

## ANÁLISE DE PATERNIDADE POR EXCLUSÃO EM *Theobroma cacao* L. COM BASE EM MARCADORES MICROSSATÉLITES

*Milton Macoto Yamada, Helaine Cancela Ramos, Uilson Vanderlei Lopes, Wilson Reis Monteiro, Reinaldo Figueiredo dos Santos, José Raimundo Pereira dos Santos.*

CEPLAC/CEPEC, caixa postal 7, 45600-970, Itabuna, Bahia, Brasil

O presente trabalho objetivou determinar a paternidade dentre os quatro possíveis pais, baseado em 20 plantas de uma população desconhecida. Foram usados os quatro possíveis pais mais sete clones como controle. O estudo foi realizado usando três primers de microssatélites no total de dez alelos. Os dados foram codificados pelo tamanho de fragmento e a análise utilizada foi de exclusão dos possíveis pais. Com esse método foi identificado o possível pai que originou a população.

**Palavras-chave:** Cacau, marcadores moleculares.

### **Paternity analysis by exclusion in *Theobroma cacao* L. based on microsatellites markers.**

The objective of this work was to determine paternity within four possible parents, based on 20 plants of the populations. Four accessions were used with seven clones used as control. Three microsatellite primers were used in the total of ten alleles. The data were coded based on size of fragments and the method used was the exclusion of possible parents. It was possible to identify the possible parent that originated the population.

**Key words:** Cocoa, molecular markers.

### **Introdução**

A análise de paternidade vem se tornando de grande importância no programa de melhoramento genético do cacau do Centro de Pesquisas do Cacau (CEPEC) desde que se iniciaram as seleções de cacau resistentes a vassoura-de-bruxa (VB) em fazendas. Os estudos de diversidade e distâncias genéticas nem sempre estão relacionados com a origem dos clones. Para estudar com precisão a origem genética de um acesso ou de uma população, a análise de paternidade é essencial (Yamada e Lopes, 1999). Além disso, a análise de paternidade ou origem genética, é importante para a confirmação da autenticidade do cruzamento ou identificação de progênies contaminantes resultantes de polinizações.

O presente trabalho objetivou determinar a paternidade dentre quatro prováveis genitores, baseado em 20 plantas de uma população de origem desconhecida.

### **Materiais e Métodos**

#### **Material genético:**

Para identificar a ancestralidade de uma dada população

de cacaueiros constituída por 20 plantas derivadas do cruzamento entre TSA 644 (?) X CCN 51, foram utilizados os seguintes clones:

- TSA 644, SIC 864, ICS 1, SCA 6, P18, SCA 12, ICS 95 (usados como controle); e
- Duas plantas selecionadas dentro da progênie de TSA 644 auto (Planta 1, repetição 4 (R4-P1); e Planta 9, repetição 4 (R4-P9) e outras duas selecionadas na progênie de TSA 644 x Cepec 11 (Planta 11, repetição 3 (R3-P11); e planta 10, repetição 3 (R3P10), todas consideradas como genitores candidatos.

Existia a suspeita de que as 20 plantas da referida população não descendessem diretamente do TSA 644, mas sim de um dos quatro genitores candidatos acima indicados.

#### **Obtenção de marcadores microssatélites:**

Folhas de cada acesso de *T. cacao* foram coletadas e armazenadas a -80 °C, até o momento da extração do DNA. O DNA genômico de cada acesso foi extraído utilizando o método do CTAB (Doyle e Doyle, 1990) com algumas modificações.

As reações de amplificação para microssatélites foram feitas em um volume total de 15 µl, contendo Tris-HCl 10 mM (pH 8,3), KCl 50 mM, MgCl<sub>2</sub> 2,4 mM, 150 µM de