583	CCE04	0	2,03E+16	*	CCE12	52	0,00E+00		71	1,38E+15	*	excluída
50	C4P45	583	CCE04	0	1,29E+16	*	CCE03	1	1,33E+15	*	1	2,83E+16	*	
51	C4P56	583	CCE04	0	1,66E+16	*	CCE05	49	-9,89E+15	-	100	-1,06E+16	*	excluída
52	C4P57	583	CCE04	0	1,40E+16	*	CCE06	2	-1,09E+15	-	2	2,74E+16	*	
53	C4P58	583	CCE04	0	1,46E+16	*	CCE02	0	1,04E+16	*	0	2,96E+16	*	
54	C4P6	583	CCE04	0	1,82E+16	*	CCE02	0	7,97E+15	*	0	3,19E+16	*	
55	C4P65	583	CCE04	0	1,57E+16	*	CCE02	0	9,09E+15	*	0	3,00E+16	*	
56	C4P7	583	CCE04	0	1,87E+16	*	CCE02	0	7,99E+15	*	0	3,21E+16	*	
57	C4P90	583	CCE04	0	1,57E+16	*	CCE12	0	8,64E+15	*	0	3,00E+16	*	

Fonte: Da autora (2018)

Quando analisados os dados da Tabela 8, observou-se um problema grave. Apenas quatorze plantas previamente identificadas como sendo sementes provenientes da planta parental materna CCE05 realmente foram indicadas como sendo prováveis descendentes da mesma, com ausência de *mismatches*. Nas outras quarenta e quatro plantas o programa indicou como sendo o possível parental materno a planta CCE06, com 100% de similaridade nos SNPs. Fato este, que sugere que possivelmente houve uma mistura das sementes que originaram o campo experimental da progênie de meios-irmãos provenientes do clone CCE05, ou ainda que houve um problema na identificação das plantas.

Vale ressaltar que, como previamente descrito na Tabela 2, onde a concordância entre os possíveis parentais foi apresentada, as plantas CCE05 e CCE06 apresentam 71,253% de similaridade, o que descarta a possibilidade de identidade entre as duas. Desta maneira sugere-se que provavelmente houve um erro humano na hora da coleta dos dados, que pode ser devido a anotações de plantas equivocadas ou até mesmo erros na hora do plantio ou colheita das sementes. Estes dados foram excluídos, pois o parental materno não pode ser identificado.

No que diz respeito à identificação dos possíveis parentais da progênie que realmente era oriunda do clone CCE05 o programa também se mostrou eficiente, pois os valores de *mismatches* gerados entre a progênie de meios-irmãos e os possíveis parentais foram de no máximo dois.

Tabela 8 – Análise de Pedigree com o programa Cervus para a progênie CCE05

	Progênie	nº SNPS	1º			2º			≠ SNPs (Trio)	Trio LOD	Trio (Sig.)	Teste de Compatibilidade		
			Parental	≠ SNPs	LOD	Sig.	Parental	≠ SNPs					LOD	
1	C05P01+M139	583	CCE06	0	1,34E+16	*	CCE03	0	1,50E+16	*	0	3,09E+16	*	excluída
2	C05P03+B862	583	CCE06	0	1,11E+16	*	CCE07	2	8,52E+15	*	2	2,36E+16	*	excluída
3	C05P04+B870	583	CCE06	0	1,87E+15	*	CCE04	2	1,18E+16	*	2	2,77E+16	*	excluída
4	C05P05+B878	583	CCE05	0	1,06E+16	*	CCE07	0	7,79E+15	*	0	2,65E+16	*	
5	C05P06+B886	583	CCE05	0	9,21E+15	*	CCE03	1	5,36E+15	*	1	2,50E+16	*	
6	C05P07+B894	583	CCE06	0	9,84E+15	*	CCE07	2	1,01E+16	*	2	2,44E+16	*	excluída
7	C05P08+B1392	583	CCE06	0	1,10E+16	*	CCE07	2	1,10E+16	*	2	2,65E+16	*	excluída
8	C05P09+M100	583	CCE06	0	1,97E+15	*	CCE05	2	7,57E+15	*	2	2,12E+16	*	excluída
9	C05P10+M108	583	CCE06	0	7,21E+15	*	CCE12	2	1,00E+16	*	2	2,17E+16	*	excluída
10	C05P11+M116	583	CCE06	0	5,05E+15	*	CCE01	70	0,00E+00		112	-2,83E+16	*	excluída
11	C05P12+M124	583	CCE05	0	1,22E+16	*	CCE07	0	7,10E+15	*	0	2,84E+16	*	
12	C05P13+M132	583	CCE06	0	8,50E+15	*	CCE07	2	1,05E+16	*	2	2,33E+16	*	excluída
13	C05P14+M140	583	CCE06	0	9,37E+15	*	CCE07	2	1,16E+16	*	2	2,56E+16	*	excluída
14	C05P15+M141	583	CCE06	0	4,89E+15	*	CCE10	2	7,52E+15	*	2	2,23E+16	*	excluída
15	C05P16+M149	583	CCE05	0	1,14E+16	*	CCE07	0	7,00E+15	*	0	2,71E+16	*	
16	C05P17+M164	583	CCE06	0	8,18E+15	*	CCE07	2	9,79E+15	*	2	2,26E+16	*	excluída
17	C05P18+M180	583	CCE06	0	8,39E+15	*	CCE07	2	1,18E+16	*	2	2,48E+16	*	excluída
18	C05P19+M196	583	CCE06	0	-4,08E+13	-	CCE04	2	1,03E+16	*	2	2,42E+16	*	excluída
19	C05P21+M211	583	CCE06	0	5,10E+15	*	CCE02	2	4,86E+15	*	2	1,96E+16	*	excluída
20	C05P22+M219	583	CCE06	0	8,26E+15	*	CCE02	2	4,63E+15	*	2	2,25E+16	*	excluída
21	C05P23+M227	583	CCE06	0	5,99E+15	*	CCE12	52	0,00E+00		105	-2,44E+16	*	excluída
22	C05P25+M243	583	CCE06	0	8,73E+15	*	CCE07	2	9,79E+15	*	2	2,32E+16	*	excluída
23	C05P26+M259	583	CCE06	0	7,11E+15	*	CCE01	65	0,00E+00		86	-1,99E+16	*	excluída
24	C05P27+M306	583	CCE06	0	8,91E+15	*	CCE07	2	8,09E+15	*	2	2,18E+16	*	excluída
25	C05P28+M314	583	CCE06	0	1,02E+16	*	CCE07	2	1,07E+16	*	2	2,53E+16	*	excluída
26	C05P29+M142	583	CCE06	0	9,95E+15	*	CCE07	2	9,64E+15	*	2	2,44E+16	*	excluída
27	C05P30+M157	583	CCE06	0	9,36E+15	*	CCE07	2	1,15E+16	*	2	2,55E+16	*	excluída
28	C05P31+M165	583	CCE06	0	1,37E+16	*	CCE03	0	1,46E+16	*	0	3,10E+16	*	excluída
29	C05P32+M181	583	CCE06	0	4,55E+15	*	CCE01	56	0,00E+00		92	-2,10E+16	*	excluída
30	C05P33+M197	583	CCE06	0	5,51E+15	*	CCE09	61	0,00E+00		83	-1,66E+16	*	excluída
31	C05P34+M212	583	CCE05	0	1,46E+16	*	CCE01	0	1,15E+16	*	0	3,08E+16	*	
32	C05P35+M220	583	CCE05	0	9,66E+15	*	CCE03	1	4,86E+15	*	1	2,53E+16	*	
33	C05P36+M228	583	CCE06	0	9,87E+15	*	CCE07	2	1,17E+16	*	2	2,53E+16	*	excluída
34	C05P38+M244	583	CCE05	0	1,04E+16	*	CCE03	1	4,90E+15	*	1	2,57E+16	*	
35	C05P41+M260	583	CCE06	0	1,41E+16	*	CCE03	0	1,48E+16	*	0	3,19E+16	*	excluída
36	C05P42+M307	583	CCE06	0	8,99E+15	*	CCE07	2	9,77E+15	*	2	2,32E+16	*	excluída
37	C05P43+M315	583	CCE06	0	7,93E+15	*	CCE07	2	1,45E+16	*	2	2,73E+16	*	excluída
38	C05P44+M143	583	CCE06	0	3,89E+15	*	CCE10	62	0,00E+00		95	-2,13E+16	*	excluída
39	C05P45+M158	583	CCE05	0	9,33E+15	*	CCE07	0	6,16E+15	*	0	2,34E+16	*	
40	C05P46+M166	583	CCE05	0	1,13E+16	*	CCE03	1	3,46E+15	*	1	2,56E+16	*	
41	C05P50+M182	583	CCE06	0	9,07E+15	*	CCE07	2	1,05E+16	*	2	2,38E+16	*	excluída
42	C05P53+M198	583	CCE05	0	1,26E+16	*	CCE01	0	1,16E+16	*	0	2,73E+16	*	
43	C05P54+M213	583	CCE06	0	1,30E+16	*	CCE03	0	1,40E+16	*	0	3,01E+16	*	excluída
44	C5P2	583	CCE06	0	9,77E+15	*	CCE07	2	1,14E+16	*	2	2,58E+16	*	excluída
45	C5P20	583	CCE06	0	8,85E+15	*	CCE07	2	1,07E+16	*	3	2,40E+16	*	excluída
46	C5P24	583	CCE06	0	1,12E+16	*	CCE07	2	9,20E+15	*	2	2,44E+16	*	excluída
47	C5P37	583	CCE06	0	1,06E+16	*	CCE07	2	1,16E+16	*	2	2,63E+16	*	excluída
48	C5P39	583	CCE06	0	1,11E+16	*	CCE07	2	1,03E+16	*	2	2,55E+16	*	excluída
49	C5P40	583	CCE06	0	-3,51E+14	-	CCE04	2	1,13E+16	*	2	2,50E+16	*	excluída
50	C5P48	583	CCE06	0	1,08E+16	*	CCE07	2	1,18E+16	*	2	2,67E+16	*	excluída
51	C5P51	583	CCE06	0	6,22E+15	*	CCE13	36	0,00E+00		104	-2,06E+16	*	excluída
52	C5P55	583	CCE06	0	8,37E+15	*	CCE07	2	1,21E+16	*	2	2,51E+16	*	excluída
53	C5P56	583	CCE05	0	1,07E+16	*	CCE07	0	6,67E+15	*	0	2,55E+16	*	
54	C5P59	583	CCE06	0	1,49E+16	*	CCE03	0	1,37E+16	*	0	3,11E+16	*	excluída
55	C5P75	583	CCE05	0	1,02E+16	*	CCE03	1	3,88E+15	*	1	2,49E+16	*	
56	C5P87	583	CCE05	0	1,22E+16	*	CCE07	0	8,18E+15	*	0	2,89E+16	*	
57	C5P91	583	CCE05	0	1,46E+16	*	CCE02	0	1,10E+16	*	0	2,92E+16	*	
58	C5P96	583	CCE06	0	7,88E+15	*	CCE08	24	-7,37E+15	-	66	-9,34E+15	*	excluída

Fonte: Da autora (2018)

A Tabela 9 demonstra que, em cinquenta e oito descendentes analisados, cinquenta e seis deles apresentaram 100% de identidade com parental materna indicada, neste caso, o clone CCE06, assegurando a eficiência da técnica. Duas plantas previamente indicadas como sendo semente oriunda da planta CCE06 apresentou o maior valor de correlação com outra planta, uma com a CCE01 e outra com a CCE05, desta maneira estas plantas foram retiradas das análises, posteriores.

Ainda dos cinquenta e seis meios-irmãos que restaram, outras trinta e uma plantas também foram retiradas da análise, isso devido ao fato de apresentarem um valor de *mismatches* com os possíveis parentais paternos, superior a vinte e um SNPs, o que faz com que a análise dos possíveis parentais não seja segura. Da mesma forma, esses dados corroboram com a possibilidade de ocorrência de pólen externo.

