

V. Nogueira  
Home  
1º SBPM?

# MARCADORES RAPD NO ESTUDO DA DIVERSIDADE GENÉTICA EM CAFÉ CONILON



Maria Amélia Gava Ferrão<sup>1</sup>, Aymbiré Francisco Almeida da Fonseca<sup>2</sup>, Romário Gava Ferrão<sup>3</sup>, Wellington Marota Barbosa<sup>4</sup> e Elaine Manelli Riva Souza<sup>5</sup>  
Pesquisadora Embrapa Café / Incaper / Bolsista CNPq<sup>1</sup>; Pesquisador da Embrapa/Incaper<sup>2</sup>; Pesquisador do Incaper<sup>3</sup>; Ex-Bolsista CBP&D-Café/Incaper<sup>4</sup>; Bolsista do CBP&D-Café/Incaper<sup>5</sup>.

## INTRODUÇÃO

O café Conilon é uma espécie alógama, apresentando autoincompatibilidade do tipo gametofítica, que conduz a formação de populações altamente heterozigotas com ampla e importante variabilidade genética necessária ao melhoramento da espécie, e, informações sobre distâncias genéticas entre acessos de um Banco de Germoplasma baseadas em marcadores moleculares são úteis na identificação desta diversidade, por proporcionarem redução do tempo e aumento na acurácia para as avaliações e obtenção de informações complementares importantes.

Este trabalho objetivou analisar a diversidade genética entre 80 genótipos de *Coffea canephora* pertencentes ao programa de melhoramento genético do Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (Incaper), por meio de marcadores moleculares RAPD.

## MATERIAL E MÉTODOS

Utilizou-se de 80 genótipos de café Conilon selecionados e mantidos no Banco Ativo de Germoplasma do INCAPER localizado na Fazenda Experimental de Marilândia, ES.

A extração de DNA foi realizada com base no protocolo proposto por Doyle e Doyle, com algumas modificações. Para quantificação utilizou-se amostras de DNA de padrões conhecidos.

A amplificação do DNA foi efetuada em termociclador *GeneAmp PCR System 9700*, pela técnica de RAPD de acordo com Williams et al., utilizando-se um volume de 25 L, contendo 25 g de DNA, 100 M de cada um dos desoxinucleotídeos (dATP, dCTP, dGTP e dTTP); MgCl<sub>2</sub>, 2,0 mM; Tris-HCl 10 mM (pH 8,3); KCl 50 mM; 0,4 M de um primer decâmero e uma unidade da enzima *Taq* polimerase. As condições de amplificação foram: desnaturação do DNA a 94°C, por 15 segundos, ligação do primer ao DNA molde a 35°C, por 30 segundos, e extensão da fita de DNA a 72°C, por um minuto. Após 40 ciclos, foi efetuada uma última etapa de extensão a 72°C, por sete minutos.

Os produtos de amplificação foram separados por eletroforese horizontal utilizando-se gel de agarose 1,2%, corado com brometo de etídeo (0,5 g/L). Os fragmentos de DNA foram visualizados e fotografados com o sistema de fotodocumentação *Eagle Eye II* (*Stratagene*). A análise dos dados moleculares foi baseada na codificação 1 para presença e 0 para ausência de bandas de mesmo peso molecular no gel.

As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do *software* Genes, versão 2006. As estimativas de similaridade entre todos os pares de acessos (ii') foram convertidas em dissimilaridade por meio do complemento aritmético (D) do Índice de similaridade de Jaccard. Para a análise de agrupamento dos genótipos foram utilizados o algoritmo UPGMA e o método de otimização de Tocher.

## RESULTADOS

Os 25 primers utilizados amplificaram 245 bandas, com uma média de 9,8 bandas por primer. Destas bandas, 45 (18,36%) foram monomórficas (1,8 bandas/primer) e 200 (81,63%) foram polimórficas (8,0 bandas/primer).

