

CARACTERIZAÇÃO DE CAFEIROS RESISTENTES E SUSCEPTÍVEIS AO BICHO-MINEIRO POR MEIO DE MARCADORES MOLECULARES

G.S.Pereira, Bolsista MSc CNPq Fitotecnia/UFLA, gabipereira87@yahoo.com.br; L. Padilha, Pesq. D.Sc., Embrapa Café; R.K.Teixeira, Bolsista I.C. CBP&D Café/ UFLA/Embrapa Café; C.H.S Carvalho, Pesq. D.Sc., Embrapa Café; S.R Almeida, Pesq. MSc Fundação Procafé; 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

O bicho-mineiro (*Leucoptera coffeella*), principal praga das lavouras cafeeiras do Brasil, causa danos nas folhas, reduz a área fotossintética das plantas, o que resulta na queda da produtividade. Instituições brasileiras voltadas à pesquisa e ao desenvolvimento de cultivares de café tem trabalhado no desenvolvimento de genótipos de *C. arabica* resistentes a essa praga. Fontes de resistência ao bicho-mineiro foram identificadas em *C. racemosa*, espécie diplóide, não domesticada, porém com alto potencial de uso em programas de melhoramento genético, devido principalmente à facilidade de cruzamento com *C. arabica* que é uma espécie alotetraplóide. Por meio de cruzamentos controlados transferiu-se a resistência ao bicho-mineiro da espécie *C. racemosa* à *C.arabica*.

Os marcadores moleculares são uma ferramenta para o direcionamento de programas de melhoramento e podem contribuir para a redução do tempo gasto no desenvolvimento de novos materiais. Até o momento não foram identificados marcadores moleculares associados à característica de resistência ao bicho-mineiro em cafeeiros (Pinto et al., 2007).

O objetivo desse trabalho foi diferenciar genótipos de café arábica resistentes ao bicho-mineiro por meio de marcadores de DNA do tipo microssatélites ou SSR (sequências simples repetidas).

O estudo foi realizado em indivíduos de famílias do Siriema (*C. arabica*) em F4, resistentes ou susceptíveis ao bicho mineiro, e que foram, inicialmente, originadas a partir de um cruzamento interespecífico entre a espécie *C.arabica*, suscetível ao bicho-mineiro e *C. racemosa*, resistente à praga. Estes materiais estão estabelecidos em Coromandel, MG em um campo de melhoramento genético da Fundação Procafé. Foram avaliadas dez famílias susceptíveis (S1, S4, S8, S13, S15, S21, S24, S38, S42, S48) e dez resistentes (R3, R23, R29, R30, R33, R34, R37, R43, R46, R49). Também foram analisados oito acessos de *C. racemosa*, mantidos na coleção do IAC em Campinas, SP. As folhas foram coletadas do terço médio de cada planta, pela manhã e, ainda úmidas foram armazenadas em sacos plásticos para posterior extração do DNA seguindo método de Ferreira & Grattapaglia (1996) com algumas modificações.

Foram utilizados 66 primers SSR, sendo 63 destes obtidos de sequências expressas (EST) denominados SSR-EST e disponíveis no banco de dados do Projeto Brasileiro do Genoma Café. Os outros três primers SSR foram 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 66 primers microssatélites avaliados, SAT 225 e SAT 229 amplificaram fragmentos polimórficos entre os genótipos susceptíveis e os resistentes. Os primers EST-SSR desenvolvidos a partir das sequências expressas contidas no Genoma Café não foram polimórficos para a característica de interesse. É importante ressaltar que esses oligonucleotídeos foram desenvolvidos de sequências expressas potencialmente relacionadas com a resistência ao bicho-mineiro e também de sequências aleatórias. Esses resultados corroboram àqueles encontrados por Pinto et al (2007) que também não identificaram marcadores SSR obtidos de EST do Programa Brasileiro do Genoma Café associados à resistência ao bicho-mineiro.

O perfil de amplificação do primer SAT 225 pode ser visto na Figura 1, onde há o alelo com aproximadamente 300 pb presente tanto nos bulks de indivíduos susceptíveis quanto no perfil dos bulks resistentes e também nos acessos de *C. racemosa*. O alelo polimórfico com, aproximadamente, 270 pb foi observado apenas nos bulks susceptíveis S4, S8, S15, S21, S24, S38, S42 e S48. Para o primer SAT 229, observou-se o alelo polimórfico com 190 pb, presente nos indivíduos dos bulks S4, S8, S15, S38 e S42.

Utilizando-se marcadores SSR foi possível diferenciar genótipos resistentes de susceptíveis ao bicho-mineiro, porém não ainda foi encontrado nenhum alelo ligado à característica de resistência a esta praga.

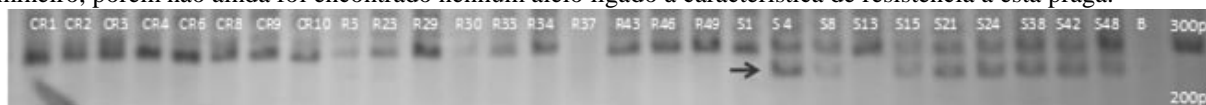


Figura 1- Padrão do alelo polimórfico de, aproximadamente, 270pb amplificado em gel de poliacrilamida 10% utilizando o primer SAT 225. (CR=*C. racemosa*; R = *Bulks* do DNA de indivíduos das famílias de *C. arabica* resistentes; S= *Bulks* do DNA de indivíduos das famílias de *C. arabica* susceptíveis ao bicho-mineiro).