Tabela 9 – Análise de Pedigree com o programa Cervus para a progênie CCE06

	Progênie	nº SNPs	1º Parental	≠ SNPs	LOD	Sig.	2º Parental	≠ SNPs	LOD	Sig.	≠ SNPs (Trio)	Trio LOD	Trio (Sig.)	Teste de Compatibilidade
1	C06P02+M221	583	CCE06	0	4,79E+14	*	CCE04	2	1,13E+16	*	2	2,55E+16	*	
2	C06P03+M229	583	CCE06	0	7,71E+15	*	CCE08	22	-7,54E+15	-	76	-1,52E+16	*	excluída
3	C06P05+M245	583	CCE06	0	1,06E+16	*	CCE07	2	8,93E+15	*	2	2,39E+16	*	
4	C06P06+M261	583	CCE06	0	6,53E+15	*	CCE08	24	-6,54E+15	-	73	-1,34E+16	*	excluída
5	C06P07+M308	583	CCE06	0	5,53E+15	*	CCE08	28	0,00E+00		89	-1,99E+16	*	excluída
6	C06P08+M316	583	CCE06	0	4,67E+15	*	CCE10	38	0,00E+00		66	-8,65E+15	*	excluída
7	C06P09+M144	583	CCE06	0	6,99E+15	*	CCE08	29	0,00E+00		85	-1,87E+16	*	excluída
8	C06P12+M159	583	CCE06	0	4,13E+15	*	CCE08	42	0,00E+00		101	-2,60E+16	*	excluída
9	C06P14+M167	583	CCE06	0	4,66E+15	*	CCE04	78	0,00E+00		100	-2,28E+16	*	excluída
10	C06P15+M183	583	CCE06	0	1,11E+16	*	CCE07	2	9,58E+15	*	2	2,51E+16	*	
11	C06P16+M199	583	CCE06	0	4,13E+15	*	CCE10	44	0,00E+00		77	-1,39E+16	*	excluída
12	C06P17+M214	583	CCE06	0	1,61E+15	*	CCE04	2	1,16E+16	*	2	2,70E+16	*	
13	C06P18+M222	583	CCE06	0	6,34E+15	*	CCE01	64	0,00E+00		87	-1,98E+16	*	excluída
14	C06P19+M230	583	CCE06	0	5,49E+15	*	CCE08	24	-7,86E+15	-	83	-1,85E+16	*	excluída
15	C06P20+M246	583	CCE06	0	6,36E+15	*	CCE02	2	4,19E+15	*	2	1,96E+16	*	
16	C06P21+M262	583	CCE06	0	5,16E+15	*	CCE04	70	0,00E+00		81	-1,18E+16	*	excluída
17	C06P25+M309	583	CCE06	0	4,81E+15	*	CCE12	37	0,00E+00		97	-2,24E+16	*	excluída
18	C06P30+M317	583	CCE06	0	5,74E+15	*	CCE05	68	0,00E+00		76	-1,41E+16	*	excluída
19	C06P31+M145	583	CCE06	0	5,73E+15	*	CCE02	2	4,15E+15	*	2	1,92E+16	*	
20	C06P32+M160	583	CCE06	0	6,52E+15	*	CCE08	34	0,00E+00		95	-2,22E+16	*	excluída
21	C06P33+M168	583	CCE06	0	2,72E+15	*	CCE04	2	7,95E+15	*	2	2,38E+16	*	
22	C06P43+M184	583	CCE06	0	5,46E+15	*	CCE02	2	4,61E+15	*	2	1,96E+16	*	
23	C06P44+M200	583	CCE06	0	-7,51E+13	-	CCE04	2	1,19E+16	*	2	2,58E+16	*	
24	C06P45+M215	583	CCE06	0	6,90E+15	*	CCE13	34	-9,46E+15	-	106	-2,27E+16	*	excluída
25	C06P46+M223	583	CCE06	0	7,75E+14	*	CCE04	2	7,55E+15	*	2	2,18E+16	*	
26	C06P47+M231	583	CCE06	0	1,40E+15	*	CCE04	2	1,03E+16	*	2	2,61E+16	*	
27	C06P48+M247	583	CCE06	0	5,16E+15	*	CCE02	2	5,86E+15	*	2	2,61E+16	*	
28	C06P49+M263	583	CCE06	0	6,25E+15	*	CCE12	37	0,00E+00		105	-2,50E+16	*	excluída
29	C06P50+M310	583	CCE06	0	5,70E+15	*	CCE13	38	0,00E+00		92	-1,49E+16	*	excluída
30	C06P51+M318	583	CCE06	0	4,66E+15	*	CCE02	2	4,30E+15	*	2	1,87E+16	*	
31	C06P52+M146	583	CCE06	0	6,39E+15	*	CCE08	27	-6,85E+15	-	69	-1,14E+16	*	excluída
32	C06P53+M161	583	CCE06	0	6,18E+15	*	CCE02	2	5,89E+15	*	2	2,13E+16	*	
33	C06P54+M169	583	CCE06	0	1,31E+16	*	CCE03	0	1,50E+16	*	0	3,04E+16	*	
34	C06P55+M185	583	CCE06	0	6,44E+15	*	CCE13	45	0,00E+00		107	-2,31E+16	*	excluída
35	C06P56+M201	583	CCE06	0	5,91E+15	*	CCE02	59	0,00E+00		98	-2,40E+16	*	excluída
36	C06P57+M216	583	CCE06	0	2,34E+15	*	CCE04	2	9,57E+15	*	2	2,61E+16	*	
37	C06P58+M224	583	CCE06	0	6,81E+13	*	CCE04	2	1,01E+16	*	2	2,37E+16	*	
38	C06P59+M232	583	CCE06	0	5,30E+15	*	CCE08	23	-6,83E+15	-	92	-2,12E+16	*	excluída
39	C06P60+M248	583	CCE06	0	7,39E+15	*	CCE08	33	0,00E+00		85	-1,72E+16	*	excluída
40	C06P61+M264	583	CCE06	0	6,68E+15	*	CCE09	61	0,00E+00		73	-1,28E+16	*	excluída
41	C06P62+M311	583	CCE06	0	8,19E+15	*	CCE07	2	0,00E+00	*	2	2,48E+16	*	
42	C06P63+M319	583	CCE06	0	4,72E+15	*	CCE02	2	4,45E+15	*	2	1,86E+16	*	
43	C06P64+M147	583	CCE06	0	6,45E+15	*	CCE12	35	0,00E+00		91	-2,21E+16	*	excluída
44	C6P1	583	CCE06	0	3,64E+15	*	CCE02	2	6,40E+15	*	2	2,04E+16	*	
45	C6P11	583	CCE06	0	8,46E+15	*	CCE08	37	-1,15E+16	-	78	-1,43E+16	*	excluída
46	C6P13	583	CCE06	0	6,04E+15	*	CCE05	67	0,00E+00		73	-1,20E+16	*	excluída
47	C6P22	583	CCE05	0	1,23E+16	*	CCE07	0	8,39E+15	*	0	2,91E+16	*	excluída
48	C6P23	583	CCE06	0	8,65E+15	*	CCE07	2	9,83E+15	*	2	2,36E+16	*	
49	C6P27	583	CCE06	0	8,07E+15	*	CCE08	30	-1,05E+16	-	84	-1,81E+16	*	excluída
50	C6P28	583	CCE06	0	6,56E+15	*	CCE08	32	0,00E+00		96	-2,33E+16	*	excluída
51	C6P29	583	CCE06	0	8,40E+15	*	CCE07	2	1,16E+16	*	2	2,43E+16	*	
52	C6P34	583	CCE06	0	4,67E+15	*	CCE10	53	0,00E+00		96	-2,21E+16	*	excluída
53	C6P35	583	CCE06	0	5,74E+15	*	CCE05	68	0,00E+00		76	-1,41E+16	*	excluída
54	C6P36	583	CCE06	0	1,02E+16	*	CCE07	2	1,13E+16	*	2	2,58E+16	*	
55	C6P37	583	CCE06	0	5,60E+15	*	CCE02	2	6,12E+15	*	2	2,15E+16	*	
56	C6P38	583	CCE06	0	1,25E+15	*	CCE04	2	8,52E+15	*	2	2,33E+16	*	
57	C6P39	583	CCE06	0	7,34E+15	*	CCE13	34	0,00E+00		92	-1,79E+16	*	excluída
58	C6P40	583	CCE01	42	-9,80E+15	-	CCE13	54	0,00E+00		121	-3,23E+16	*	excluída

Fonte: Da autora (2018)

Conforme pode ser visto na Tabela 10, abaixo, o programa identificou a planta parental materna CCE07 para todos os descendentes, com 100% dos SNPs similares, de acordo com o esperado. Para a identificação dos possíveis parentais paternos foram aceitos até dois *mismatches*. No entanto, vinte e sete descendentes de meios-irmãos apresentaram-se com mais de dezoito *mismatches* de acordo com a análise do programa Cervus, o que resultou na exclusão dos dados nas análises posteriores, pois o valor de *mismatches* era alto para inferir o possível parental paterno.

Tabela 10 – Análise de Pedigree com o programa Cervus para a progênie CCE07

	Progênie	nº SNPS	1º Parental	≠ SNPs	LOD	Sig.	2º Parental	≠ SNPs	LOD	Sig.	≠ SNPs (Trio)	Trio LOD	Trio (Sig.)	Teste de Compatibilidade
1	C07P01+M162	583	CCE07	0	6,98E+15	*	CCE05	37	-5,51E+15	-	53	2,93E+15	*	excluída
2	C07P02+M170	583	CCE07	0	1,11E+16	*	CCE08	2	8,10E+15	*	2	2,34E+16	*	
3	C07P03+M186	583	CCE07	0	5,40E+15	*	CCE09	40	-1,09E+16	-	78	-1,15E+16	*	excluída
4	C07P04+M202	583	CCE07	0	7,69E+15	*	CCE05	0	1,24E+16	*	0	2,90E+16	*	
5	C07P05+M217	583	CCE07	0	7,34E+15	*	CCE04	63	0,00E+00		81	-1,00E+16	*	excluída
6	C07P06+M225	583	CCE07	0	1,02E+16	*	CCE08	2	7,18E+15	*	2	2,17E+16	*	
7	C07P07+M233	583	CCE07	0	7,40E+15	*	CCE09	52	0,00E+00		80	-1,48E+16	*	excluída
8	C07P08+M249	583	CCE07	0	5,91E+15	*	CCE01	40	-9,09E+15	-	60	-2,08E+15	*	excluída
9	C07P09+M265	583	CCE07	0	1,04E+16	*	CCE02	0	1,21E+16	*	0	2,65E+16	*	
10	C07P11+M312	583	CCE07	0	6,04E+15	*	CCE09	45	0,00E+00		68	-8,78E+15	*	excluída
11	C07P12+M320	583	CCE07	0	7,87E+15	*	CCE09	47	0,00E+00		67	-8,75E+15	*	excluída
12	C07P13+M148	583	CCE07	0	9,22E+15	*	CCE12	41	0,00E+00		44	-5,60E+14	*	excluída
13	C07P14+M163	583	CCE07	0	7,49E+15	*	CCE05	0	1,08E+16	*	0	2,63E+16	*	
14	C07P15+M171	583	CCE07	0	9,21E+15	*	CCE08	43	-1,32E+16	-	88	-1,67E+16	*	excluída
15	C07P16+M187	583	CCE07	0	9,17E+15	*	CCE05	64	0,00E+00		95	-1,57E+16	*	excluída
16	C07P17+M203	583	CCE07	0	6,96E+15	*	CCE05	0	1,24E+16	*	0	2,86E+16	*	
17	C07P20+M218	583	CCE07	0	8,00E+15	*	CCE02	39	-7,42E+15	-	77	-1,01E+16	*	excluída
18	C07P23+M226	583	CCE07	0	1,14E+16	*	CCE06	2	9,84E+15	*	2	2,54E+16	*	
19	C07P24+M234	583	CCE07	0	1,05E+16	*	CCE02	0	9,34E+15	*	0	2,42E+16	*	
20	C07P25+M250	583	CCE07	0	8,28E+15	*	CCE01	48	0,00E+00		70	-8,65E+15	*	excluída
21	C07P26+M266	583	CCE07	0	7,68E+15	*	CCE10	55	0,00E+00		80	-1,31E+16	*	excluída
22	C07P27+M313	583	CCE07	0	5,12E+15	*	CCE09	30	0,00E+00		60	-4,51E+15	*	excluída
23	C07P28+M321	583	CCE07	0	1,02E+16	*	CCE02	0	1,02E+16	*	0	2,38E+16	*	
24	C07P29+M322	583	CCE07	0	6,81E+15	*	CCE09	0	1,01E+16	*	0	2,51E+16	*	
25	C07P30+M353	583	CCE07	0	1,20E+16	*	CCE06	2	8,27E+15	*	2	2,48E+16	*	
26	C07P31+M361	583	CCE07	0	1,05E+16	*	CCE06	2	8,42E+15	*	2	2,32E+16	*	
27	C07P32+M369	583	CCE07	0	3,20E+15	*	CCE04	0	1,24E+16	*	0	2,77E+16	*	
28	C07P33+M377	583	CCE07	0	7,07E+15	*	CCE10	0	8,82E+15	*	0	2,47E+16	*	
29	C07P35+M408	583	CCE07	0	8,19E+15	*	CCE01	54	0,00E+00		78	-1,42E+16	*	excluída
30	C07P36+M416	583	CCE07	0	8,15E+15	*	CCE02	38	0,00E+00		90	-1,71E+16	*	excluída
31	C07P37+M424	583	CCE07	0	4,13E+15	*	CCE01	0	8,01E+15	*	0	2,08E+16	*	
32	C07P39+M432	583	CCE07	0	1,18E+16	*	CCE06	2	7,39E+15	*	2	2,43E+16	*	
33	C07P40+M440	583	CCE07	0	6,09E+15	*	CCE13	19	-2,95E+15	-	44	2,23E+15	*	excluída
34	C07P41+M462	583	CCE07	0	1,27E+16	*	CCE06	2	8,45E+15	*	2	2,54E+16	*	
35	C07P42+M478	583	CCE07	0	5,96E+15	*	CCE09	51	0,00E+00		69	-1,10E+16	*	excluída
36	C07P44+M323	583	CCE07	0	7,14E+15	*	CCE09	34	0,00E+00		62	-5,81E+15	*	excluída
37	C07P45+M354	583	CCE07	0	7,38E+15	*	CCE10	0	8,95E+15	*	0	2,46E+16	*	
38	C07P46+M362	583	CCE07	0	3,69E+15	*	CCE04	0	1,52E+16	*	0	3,16E+16	*	
39	C07P47+M370	583	CCE07	0	7,92E+15	*	CCE02	42	-1,31E+16	-	99	-2,20E+16	*	excluída
40	C07P48+M378	583	CCE07	0	7,05E+15	*	CCE10	55	0,00E+00		78	-1,30E+16	*	excluída
41	C07P49+M409	583	CCE07	0	8,42E+15	*	CCE10	58	0,00E+00		85	-1,43E+16	*	excluída
42	C07P50+M417	583	CCE07	0	1,12E+16	*	CCE06	2	1,12E+16	*	2	2,71E+16	*	
43	C07P51+M425	583	CCE07	0	7,56E+15	*	CCE09	59	0,00E+00		78	-1,33E+16	*	excluída
44	C7P10	583	CCE07	0	7,84E+15	*	CCE04	76	0,00E+00		89	-1,19E+16	*	excluída
45	C7P100	583	CCE07	0	8,37E+15	*	CCE03	1	9,10E+15	*	1	2,44E+16	*	
46	C7P19	583	CCE07	0	5,71E+15	*	CCE12	0	4,87E+15	*	0	2,04E+16	*	
47	C7P21	583	CCE07	0	7,52E+15	*	CCE08	20	-5,37E+15	-	72	-1,13E+16	*	excluída
48	C7P22	583	CCE07	0	3,27E+15	*	CCE01	0	7,45E+15	*	0	1,95E+16	*	
49	C7P38	583	CCE07	0	6,58E+15	*	CCE09	0	1,00E+16	*	0	2,50E+16	*	
50	C7P52	583	CCE07	0	1,04E+16	*	CCE06	2	8,84E+15	*	2	2,35E+16	*	
51	C7P55	583	CCE07	0	1,28E+16	*	CCE06	2	9,14E+15	*	2	2,66E+16	*	
52	C7P56	583	CCE07	0	1,26E+16	*	CCE06	2	9,85E+15	*	2	2,69E+16	*	
53	C7P57	583	CCE07	0	1,07E+16	*	CCE08	2	8,63E+15	*	2	2,31E+16	*	
54	C7P58	583	CCE07	0	8,31E+15	*	CCE01	55	0,00E+00		69	-9,79E+15	*	excluída
55	C7P60	583	CCE07	0	5,03E+15	*	CCE01	0	8,91E+15	*	0	2,33E+16	*	
56	C7P94	583	CCE07	0	4,70E+15	*	CCE12	40	-1,37E+16	-	77	-1,33E+16	*	excluída
57	C7P95	583	CCE07	0	4,84E+15	*	CCE12	0	5,78E+15	*	0	2,01E+16	*	
58	C7P96	583	CCE07	0	5,39E+15	*	CCE09	0	8,16E+15	*	0	2,22E+16	*	

