



DIFERENCIAÇÃO DE CLONES RESISTENTES A ESTRESSES BIÓTICOS



Lígia Alves Pereira
Bolsista do Consórcio Pesquisa Café

O CAFÉ NO BRASIL



- ◉ O gênero *Coffea*: 103 espécies.
 - *C. arabica*, autofértil; e *C. canephora* (café robusta), diversidade mais ampla.

- ◉ *C. arabica* = Pouca variabilidade genética
 - Autofecundação
 - Introdução de poucas sementes

O CAFÉ NO BRASIL



- ◉ 1727, região norte: *C. arabica* cv. Arábica, primeiros cafezais brasileiros, conhecidos por Nacional, Crioulo ou Típica, poucas sementes da Etiópia.
- ◉ 1859: introdução de sementes de *C. arabica* cv. Bourbon Vermelho -> aumentar a produtividade dos cafezais no país.
 - Maioria das cultivares comerciais de café arábica no Brasil: derivadas de Típica e Bourbon.

MARCADORES MOLECULARES



- ◉ Programas de melhoramento e caracterização de cultivares: avaliações fenotípicas.
- ◉ Marcador molecular: “marca” no DNA capaz de detectar diferenças entre dois ou mais indivíduos, auxilia avaliação fenotípica.
- ◉ Tem que ser herdável.

MARCADORES MOLECULARES



◉ Importância no trabalho:

- Utilizados para descartar misturas que podem ocorrer entre materiais genéticos.

MARCADORES FENOTÍPICOS *VERSUS* MARCADORES MOLECULARES

MARCADORES FENOTÍPICOS

MARCADORES MOLECULARES

Pode ser influenciado pelo ambiente
(doenças)

Não dependentes de fatores ambientais

Número limitado de marcadores

Grande número de marcas disponíveis

Avaliação em tecidos específicos

Avaliação em qualquer tecido

Depende do estágio de desenvolvimento da
planta

Detecção precoce/rápida

Marcadores já padronizados

Poucos marcadores polimórficos
disponíveis

OBJETIVO

- ◉ Diferenciar, através de marcadores microssatélites, clones de café arábica com potencial para proteção intelectual e comercialização.

MÉTODOS

- Avaliados clones de *C. arabica*, resistentes ao nematóide (*Meloidogyne paranaensis*) e à ferrugem (fungo *Hemileia vastatrix*).
- Plantas matrizes resistentes ao nematóide e à ferrugem foram clonadas em uma empresa comercial e as mudas adaptadas no viveiro IAC.
- 900 mudas.
- Detecção de mistura entre os clones.



Mudas clonais do genótipo IAC 1 resistentes
à *Hemileia vastatrix*.




Mudas clonais do genótipo resistente a
Meloidogyne paranaensis

MÉTODOS

○ MARCADORES MOLECULARES:

24 marcadores moleculares relacionados a estresses bióticos foram testados em plantas matrizes do programa de melhoramento IAC.

- 
- Extração de DNA das folhas, protocolo DOYLE e DOYLE (1991).

- PCR dos 24 marcadores obtidos do banco de dados do Genoma do Café.

- Avaliação da sensibilidade do marcador.

- Sensibilidade avaliada em GRUPOS de misturas de DNA dos clones resistentes ao nematóide (N) e à ferrugem (F) nas proporções de 1N:1F; 1N:4F; 1N:10F; 1N:14F e vice versa.

