COMPARAÇÃO DE PERFIS DE FRAGMENTOS SILICODART DE GENÓTIPOS DE CAFÉ ARÁBICA CULTIVADOS EM TRÊS AMBIENTES

Matheus Alves Silva[1], João Pedro Martins Rainha[1], Fabiano Tristão Alixandre[2], Adésio Ferreira[1], Marcia Flores da Silva Ferreira[1]

[1]Universidade Federal do Espírito Santo, Alto Universitário, s/n, Guararema - 29500-000 - Alegre- ES, Brasil, alvesmatheuss21@gmail.com, jpedrostorm@gmail.com, adesio.ferreira@ufes.br, marcia.ferreira@ufes.br

[2]Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (Incaper), Av. José Matinozo, 246, Centro - Casa do Agricultor - 29630-000 - Brejetuba-ES, fabianotristao@incaper.es.gov.br

Resumo

Os marcadores SilicoDArT são oriundos de clivagem diferencial do DNA por duas enzimas de restrição, com sensibilidade à metilação do DNA. Neste estudo esses marcadores foram utilizados para comparar os perfis de fragmentos entre quatro genótipos de café arábica (*Coffea arabica* L.) cultivados em três ambientes no Espírito Santo, nos quais previamente foi identificado diferença de produtividade. Os ambientes variaram em altitude e as coletas de amostras ocorrerem ao longo de quatro fases fenológicas em um ano. A partir de dados de presença e ausência de fragmentos (1/0), contabilizou-se, para cada fase, o número médio de *loci* presentes apenas no ambiente de maior altitude e menor produtividade (Brejetuba) em relação aos demais (Afonso Cláudio e Conceição do Castelo). A média de fragmentos exclusivos por genótipo em Brejetuba foi superior em relação aos outros locais em três das quatro fases avaliadas, com destaque para a fase de granação/maturação, onde a diferença foi mais expressiva (Brejetuba: 2.757 fragmentos; demais: 251 fragmentos). A maior ocorrência de fragmentos exclusivos em Brejetuba sugere uma maior presença de sítios de restrição não metilados, indicando uma possível desmetilação diferencial das plantas naquele ambiente.

Palavras-chave: Fenologia. Marcadores moleculares. Epigenética. Produtividade. Variação ambiental.

Área do Conhecimento: Ciências Agrárias, Agronomia.

Introdução

O cultivo do café arábica (*Coffea arabica* L.) é uma das principais atividades econômicas do Espírito Santo, com cerca de 53 mil famílias envolvidas e produção concentrada em áreas de altitude entre 500 e 1.200 m (Incaper, 2025). O estado ocupa a terceira posição no ranking nacional de produção de café arábica, com aproximadamente 138 mil hectares cultivados (Conab, 2025). A predominância da agricultura familiar torna a cafeicultura ainda mais relevante, sendo a principal atividade econômica de cerca de 80% dos municípios das regiões produtoras (Krohling et al., 2018).

Em estudo recente foi avaliado a interação genótipo × ambiente de dez genótipos para produtividade em nove municípios do Espírito Santo. Neste estudo Brejetuba foi classificado como um ambiente restritivo, com baixa média produtiva e reduzida contribuição para a interação G×E. Esse resultado indicou que, embora Brejetuba seja uma região de altitude elevada, as condições ambientais locais limitam a expressão do potencial produtivo dos genótipos. Esse achado motivou a busca por possíveis evidências que pudessem estar relacionadas a essa menor produtividade (Alixandre, 2026).

Na preparação de bibliotecas genômicas, para sequenciamento de NGS e obtenção de SNPs, a plataforma DArTseq™ utiliza enzimas de restrição sensíveis à metilação do DNA (Kilian et al., 2012). Esse método gera os marcadores dominantes SilicoDArT, extraídos *in silico*, que indicam a presença ou ausência de fragmentos de restrição específicos (Sansaloni et al., 2020). Os marcadores silicoDArt são utilizados como marcadores de DNA para inferir relações genéticas entre indivíduos (Sansaloni et al., 2020), entretanto devido à sensibilidade enzimática a sítios metilados, a dinâmica de presença e ausência desses marcadores pode estar associada ao perfil de metilação, considerando um mesmo

genótipo em diferentes condições, ou seja, a presença de um fragmento é consistente com um sítio-alvo não metilado, enquanto sua ausência pode refletir metilação naquela região.