Fonte: Da autora (2018)

Quando analisados os dados abaixo (Tabela 11), pôde-se observar que houve 100% de similaridade entre os SNPs da descendência com a planta parental materna CCE08, corroborando as informações prévias, de que as sementes constavam como sendo oriundas deste clone. Em relação ao possível parental paterno, algumas plantas apresentaram até dois *mismatches*, dentro dos valores aceitáveis. No entanto, trinta e duas plantas apresentaram valores de SNPs discordantes maiores que vinte e nove, fazendo com que estes fossem retirados das análises posteriores.

Os valores de *mismatches* encontrados entre a progênie de meios-irmãos e os possíveis parentais paternos do campo experimental de canéfora, asseguram as evidências de contaminação por pólen externo.

Tabela 11 – Análise de Pedigree com o programa Cervus para a progênie CCE08

	Progênie	nº SNPs	1º Parental	2º Parental	3º Parental	4º Parental	5º Parental	6º Parental	7º Parental	8º Parental	9º Parental	10º Parental	11º Parental	12º Parental	13º Parental	14º Parental	15º Parental	16º Parental	17º Parental	18º Parental	19º Parental	20º Parental	21º Parental	22º Parental	23º Parental	24º Parental	25º Parental	26º Parental	27º Parental	28º Parental	29º Parental	30º Parental	31º Parental	32º Parental	33º Parental	34º Parental	35º Parental	36º Parental	37º Parental	38º Parental	39º Parental	40º Parental	41º Parental	42º Parental	43º Parental	44º Parental	45º Parental	46º Parental	47º Parental	48º Parental	49º Parental	50º Parental	51º Parental	52º Parental	53º Parental	54º Parental	55º Parental	56º Parental	57º Parental
1	C08P02+M441	583	CCE08	0	5,95E+15	*	CCE03	51	0,00E+00		91	-1,94E+16	*	excluída																																													
2	C08P03+M463	583	CCE08	0	5,13E+15	*	CCE02	47	0,00E+00		75	-1,72E+16	*	excluída																																													
3	C08P04+M479	583	CCE08	0	6,26E+15	*	CCE09	45	0,00E+00		78	-1,53E+16	*	excluída																																													
4	C08P05+M324	583	CCE08	0	6,75E+15	*	CCE04	2	1,29E+16	*	2	2,67E+16	*																																														
5	C08P06+M355	583	CCE08	0	6,18E+15	*	CCE13	56	0,00E+00		94	-2,28E+16	*	excluída																																													
6	C08P07+M363	583	CCE08	0	7,26E+15	*	CCE06	43	-1,10E+16	-	85	-1,52E+16	*	excluída																																													
7	C08P08+M371	583	CCE08	0	6,21E+15	*	CCE02	2	6,43E+15	*	2	1,85E+16	*																																														
8	C08P09+M379	583	CCE08	0	2,13E+15	*	CCE12	2	5,45E+15	*	2	1,53E+16	*																																														
9	C08P10+M410	583	CCE08	0	6,78E+15	*	CCE01	50	-1,50E+16	-	90	-2,07E+16	*	excluída																																													
10	C08P11+M418	583	CCE08	0	4,68E+15	*	CCE01	34	-9,26E+15	-	77	-1,85E+16	*	excluída																																													
11	C08P12+M426	583	CCE08	0	7,76E+15	*	CCE09	41	-1,06E+16	-	59	-7,31E+15	*	excluída																																													
12	C08P13+M434	583	CCE08	0	8,36E+15	*	CCE02	2	4,55E+15	*	2	1,98E+16	*																																														
13	C08P14+M442	583	CCE08	0	6,42E+15	*	CCE02	49	0,00E+00		70	-1,32E+16	*	excluída																																													
14	C08P15+M464	583	CCE08	0	8,38E+15	*	CCE10	33	0,00E+00		52	2,50E+14	*	excluída																																													
15	C08P16+M480	583	CCE08	0	1,00E+16	*	CCE07	2	7,05E+15	*	2	2,13E+16	*																																														
16	C08P17+M325	583	CCE08	0	7,17E+15	*	CCE01	41	-1,07E+16	-	75	-1,51E+16	*	excluída																																													
17	C08P18+M356	583	CCE08	0	4,45E+15	*	CCE04	2	1,40E+16	*	2	2,70E+16	*																																														
18	C08P20+M364	583	CCE08	0	9,09E+15	*	CCE07	39	-1,09E+16	-	69	-8,61E+15	*	excluída																																													
19	C08P21+M372	583	CCE08	0	6,75E+15	*	CCE02	2	8,09E+15	*	2	2,10E+16	*																																														
20	C08P22+M380	583	CCE08	0	5,72E+15	*	CCE02	2	7,40E+15	*	2	1,91E+16	*																																														
21	C08P23+M411	583	CCE08	0	5,24E+15	*	CCE02	51	0,00E+00		73	-1,51E+16	*	excluída																																													
22	C08P24+M419	583	CCE08	0	6,93E+15	*	CCE12	52	0,00E+00		65	-1,15E+16	*	excluída																																													
23	C08P25+M427	583	CCE08	0	6,87E+15	*	CCE13	54	0,00E+00		84	-1,69E+16	*	excluída																																													
24	C08P26+M435	583	CCE08	0	4,87E+15	*	CCE05	58	0,00E+00		79	-1,62E+16	*	excluída																																													
25	C08P27+M443	583	CCE08	0	3,25E+15	*	CCE02	2	1,08E+16	*	2	1,97E+16	*																																														
26	C08P29+M465	583	CCE08	0	6,77E+15	*	CCE07	2	1,14E+16	*	2	2,16E+16	*																																														
27	C08P30+M481	583	CCE08	0	6,30E+15	*	CCE07	2	1,04E+16	*	2	2,02E+16	*																																														
28	C08P31+M326	583	CCE08	0	7,04E+15	*	CCE10	53	0,00E+00		72	-1,06E+16	*	excluída																																													
29	C08P32+M357	583	CCE08	0	5,67E+15	*	CCE05	2	1,22E+16	*	2	2,37E+16	*																																														
30	C08P33+M365	583	CCE08	0	5,98E+15	*	CCE01	32	-7,06E+15	-	67	-1,20E+16	*	excluída																																													
31	C08P35+M373	583	CCE08	0	5,74E+15	*	CCE05	2	1,05E+16	*	2	2,20E+16	*																																														
32	C08P36+M381	583	CCE08	0	7,51E+15	*	CCE01	49	-1,36E+16	-	83	-1,76E+16	*	excluída																																													
33	C08P37+M412	583	CCE08	0	9,45E+15	*	CCE01	37	-6,32E+15	-	67	-8,89E+15	*	excluída																																													
34	C08P38+M420	583	CCE08	0	6,43E+15	*	CCE10	42	-7,64E+15	-	65	-8,44E+15	*	excluída																																													
35	C08P39+M428	583	CCE08	0	6,43E+15	*	CCE10	52	0,00E+00		83	-2,06E+16	*	excluída																																													
36	C08P40+M436	583	CCE08	0	8,19E+15	*	CCE03	0	8,66E+15	*	0	2,32E+16	*																																														
37	C08P41+M444	583	CCE08	1	5,65E+15	*	CCE01	47	-1,42E+16	-	86	-2,07E+16	*	excluída																																													
38	C08P42+M466	583	CCE08	0	4,14E+15	*	CCE04	2	1,33E+16	*	2	2,55E+16	*																																														
39	C08P43+M482	583	CCE08	0	7,77E+15	*	CCE10	51	-1,26E+16	-	79	-1,42E+16	*	excluída																																													
40	C08P44+M327	583	CCE08	0	4,71E+15	*	CCE04	2	1,16E+16	*	2	2,23E+16	*																																														
41	C08P45+M358	583	CCE08	0	3,62E+15	*	CCE04	2	1,17E+16	*	2	2,30E+16	*																																														
42	C08P46+M366	583	CCE08	0	3,65E+15	*	CCE04	2	1,41E+16	*	2	2,53E+16	*																																														
43	C8P19	583	CCE08	0	7,03E+15	*	CCE10	48	0,00E+00		68	-9,86E+15	*	excluída																																													
44	C8P34	583	CCE08	0	8,62E+15	*	CCE09	53	0,00E+00		67	-8,98E+15	*	excluída																																													
45	C8P59	583	CCE08	0	3,00E+15	*	CCE12	2	7,05E+15	*	2	1,70E+16	*																																														
46	C8P60	583	CCE08	0	3,26E+15	*	CCE12	2	3,28E+15	*	2	1,38E+16	*																																														
47	C8P61	583	CCE08	0	3,64E+15	*	CCE04	2	1,62E+16	*	2	2,85E+16	*																																														
48	C8P62	583	CCE08	0	6,36E+15	*	CCE09	53	-1,64E+16	-	86	-1,79E+16	*	excluída																																													
49	C8P64	583	CCE08	0	8,12E+15	*	CCE02	61	0,00E+00		76	-1,50E+16	*	excluída																																													
50	C8P75	583	CCE08	0	7,87E+15	*	CCE09	34	0,00E+00		65	-8,05E+15	*	excluída																																													
51	C8P76	583	CCE08	0	7,69E+15	*	CCE02	2	6,22E+15	*	2	2,14E+16	*																																														
52	C8P78	583	CCE08	0	4,79E+15	*	CCE12	2	5,00E+15	*	2	1,76E+16	*																																														
53	C8P79	583	CCE08	0	9,62E+15	*	CCE10	36	-5,53E+15	-	62	-5,77E+15	*	excluída																																													
54	C8P80	583	CCE08	0	4,85E+15	*	CCE04	2	1,58E+16	*	2	2,92E+16	*																																														
55	C8P88	583	CCE08	0	5,49E+15	*	CCE01	30	-6,02E+15	-	55	-8,45E+15	*	excluída																																													
56	C8P89	583	CCE08	0	8,33E+15	*	CCE01	48	-1,43E+16	-	70	-1,33E+16	*	excluída																																													
57	C8P90	583	CCE08	0	9,13E+15	*	CCE07	2	9,34E+15	*	2	2,22E+16	*																																														

Fonte: Da autora (2018)

Quando analisados os dados da Tabela 12, pôde-se verificar que a similaridade entre os SNPs da progênie de meios-irmãos com o possível parental materno foi de 100%, conforme o esperado, pois a descendência era proveniente deste clone. Em relação ao possível parental paterno, algumas plantas apresentaram até dois *mismatches*, dentro dos valores aceitáveis. Entretanto, quatorze plantas apresentaram valores de SNPs discordantes maiores que vinte e dois, o que fez com que estes descendentes fossem retirados das análises posteriores de compatibilidade.

