

Identificação rápida de marcadores SSR polimórficos em *Coffea arabica*

Ferreira, RV¹; Santos, MA¹; Charmetant, P^{1,2}; Marraccini, P²; Leroy, T²; Vieira, LGE¹; Sera, T¹; Pereira, LFP^{1,3}; Pot, D²

¹ IAPAR AMG Biotecnologia, Caixa Postal 481, CEP 86047-902, Londrina, PR, Brasil

² CIRAD Systèmes Biologiques, TA 96/03 34398 Montpellier Cedex 5

³ Embrapa Café AMG Biotecnologia, Caixa Postal 481, CEP 86047-902, Londrina, PR, Brasil
rafaelle.ferreira@gmail.com

Palavras-chave: *Coffea arabica*, microssatélites, Bulk Segregant Analysis, polimorfismo, germoplasma

Marcadores moleculares SSR são ferramentas importantes nos estudos de diversidade e caracterização de bancos de germoplasma de plantas cultivadas. Entretanto, a identificação de um conjunto mínimo de SSR úteis para discriminar os diferentes genótipos pode implicar na análise de um grande número de marcadores. Em *Coffea arabica* a maioria desses marcadores apresentam um baixo padrão de polimorfismo, o que constitui um dos principais gargalos para os estudos de caracterização genotípica do germoplasma da espécie. O objetivo deste trabalho foi desenvolver uma metodologia de avaliação rápida de SSR visando identificar marcadores polimórficos com um número mínimo de processos de genotipagem. A metodologia empregada constitui numa adaptação da técnica BSA (Bulk Segregant Analysis) utilizada comumente para identificar associações entre marcadores e genes qualitativos em populações biparentais. Para identificar os SSRs polimórficos de uma população de 130 genótipos da Etiópia, centro de origem de *C. arabica*, foram constituídos, com base em dados de diversidade fenotípica, três grupos para análise: um com 6 plantas representando genótipos do leste, outro com 8 plantas representando genótipos do oeste do Vale do Rift e um terceiro grupo representado por um único genótipo. Para cada marcador SSR foram realizadas três reações de amplificação a partir de “pools” formados pelo material genético dos grupos. Em uma única placa de 96 poços foi possível avaliar o polimorfismo de 32 marcadores. Os marcadores que apresentaram um padrão polimórfico entre os grupos foram então avaliados no painel de genótipos em estudo. Para efeitos de comparação entre a genotipagem padrão e a adaptação proposta neste trabalho foram estimados o número de reações de amplificação e de géis de poliacrilamida gastos para a avaliação de 100 SSR em um painel de 24 genótipos considerando uma margem de 10% de marcadores polimórficos. Pelo processo normal de genotipagem, seriam necessários 2400 reações de amplificação e 100 géis de poliacrilamida (24 amostras por gel) enquanto que, utilizando a estratégia dos grupos foram necessários 540 reações de amplificação e 33 géis de poliacrilamida, o que representou uma redução de 4.4 vezes no número de reações e de 3 vezes no número de géis além de um ganho considerável no tempo necessário para realizar as análises. Esta abordagem utilizando a formação de grupos é uma estratégia viável para identificação de marcadores polimórficos em populações para as quais se tenham informações prévias como dados de origem, dados fenotípicos como é o caso da coleção de acessos da Etiópia de *C. arabica* existente no banco do IAPAR-PR fornecendo informações rápidas e de maneira mais econômica para os estudos de diversidade e mapeamento associativo da coleção. Apoio financeiro: CNPq, CIRAD, IAPAR, INCT