A matriz de dissimilaridade genética, obtida a partir do complemento aritmético do Índice de Jaccard, mostrou que a maior distância genética entre os pares de genótipos foi de 0,5214 e a menor de 0,0955, permanecendo a distância genética média para as diversas combinações entre os 80 genótipos de *C. canephora* em 0,3438 (0,0009).

O agrupamento dos genótipos pelo método de otimização de Tocher mostrou a formação de 15 grupos (Tabela 1), em que o grupo I, com 55 representantes, reuniu 68,75% dos materiais genéticos.

Analisando-se o dendrograma obtido por meio do método UPGMA (Figura 1), pode-se inferir que existe divergência genética entre os 80 genótipos de *C. canephora* estudados, pois houve a formação de 15 grupos diferentes, ao se adotar um percentual de distância genética em torno de 80%. Concordando com o método de otimização de Tocher, o grupo I destacou-se como o maior, contendo 45 dos genótipos estudados (56,25%).

## DISCUSSÃO

O conhecimento da amplitude da divergência genética é de grande importância ao melhoramento de plantas para direcionar cruzamentos visando a obtenção de maior heterose e também seleções de plantas úteis aos objetivos das pesquisas.

A distribuição dos genótipos em 15 diferentes grupos, segundo o método de otimização de Tocher, ilustra a existência de expressiva variabilidade genética dentro do grupo de materiais estudados, à semelhança de outros resultados obtidos também com café Conilon.

Essa variabilidade existente caracteriza a possibilidade de que sejam identificados genótipos com características valiosas para programas de melhoramento da espécie.

Tabela 1. Grupos estabelecidos pelo Método de Otimização de Tocher, com base na matriz de dissimilaridade genética obtida pelo complemento aritmético do Índice de Jaccard para dados binários, em 80 acessos de *Coffea canephora*.

