

CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE MATERIAIS COMERCIAIS DE CAFÉ

R. K.S. Teixeira, Bolsista I.C. CBP&D Café/ UFLA /Embrapa Café; L. Padilha, Pesq. D.Sc., Embrapa Café; G.S. Pereira, Bolsista MSc CNPq Fitotecnia/UFLA; C.H.S. Carvalho, Pesq. D.Sc., Embrapa Café; B. L. Carvalho, Grad. Agr. UFLA; E.V.R. Von Pinho, Prof. Dr. DAG/UFLA. Financiamento: CBP&D Café. Apoio: Fapemig. Financiamento: CBP&D Café. Apoio: CNPq; Fapemig

Para o registro de uma cultivar é necessário que a mesma seja distinta de outras já protegidas, seja homogênea e apresente estabilidade em diferentes ambientes (teste de DHE - determinado pela Lei de Proteção de Cultivares). Em espécies que apresentam base genética estreita, como *Coffea arabica*, os descritores morfológicos apresentam algumas limitações, principalmente, por apresentarem baixo grau de polimorfismo e por serem influenciados pelo ambiente. Além disto, muitos destes descritores são expressos somente nas plantas adultas, o que demanda tempo e espaço para a avaliação dos mesmos. Dessa forma é necessária a obtenção de marcadores mais estáveis para fins de diferenciação de cultivares para posterior registro e proteção.

Os marcadores moleculares do tipo microssatélites ou SSR (sequências simples repetidas) são uma alternativa para a diferenciação de cultivares de café arábica, pois apresentam uma ampla cobertura do genoma com elevado grau de polimorfismo (Tautz & Renz, 1984; Toth et al., 2000; Gupta & Varshney, 2000; Morgante et al., 2002). O objetivo deste trabalho foi diferenciar cultivares de *C. arabica* utilizando marcadores SSR.

As análises laboratoriais foram realizadas no LAS/Biotecnologia do DAG-UFLA, Lavras, MG. Os DNAs foram extraídos das folhas de três clones de *C. arabica* (clones 3, 12 e 5) tolerantes ao bicho mineiro e cuja propagação é feita por meio de embriogênese somática; além de 12 cultivares comerciais de *C. arabica*: Catuaí Vermelho IAC 144, Mundo Novo IAC 376-4, Sabiá Tardio cv398, IBC-Palma 2, Catuaí Vermelho 2015 cv 476, Catuaí Amarelo 2015 cv 479, Obatã, Icatú Amarelo IAC 3282, Bourbon Amarelo, Acauã, Catuaí Amarelo IAC 62, Paraíso. Todos os materiais genéticos envolvidos neste estudo foram fornecidos pela Fundação Procafé, Varginha, MG.

O DNA extraído foi amplificado via PCR (reação da polimerase em cadeia) utilizando-se 33 *primers* SSR desenhados a partir de etiquetas de sequências expressas (EST) depositadas no banco do Genoma do Café. Também foram utilizados outros três *primers* SSR: SAT 225 (fw: 5'-CAT GCC ATC ATC AAT TCC AT-3'; rv: 5'-TTA CTG CTC ATC ATT CCG CA-3'), Sat 229 (fw: 5'-TTC TAA GTT GTT AAA CGA GAC GCT TA-3'; rv: 5'-TTC CTC CAT GCC CAT ATT G-3') e Sat259 (fw: 5'-GCC AAT TGT GCA AAG TGC T-3'; rv: 5'-ATT CAT GGG GCC TTT GTC TT-3') (Baruah et al., 2003; Moncada & McCouch, 2004; Poncet et al., 2004; Bhat et al., 2005). Os fragmentos de DNA amplificados pelos *primers* SSR foram separados pela eletroforese em gel de poliacrilamida 10% e corados com prata.

Resultados e conclusões

Dentre os 36 *primers* microssatélites avaliados, 13 não amplificaram, 19 foram monomórficos e quatro foram polimórficos. Na figura 1 pode ser visualizado o resultado da amplificação do *primer* SAT 225 que combinado ao polimorfismo observado com a amplificação do *primer* LEG 13 permitiu a identificação única das cultivares Acauã, Palma II e Clone 5. Completando o conjunto de *primers* com LEG11 e P18, também foram obtidos perfis únicos para o Sabiá 398, diferenciando-o dos demais.



Figura 1. Padrão de amplificação em gel de poliacrilamida 10% do SSR SAT 225, em três clones (Clone 3, Clone 12, Clone 5) e doze cultivares (Catuaí Vermelho IAC 144, Mundo Novo IAC 376-4, Sabiá Tardio cv398, IBC-Palma 2, Catuaí Vermelho 2015cv476, Catuaí Amarelo 2015 cv479, Obatã, Icatú Amarelo IAC 3282, Bourbon Amarelo, Acauã, Catuaí Amarelo IAC 62, Paraíso).

A utilização de quatro locos SSR foi eficiente para diferenciar três cultivares e um clone dentre os 15 materiais estudados, o que torna este marcador de DNA uma importante ferramenta para o auxílio à diferenciação de cultivares café.