Tabela 12 – Análise de Pedigree com o programa Cervus para a progênie CCE12

	Progênie	nº SNPs	1º Parental	≠ SNPs	LOD	Sig.	2º Parental	≠ SNPs	LOD	Sig.	≠ SNPs (Trio)	Trio LOD	Trio (Sig.)	Teste de Compatibilidade
1	C12P01+M1559	583	CCE12	0	8,36E+15	*	CCE10	37	-8,38E+15	-	61	-6,92E+15	*	excluída
2	C12P02+M1568	583	CCE12	0	8,06E+15	*	CCE03	1	5,90E+15	*	2	2,05E+16	*	
3	C12P03+M494	583	CCE12	0	5,32E+15	*	CCE07	0	4,72E+15	*	0	2,02E+16	*	
4	C12P04+M510	583	CCE12	0	5,04E+15	*	CCE07	0	5,70E+15	*	0	1,95E+16	*	
5	C12P05+M518	583	CCE12	0	7,21E+15	*	CCE09	0	1,33E+16	*	0	2,59E+16	*	
6	C12P06+M548	583	CCE12	0	1,01E+16	*	CCE10	0	8,28E+15	*	0	2,10E+16	*	
7	C12P07+M993	583	CCE12	0	8,13E+15	*	CCE10	0	1,34E+16	*	0	2,59E+16	*	
8	C12P09+M1513R	583	CCE12	0	6,86E+15	*	CCE01	35	-7,16E+15	-	75	-1,19E+16	*	excluída
9	C12P10+M1524	583	CCE12	0	8,11E+15	*	CCE09	0	1,43E+16	*	0	2,80E+16	*	
10	C12P11+M1534	583	CCE13	1	1,03E+16	*	CCE12	0	1,01E+16	*	1	2,39E+16	*	
11	C12P12+M1542	583	CCE12	0	7,37E+15	*	CCE04	70	0,00E+00		99	-1,77E+16	*	excluída
12	C12P13+M1551	583	CCE12	0	8,59E+15	*	CCE10	0	1,34E+16	*	0	2,66E+16	*	
13	C12P14+M1560	583	CCE12	0	5,78E+15	*	CCE04	0	1,54E+16	*	0	2,81E+16	*	
14	C12P15+M899	583	CCE12	0	8,16E+15	*	CCE01	0	1,25E+16	*	0	2,46E+16	*	
15	C12P16+M495	583	CCE12	0	4,02E+15	*	CCE07	0	7,27E+15	*	0	2,03E+16	*	
16	C12P17+M511	583	CCE12	0	5,93E+15	*	CCE08	57	0,00E+00		78	-1,89E+16	*	excluída
17	C12P18+M519	583	CCE12	0	5,68E+15	*	CCE08	2	4,60E+15	*	2	1,87E+16	*	
18	C12P19+M549	583	CCE12	0	7,37E+15	*	CCE10	0	1,14E+16	*	0	2,26E+16	*	
19	C12P20+M896	583	CCE12	0	4,63E+15	*	CCE07	0	6,21E+15	*	0	2,01E+16	*	
20	C12P21	583	CCE12	0	5,79E+15	*	CCE07	0	5,50E+15	*	0	2,06E+16	*	
21	C12P22+M1514	583	CCE12	0	8,18E+15	*	CCE03	34	0,00E+00		77	-1,19E+16	*	excluída
22	C12P23+M1525	583	CCE12	0	9,89E+15	*	CCE01	23	4,42E+14	*	37	8,66E+15	*	excluída
23	C12P24	583	CCE12	0	9,63E+15	*	CCE10	0	1,24E+16	*	0	2,69E+16	*	
24	C12P27	583	CCE12	0	8,17E+15	*	CCE10	25	-1,35E+15	-	57	-9,46E+14	*	excluída
25	C12P28	583	CCE12	0	8,28E+15	*	CCE03	1	6,58E+15	*	1	2,17E+16	*	
26	C12P29	583	CCE12	0	9,40E+15	*	CCE10	0	1,48E+16	*	0	2,91E+16	*	
27	C12P30	583	CCE12	0	9,33E+15	*	CCE01	0	1,01E+16	*	0	2,25E+16	*	
28	C12P32+M1543	583	CCE12	0	8,86E+15	*	CCE03	1	8,13E+15	*	1	2,40E+16	*	
29	C12P33+M1552	583	CCE12	0	1,04E+16	*	CCE10	0	1,18E+16	*	0	2,68E+16	*	
30	C12P34+M1561	583	CCE12	0	8,12E+15	*	CCE09	47	0,00E+00		74	-1,28E+16	*	excluída
31	C12P35+M900	583	CCE12	0	9,49E+15	*	CCE10	0	1,38E+16	*	0	2,75E+16	*	
32	C12P36+M496	583	CCE12	0	9,24E+15	*	CCE10	0	1,39E+16	*	0	2,75E+16	*	
33	C12P37+M512	583	CCE12	0	9,71E+15	*	CCE10	0	1,16E+16	*	0	2,51E+16	*	
34	C12P38+M520	583	CCE12	0	5,77E+15	*	CCE07	0	3,76E+15	*	0	1,98E+16	*	
35	C12P39+M550	583	CCE12	0	8,78E+15	*	CCE10	0	1,43E+16	*	0	2,79E+16	*	
36	C12P40	583	CCE12	0	4,78E+15	*	CCE07	0	5,53E+15	*	0	2,01E+16	*	
37	C12P42+M1515	583	CCE12	0	7,07E+15	*	CCE07	0	3,80E+15	*	0	2,08E+16	*	
38	C12P43+M1526	583	CCE12	0	1,12E+16	*	CCE13	1	9,06E+15	*	1	2,49E+16	*	
39	C12P44+M1536	583	CCE12	0	1,03E+16	*	CCE01	33	-6,75E+15	-	63	-5,52E+15	*	excluída
40	C12P45	583	CCE12	0	9,86E+15	*	CCE10	0	1,43E+16	*	0	2,92E+16	*	
41	C12P46+M1544	583	CCE12	0	6,19E+15	*	CCE07	0	4,81E+15	*	0	2,03E+16	*	
42	C12P47+M1553	583	CCE12	0	6,50E+15	*	CCE05	47	0,00E+00		80	-1,18E+16	*	excluída
43	C12P48+M1562	583	CCE12	0	9,40E+15	*	CCE10	32	-5,46E+15	-	69	-6,27E+15	*	excluída
44	C12P49+M973	583	CCE12	0	1,04E+16	*	CCE01	0	1,35E+16	*	0	2,82E+16	*	
45	C12P50+M497	583	CCE12	0	1,00E+16	*	CCE13	38	-9,57E+15	-	77	-1,06E+16	*	excluída
46	C12P51+M513	583	CCE12	0	4,99E+15	*	CCE07	0	4,99E+15	*	0	1,97E+16	*	
47	C12P52+M521	583	CCE12	0	1,09E+16	*	CCE10	36	-8,16E+15	-	68	-6,71E+15	*	excluída
48	C12P53+M551	583	CCE12	0	1,00E+16	*	CCE10	0	1,24E+16	*	0	2,59E+16	*	
49	C12P54+M816R	583	CCE12	0	4,07E+15	*	CCE08	2	3,37E+15	*	2	1,57E+16	*	
50	C12P70	583	CCE12	0	7,75E+15	*	CCE13	1	9,76E+15	*	1	2,22E+16	*	
51	C12P71	583	CCE12	0	8,18E+15	*	CCE02	45	-1,22E+16	-	84	-1,22E+16	*	excluída
52	C12P76	583	CCE12	0	8,33E+15	*	CCE03	1	8,07E+15	*	1	2,29E+16	*	
53	C12P77	583	CCE12	0	5,77E+15	*	CCE07	0	5,69E+15	*	0	2,02E+16	*	
54	C12P79	583	CCE12	0	7,28E+15	*	CCE07	0	4,24E+15	*	0	2,16E+16	*	
55	C12P8	583	CCE12	0	4,72E+15	*	CCE07	0	7,45E+15	*	0	2,11E+16	*	
56	C12P84	583	CCE12	0	6,25E+15	*	CCE08	2	4,94E+15	*	2	1,93E+16	*	

Fonte: Da autora (2018)

A planta CCE13 foi indicada em 100% dos casos como sendo a possível parental materna de sua progênie, com taxa de *mismatch* igual a zero, no entanto, nos resultados obtidos de identificação do possível parental paterno (TABELA 13), em apenas vinte do total de descendentes o resultado foi de até dois *mismatches*. As maiorias dos possíveis parentais paternos obtiveram uma taxa de *mismatches* superior a dezessete, o que está acima do que foi estabelecido como aceitável para que se encontre a possível paternidade e assim foram retirados da análise.

Pode-se ainda ser observado que os possíveis contaminantes encontravam-se a oeste do campo experimental onde os clones de CCEs, possíveis parentais, estavam localizados em Planaltina - DF.

Os clones de CCE13 encontravam-se mais próximos aos possíveis contaminantes e foi nesta progênie de meios-irmãos que houve um maior número de *mismatches* com os possíveis parentais paternos, sugerindo assim que a contaminação de pólen oriunda de outros canéforas externos a este campo experimental teve uma relação com a proximidade, visto que quanto mais próximo o parental materno estava dos possíveis contaminantes, maior foi o número de plantas às quais não foram possíveis de identificar o provável parental paterno.