RESULTADOS

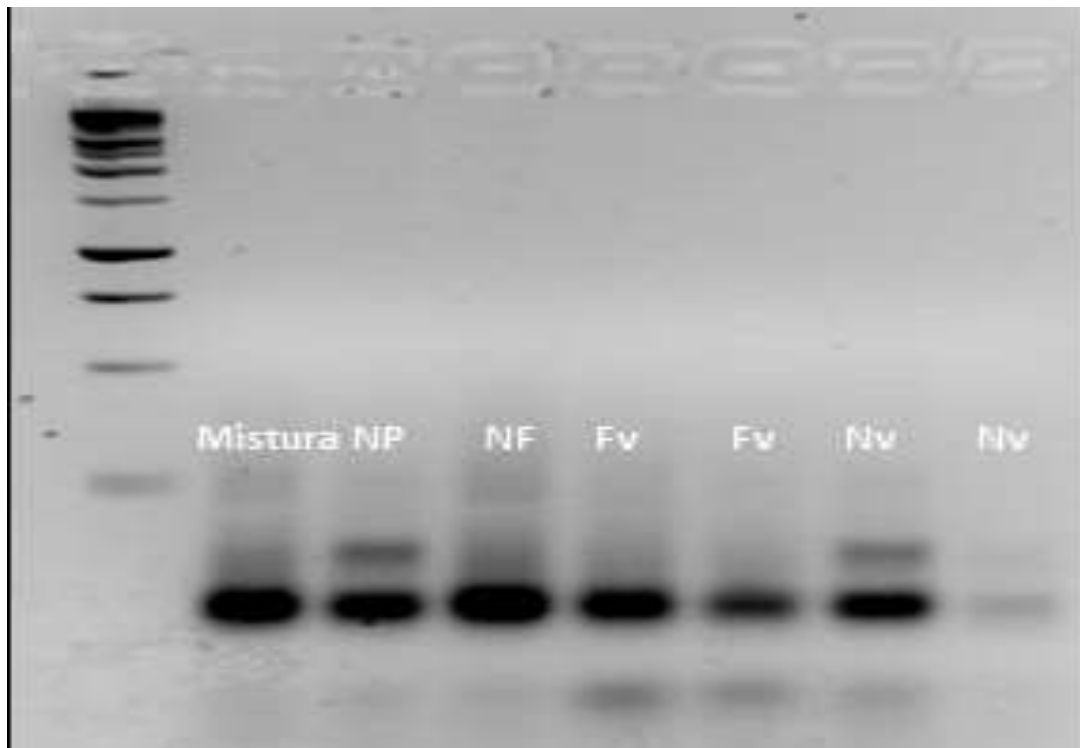


Figura 1: Amplificação do loco LEG 9 em genótipos de *C. arabica*, em gel de agarose 3% corado com brometo de etídeo. **Mistura**: *Bulk* de DNA de mudas, conduzidas no viveiro das mudas resistentes ao nematóide com suspeita de ser mistura do clone resistente à ferrugem com o resistente ao nematóide; **NP** = Padrão para Nematóide (clone resistente ao Nematóide); **NF**= Padrão Ferrugem (clone resistente a Ferrugem); **FV**= *Bulk* de mudas conduzidas no viveiro e que foram agrupadas por possuírem características fenotípicas compatíveis com o genótipo resistente à ferrugem; **NV**= *Bulk* de mudas conduzidas no viveiro e que foram agrupadas por possuírem características fenotípicas compatíveis com o genótipo resistente ao nematóide.

Padrão de amplificação do LEG 9, onde são observadas duas bandas para o clone resistente ao nematóide e uma única banda no resistente à ferrugem.

RESULTADOS

Avaliação da sensibilidade para amplificação utilizando o primer polimórfico

900
mudas
clonais



60 *Bulks* de 15
indivíduos para a
avaliação da
pureza genética
dos clones.



Figura 1: Visão geral do viveiro de mudas clonais

RESULTADOS

- ◉ Dos 60 grupos formados, com 15 indivíduos avaliados com o marcador LEG 09:
 - 47% não apresentavam indivíduo contaminante (mudas de material resistentes a ferrugem).
 - 53% dos grupos restantes apresentava pelo menos uma muda com características de mistura.

CONCLUSÃO

- ◉ O loco SSR LEG 9 se mostrou polimórfico, podendo ser utilizado para avaliação de mistura dos clones resistentes ao nematóide e à ferrugem.

CONSIDERAÇÕES

- ◉ Economia de tempo e dinheiro ao detectar precocemente características diferenciáveis de plantas resistentes ou não a esse tipo de estresse biótico.
- ◉ Marcador LEG 09 disponível no programa de melhoramento genético do IAC.

OBRIGADA!