Neste estudo objetivou-se avaliar os marcadores SilicoDArT como ferramenta para comparar os perfis de fragmentos entre Brejetuba e os demais ambientes (Afonso Cláudio e Conceição do Castelo), ao longo das fases fenológicas, buscando indicação de efeito epigenético do ambiente Brejetuba e/ou das fases fenológicas em menor produtividade observada em Brejetuba.

Metodologia

Foram avaliados quatro genótipos de *Coffea arabica* L.: Acauã Novo, Arara, Catucaí 785 e Japi. Os experimentos foram instalados em 2019 em três municípios do Espírito Santo: Brejetuba (1050 m de altitude), Afonso Cláudio (990 m) e Conceição do Castelo (780 m), em delineamento de blocos casualizados com quatro repetições e três plantas por parcela. O manejo seguiu as recomendações técnicas (Prezotti et al., 2007).

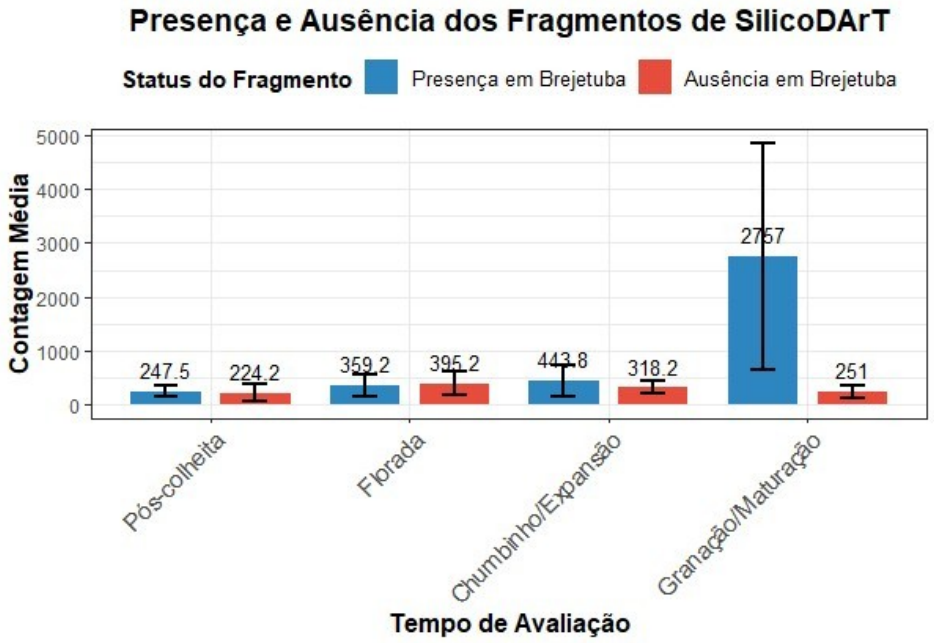
Folhas jovens foram coletadas em quatro tempos durante a safra de 2023/2024, entre junho de 2023 e junho de 2024, que compreendeu a fase de pós-colheita, florada, chumbinho/expansão e granação/maturação. O DNA genômico foi extraído pelo método CTAB (Doyle; Doyle, 1990) e enviado para o *Servicio de Análisis Genético para la Agricultura* (SAGA), localizado no *Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo* (CIMMYT), em Texcoco, México, para genotipagem pela plataforma DArTseq™ (Sansaloni *et al.*, 2011). A plataforma utiliza enzimas de restrição na preparação da biblioteca; neste estudo, foram utilizadas as enzimas *Pst*I (sítio 5'-CTGCAG-3') e *Hpa*II (sítio 5'-CCGG-3'), que possuem sensibilidade à metilação do DNA. Os marcadores SilicoDArT foram obtidos como dados binários (1 = presença, 0 = ausência).

