

## MAPA PARCIAL DE LIGAÇÃO GÊNICA DE *Coffea arabica* L.

Terezinha A. **TEIXEIRA-CABRAL** (UFV, tcabral@alunos.ufv.br); Ney S. **SAKIYAMA** (UFV, sakiyama@mail.ufv.br); Laércio **ZAMBOLIM** (UFV); Ivan **SCHUSTER** (UFV); Antônio A. **PEREIRA** (EPAMIG).

**ABSTRAT:** A partial linkage map was developed for *Coffea arabica* L. on the basis of a backcross population between Híbrido de Timor and Mundo Novo. RAPD markers were used to construct seven linkage groups totalling 394,3 cM. In total, 58 RAPD loci have been placed on the linkage map. The groups obtained have a good density of markers, except two groups. The longest gap corresponded to a 38,42 cM and there were a total of three that exceeded 20 cM. Additional markers may eventually fill these gaps. New markers will be used to cover the genome more completely.

**RESUMO:** Um mapa parcial de ligação para *Coffea arabica* L. foi desenvolvido a partir de uma população segregante RC<sub>1</sub> obtida do cruzamento entre Híbrido de Timor e Mundo Novo. Cinquenta e oito marcadores RAPD foram usados para construir sete grupos de ligação totalizando 394,3 cM. Os grupos obtidos tiveram uma boa densidade de marcadores, exceto dois grupos. O maior intervalo entre dois marcadores foi de 38,42 cM e houve um total de três intervalos que excederam a 20 cM. A inclusão de novos marcadores poderá saturar estes intervalos. Novos marcadores estão sendo obtidos para cobrir melhor o genoma.

**PALAVRAS-CHAVE:** café, *Coffea arabica*, RAPD, mapa de ligação.

### INTRODUÇÃO

As informações adquiridas para o melhoramento de plantas com a construção de um mapa de ligação variam desde a associação de marcadores com caracteres qualitativos e localização dos mesmos nos grupos de ligação, até a identificação de regiões genômicas associadas a caracteres quantitativos (QTLs). Com o desenvolvimento de um mapa de ligação existe a possibilidade de testar marcadores distribuídos por todo o genoma aumentando a probabilidade de se encontrar associações significativas com características de interesse. O mapa também é de grande utilidade na caracterização de germoplasma, pois, existem marcadores distribuídos de maneira homogênea ao longo do genoma de uma espécie. Detalhados mapas de ligação têm sido desenvolvidos para um grande número espécies de plantas com base em marcadores RFLP (Tanksley et al., 1989) e RAPD (Ferreira e Grattapaglia, 1996). Em *Coffea arabica* L. a construção de mapas de ligação tem sido particularmente difícil devido ao baixo nível de polimorfismos (Paillard et al., 1993) e complicações advindas da poliploidia (Paillard et al., 1996). O objetivo deste trabalho foi desenvolver um mapa genético parcial para *Coffea arabica* utilizando marcadores RAPD.

### MATERIAL E MÉTODOS

**Material genético:** foi utilizada uma população segregante com 104 plantas RC<sub>1</sub> oriundas do cruzamento entre o Híbrido de Timor CIFIC 2570 (UFV 440-22) e Mundo Novo IAC 464-18 (UFV 2190-100EL8), tendo como pai recorrente o Híbrido de Timor. **Extração de DNA:** o DNA foi extraído de folhas jovens e frescas, de acordo com o protocolo descrito por Paillard et al. (1996), com modificações. **Amplificação de DNA e análise eletroforética dos produtos:** para a seleção de *primers* que gerassem polimorfismos entre os pais, 680 *primers* de 10 bases da “Operon Technologies” (Kits OPA-OPZ e OPBA-OPBH) foram utilizados para amplificar o DNA dos pais e da planta F<sub>1</sub>. As amplificações foram feitas em termociclador Perkin-elmer 9600. Cada reação contou com um volume total de 25 µl, contendo os seguintes componentes: 25 ng de DNA genômico, 1 unidade AmpliTaq DNA polimerase, 0,1 mM de cada dNTP, 0,2 µM de *primer*, 50 mM de KCl, 10 mM de Tris HCl e 2 mM de MgCl<sub>2</sub> e o volume final completado com água ultrapura. Foi utilizado o seguinte programa: um ciclo para desnaturação (95°C por 1 min), 39 ciclos para amplificação (15 seg a 94°C, 30 seg a 35°C, 60 seg a 72°C) e para finalizar 7 min a 72°C. Os produtos das reações de

