

VALIDAÇÃO DE MARCADORES EST-SSR DESENVOLVIDOS PARA CAFÉ ARÁBICA

Rodrigo Monte Lorenzoni¹; Josimar Aleixo da Silva²; Ronald Pereira Martins Junior³, Vagner Tebaldi de Queiroz⁴, Maria Amélia Gava Ferrão⁵, Taís Cristina Bastos Soares⁶

¹Mestrando em Produção Vegetal – CCA-UFES/Alegre-ES/Brasil. Bolsista CAPES – e-mail: rodrigomlorenzoni@gmail.com;

²Doutorando em Agronomia/Fitotecnia – UFLA/Lavras-MG/Brasil;

³Graduando em Agronomia – CCA-UFES/Alegre-ES/Brasil;

⁴Professor Adjunto – Departamento de Química e Física – CCA-UFES/Alegre-ES/Brasil;

⁵Pesquisadora Embrapa Café/Incaper/Vitória, ES/Brasil;

⁶Professora Associada – Departamento de Farmácia e Nutrição – CCA-UFES/Alegre-ES/Brasil.

Coffea arabica é uma espécie autógama alotetraplóide ($2n=4x=44$ cromossomos) originária da Etiópia. Devido ao fato de ser uma cultura perene e com longo período juvenil, o processo de melhoramento genético desta espécie é lento, necessitando a implementação de técnicas que facilitem e abreviem a obtenção, avaliação e seleção de materiais superiores. Estudos com marcadores moleculares buscam identificar variações em sequências genômicas que possam estar relacionadas com um fenótipo específico. Tais marcadores genéticos podem ser classificados como uma característica, processos bioquímicos ou fragmentos de DNA que permitem identificar geneticamente indivíduos distintos. Entre as classes de marcadores encontram-se os EST-SSR, que possuem a vantagem de ter uma elevada transferibilidade entre espécies filogeneticamente próximas e uma probabilidade de ser associada com as regiões funcionais do genoma. Devido à importância da cafeicultura para o Brasil e a necessidade de técnicas que auxiliem a seleção de genótipos, o trabalho teve por objetivo validar *primers* EST-SSR para *C. arabica*. Foram extraídos DNA de 28 genótipos contrastantes e representativos da espécie e utilizados 64 pares de *primers*. Os genótipos são provenientes da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG) e do Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (Incaper). As condições ideais para amplificação via PCR foram: 30 ng de DNA; 0,25 μ M de cada dNTP; 2 μ M de *primer*; 10 mM Tris-HCl (pH 8,5), 50 mM KCl; 50 mM de MgCl₂; 0,6 U de Taq DNA polimerase, totalizando 20 μ L por amostra. As reações foram amplificadas em termociclador e os fragmentos gerados foram submetidos a eletroforese em gel de poliacrilamida 6% com posterior visualização sob luz UV em fotodocumentador. Os dados obtidos a partir das análises dos fragmentos polimórficos foram inicialmente utilizados para calcular o conteúdo de informação polimórfica (PIC - *Polymorphic information content*) por meio do software GENES. O PIC é um indicador da qualidade do marcador em estudos genéticos e são agrupados em três níveis: altamente informativo (PIC > 0,5); moderadamente informativo (0,25 < PIC < 0,5) e pouco informativo (PIC < 0,25). Dos 64 pares de *primers* analisados, 45 foram validados, ou seja, apresentaram amplificação. A partir desses *primers* foi possível calcular os valores de PIC, que variaram de 0.0 a 0.5395 com média de 0.3055, sendo classificados como moderadamente informativos. Os níveis moderados de polimorfismo entre os genótipos podem ser explicados pelo fato de *C. arabica* ser uma espécie autógama e apresentar estreita base genética. Portanto, este estudo demonstrou que grande parte dos EST-SSR desenvolvidos para *C. arabica* foram eficientes para amplificação e verificação de polimorfismo entre os genótipos e assim poderão ser utilizados em estudos moleculares futuros a fim de auxiliar os programas de melhoramento genético.

Palavras-chave: marcadores moleculares, PIC, melhoramento genético, polimorfismo.

Apoio Financeiro: CAPES e FAPES