



Fingerprint molecular de porta-enxertos de citros via marcadores IRAP e microssatélites

Luiz Carlos de Souza Junior¹, Andresa Priscila de Souza Ramos², Walter dos Santos Soares Filho³, Claudia Fortes Ferreira⁴

¹ Estudante de bacharelado em Biologia da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, estagiário da Embrapa Mandioca e Fruticultura, bolsista da FAPESB, Cruz das Almas, BA; ² Analista da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA; ^{3,4} Pesquisador(a) da Embrapa Mandioca e Fruticultura, Cruz das Almas, BA.

Introdução: A história da citricultura brasileira está ligada diretamente à história do país. Poucos anos após a descoberta do Brasil, entre 1530 e 1540, foram introduzidas as primeiras sementes de laranja doce nos Estados da Bahia e São Paulo. O Brasil é responsável por 50% da produção mundial de suco de laranja, exportando 98% e com participação de 85% no mercado mundial. No entanto, a citricultura brasileira está sujeita a vários fatores de risco, bióticos e abióticos, além do problema da estreita base genética de seus porta-enxertos disponíveis. Desse modo, torna-se importante buscar por ampliação à diversificação de variedades de porta-enxertos dos pomares brasileiros. O conhecimento da variabilidade genética de espécies vegetais e de como ela se distribui proporciona o uso racional e sustentável dos recursos genéticos selvagens ou domesticados. Uma das ferramentas para se obter esse conhecimento é a caracterização molecular. As comparações de *fingerprint* moleculares de espécies, híbridos ou variedades, em estudos de recursos genéticos de plantas têm como finalidade principal formar um perfil eletroforético, podendo ser utilizados para assegurar os direitos dos melhoristas em caso de contestação de idoneidade, principalmente em culturas que se propagam vegetativamente e, assim, caracterizar acessos de um banco de germoplasma.

Objetivo: O objetivo desse trabalho foi estabelecer os principais primers a serem usados para discriminar os PEs (porta-enxertos) mais utilizados do PMGC (Programa de Melhoramento Genético de Citros) da Embrapa em nível molecular usando marcadores SSR (Simple Sequence Repeats) e IRAP (Inter-Retrotransposon Amplified Polymorphism).

Material e Métodos: O trabalho foi realizado no laboratório de Biologia Molecular (NBA-Núcleo de Biologia Avançada) da Embrapa Mandioca e Fruticultura. Foram coletadas folhas jovens de cada material vegetal e o DNA extraído de acordo com a metodologia de CTAB. Foram conduzidas as ampliações via PCR (Polymerase Chain Reaction) para os *primers* SSR e IRAP e as amostras corridas em gel de agarose 2%. O padrão de genotipagem seguiu a avaliação de presença (1) e ausência de bandas (0) e as análises moleculares contaram com o uso de dois softwares: i) Software R (pacotes *vegan* e *poppr*) (R Development Core Team, 2016) e ii) Genes.

Resultados: Dos nove *primers* SSR e oito *primers* de IRAP foi avaliado um total de 79 bandas polimórficas. Tanto a análise conjunta quanto a isolada mostrou que os primers k92, k82, k62, k88, k86, m172, m13 (SSR) e 5'LTR + Nikita, 3'LTR + LTR6149, LTR + 3'LTR, LTR6150 + LTR149, CO795+CO945, CO795+Stowaway, 9900+CO699 (IRAPs) foram passíveis de gerar um fingerprint discriminante entre os PEs estudados. Os primers m172 (SSR) e CO795+CO945 e 9900+CO699 foram os mais polimórficos.

Conclusão: Os primers SSR e IRAPs utilizados no estudo foram capazes de discriminar os PEs estudados por meio de *fingerprint* molecular.

Significado e impacto do trabalho: Agregação de informação molecular via marcadores de DNA aos principais PEs gerados pela Embrapa CNPMF junto ao MAPA, contribuindo para o avanço tecnológico.