amplificação foram separados por eletroforese em geis de agarose 1,4%, corados com brometo de etídio, visualizados sob luz UV e fotodocumentados. Análise dos dados e construção do mapa: foi montada uma matriz com base nos marcadores RAPD, considerando 1 como presença da banda (genótipo heterozigoto Aa), 0 como ausência da banda (genótipo recessivo aa) e 9 como dado perdido. Somente foram consideradas as bandas polimórficas mais nítidas. A taxa de segregação dos marcadores RAPD foi analisada pelo teste do qui-quadrado ( $\chi^2$ ). O programa QMOL (Departamento de Biologia Geral da Universidade Federal de Viçosa) foi utilizado para análise e identificação dos grupos de ligação. Análise de dois-pontos foi usada para identificar os grupos de ligação com valores de recombinação ( $\theta$ ) máximo de 0.4 e LOD escore mínimo de 3.0. A função de Kosambi (Kosambi, 1944) foi usada para conversão das taxas de recombinação em distância de mapa (centiMorgan cM).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 680 *primers* avaliados, 146 foram selecionados por amplificarem bandas específicas presentes no Pai 2 e F<sub>1</sub> e ausentes no Pai 1 (pai recorrente). Portanto, 21,5% dos *primers* avaliados resultaram padrão polimórfico. Desses 146, 51 foram utilizados para amplificar o DNA das 104 plantas da população RC<sub>1</sub>. Esses 51 *primers* deram origem a 61 marcadores RAPD, média de 1,2 marcadores por *primer*. Os 61 marcadores mostraram segregação na proporção esperada 1:1 (P>0.01) (Tabela 1). Dos 61 marcadores, apenas três (OPK-02, OPQ-12 e OPBA-06) não mostraram-se ligados aos grupos formados. A inclusão de novos marcadores poderá incluí-los em algum grupo ou formar novos grupos. Os 58 marcadores RAPD resultaram em sete grupos de ligação cobrindo 394,3 cM (Figura 1). Desses 58 marcadores, quatro ocuparam a mesma posição no Grupo 1 (OPA-01, OPB-20, OPG-06a e OPJ-11a) e dois ocuparam a mesma posição no Grupo 4 (OPP-08 e OPU-14). Considerando todos os grupos, a distância média entre dois marcadores foi de 7,3 cM e dentro de cada grupo a distância média variou de 2,7 (Grupo 4) a 10,7 (Grupo 5) e houve um total de três intervalos que excederam a 20 cM. A inclusão de novos marcadores poderá saturar estes intervalos. Os grupos obtidos tiveram uma boa densidade de marcadores, exceto para os Grupos 5 e 7.

