

IDENTIFICAÇÃO E ANÁLISE DE SEQUÊNCIAS NBS-RGA DE *COFFEA CANEPHORA*

Machado, Flavia RB¹; Barros, Érika VSA de¹; Fragoso, Rodrigo R¹; Barbosa, Maria FF¹; Bertoli, David¹; Sá, Maria FG de²

¹Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia – CENARGEN Laboratório de *Agrobacterium* – PBI, PqEB Av. W5-Norte (final) Brasília – DF, Brasil, 707770-900.

erikavsa@cenargen.embrapa.br

Palavras-chave: genes de resistência, nematóide, café

O Brasil é o maior produtor mundial de café, consumindo 25% de sua produção e exportando os 75% restantes, os quais geraram uma média de 1.7 bilhões de dólares anuais em divisas nos últimos 10 anos. Sendo assim, estudos intensivos têm sido feitos por parte do melhoramento genético para a busca do maior vigor das plantas associado à máxima produtividade, resistência e qualidade do produto. Para tal, diversas linhagens de cultivares de café vêm sendo desenvolvidas com características produtivas e vegetativas importantes, como resistência a pragas e doenças. Os fitonematóides parasitam predominantemente as raízes das plantas e são considerados como uma das mais importantes moléstias de muitas culturas, causando danos desde a diminuição de produção até a morte das plantas. Para o cafeeiro, um dos gêneros mais danosos é o *Meloidogyne* spp. (Nematóide das Galhas) que vêm afetando as plantações e inviabilizando o sistema de produção em áreas infestadas. As espécies mais agressivas são *M. incognita*, *M. paranaensis* e *M. exigua*. Estudos dos mecanismos de resistência a patógenos em plantas indicam que os produtos de genes de resistência de diversas espécies de plantas apresentam um domínio característico denominado NBS (nucleotide binding site). “Primers” degenerados desenhados a partir de motivos conservados do domínio NBS são usados para amplificação das sequências de interesse via PCR (Polimerase Chain Reaction). Este trabalho tem como objetivo a identificação de domínios NBS dos RGAs (Resistance Genes Analogues) de uma linhagem da espécie *Coffea canephora* resistente ao *M. paranaensis*. Cinco diferentes de “primers” (A, V, X, Y e Z) foram utilizados para amplificar domínios NBS de RGA's do DNA de um genótipo *C. canephora* via PCR. Em seguida fez-se o isolamento dos fragmentos gerados, a inserção destes no vetor pGEM-T easy e subsequentemente transformação em *E. coli* por eletroporação. Posteriormente, o DNA plasmidial de 24 clones dos respectivos fragmentos de cada par de “primers” foram sequenciados. As sequências obtidas foram analisadas através dos programas Blast-x e Clustal para se verificar a homologia com sequências depositadas no banco de dados de várias espécies de plantas e de café. Os resultados indicam que foram isoladas sequências muito próximas aos RGAs descritos na literatura, inclusive de genes que já foram demonstrados como relacionados à resistência aos nematóides (*Mil-2* de Tomate – AF 039682). Houveram sequências presentes na maior parte dos grupos descritos para café. Os RGAs obtidos poderão ser utilizados como marcadores no melhoramento assistido e na busca dos genes completos de *C. canephora* que possam ser testados para a conferência de resistência aos nematóides em plantas modelo, com a finalidade futura de desenvolver genótipos elite de *C. arabica* resistentes aos nematóides.

Apoio financeiro: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA; Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do Café e Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento; Governo Federal.