Para a contagem de fragmentos exclusivos, foram descartados todos os *loci* que apresentavam dados perdidos (NA) em qualquer uma das amostras avaliadas. Em seguida, para cada fase fenológica e para cada genótipo individualmente, os indivíduos foram divididos em dois grupos de comparação: Brejetuba (4 repetições) e demais ambientes (8 repetições, sendo 4 de Afonso Cláudio e 4 de Conceição do Castelo). A exclusividade foi determinada avaliando-se cada *locus*: a classe 'presente apenas em Brejetuba' foi atribuída aos *loci* em que todas as 4 repetições daquele genótipo em Brejetuba apresentaram valor 1 (presença) e todas as 8 repetições do mesmo genótipo nos demais ambientes apresentaram valor 0 (ausência). A condição inversa (presença nas 8 repetições dos demais ambientes e ausência nas 4 de Brejetuba) definiu a classe 'presente apenas nos demais ambientes'. Esse procedimento foi repetido para os quatro genótipos. Por fim, para cada fase fenológica, calculou-se a média aritmética do número de fragmentos de cada classe entre os quatro genótipos. As médias foram plotadas em gráfico de barras com ggplot2 (Wickham, 2016) no software R (R Core Team, 2026). Para contextualizar os resultados, foram utilizados dados de produtividade da safra de 2024 (Alixandre, 2026), calculando-se a média geral de Brejetuba e a média geral dos demais ambientes.

Resultados

Em três das quatro fases fenológicas avaliadas, a média de fragmentos por genótipo da classe 'Presença em Brejetuba' superou a da classe 'Ausência' (Figura 1). Na pós-colheita, registraram-se médias de 247,5 e 224,3 fragmentos por genótipo; na florada, 359,2 e 395,2; e no chumbinho/expansão, 443,8 e 318,2, respectivamente. A divergência mais expressiva concentrou-se na fase de granação/maturação, com média de 2.757 fragmentos por genótipo na classe 'Presença em Brejetuba' contra apenas 251 na classe 'Ausência' (Figura 1). A produtividade média em Brejetuba foi de 40,51 sacas por hectare, ficando abaixo da média dos demais ambientes (57,88 sacas/ha; Alixandre, 2026).

Figura 1 - Médias por genótipo do número de fragmentos SilicoDArT das classes "presente apenas em Brejetuba" (barras azuis) e "presente apenas nos demais ambientes" (barras vermelhas) para quatro tempos de avaliação.



Fonte: elaborado pelo próprio autor.

Discussão

A fase de granação/maturação apresentou a maior diferença nos perfis de fragmentos entre Brejetuba e os demais ambientes, coincidindo com a menor produtividade registrada naquele local (Alixandre, 2026). Essa associação traz evidências de que as condições ambientais de Brejetuba podem modular a expressão gênica, por meio de controle epigenético, por alterações na metilação do DNA.

Os polimorfismos dos marcadores SilicoDArT podem ter origem em variações epigenéticas decorrentes do uso de enzimas sensíveis à metilação (Sansaloni et al., 2020). Nesse contexto, a presença de um fragmento indica que o sítio de restrição correspondente não estava metilado, enquanto sua ausência pode refletir metilação naquela região. O predomínio da média de fragmentos exclusivos por genótipo em Brejetuba, especialmente na granação/maturação (2.757 contra 251), sugere uma maior ocorrência de sítios de restrição não metilados naquele ambiente, o que aponta para um possível padrão de desmetilação diferencial. Esse padrão pode estar relacionado a diferenças nas condições ambientais entre os locais, como temperatura e altitude, que afetam o desenvolvimento fenológico (Ferrão et al., 2009; Partelli et al., 2009). A temperatura é um fator determinístico na fase de granação/maturação, período de enchimento dos grãos e maturação dos frutos (Noronha et al., 2025).