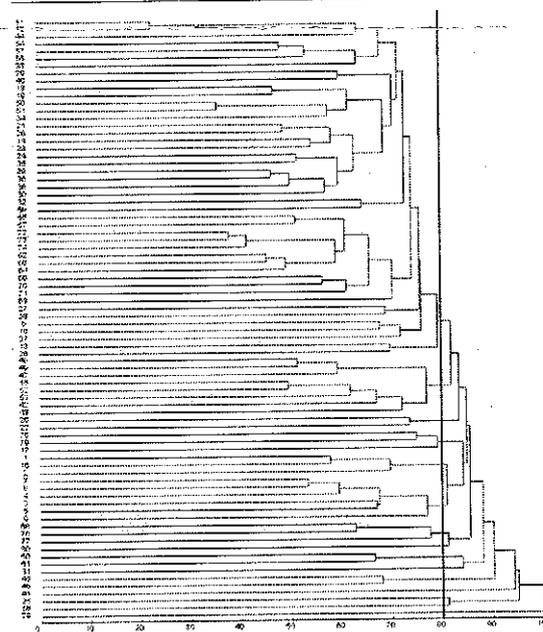
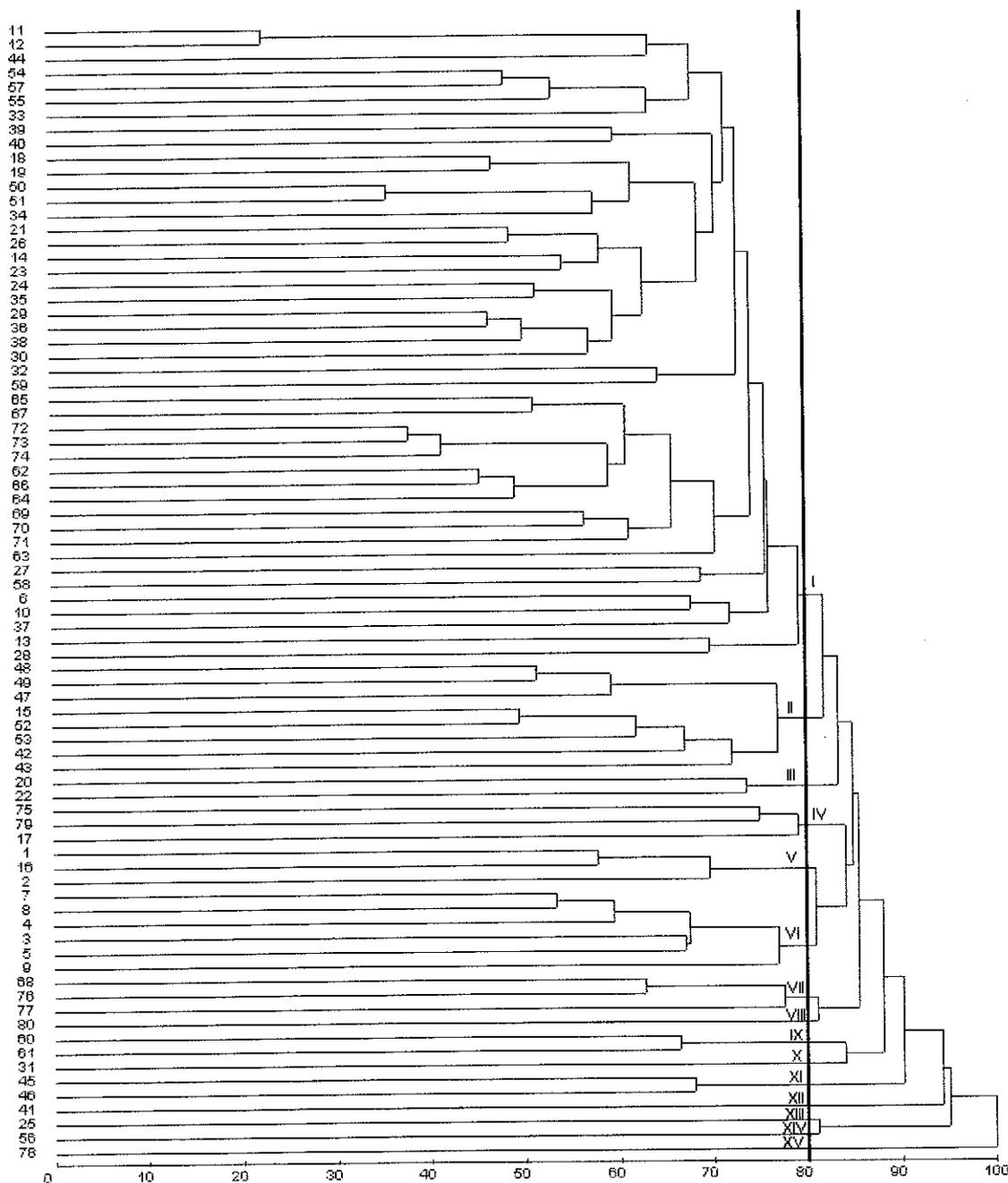


Figura 1. Dendrograma de dissimilaridades genéticas entre 80 acessos de *Coffea canephora*, estabelecido pelo método de agrupamento Ligação Média Entre Grupo (UPGMA), com base na matriz de dissimilaridade genética obtida pelo complemento Aritmético do Índice de Jaccard para dados binários. No eixo X encontram-se as distâncias genéticas relativas e no eixo Y encontra-se a descrição dos acessos.

XII	31
XIII	56
XIV	25
XV	41



**Figura 1.** Dendrograma de dissimilaridades genéticas entre 80 acessos de *Coffea canephora*, estabelecido pelo método de agrupamento Ligação Média Entre Grupo (UPGMA), com base na matriz de dissimilaridade genética obtida pelo complemento Aritmético do Índice de Jaccard para dados binários. No eixo X encontram-se as distâncias genéticas relativas e no eixo Y encontra-se a descrição dos acessos.