

## C. Ciências Biológicas - 8. Genética - 5. Genética Vegetal

### CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE ACESSOS DO BANCO ATIVO DE GERMOPLASMA DE CITROS DA EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA TROPICAL

Janáira Lopes dos Santos Carneiro <sup>1</sup>

Cláudia Fortes Ferreira <sup>2</sup>

Walter Soares Filho <sup>2</sup>

Orlando Sampaio Passos <sup>2</sup>

Abelmon da Silva Gesteira <sup>2</sup>

1. Graduada em Ciências Biológicas, UFRB.
2. Pesquisador Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical.

#### INTRODUÇÃO:

A conservação e utilização dos recursos genéticos de plantas são fatores essenciais para a manutenção e desenvolvimento da produção agrícola. A necessidade de se conservar essa diversidade tem sua base na demanda agrícola e, portanto no melhoramento. Sendo assim, o Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de Citros pertencente à Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical, procura dar ênfase a espécies e variedades adaptáveis à ambientes nela prevalentes, principalmente relacionados ao Norte e Nordeste brasileiros. Neste sentido, uso de técnicas de genética molecular tem um papel importante na conservação e caracterização da diversidade genética do BAG Citros. Neste sentido, a utilização de marcadores moleculares tipo SSR ( *Simple Sequence Repeats* ) representa um grande avanço pela possibilidade de identificar em nível molecular os genótipos dos indivíduos analisados, permitindo a estimativa de parâmetros genéticos para o estudo de diversidade genética. Este trabalho teve como principal objetivo caracterizar, via marcadores microsatélites, 90 acessos do BAG Citros, a fim de determinar o nível e organização da diversidade genética na coleção, bem como também elucidar a relações filogenéticas entre os acessos.

#### METODOLOGIA:

Estudo realizado com as espécies *Citrus sinensis*, *C. reticulata* e *Poncirus trifoliata* do BAG Citros em que foram utilizados trinta acessos de cada espécie, totalizando 90 acessos. O DNA foi extraído de folhas jovens utilizando o protocolo Doyle & Doyle (1990). As sequências desses *primers* foram obtidos da literatura (Barkley et al., 2006, Kijas et al., 1997, Luro et al., 2008) e os demais do IAC ( Instituto Agrônomo de Campinas). Os primers mais polimórficos foram utilizados para análise de diversidade genética. Cada reação de amplificação constou de um volume final de 15 µL, contendo 30 ng de DNA genômico, 10 mM Tris-HCl; 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>; 100 mM de cada dNTPs; 0,2 µM de cada primer e 1U de Taq polymerase. Os fragmentos amplificados foram separados em gel desnaturante de poliacrilamida 6%, em seguida foram corados com carbonato de prata, conforme protocolo descrito por Creste et al. (2001). Foi realizado o estudo das frequência alélicas dos primers amplificado

#### RESULTADOS:

De um total de 15 pares de *primers* utilizados, no estudo de caracterização molecular, 5 amplificaram locos polimórficos. O número de alelos detectados entre os marcadores foi 23 alelos com média de 5,75 alelos por loco. Barkley et al., 2006 encontram uma média de 13,6 alelos por locos numa população de 370 acessos e 24 pares de *primers* polimórficos. Os cinco pares de *primers* mais polimórficos, com maior números de alelos, utilizados no estudo de Barkley et al., 2006, também foram utilizados neste estudo. Entretanto, apenas o *primer* TAA15 amplificou utilizando as mesmas condições empregadas no trabalho de Barkley e colaboradores. As maiores frequências alélicas foram de 0,67 para o alelo 1 no loco SSR817 e de 0,6071 para o alelo 2 do loco SSR338. O valor de PIC calculado para estimar a informatividade de cada *primer* variou de 0,37 a 0,66 com média de 0,49. Uma possível razão para o baixo polimorfismo, em comparação ao estudo de Barkley et al., 2006, encontrado nos

90 acessos é o número de *primers* utilizados como também o número de espécies. A heterozigose observada foi calculada para cada marcador individual como uma medida da diversidade marcador. A heterozigose observada para cada loco variou de 0,47 a 0,70 com média 0,57.

### **CONCLUSÃO:**

Os resultados mostram o potencial de marcadores SSR em estudos de diversidade genética entre espécie e entre indivíduos da mesma espécie. A utilização de marcadores microssatélites permite a comparação das distâncias genéticas entre as espécies entre indivíduos da mesma espécie, podendo ser uma ferramenta auxiliar nos programas de melhoramento, como também na classificação do BAG-Citros.

Instituição de Fomento: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia

Palavras-chave: Citrus, Variabilidade Genética, Marcadores Microssatélites.