Tabela 13 – Análise de Pedigree com o programa Cervus para a progênie CCE13

	Progênie	nº SNPs	1º Parental	≠ SNPs	LOD	Sig.	2º Parental	≠ SNPs	LOD	Sig.	≠ SNPs (Trio)	Trio LOD	Trio (Sig.)	Teste de Compatibilidade
1	C13P1+M1517	583	CCE13	0	8,04E+15	*	CCE08	56	-1,93E+16	-	90	-1,79E+16	*	excluída
2	C13P10	583	CCE13	0	6,75E+15	*	CCE07	2	7,24E+15	*	2	2,21E+16	*	
3	C13P11	583	CCE13	0	1,16E+16	*	CCE05	75	0,00E+00		95	-1,62E+16	*	excluída
4	C13P12+M974	583	CCE13	0	7,58E+15	*	CCE10	2	7,36E+15	*	2	2,37E+16	*	
5	C13P14+M498	583	CCE13	0	1,02E+16	*	CCE01	56	0,00E+00		73	-1,30E+16	*	excluída
6	C13P15+M514	583	CCE13	0	9,30E+15	*	CCE08	48	-1,82E+16	-	83	-1,65E+16	*	excluída
7	C13P16+M522	583	CCE13	0	9,52E+15	*	CCE05	59	0,00E+00		86	-1,35E+16	*	excluída
8	C13P17+M552	583	CCE13	0	1,10E+16	*	CCE03	38	-9,93E+15	-	79	-9,35E+15	*	excluída
9	C13P18+M823R	583	CCE13	0	9,35E+15	*	CCE12	2	1,02E+16	*	2	2,37E+16	*	
10	C13P19+M1519	583	CCE13	0	8,58E+15	*	CCE02	2	5,78E+15	*	2	2,19E+16	*	
11	C13P2+M1527	583	CCE13	0	1,05E+16	*	CCE05	64	-1,78E+16	-	78	-1,01E+16	*	excluída
12	C13P21+M1528	583	CCE13	0	9,97E+15	*	CCE09	58	0,00E+00		90	-1,66E+16	*	excluída
13	C13P22+M1538	583	CCE13	0	9,24E+15	*	CCE10	62	0,00E+00		80	-1,22E+16	*	excluída
14	C13P23+M1546	583	CCE13	0	1,06E+16	*	CCE10	59	0,00E+00		79	-1,19E+16	*	excluída
15	C13P24+M1555	583	CCE13	0	1,01E+16	*	CCE09	52	0,00E+00		66	-4,78E+15	*	excluída
16	C13P25+M1564	583	CCE13	0	1,35E+16	*	CCE03	0	1,15E+16	*	0	2,97E+16	*	
17	C13P27+M975	583	CCE13	0	1,01E+16	*	CCE01	56	0,00E+00		87	-1,69E+16	*	excluída
18	C13P28+M499	583	CCE13	0	1,31E+16	*	CCE12	2	6,89E+15	*	2	2,38E+16	*	
19	C13P29+M515	583	CCE13	0	1,20E+16	*	CCE12	2	8,44E+15	*	2	2,40E+16	*	
20	C13P3	583	CCE13	0	8,94E+15	*	CCE07	2	4,73E+15	*	2	2,25E+16	*	
21	C13P30+M523	583	CCE13	0	8,29E+15	*	CCE10	2	9,13E+15	*	2	2,62E+16	*	
22	C13P31+M719R	583	CCE13	0	1,09E+16	*	CCE03	44	-1,28E+16	-	102	-1,75E+16	*	excluída
23	C13P32+M827R	583	CCE13	0	7,91E+15	*	CCE10	53	0,00E+00		67	-8,09E+15	*	excluída
24	C13P33	583	CCE13	0	7,06E+15	*	CCE10	2	7,39E+15	*	2	2,31E+16	*	
25	C13P34+M1520	583	CCE13	0	1,02E+16	*	CCE05	68	0,00E+00		91	-1,58E+16	*	excluída
26	C13P35+M1531	583	CCE13	0	1,12E+16	*	CCE08	44	0,00E+00		79	-1,47E+16	*	excluída
27	C13P37	583	CCE13	0	1,08E+16	*	CCE08	60	0,00E+00		83	-1,60E+16	*	excluída
28	C13P38+M1539	583	CCE13	0	8,42E+15	*	CCE12	34	-9,67E+15	-	85	-1,49E+16	*	excluída
29	C13P4+M1537	583	CCE13	0	1,11E+16	*	CCE05	64	-1,78E+16	-	80	-9,10E+15	*	excluída
30	C13P40+M1547	583	CCE13	0	1,15E+16	*	CCE08	49	-1,75E+16	-	68	-9,43E+15	*	excluída
31	C13P41+M1556	583	CCE13	0	7,60E+15	*	CCE01	42	0,00E+00		76	-1,27E+16	*	excluída
32	C13P42	583	CCE13	0	1,18E+16	*	CCE12	46	-1,48E+16	-	87	-1,53E+16	*	excluída
33	C13P43+M1565	583	CCE13	0	6,81E+15	*	CCE10	2	8,69E+15	*	2	2,43E+16	*	
34	C13P44+M991	583	CCE13	0	1,14E+16	*	CCE12	65	0,00E+00		91	-1,49E+16	*	excluída
35	C13P45+M508	583	CCE13	0	1,03E+16	*	CCE12	42	-1,31E+16	-	80	-1,22E+16	*	excluída
36	C13P46+M516	583	CCE13	0	9,46E+15	*	CCE02	2	6,53E+15	*	2	2,30E+16	*	
37	C13P47+M546	583	CCE13	0	8,01E+15	*	CCE02	2	6,36E+15	*	2	2,18E+16	*	
38	C13P49+M872R	583	CCE13	0	9,64E+15	*	CCE04	79	0,00E+00		92	-1,34E+16	*	excluída
39	C13P5	583	CCE13	0	1,09E+16	*	CCE12	18	-7,50E+14	-	47	3,44E+15	*	excluída
40	C13P50+M1521	583	CCE13	0	1,09E+16	*	CCE12	52	-1,73E+16	-	98	-1,97E+16	*	excluída
41	C13P51+M1532	583	CCE13	0	9,18E+15	*	CCE02	2	6,14E+15	*	2	2,28E+16	*	
42	C13P52+M1540	583	CCE13	0	9,83E+15	*	CCE12	2	1,10E+16	*	2	2,53E+16	*	
43	C13P54+M1548	583	CCE13	0	8,55E+15	*	CCE10	42	0,00E+00		58	-3,04E+15	*	excluída
44	C13P55+M1557	583	CCE13	0	6,66E+15	*	CCE10	2	7,23E+15	*	2	2,24E+16	*	
45	C13P56+M1566	583	CCE13	0	1,01E+16	*	CCE03	37	-9,46E+15	-	88	-1,38E+16	*	excluída
46	C13P57+M992	583	CCE13	0	1,29E+16	*	CCE12	2	7,13E+15	*	2	2,38E+16	*	
47	C13P6	583	CCE13	0	8,43E+15	*	CCE02	2	6,68E+15	*	2	2,21E+16	*	
48	C13P7+M1545	583	CCE13	0	1,22E+16	*	CCE03	0	9,77E+15	*	0	2,68E+16	*	
49	C13P76	583	CCE13	0	1,11E+16	*	CCE10	73	-2,20E+16	-	92	-1,43E+16	*	excluída
50	C13P8+M1554	583	CCE13	0	8,49E+15	*	CCE05	56	-1,57E+16	-	82	-1,26E+16	*	excluída
51	C13P82	583	CCE13	0	1,05E+16	*	CCE12	37	-9,75E+15	-	75	-9,61E+15	*	excluída
52	C13P83	583	CCE13	0	9,17E+15	*	CCE09	43	0,00E+00		67	-8,57E+15	*	excluída
53	C13P85	583	CCE13	0	1,36E+16	*	CCE05	76	0,00E+00		92	-1,36E+16	*	excluída
54	C13P9+M1563	583	CCE13	0	1,04E+16	*	CCE10	57	0,00E+00		67	-5,51E+15	*	excluída
55	C13P90	583	CCE13	0	1,14E+16	*	CCE08	64	-2,31E+16	-	94	-1,96E+16	*	excluída
56	C13P96	583	CCE13	0	1,21E+16	*	CCE12	2	7,30E+15	*	2	2,30E+16	*	
57	C13P97	583	CCE13	0	8,77E+15	*	CCE10	36	0,00E+00		45	3,40E+15	*	excluída

Fonte: Da autora (2018)

5.4 Análises de Compatibilidade entre os clones de *C. canephora*

De posse dos resultados obtidos com as análises do programa Cervus, apresentados nas tabelas anteriores, foi possível realizar uma análise de frequência de paternidade nas progênes em estudo (TABELA 14). Os dados foram obtidos, calculando-se o percentual de “paternidade”, de cada parental paterno nas progênes da planta parental materna conhecida. Por exemplo, na progênie de CCE01, Tabela 5, foram analisados os 56 meios-irmãos, e o provável parental paterno foi determinado com 99% de confiança (1% de erro/mismatch aceitável). De posse destes dados, foi calculada a ocorrência percentual de cada clone CCE como parental paterno dentro desta progênie de 56 plantas. Ou seja, a partir da análise da progênie de CCE01, o clone CCE03 foi determinado como parental paterno em 28 descendentes, o que corresponde a 50% das 56 plantas analisadas. O mesmo cálculo foi realizado para cada parental paterno encontrado nesta progênie de meios-irmãos. Esta análise foi realizada para todas as plantas de parental materno das quais se tinham os dados. As descendências dos clones CCE02, CCE09, CCE10 não possuíam dados e o clone CCE11 foi excluído por sua identidade com o clone CCE04.

Tabela 14 – Frequência de Paternidade dos clones CCEs analisados, apresentada em porcentagem (%) dos descendentes analisados.

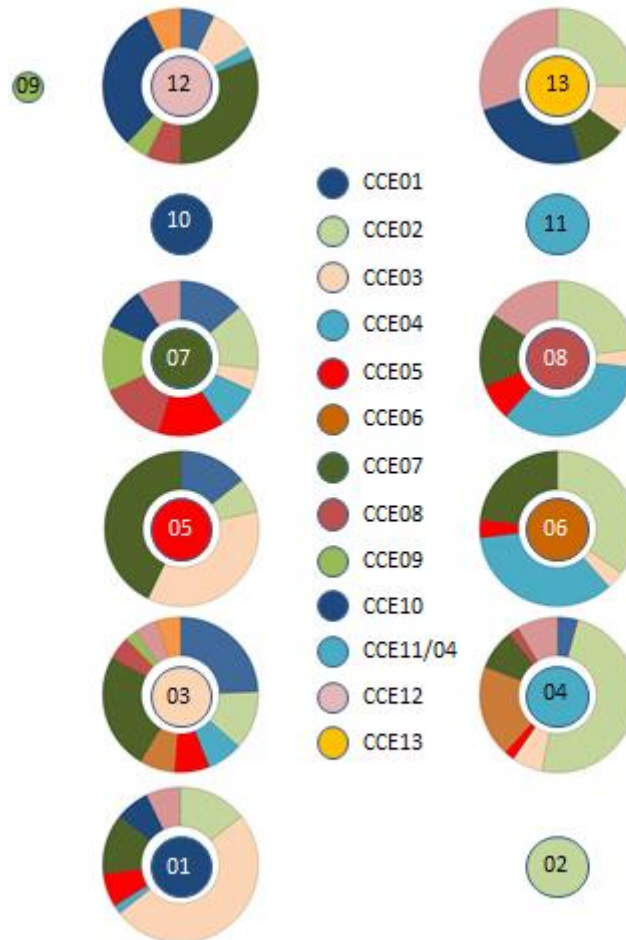
Maternos/ Paternos	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C12	C13	TOTAL
C1	0,0	14,3	50,0	1,8	7,1	0,0	12,5	0,0	0,0	7,1	7,1	0,0	100,0
C2	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	0,0
C3	24,4	12,2	0,0	7,3	7,3	7,3	24,4	4,9	2,4	0,0	4,9	4,9	100,0
C4	4,3	48,9	6,4	0,0	2,1	19,1	8,5	2,1	0,0	0	8,5	0,0	100,0
C5	14,3	7,1	35,7	0,0	0,0	0,0	42,9	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0
C6	0,0	34,6	3,8	34,6	3,8	0,0	23,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0
C7	13,6	13,6	4,5	9,1	13,6	0,0	0,0	13,6	13,6	9,1	9,1	0,0	100,0
C8	0,0	23,1	3,8	34,6	7,7	0,0	15,4	0,0	0,0	0,0	15,4	0,0	100,0
C9	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	0,0
C10	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	0,0
C12	7,1	0,0	9,5	2,4	0,0	0,0	31,0	7,1	4,8	31,0	0,0	7,1	100,0
C13	0,0	25	10	0,0	0,0	0,0	10,0	0,0	0,0	25,0	30,0	0,0	100,0
TOTAL	63,7	178,8	123,7	89,8	41,6	26,4	167,8	27,7	20,8	72,2	75,0	12,0	900,0

Fonte: Da autora (2018)

A Figura 7 apresenta os valores percentuais calculados, na forma de gráfico, conforme a disposição das plantas no campo.

Analisando-se os dados apresentados na Figura 7 e na Tabela 14, pode-se observar que parece haver um efeito da proximidade do clone, com a frequência de descendentes na progênie. Por exemplo, observa-se uma maior frequência de pólen do parental CCE03 nas progênies de CCE01 e CCE05. Da mesma forma, observa-se uma maior frequência de pólen do parental CCE02, na progênie do clone CCE04. Por outro lado, apesar da proximidade, não foi possível identificar nenhuma ocorrência de paternidade entre as plantas CCE06 e CCE08, da mesma forma que entre CCE 13 e CCE11/04, sugerindo provável incompatibilidade entre esses clones. Nota-se que apesar da maior distância, ainda foi possível identificar descendentes do clone CCE02, na progênie de CCE13, assim como, apesar de menor produção de pólen de CCE09 (1 planta) e da distância, ainda assim, foi possível identificar pólen de CCE09 na progênie de CCE03 (FIGURA 7).

Figura 7 – Esquema da disposição das plantas no campo experimental com o percentual de paternidade dos clones CCE.



Fonte: Da autora (2018)

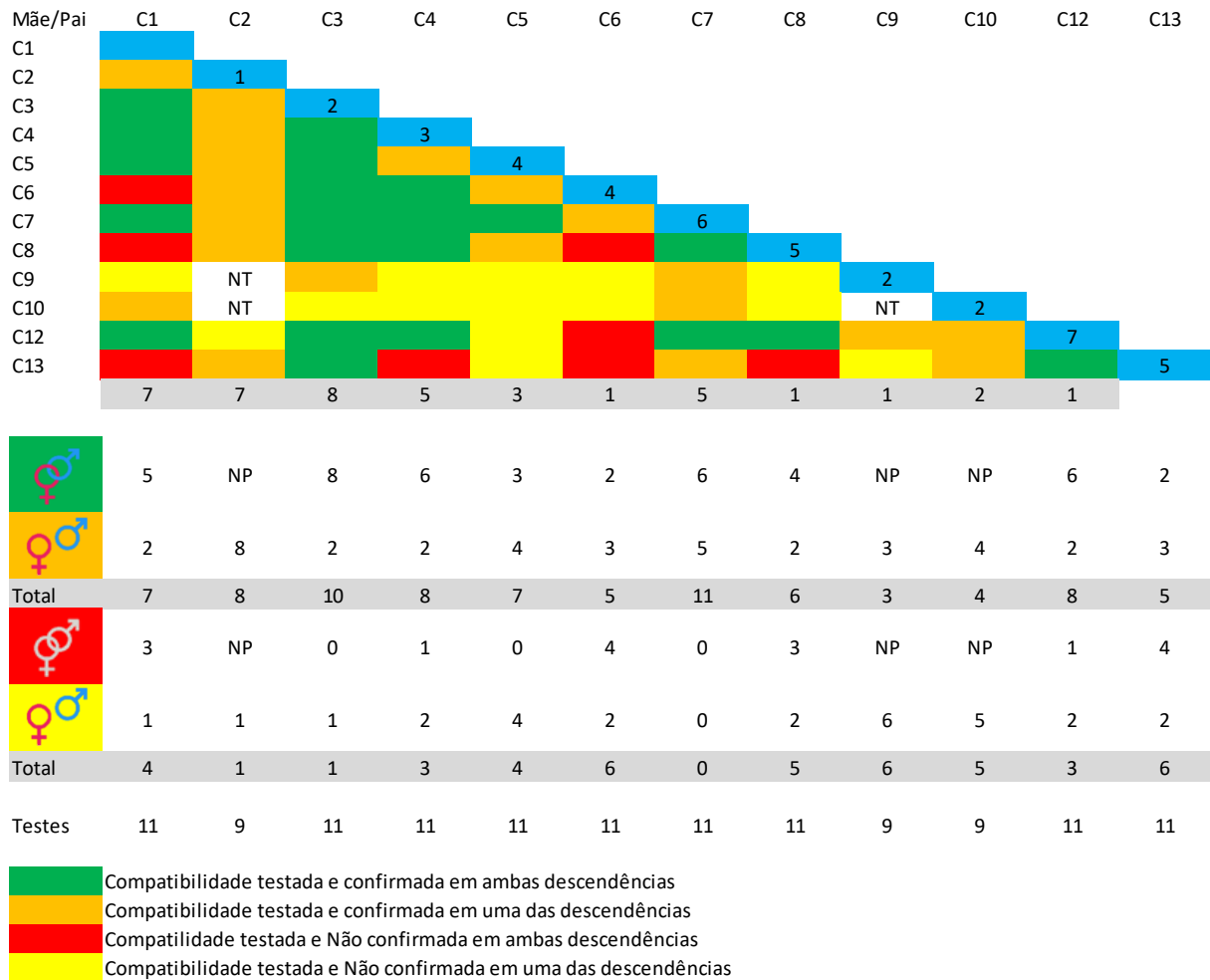
A partir dos resultados de paternidade fornecidos pelas análises com o programa Cervus, foi possível montar um diagrama de compatibilidade entre os clones estudados (FIGURA 5). Pode-se observar que os clones com maior taxa de compatibilidade com os demais foram os clones CCE07 e CCE03, quando analisados como receptores de pólen (FIGURA 8). Analisando-se os dados apresentados na FIGURA 8, pode-se observar que o clone CCE07 apresentou compatibilidade com outros onze CCEs testados e o clone CCE03 se mostrou compatível com dez CCEs, quando analisado a compatibilidade alélica tanto como receptor quanto como doador de pólen. A compatibilidade do clone CCE07 foi confirmada tanto como sendo doadora ou receptora de pólen, quando analisados os dados com seis dos clones testados (CCE01, CCE03, CCE04, CCE05, CCE08 e CCE12) e em pelo menos uma das descendências com cinco clones (CCE02, CCE06, CCE09, CCE10 e CCE13). Vale ressaltar, que dos cinco clones identificados como compatíveis com o CCE07, somente com os clones CCE06 e CCE13 foi possível realizar a análise de compatibilidade em ambas descendências, pois no caso dos clones CCE02, CCE09 e CCE10, a descendência destes, não foi incluída neste estudo.

