



AVALIAÇÃO DE MARCADORES MOLECULARES ISSR PARA APLICABILIDADE EM DNA FINGERPRINTING DE CULTIVARES DE CEBOLA

Candida Elisa Manfio¹; Adriana Pereira²; Gustavo Henrique Ferrero Klabunde³; Daniel Pedrosa Alves⁴; Gerson Henrique Wamser⁵

Resumo: Cultivares de cebola são de difíceis identificação morfológica, e a utilização de parentais com genitores comuns pode ser um dos fatores responsáveis, a obtenção de tecnologias para a identificação a nível molecular de materiais genéticos desenvolvidos ou mesmo protegidos é uma ação importante para caracterização e identificação destes materiais. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi identificar polimorfismos genéticos, através do uso de marcadores moleculares Inter-Microsatélites (ISSR), comparando onze cultivares comerciais de cebola. Foi analisado um bulk em duplicata contendo 10 plantas por cultivar. O DNA total foi extraído com kit de extração, quantificado por espectrofotometria e diluído para concentração de trabalho de 10 ng/μL. Os marcadores moleculares ISSRs: UBC 834C, UBC 810, UBC 808 E UBC 849T / UBC 868 foram amplificados por PCR e genotipados via eletroforese capilar em analisador genético ABI3500 (Applied Biosystems), separadamente. O software Gene Mapper 6 (Applied Biosystems) foi utilizado para fazer a contagem do tamanho dos alelos baseado no padrão de tamanho Gene Scan 1200 Liz (Applied Biosystems), que considerou os fragmentos amplificados entre 60 pb e 1200 pb, com intensidade mínima de fluorescência de 2000 RFU (Relative Fluorescence Units). Os alelos marcados foram transformados em dados binários (Presença e Ausência – 1 ou 0) para a composição da matriz de dados. Um dendrograma UPGMA foi gerado para verificar a aderência dos dados obtidos com a genealogia dos cultivares. O marcador UBC 834C não apresentou polimorfismo entre os 11 cultivares analisados. Os marcadores UBC 808, UBC 810 e UBC 849T apresentaram dois fragmentos polimórficos cada, sendo: (645 pb e 649 pb), (371 pb e 473 pb) e (450 pb e 566 pb), respectivamente. O marcador UBC 868 se mostrou o marcador ISSR mais informativo, amplificando os seguintes fragmentos polimórficos: 299 pb, 302 pb, 327 pb, 750 pb, 760 pb, 1010 pb, 1013 pb, 1018 pb, 1021 pb e 1079 pb. A análise dos dados de Inter-Microsatélites não constatou a aderência dos resultados obtidos com a genealogia e origem dos cultivares. Os padrões moleculares obtidos indicam a impossibilidade de utilização destes marcadores moleculares para a complementação de *DNA fingerprinting* pelas características e provavelmente pelo modo de obtenção das cultivares estudadas.

Palavras-chave: Inter-Microsatélites. Identificação genética. Proteção de cultivares. Polimorfismo.

¹ Pesquisadora da Epagri – Estação Experimental de Ituporanga, Santa Catarina, Brasil. E-mail: candidamanfio@epagri.sc.gov.br

² Pesquisadora da Epagri – Estação Experimental de Itajaí, Santa Catarina, Brasil. E-mail: adriana@epagri.sc.gov.br

³ Pesquisador em Biologia Molecular e Melhoramento de Plantas da EPAGRI – Estação Experimental de Itajaí. gustavoklabunde@epagri.sc.gov.br

⁴ Pesquisador da Epagri – Estação Experimental de Ituporanga, Santa Catarina, Brasil. E-mail: danielalves@epagri.sc.gov.br

⁵ Pesquisador da Epagri – Estação Experimental de Ituporanga, Santa Catarina, Brasil. E-mail: gwamser@epagri.sc.gov.br