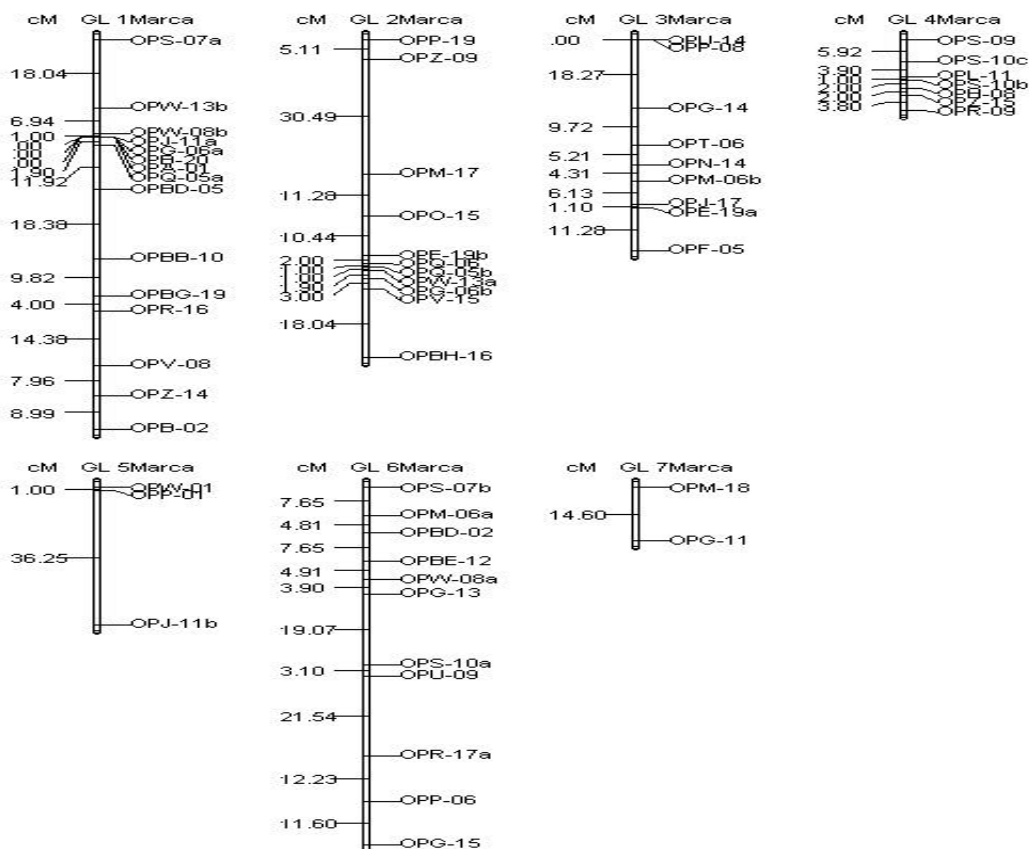


Figura 1. Mapa parcial de ligação de *Coffea arabica* L. com base em marcadores RAPD. Distâncias de mapa em cM (função de Kosambi) são indicadas a esquerda dos grupos de ligação e os nomes dos locos estão a direita.

Tabela 1. Lista de marcadores RAPD e respectivos  $\chi^2$ . *Primer* com mais de um produto polimórfico foi identificado com as letras a, b, c.

Nome do loco	$\chi^2$ 1:1	Nome do loco	$\chi^2$ 1:1	Nome do loco	$\chi^2$ 1:1	Nome do loco	$\chi^2$ 1:1
OPA-01	0,15	OPK-02	0,01	OPR-09	6,50	OPW-08b	0,63
OPB-02	2,26	OPL-11	6,07	OPR-16	3,47	OPW-13a	0,35
OPB-20	0,09	OPM-06a	3,12	OPR-17	0,40	OPW-13b	0,35
OPE-19a	0,25	OPM-06b	0,00	OPS-07a	1,38	OPZ-09	0,48
OPE-19b	0,25	OPM-17	0,36	OPS-07b	0,15	OPZ-14	0,64
OPF-05	0,96	OPM-18	0,04	OPS-09	2,23	OPZ-15	4,65
OPG-06a	0,09	OPN-14	0,43	OPS-10a	1,38	OPBA-06	0,15
OPG-06b	0,09	OPO-15	0,79	OPS-10b	4,65	OPBB-10	1,57
OPG-11	1,04	OPP-01	0,80	OPS-10c	2,46	OPBD-02	2,46
OPG-13	1,88	OPP-06	1,14	OPT-06	0,04	OPBD-05	0,48
OPG-14	0,48	OPP-08	1,64	OPU-09	2,27	OPBE-12	2,46
OPG-15	0,04	OPP-19	0,16	OPU-14	1,92	OPBG-19	3,12
OPH-08	6,19	OPQ-05a	0,01	OPV-08	2,46	OPBH-16	1,15
OPJ-11a	0,24	OPQ-05b	0,47	OPV-15	0,25		
OPJ-11b	0,48	OPQ-06	0,35	OPW-01	0,64		
OPJ-17	0,00	OPQ-12	2,46	OPW-08a	2,51		

Todos os valores de  $\chi^2$  tiveram  $P > 0.01$

## CONCLUSÃO

Um mapa parcial de ligação gênica foi construído para *Coffea arabica* L., com base em 58 marcadores RAPD. Foram obtidos sete grupos de ligação que mapearam 394,3 cM do genoma, com distância média de 7,3 cM entre locos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- FERREIRA, M.E. & GRATTAPAGLIA, D. 1996. **Introdução ao Uso de Marcadores Moleculares em Análise Genética**. 2ª edição. EMBRAPA, Brasília, DF. 220p.
- PAILLARD, M.; DUCHATEAU, N. & PÉTIARD, V. 1993. Diversité génétique de quelques groupes de caféiers: utilisation des outils moléculaires, RFLP et RAPD. ASIC, 15<sup>e</sup> Colloque, Montpellier, pp 33-40.
- PAILLARD, M.; LASHERMES, P. & PÉTIARD, V. 1996. Construction of a molecular linkage map in coffee. *Theor Appl Genet*, **93**:41-47.
- TANKSLEY, S.D.; YOUNG, N.D.; PATERSON, A.H. & BONIERBLE, M.W. 1989. RFLP mapping in plant breeding: new tools for na old sciense. *Bio/Technology* **7**:257-264.

## **AVISO**

ESTA PUBLICAÇÃO PODE SER ADQUIRIDA NOS  
SEGUINTE ENDEREÇOS:

### **FUNDAÇÃO ARTHUR BERNARDES**

Edifício Sede, s/nº. - Campus Universitário da UFV  
Viçosa - MG  
Cep: 36571-000  
Tels: (31) 3891-3204 / 3899-2485  
Fax : (31) 3891-3911

### **EMBRAPA CAFÉ**

Parque Estação Biológica - PqEB - Av. W3 Norte (Final)  
Edifício Sede da Embrapa - sala 321  
Brasília - DF  
Cep: 70770-901  
Tel: (61) 448-4378  
Fax: (61) 448-4425