Já no caso do clone CCE03, observa-se pelos dados apresentados, que o mesmo teve a compatibilidade confirmada tanto como doador de pólen, quanto como receptor, com oito clones CCEs (CCE01, CCE04, CCE05, CCE06, CCE07, CCE08, CCE12 e CCE13), ainda quando a planta CCE03 foi identificada como parental materno, pode ser observado também pólen que eram oriundos dos clones CCE02 e CCE09, no entanto, a descendência desses clones (CCE02 e CCE09) não foi analisada, tendo estes como parental materno.

Os clones CCE09, CCE10, CCE06 e CCE13 foram os clones que apresentaram menor taxa de compatibilidade com clones em estudo (FIGURA 8). Entretanto, deve-se salientar que o clone CCE09 tinha baixa produção de pólen (somente 1 planta) e também não teve a própria descendência analisada. Ainda vale a pena ressaltar que não foi analisada a descendência do clone CCE10, podendo interferir na baixa taxa de compatibilidade. Por outro lado, pode-se observar pelos dados apresentados na Figura 8, que esses clones CCE06, CCE09, CCE10 e CCE13 foram os que apresentaram os maiores números de compatibilidade testadas, porém não confirmadas. Outro fato importante observado, foi que os clones CCE06 e CCE13, apresentaram os maiores valores de compatibilidade testada e rejeitada em ambas as descendências (4

comparações cada), ou seja, não foram identificados nem como sendo receptores e nem como doadores de pólen. Neste sentido, o clone CCE06 não se mostrou compatível com os clones CCE01, CCE08, CCE12 e CCE13, mesmo com testes realizados em ambas as descendências. Já no caso do clone CCE13, este não se mostrou compatível com os clones CCE01, CCE04, CCE06 e CCE08, mesmo com a análise realizada em ambas as descendências (FIGURA 8). Estes dados sugerem que os clones CCE06, CCE09, CCE10 e CCE13 podem apresentar as menores taxas de compatibilidade com os clones CCEs testados nesse estudo.

Figura 8 - Diagrama indicando a compatibilidade entre os clones CCE



Fonte: Da Autora (2018)

Analisando-se as Tabelas de 5 até a 13, que foram resultados obtidos com o programa Cervus, pode-se, primeiramente, constatar que o programa apresentou eficiência em identificar os possíveis parentais de acordo com os 583 SNPs utilizados, identificando o

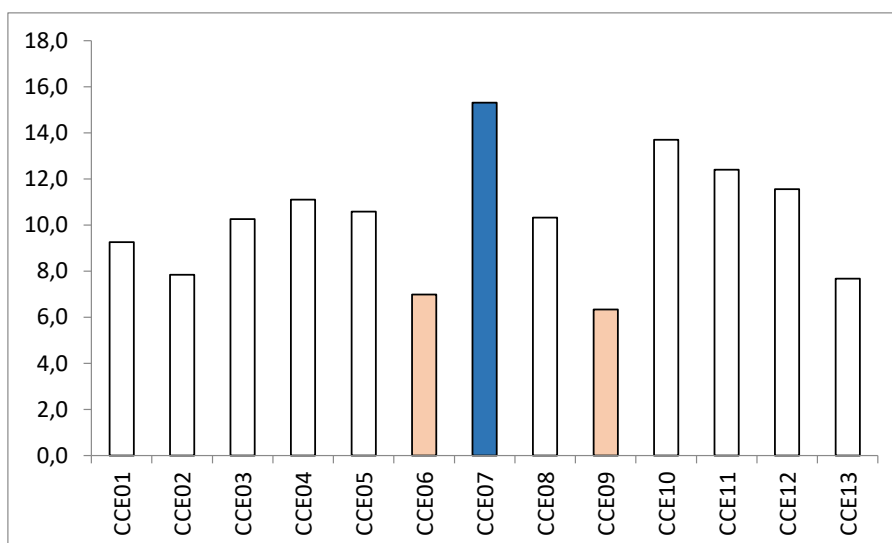
parental materno com exatidão, para todos os possíveis parentais maternos. Sendo assim, as análises realizadas neste estudo foram altamente eficientes para se analisar o Pedigree e a compatibilidade entre os clones da população de melhoramento genético da Embrapa, com a utilização de marcadores moleculares do tipo SNP. Vale ressaltar que a compatibilidade entre clones de *C. canephora* é de extrema importância nos programas de melhoramento genético dessa espécie, por estar diretamente associada à produção dos grãos (Veiga, comunicação pessoal).

Ainda foi possível observar, pelos dados obtidos, que o campo experimental, que antes acreditava-se estar isolado, pois o mesmo está circundado com café arábica, não está completamente isolado, pois plantas de canéfora que estavam próximas a este experimento, que acreditava-se terem sido podadas antes da floração do experimento, podem ter sido a causa dos erros (Veiga, comunicação pessoal). Foram encontrados descendentes em todas as progênes de meios-irmãos em estudo que não pertenciam a nenhum dos possíveis parentais, o que significa que houve ocorrência de pólen proveniente de outra planta de canéfora, que não fazia parte dos possíveis parentais analisados. Pólen este que pode ter vindo com o vento, segundo Charrier e Vigreux (1972) a polinização é efetiva em distâncias de até 50 metros, mas a maior probabilidade é que tenha sido por abelhas ou outros insetos, visto que, estes podem transportar os grãos de pólen com efetividade por até 700 metros de distância (ESCH; BURNS,1996).

No que diz respeito à parte da progênie de meios-irmãos, indicada como sendo oriunda da planta CCE05, os resultados obtidos indicam que houve um erro experimental, que foi apontado pelas análises realizadas com o programa Cervus, indicando que a planta CCE06, é o provável parental materno daquela progênie. Fato este que reforça a precisão das análises realizadas em identificar os possíveis parentais de cada indivíduo.

Nota-se também que, na maioria dos casos, houve uma maior troca de pólen entre as plantas que estão mais próximas. Todavia, foi possível constatar que tiveram descendentes entre CCE01 e CCE12 nos dois sentidos e, tendo em vista que eles estão em lados opostos no campo experimental, à distância entre as plantas não foi fator limitante para ambos.

Figura 9 – Média de produtividade dos clones CCEs, em litros por planta entre os anos de 2014 e 2017



Legenda: Rosa: Clones que apresentaram as menores produtividades. Azul: Clone que apresentou a maior produtividade.

Fonte: Veiga (Comunicação Pessoal), 2018

A compatibilidade entre clones está diretamente associada à produção de grãos e desta forma, como o clone CCE07 apresentou uma maior taxa de compatibilidade entre os clones em estudo como possíveis parentais, espera-se que o mesmo apresente uma produção superior entre os clones observados. Já os clones CCE03 e CCE06 por apresentarem uma menor taxa de compatibilidade, a expectativa é de uma produção inferior. Essas tendências foram confirmadas, conforme os dados de produção obtidos por Veiga (Comunicação Pessoal) e estão apresentados na Tabela 15 e na Figura 9.

Tabela 15 – Produtividade em litros por planta dos clones CCEs entre os anos de 2014 e 2017

Clones	2014	2015	2016	2017	Média
CCE01	11,0	7,5	11,3	7,3	9,3
CCE03	9,0	10,3	11,8	10,0	10,3
CCE04	7,3	10,5	11,3	15,4	11,1
CCE05	6,6	8,3	11,0	16,5	10,6
CCE06	2,4	6,3	8,0	11,3	7,0
CCE07	10,5	11,8	22,5	16,5	15,3
CCE08	6,0	11,8	12,3	11,3	10,3
CCE12	9,5	9,5	15,0	12,2	11,6
CCE13	7,8	12,3	3,0	0	7,7

Legenda: Rosa: Clones que apresentaram as menores produtividades. Azul: Clone que apresentou a maior produtividade.

Fonte: Veiga (Comunicação Pessoal), 2018

6 CONCLUSÃO

Marcadores moleculares SNPs, foram eficientes em reconstruir o pedigree de progênies de 10 clones CCEs, identificando corretamente o parental materno na quase totalidade das plantas analisadas. As plantas maiores doadoras de pólen foram os clones CCE02 e CCE07, respectivamente. O clone CCE07 foi o que apresentou uma maior taxa de compatibilidade, se mostrando compatível com todos os clones CCEs testados, o que poderia indicar um alto potencial produtivo deste clone. Os clones CCE06 e CCE13 foram os clones que apresentaram as menores taxas de compatibilidade.

BIBLIOGRAFIA

- ALLARD, R.W. **Princípios do melhoramento genético das plantas**. São Paulo: Edgard Blüchner, p. 381. 1971.
- ALONSO-SALCES, R. M. et al. Botanical and geographical characterization of green coffee (*Coffea arabica* and *Coffea canephora*): chemometric evaluation of phenolic and methylxanthine contents. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 57, n. 10, p. 4224-4235, mar. 2009.
- ALVES, G. S. C. et al. Differential fine-tuning of gene expression regulation in coffee leaves by CcDREB1D promoter haplotypes under water deficit. **Journal of Experimental Botany**, London, v. 68, p. 3017-3031, mai. 2017.
- ANDERSEN, J. R.; LÜBBERSTEDT, T. Functional markers in plants. **Trends in Plant Science**, Denmark, v. 8, n. 11, p. 554-560, nov. 2003.
- ANDERSON M. S. et al. Isopentenyl diphosphate:dimethylallyl diphosphate isomerase. An improved purification of the enzyme and isolation of the gene from *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of Biological Chemistry**, v.264 n. 32, p.19169-19175, 1989.
- ANDRADE, A. C. Projeto genoma café: uma ferramenta para acelerar o melhoramento de variedades. **Irrigação e Tecnologia Moderna**, Belo Horizonte, v. 73, p. 19-20, mar. 2007.
- ANDRADE, A. C. et al. 'Towards GWAS and Genomic Prediction in Coffee: Development and Validation of a 26K SNP Chip for *Coffea canephora*', In XX INTERNATIONAL PLANT AND ANIMAL GENOME CONFERENCE, p. W173. **Anais eletrônicos...** Disponível em: <<https://pag.confex.com/pag/xxv/webprogram/Paper23677.html>> Acesso em: 08 de ago. de 2017
- BAKER, P. et al. The coffee smallholder. In:BAKER, P. S. (Ed.). **Coffee futures: a source book of some critical issues confronting the coffee industry**. CABI-Federacafe, 2001. P. 26-43.
- BARKER, G. et al. Redundancy based detection of sequence polymorphisms in expressed sequence tag data using autoSNP. **Bioinformatics**, v. 19, n. 3, p. 421-422, 2003.
- BARRETO, H. G. et al. In silico and quantitative analyses of the putative FLC-like homologue in coffee (*Coffea arabica* L.) **Plant Molecular Biology Reporter**, Athens, v. 30, p. 29-35, 2011.
- BERGO, C. L., et al. **Produção de mudas de Cafeeiros por Sementes e Estacas**. Circular Técnica 44. EMBRAPA, 2002.
- BERTHAUD, J., et al. Incompatibility in *Coffea canephora* - Test method and genetic control. **Cafe Cacao The**, v.24, n.4, p.267-274, 1980.
- BERTHAUD, J.; CHARRIER, A. Genetic resources of *Coffea*. In: CLARKE, R. J. & MACRAE, R. (Ed.). **Coffee: Agronomy**. Londres: Elsevier Applied Science, v. 4, p.1-42, 1988.
- BERTRAND, B. et al. Impact of the *Coffea canephora* gene introgression on beverage quality of *C. arabica*. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 107, n. 3, p. 387-394, ago. 2003
- BORÉM, A.; CAIXETA, A. **Marcadores moleculares**. 2. ed. Viçosa, MG: Folha de Viçosa, 2009. p.374
- BRAGANÇA, S. M. et al. Variedades clonais de café Conilon para o Estado do Espírito Santo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.36, p.765- 770, 2001.