Embora os marcadores SilicoDArT possam refletir tanto polimorfismos de sequência quanto diferenças de metilação (Kilian et al., 2012; Sansaloni et al., 2020), a consistência dos padrões observados, aponta a capacidade do marcador na distinção de variação epigenética dos mesmos genótipos cultivados em diferentes ambientes. Os resultados indicaram perfis de fragmentos distintos nos genótipos cultivados em Brejetuba, especialmente na granação/maturação, o que justifica investigações futuras com abordagens diretas de metilação. Novos estudos a partir destes resultados podem ajudar a entender o efeito altitude e temperatura nos fenótipos de genótipos de arabica, servindo como referencia para outros estudos que buscam entender a modulação molecular epigenética do ambiente em relação a produção.

Conclusão

Os perfis de fragmentos SilicoDArT diferiram entre Brejetuba em relação aos demais ambientes em três das quatro fases fenológicas, com maior média de fragmentos exclusivos por genótipo em Brejetuba, especialmente na granação/maturação. Esse padrão sugere maior presença de sítios de restrição não metilados em Brejetuba, indicando possível desmetilação diferencial relacionada ao ambiente de menor produtividade.

Referências

ALIXANDRE, F. T. **Interação genótipo × ambiente em Coffea arabica L.: produtividade e qualidade sensorial de bebida**. 2026. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre.

CONAB. **Acompanhamento da safra brasileira de café**. v. 6, safra 2025, n. 2. Brasília, 2025.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Focus**, v. 12, p. 13-15, 1990.

FERRÃO, M. A. G. et al. Qualidade de café arábica em diferentes altitudes no Espírito Santo. In: **VI SIMPÓSIO DE PESQUISA DOS CAFÉS DO BRASIL**, 2009, Vitória. Anais... Brasília: Embrapa Café, 2009.

INCAPER. **Informações da cafeicultura capixaba**. Vitória: Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural, 2025.

KILIAN, A. et al. Diversity Arrays Technology: A Generic Genome Profiling Technology on Open Platforms. In: POMPANON, F.; BONIN, A. (ed.). **Data Production and Analysis in Population Genomics**. Totowa, NJ: Humana Press, 2012. p. 67-89. (Methods in Molecular Biology, v. 888).

KROHLING, C. A. et al. Adaptation of progênies/cultivars of arabica coffee (*Coffea arabica* L.) in mountainous edafoclimatic conditions. **Coffee Science**, v. 13, n. 2, p. 198-209, 2018.

NORONHA, M. V. O. et al. **Impact of climate on grain filling, flowering, and productivity of arabica coffee**. Embrapa Digital Agriculture, 2025.

PARTELLI, F. L. et al. Cold impact on photosynthetic related parameters in coffee genotypes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 11, p. 1404-1415, 2009.

PREZOTTI, L. C. et al. **Manual de recomendação de calagem e adubação para o Estado do Espírito Santo: 5ª aproximação**. Vitória: SEEA/INCAPER/CEDAGRO, 2007.

R CORE TEAM. **R: A Language and Environment for Statistical Computing**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2026.

SANSALONI, C. et al. Diversity Arrays Technology (DArT) and next-generation sequencing combined: genome-wide, high throughput, highly informative genotyping for molecular breeding of *Eucalyptus*. **BMC Proceedings**, v. 5, P54, 2011.

SANSALONI, C. et al. Diversity analysis of 80,000 wheat accessions reveals consequences and opportunities of selection footprints. **Nature Communications**, v. 11, p. 4572, 2020.

WICKHAM, H. **ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis**. Springer, 2016.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (Incaper), pelo apoio no projeto, na montagem das áreas experimentais, na disponibilização dos genótipos e no manejo do experimento. O presente trabalho também foi realizado com o apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES) – Termo de Outorga n° 427/2025 (Processo nº 2025-3TBR9); do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq); e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.