

Análise da diversidade nucleotídica intra e interespecífica de *Coffea* spp

Yanagui, K^{1,2}; Vieira, LGE²; Pereira, LFP⁴; Pot, D⁵

¹Universidade Estadual de Londrina

²Laboratório de Biotecnologia Vegetal – IAPAR

³Embrapa Café

⁴CIRAD, UMR DAP

kayanagui@yahoo.com.br

Palavras-chave: SNP, INDEL, *Coffea*, marcadores, polimorfismo

Os bancos de dados de ESTs do gênero *Coffea* têm auxiliado os estudos de identificação de marcadores moleculares. Entre estes trabalhos, foi desenvolvido um *pipeline* para busca de polimorfismos que resultou na identificação de 23.062 SNPs e INDELS presentes em dois genótipos de *C. arabica* e quatro de *C. canephora*. Devido a baixa representatividade genotípica dos dados de ESTs, esse trabalho buscou validar os polimorfismos detectados pelo *pipeline* e avaliar a frequência dos mesmos em um painel maior de genótipos, representativo da diversidade de *C. arabica* (12 genótipos) e *C. canephora* (oito genótipos). Também foram avaliados os polimorfismos entre estas duas espécies com *C. eugenoides*, *C. racemosa* e *Psilanthus bengalensis*. Para a análise foram selecionados oito genes envolvidos na biossíntese de diterpenos e açúcares, importantes compostos relacionados à qualidade da bebida, bem como um gene mitocondrial e um cloroplastídico, que permitem também a inferência sobre a história evolutiva dos genes analisados. Fragmentos dos respectivos genes foram amplificados por PCR e os produtos foram sequenciados. O alinhamento das sequências e a detecção manual dos polimorfismos foram realizados pelo programa *Codon Code Aligner*. Aproximadamente 7,6 kb foram explorados para identificação de 465 polimorfismos incluindo 416 SNPs, 18 INDELS e 31 SSR. Uma frequência de 6,1 SNP foi observada a cada 100 pb. Quando todos os polimorfismos foram considerados, verificou-se que 110 correspondem a diferenças entre *Psilanthus* e *Coffea* e 360 correspondem a diferenças entre as espécies de *Coffea*; destes 266 são intra ou inter específicos para *C. canephora* e *C. eugenoides*, espécies ancestrais de *C. arabica*. Em *C. arabica* foram encontrados 134 SNPs, sendo que aproximadamente 87% destes correspondem a polimorfismos entre os parentais da espécie e apenas 13% correspondem a diferenças intraespecíficas, sendo que maioria dos polimorfismos intraespecíficos verificados não é fixada na população. A partir dos resultados inferiu-se que a análise realizada pelo *pipeline* foi relevante para identificar alguns polimorfismos que diferenciam os genomas dos ancestrais de *C. arabica*, mas apresenta limitações na detecção de SNPs intraespecíficos importantes; por outro lado, o painel diverso de genótipos, permitiu a detecção de vários polimorfismos ainda não identificados, importantes para o mapeamento genético, análises de diversidade e de evolução molecular ao nível intraespecífico. Os dados obtidos poderão ser utilizados tanto nos programas de mapeamento genético de *C. arabica* e *C. canephora*, como para aplicações práticas de genotipagem ou no melhoramento através de seleção assistida por marcadores (SAM), além de serem úteis para estudos evolutivos e possibilitarem a escolha de genes candidatos para estudos de associação e de expressão diferencial de haplótipos relacionada à plasticidade fenotípica. Apoio Financeiro: Consórcio Pesquisa Café, CNPq