- BRASIL. Governo do Brasil. Disponível em <<http://www.brasil.gov.br/ciencia-e-tecnologia/2010/10/projeto-genoma-cafe-fara-parte-de-biblioteca-internacional>>. Acesso em 10 de jan. de 2018
- BREWBAKER J. L. Pollen cytology and self-Incompatibility systems in plants. **Journal of Heredity**, v. 48, n 6, p.271-277, 1957.
- BUENO, L. C. S.; MENDES, A. N. G.; CARVALHO, S. P. **Melhoramento genético de plantas: princípios e procedimentos**. 2.ed. Lavras: UFLA, p. 319, 2006.
- CATTANEO, L. F. **Avaliação da divergência genética e análise de gerações em mamoeiro (Carica papaya L.)**. 2001. 95 p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal)- Campos dos Goytacazes - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro-UENF, 93p., 2001.
- CASTRIC, V.; VEKEMANS, X. INVITED REVIEW: Plant self-incompatibility in natural populations: a critical assessment of recent theoretical and empirical advances. **Molecular Ecology**, v.13, n.10, p.2873-2889, 2004.
- CECAFE - Conselho dos Exportadores de Café do Brasil. Disponível em: <www.cecafe.com.br> Acesso em 18 de fev. de 2017
- CECAFE - Conselho dos Exportadores de Café do Brasil. Disponível em: <www.cecafe.com.br/dados-estatisticos/exportacoes-brasileiras/> Acesso em 28 de jan. de 2018
- CHARLESWORTH, D.; AWADALLA, P. Flowering plants self-incompatibility: the molecular population genetics of Brassica S-loci. **Heredity**, v. 81, n.1, p. 9, 1998.
- CHARRIER, A; VIGREUX, M. L'intercompatibilité des clones de caféiers cultivés sur la côte est Malgache. **Café Cacao Thé**, v. 16, n. 2, p. 111-122, 1972.
- CHARRIER, A.; ESKES, A. B. Botany and Genetics of Coffee. In: WINTGENS, J. N.(Ed.). **Coffee: Growing, Processing, Sustainable Production: A guidebook for growers, processors, trades and researchers**. Weinheim. Wiley-Vch, p.25-56, 2009.
- CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. Disponível em: www.conab.gov.br/> Acesso em 18 de fev. de 2018
- CONAGIN, C.H.T.M.; MENDES, A. J. T. Pesquisas citológicas e genéticas em três espécies de *Coffea canéfora* Pierre ex Froehner. *Bragantia* (Brasil), v.20, (34) p.787- 804, 1961.
- DAMATTA, F.; RAMALHO, J. Impacts of drought and temperature stress on coffee physiology and production: a review. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 18, n. 1, p. 55-81, jan./mar. 2006.
- DAVIS, A. P. Six species of *Psilanthus* transferred to *Coffea* (*Coffeae*, *Rubiaceae*). **Phytotaxa**, v. 10, n. 1, p. 41-45, out. 2010.
- DAVIS, A. P. et al. An annotated taxonomic conspectus of the genus *Coffea* (*Rubiaceae*). **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 152, n. 4, p. 465-512, dez. 2006.
- DAVIS, A. P. et al. Growing coffee: *Psilanthus* (*Rubiaceae*) subsumed on the basis of molecular and morphological data; implications for the size, morphology, distribution and evolutionary history of *Coffea*. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 167, n. 4, p. 357-377, dez. 2011.

DENOEUD, F. et al. The coffee genome provides insight into the convergent evolution of caffeine biosynthesis. **Science**, New York, v. 345, n. 6201, p. 1181-1184, 2014.

DEVREUX, M. et al. Recherches sur l'autosterilité du caféier robusta (*Coffea canephora* Pierre). Publications de l'Institut National pour l'Etude Agronomique du Congo Belge. **Série Scientifique** Belgique. n. 78, p. 44, 1959.

DE NETTANCOURT, D. Incompatibility in angiosperms. **Sexual Plant Reproduction**, v.10, p.185-199, 1997.

DOUGHTY, J. et al. PCP-A1, a defensin-like Brassica pollen coat protein that binds the S locus glycoprotein, is the product of gametophytic gene expression. **The Plant Cell**, v.10, p.1333-1347, 1998.

DUSSERT, D. et al. Le caféier, *Coffea canephora*. In: HAMON, P. et al. (Ed.). **Diversité génétique des plantes tropicales cultivées**. Montpellier: Cirad, p. 175-194, 1999.

ESCH, H. E.; BURNS, J. E. Distance estimation by foraging honeybees. **Journal of Experimental Biology**, v.199, n.1, p.155-162, 1996.

ESPINDULA, M. C. et al. **Vantagens do uso de clones no cultivo de cafeeiros canéfora (Conilon e Robusta)**. Porto Velho, RO: Embrapa Rondônia, 2011.

FALCONER, D.S. **Introdução à genética quantitativa** (tradução de Silva, MA e Silva, JC). Universidade Federal de Viçosa- UFV, Viçosa-MG, p.279, 1981.

FAZUOLI, L. C. et al. Cultivares de café arábica do IAC: um patrimônio da cafeicultura brasileira. **O Agrônomo**, Campinas, v. 59, n. 1, p. 12-15, 2007.

FAZUOLI, L. C. et al. Seleção antecipada e sua eficiência no café Icatu. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE PESQUISAS DOS CAFÉS DO BRASIL, 1.,2000, Campinas. **Anais...** Campinas: IAC, 2000. p. 576-582.

FAZUOLI, L. C. Genética e melhoramento do cafeeiro. In: RENA, A. B. et al. (Ed.). **Cultura do cafeeiro: Fatores que afetam a produtividade**. Piracicaba: Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, p. 87-113, 1986.

FERRÃO, R. G et al. **Café Conilon: técnicas de produção com variedades melhoradas**. Incaper, Circular Técnica, 03-I, Vitória, ES: Incaper, p.60, 2004.

FERRÃO, M. A. G. et al. Origem, dispersão geográfica, taxonomia e diversidade genética de *Coffea canephora*. In: FERRÃO, R. G. et al. (Ed.). **Café conilon**. Vitória-ES: Incaper, p.66-91, 2007a.

FERRÃO, R. G. et al. Melhoramento genético do *Coffea canephora*. In: FERRÃO, R.G. et al. (Ed.). **Café Conilon**. Vitória-ES: Incaper, p.121-173, 2007 b.

FONSECA, A. F. A. da et al Composição química de café conilon (*Coffea canephora*). In: VII Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, **Anais eletrônicos....** 2011. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/web/mobile/publicacoes/-/publicacao/903992/composicao-quimica-de-cafe-conilon-coffee-canephora>> Acesso em 01 jul 2017.

FRANCESCHI, P. DE; DONDINI, L.; SANZOL, J. Molecular bases and evolutionary dynamics of self-incompatibility in the Pyrinae (Rosaceae). **Journal of Experimental Botany**, v. 63, n. 11, p. 4015-4032, 2012.

FREIRE L. P., et al. Análise da expressão do gene da manose 6 fosfato redutase em cafeeiros submetidos ao déficit hídrico. **Coffee Science** v.8, n.1,p 17–23 2013.

GEHRIG, H. H.; RÖSICKER, H.; KLUGE, M. Detection of DNA polymorphisms in the genus *Kalanchoë* by RAPD-PCR fingerprint and its relationships to infrageneric taxonomic position and ecophysiological photosynthetic behaviour of the species. **Plant Science**, Berlin, v. 125, n. 1, p. 41-45, jun 1997.

GRIVET, L. et al. ESTs as a source for sequence polymorphism discovery in sugarcane: example of the Adh genes. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 106, n. 2, p. 190-197, jan. 2003.

HARING, V. et al. Self-incompatibility: a self-recognition system in plants. **Science**, v.250, n. 4983, p.937-941, 1990.

HESLOP-HARRISON, J.; HESLOP-HARRISON, Y. Pollen-stigma interaction in the Leguminosae: the organization of the stigma in *Tritflium pratense* L. **Annals of Botany**, v. 51, n. 5, p. 571-583, 1983.

INGLIS, P. W.; PAPPAS, M. de C. R.; GRATTAPAGLIA, D. Protocolo de extração de DNA e RNA de alta qualidade para espécies ricas em compostos secundários. **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2016. Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/156501/1/comunicado-tecnico-204.pdf>> Acessado em: 05 de maio de 2017

KUMAR, L. S. DNA markers in plant improvement: an overview. **Biotechnology Advances**, New Delhi, v. 17, n. 2-/3, p. 143-182, set. 1999.

LAMBOT, C. et al. Evaluation of Conilons for genetic diversity, cup quality and biochemical composition. In: **22nd International Conference on Coffee Science, ASIC 2008 Campinas, SP, Brazil, 14-19 September, 2008**. Association Scientifique Internationale du Café (ASIC), Paris, p. 1537-1544, 2009

LASHERMES, P. Inheritance and genetic mapping of self: incompatibility in *Coffea canephora* Pierre. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 93, n. 3, p. 458-462, jan. 1996.

LAWRENCE, M. J. Number of incompatibility alleles in clover and other species. **Heredity**. v.76, n. 6, p.610-615, 1996.

LEROY, T. et al. Genetics of coffee quality. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 18, n. 1, p. 229-242, jan./mar. 2006.

LIMA, A. A. et al. In silico characterization of putative members of the coffee (*Coffea arabica*) ethylene signaling pathway. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 10, n. 2, p. 1277-1289, jun. 2011.

LUNDQVIST, A. Disomic control of self-incompatibility in the tetraploid *Ranunculus repens* (*Ranunculaceae*). **Hereditas**, v.128, p.181-183, 1998.

MONTAGNON, C.; CUBRY, P.; LEROY, T. Amélioration génétique du caféier *Coffea canephora* Pierre: connaissances acquises, stratégies et perspectives. **Cahiers Agricultures**, Elmsford, v. 21, n. 2-3, p. 143-153(1), 2012.

MONTAGNON, C. **Optimisation des gains génétiques dans le schéma de sélection réciproque de *Coffea canephora* Pierre**. 2000. 42 p. Thesis (PhD) - Montpellier University, France, 2000.

- NOWAK, M. D. et al. Expression and trans-specific polymorphism of self-incompatibility RNases in *Coffea* (*Rubiaceae*). **PloS One**, v. 6, n. 6, p. e21019, 2011.
- OMOLAJA, S. S.; FAWOLE, I. Determination of the number of self-incompatibility alleles (SIA) in *Coffea canephora* and the role of pollen-stylar protein in the expression of SIA. 20th International Conference on Coffee Science. Bangalore, India **Anais...** 11-15 October, p.684–687, 2004.
- POEHLMAN, J.M.; SLEPER, D. **Breeding field crops**. Ames: Iowa State University Press, v. 378, 1995.
- RAFALSKI, J. A. Novel genetic mapping tools in plants: SNPs and LD-based approaches. **Plant Science**, Shannon, v. 162, n. 3, p. 329-333, mar. 2002.
- RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; PINTO, C. B. **Genética na Agropecuária**. Editora UFLA. 4. ed. Lavras, 463p., p.169-190, 2008.
- RICHARDS, A. J. **Plant breeding systems**. London : Chapman & Hall, 2ed., p.529, 1997.
- RUSSELL, A. et al. Phylogenetics and cytology of a pantropical orchid genus *Polystachya* (*Polystachyinae*, *Vandaeae*, *Orchidaceae*): evidence from plastid DNA sequence data. **Taxon**, v. 59, n. 2, p. 389-404, 2010.
- SANTOS, A. S. **Marcadores de DNA no melhoramento genético do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) visando resistência à *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli***. 2000. 140 p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) Campos dos Goytacazes - Universidade Estadual do Norte Fluminense, , 2000.
- SANTOS, R. C. et al. Assesment of genetic diversity on a sample of cocoa accessions resistant to witches' broom disease based on RAPD and pedigree data. **Bragantia**, Campinas, v. 64, n. 3, p. 361-368, jun. 2005.
- SASSA, H.; KAKUI, H.; MINAMIKAWA, M. Pollen-expressed F-box gene family and mechanism of S-RNase-based gametophytic self-incompatibility (GSI) in *Rosaceae*. **Sexual Plant Reproduction** v 23, n.1, p. 39-43, 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20165962>> Acesso em: 20 fev. 2018.
- SCHIFINO-WITTMANN, M. T.; DALL'AGNOL, M. Autoincompatibilidade em plantas. **Ciencia Rural**, v.32, p.1083-1090, 2002. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/v32n6/12759.pdf>> Acesso em: 23 fev. 2018.
- SOMERS, D. J. Mining single-nucleotide polymorphisms from hexaploid wheat ESTs. **Genome**, Ottawa, v. 49, n. 3, p. 431-437, jun. 2003.
- TEIXEIRA, A. L.; ROCHA, R. B.; RAMALHO, A. R. Melhoramento genético, registro e proteção de cultivares de *Coffea canephora* para o Estado de Rondônia. **Embrapa Rondônia-Documentos (INFOTECA)**, Porto Velho-RO, 2011.
- USECHE, F. J. et al. High-Throughput identification, database storage and analysis of SNPs in EST sequences. **Genome Informatics**, Newark, v. 12, p. 194-203, dez. 2001.
- VIEIRA, L. G. E. et al. Brazilian coffee genome project: an EST-based genomic resource. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Londrina, v. 18, n. 1, p. 95-108, jan/mar. 2006.
- WHEELER M. J.; et al. The intracellular events triggered by the self-incompatibility response in *Papaver rhoeas*. **Protoplasma**, v.208, n. 1-4, p. 99-106, 1999.

YANAGUI, K. et al. Análise in vivo da diversidade nucleotídica de *Coffea spp.* In: Resumos de 55º Congresso Brasileiro De Genética, 30 de agosto a 2 de setembro, 2009, Águas de Lindóia. **Anais...** Brasil, SBG. Disponível em : <http://agritrop.cirad.fr/557961/>. Acesso em 19 fev. 2018.

APÊNDICE A

SNPs utilizados na análise do Cervus

AX-168296748/	AX-168303151/	AX-168344918/	AX-168351943/
AX-168296800/	AX-168303369/	AX-168344919/	AX-168351965/
AX-168296813/	AX-168303375/	AX-168344969/	AX-168351989/
AX-168296840/	AX-168303389/	AX-168345037/	AX-168352084/
AX-168296891/	AX-168303407/	AX-168345236/	AX-168352107/
AX-168296932/	AX-168303414/	AX-168345258/	AX-168352121/
AX-168296940/	AX-168303671/	AX-168345355/	AX-168352175/
AX-168296950/	AX-168303736/	AX-168345408/	AX-168352205/
AX-168296954/	AX-168304003/	AX-168345575/	AX-168352237/
AX-168296995/	AX-168304036/	AX-168345948/	AX-168352271/
AX-168297025/	AX-168304183/	AX-168346082/	AX-168352275/
AX-168297026/	AX-168304262/	AX-168346200/	AX-168352301/
AX-168297027/	AX-168304369/	AX-168346254/	AX-168352305/
AX-168297036/	AX-168304571/	AX-168346625/	AX-168352306/
AX-168297044/	AX-168304576/	AX-168347053/	AX-168352320/
AX-168297080/	AX-168304737/	AX-168347111/	AX-168352322/
AX-168297186/	AX-168304888/	AX-168348259/	AX-168352333/
AX-168297234/	AX-168305180/	AX-168348270/	AX-168352344/
AX-168297249/	AX-168305237/	AX-168348273/	AX-168352431/
AX-168297290/	AX-168305253/	AX-168348276/	AX-168352493/
AX-168297316/	AX-168305577/	AX-168348312/	AX-168352574/
AX-168297326/	AX-168305696/	AX-168348376/	AX-168352593/
AX-168297343/	AX-168305898/	AX-168348392/	AX-168352640/
AX-168297384/	AX-168305915/	AX-168348406/	AX-168352669/
AX-168297458/	AX-168305922/	AX-168348410/	AX-168352755/
AX-168297514/	AX-168306174/	AX-168348443/	AX-168352785/
AX-168297589/	AX-168306314/	AX-168348450/	AX-168352859/
AX-168297609/	AX-168306433/	AX-168348451/	AX-168352927/
AX-168297629/	AX-168306436/	AX-168348469/	AX-168352928/
AX-168297709/	AX-168306439/	AX-168348477/	AX-168352931/
AX-168297759/	AX-168306488/	AX-168348503/	AX-168353039/
AX-168297775/	AX-168306666/	AX-168348508/	AX-168353041/
AX-168297776/	AX-168306718/	AX-168348516/	AX-168353059/
AX-168297782/	AX-168306730/	AX-168348523/	AX-168353086/
AX-168297880/	AX-168306997/	AX-168348537/	AX-168353157/
AX-168297897/	AX-168306999/	AX-168348574/	AX-168353163/
AX-168297902/	AX-168307167/	AX-168348586/	AX-168353181/
AX-168298100/	AX-168307279/	AX-168348588/	AX-168353205/
AX-168298150/	AX-168307331/	AX-168348593/	AX-168353274/

AX-168298196/	AX-168307570/	AX-168348624/	AX-168353390/
AX-168298258/	AX-168307623/	AX-168348687/	AX-168353403/
AX-168298387/	AX-168308106/	AX-168348692/	AX-168353411/
AX-168298414/	AX-168308134/	AX-168348738/	AX-168353419/
AX-168298431/	AX-168308293/	AX-168348739/	AX-168353430/
AX-168298432/	AX-168308444/	AX-168348742/	AX-168353435/
AX-168298443/	AX-168308589/	AX-168348745/	AX-168353458/
AX-168298452/	AX-168308633/	AX-168348750/	AX-168353506/
AX-168298553/	AX-168308759/	AX-168348781/	AX-168353610/
AX-168298609/	AX-168308780/	AX-168348784/	AX-168353716/
AX-168298618/	AX-168308783/	AX-168348785/	AX-168353732/
AX-168298635/	AX-168309125/	AX-168348788/	AX-168353766/
AX-168298654/	AX-168309500/	AX-168348807/	AX-168353769/
AX-168298661/	AX-168309554/	AX-168348830/	AX-168353867/
AX-168298735/	AX-168309723/	AX-168348849/	AX-168353871/
AX-168298818/	AX-168309957/	AX-168348869/	AX-168353978/
AX-168298827/	AX-168310295/	AX-168348888/	AX-168353985/
AX-168298845/	AX-168310384/	AX-168348941/	AX-168354054/
AX-168298859/	AX-168311380/	AX-168348951/	AX-168354179/
AX-168298883/	AX-168311466/	AX-168348952/	AX-168354299/
AX-168298887/	AX-168311967/	AX-168348977/	AX-168354340/
AX-168298956/	AX-168312175/	AX-168348990/	AX-168354471/
AX-168298959/	AX-168312180/	AX-168349018/	AX-168354539/
AX-168298962/	AX-168312182/	AX-168349061/	AX-168354667/
AX-168298971/	AX-168312514/	AX-168349069/	AX-168354957/
AX-168299061/	AX-168313665/	AX-168349072/	AX-168354963/
AX-168299092/	AX-168314091/	AX-168349135/	AX-168355089/
AX-168299143/	AX-168314489/	AX-168349137/	AX-168355350/
AX-168299151/	AX-168314542/	AX-168349138/	AX-168355495/
AX-168299195/	AX-168314583/	AX-168349140/	AX-168355520/
AX-168299220/	AX-168314601/	AX-168349150/	AX-168355546/
AX-168299261/	AX-168314758/	AX-168349298/	AX-168356407/
AX-168299291/	AX-168315643/	AX-168349304/	AX-168356524/
AX-168299333/	AX-168341034/	AX-168349309/	AX-168356562/
AX-168299386/	AX-168341055/	AX-168349323/	AX-168356597/
AX-168299406/	AX-168341071/	AX-168349361/	AX-168356618/
AX-168299433/	AX-168341085/	AX-168349362/	AX-168356647/
AX-168299468/	AX-168341135/	AX-168349377/	AX-168356691/
AX-168299494/	AX-168341137/	AX-168349404/	AX-168356726/
AX-168299551/	AX-168341148/	AX-168349447/	AX-168356730/
AX-168299590/	AX-168341162/	AX-168349454/	AX-168356758/
AX-168299625/	AX-168341191/	AX-168349459/	AX-168356832/
AX-168299666/	AX-168341214/	AX-168349480/	AX-168356864/
AX-168299667/	AX-168341270/	AX-168349525/	AX-168356930/
AX-168299710/	AX-168341289/	AX-168349567/	AX-168357011/
AX-168299720/	AX-168341291/	AX-168349600/	AX-168357040/

AX-168299866/	AX-168341326/	AX-168349628/	AX-168357097/
AX-168299948/	AX-168341356/	AX-168349833/	AX-168357116/
AX-168300037/	AX-168341414/	AX-168349852/	AX-168357145/
AX-168300067/	AX-168341422/	AX-168349895/	AX-168357192/
AX-168300166/	AX-168341466/	AX-168349898/	AX-168357193/
AX-168300168/	AX-168341476/	AX-168349909/	AX-168357310/
AX-168300176/	AX-168341479/	AX-168349919/	AX-168357318/
AX-168300332/	AX-168341493/	AX-168349920/	AX-168357388/
AX-168300376/	AX-168341505/	AX-168349923/	AX-168357394/
AX-168300398/	AX-168341538/	AX-168349997/	AX-168357397/
AX-168300460/	AX-168341562/	AX-168350031/	AX-168357417/
AX-168300485/	AX-168341594/	AX-168350036/	AX-168357453/
AX-168300574/	AX-168341599/	AX-168350037/	AX-168357459/
AX-168300596/	AX-168341603/	AX-168350075/	AX-168357507/
AX-168300603/	AX-168341628/	AX-168350131/	AX-168357532/
AX-168300664/	AX-168342373/	AX-168350144/	AX-168357590/
AX-168300688/	AX-168342386/	AX-168350162/	AX-168357620/
AX-168300786/	AX-168342395/	AX-168350205/	AX-168357672/
AX-168300787/	AX-168342469/	AX-168350212/	AX-168357680/
AX-168300846/	AX-168342484/	AX-168350244/	AX-168357717/
AX-168300912/	AX-168342520/	AX-168350254/	AX-168357746/
AX-168301040/	AX-168342525/	AX-168350291/	AX-168357781/
AX-168301057/	AX-168342534/	AX-168350369/	AX-168357789/
AX-168301169/	AX-168342648/	AX-168350371/	AX-168357814/
AX-168301213/	AX-168342692/	AX-168350409/	AX-168357881/
AX-168301224/	AX-168342813/	AX-168350539/	AX-168357933/
AX-168301293/	AX-168342828/	AX-168350645/	AX-168357935/
AX-168301295/	AX-168342948/	AX-168350647/	AX-168357940/
AX-168301314/	AX-168343016/	AX-168350681/	AX-168357979/
AX-168301527/	AX-168343102/	AX-168350747/	AX-168357989/
AX-168301579/	AX-168343167/	AX-168350774/	AX-168358021/
AX-168301626/	AX-168343219/	AX-168350777/	AX-168358124/
AX-168301668/	AX-168343241/	AX-168350814/	AX-168358151/
AX-168301689/	AX-168343254/	AX-168350869/	AX-168358294/
AX-168301711/	AX-168343255/	AX-168350886/	AX-168358368/
AX-168301765/	AX-168343290/	AX-168350889/	AX-168358387/
AX-168301810/	AX-168343522/	AX-168350994/	AX-168358505/
AX-168301812/	AX-168343566/	AX-168351011/	AX-168358506/
AX-168302050/	AX-168343568/	AX-168351035/	AX-168358513/
AX-168302084/	AX-168343590/	AX-168351052/	AX-168358568/
AX-168302097/	AX-168343593/	AX-168351129/	AX-168358577/
AX-168302192/	AX-168343640/	AX-168351157/	AX-168358585/
AX-168302205/	AX-168343773/	AX-168351175/	AX-168358643/
AX-168302262/	AX-168343788/	AX-168351195/	AX-168358646/
AX-168302275/	AX-168343826/	AX-168351273/	AX-168358719/
AX-168302278/	AX-168343885/	AX-168351317/	AX-168358883/

AX-168302315/	AX-168343894/	AX-168351364/	AX-168358921/
AX-168302367/	AX-168343897/	AX-168351376/	AX-168358943/
AX-168302431/	AX-168343955/	AX-168351449/	AX-168359073/
AX-168302476/	AX-168343996/	AX-168351519/	AX-168359269/
AX-168302492/	AX-168344061/	AX-168351565/	AX-168359367/
AX-168302560/	AX-168344074/	AX-168351588/	AX-168370992/
AX-168302589/	AX-168344245/	AX-168351607/	AX-168370993/
AX-168302591/	AX-168344333/	AX-168351664/	AX-168371676/
AX-168302621/	AX-168344371/	AX-168351672/	AX-168371689/
AX-168302668/	AX-168344404/	AX-168351742/	AX-168371709/
AX-168302718/	AX-168344548/	AX-168351747/	AX-168371808/
AX-168302780/	AX-168344634/	AX-168351824/	AX-168372040/
AX-168302878/	AX-168344652/	AX-168351898/	AX-168372041/
AX-168302970/	AX-168344819/	AX-168351908/	AX-168372079/
AX-168303141/	AX-168344864/	AX-168351938/	