

Divergência genética entre populações de cebola potenciais e comerciais para o Nordeste, com base em marcador AFLP.

Patrícia Pires Batista^{1,2}; Roberta Sâmara N. de Lima^{1,2}; Carlos Antonio F. Santos²; Marciane A. Rodrigues^{1,2}, Juliana Carla da S. F. Alves^{1,2}.

¹Bolsista CNPq, ²Embrapa Semi-Árido. Caixa Postal 23. 56302-970. Petrolina, PE. E-mail: casantos@cpatsa.embrapa.br.

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo estimar as distâncias genéticas, baseadas em marcas de AFLP, entre algumas populações de cebola desenvolvidas para a região Nordeste ou introduzidas de outros países, bem como de algumas populações em desenvolvimento na região, de forma a orientar programas de melhoramento para o Nordeste. DNA genômico total extraído de 11 indivíduos de oito genótipos de cebola e um de *Allium tuberosum* foi digerido com as enzimas de restrição *Pst*I e *Mse*I. A visualização das bandas em gel de poliacrilamida foi efetuada com coloração de nitrato de prata. Foi construído com o método UPGMA a partir da matriz de similaridade de Jaccard. As oito combinações de *primers Pst*I e *Mse*I amplificaram 175 bandas, das quais 83 polimórficas. O fenograma gerado mostrou a formação de três grupos principais ao nível de 50% de similaridade: o primeiro com as populações experimentais de cebola suave (Alfa59 e Alfa85) e as cultivares IPA 10, IPA11, Brisa e Alfa São Francisco; o segundo com o híbrido Granex 429 e TEG 502 PRR; e o terceiro com as populações experimentais de cebola cascuda bronzeada (CR108/9 e 20CA2). O *outgroup A. tuberosum* posicionou-se externamente aos genótipos de *A. cepa*. Os dois indivíduos da cultivar Brisa apresentaram a maior similaridade, em torno de 75%. No geral, o fenograma gerado manteve as relações conhecidas do *pedigree* dos genótipos. Um número maior de populações e de fragmentos de AFLP deve ser incluído para o estabelecimento das relações de parentesco entre as populações de cebola de dias curtos cultivadas ou em desenvolvimento no Nordeste brasileiro, de forma a auxiliar na geração de novas cultivares para a região.

Palavras-chaves: *Allium cepa*, genótipos e fenograma.

ABSTRACT- Genetic divergence among potential and commercial onion populations to the Brazil Northeast, based on AFLP maker.

The goal of this study was to estimate the genetic divergence based on AFLP markers among onion populations developed to the Northeast Brazil or introduced from other regions and as well as other populations being developed to the region, in order to subsidize onion breeding program in the region. Genomic DNA was extracted from 11 individuals of eight onion genotypes and one of *Allium tuberosum* to be digested with restriction

enzymes. The AFLP fragments were visualized in polyacrylamide gel stained with silver nitrate. The phenogram was constructed by UPGMA method based on the Jaccard matrix of similarity. The eight *Pst*I and *Mse*I primers combinations amplified 175 bands, including 83 polymorphic bands. The phenogram showed the formation of three groups starting at 50% similarity: the first included the sweet onion population (Alfa59 and Alfa85) and the cultivars IPA 10, IPA 11A, Brisa and Alfa São Francisco; the second included Granex 429 hybrid and TEG 502 PRR; and the third included the experimental Valenciana type onion (CR108/9 and 20CA2). The outgroup *A. tuberosum* was positioned outside of the *A. cepa* genotypes. The two individuals of Brisa cultivar presented the highest similarity, around 75%. In general, the constructed phenogram holds the known pedigree of the onion populations. Studies including more onion populations and AFLP markers should be done in order to establish the genetic relationship among short day genotypes to be used in onion breeding program in the region.

Keywords: *Allium cepa*, genotypes, phenogram.

INTRODUÇÃO

O melhoramento da cebola para as condições do Nordeste teve início em 1972, sob a coordenação da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA), tendo sido recomendados para a região 12 cultivares, sendo três populações de cebola roxa e as demais de cebola amarela. As populações do IPA foram desenvolvidas por seleção massal dentro de populações de Baía Perifome introduzidas (IPA 1, IPA 2, IPA 4, IPA 6, IPA 7 e IPA 9), ou dentro de populações locais (IPA-3), uma introdução de Moçambique (IPA 8) e as demais resultantes de cruzamentos dirigidos, tendo como parental a IPA-3 (IPA 10, IPA11 e IPA 12) ou a população Baía Perifome precoce do cedo (IPA-5) (Costa *et al.* 1999). Algumas das populações do IPA foram perdidas e sementes não estão mais disponíveis (Jonas Candeia, comunicação pessoal). Mais recentemente, foi disponibilizada para a região Nordeste a Alfa São Francisco, resultado do intercruzamento de dez populações de cebola Baía Perifome, realizado em Brasília-DF, seguido de cinco ciclos de seleções em Petrolina, PE (Costa *et al.* 2005).

Este trabalho teve como objetivo estimar as distâncias genéticas, baseadas em marcas de AFLP (Amplified Fragment of Length Polymorphism), entre algumas populações comerciais desenvolvidas para a região Nordeste ou introduzidas de outros países, bem como promissoras em desenvolvimento para a região Nordeste, de forma a orientar programas de melhoramento.

MATERIAL E MÉTODOS

DNA genômico total foi extraído de 11 genótipos de cebola e um de *Allium tuberosum* segundo o protocolo CTAB 2x, ajustando-se para a concentração de 30 ng/μL. As reações de AFLP foram realizadas conforme procedimentos descritos por Vos *et al.* (1995), com modificações para os volumes finais e para as enzimas de restrição (*Pst*//*Mse*I).

Os produtos das reações de PCR foram submetidos à eletroforese vertical em gel de poliacrilamida denaturante 5,7% (16 mL de tampão TBE, 36 g de uréia, 12 mL de 40% acrilamida/bis (19:1), 410 μL de APS 10% e 40 μL de Temed, ajustado para volume final de 80 mL). As bandas foram visualizadas através da coloração com nitrato de prata, segundo protocolo de Creste *et al.* (2001).

A partir dos dados de presença ou ausência de bandas foi construída uma matriz de similaridade adotando-se o coeficiente de Jaccard e confeccionado o fenograma pelo método de agrupamento UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean), disponível no programa NTSYS (Rohlf, 1989).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As combinações dos *primers* de *Pst* e *Mse*I GGAxCTG, GGACAC, GGAXCCC, GGCxCTG, GCAxCTG, GCTxCTG, GGTxCAC e GGGxCTG amplificaram um total de 175 bandas, sendo 92 monomórficas e 83 polimórficas. O fenograma gerado (Fig. 1) mostrou a formação de três grupos principais iniciando ao nível de 50% de similaridade: o primeiro formado com populações experimentais de cebola suave selecionadas dentro de Alfa São Francisco (Alfa59 e Alfa85) e as cultivares IPA 10, IPA 11, Brisa, e Alfa São Francisco; o segundo formado com o híbrido Granex 429 e TEG 502 PRR; e o terceiro formado pelas populações experimentais de cebola cascuda bronzeada. O alho nirá (*A. tuberosum*), usado como *outgroup*, posicionou-se externamente aos genótipos de cebola (*A. cepa*), como esperado (Fig1.). Os dois indivíduos da população Brisa apresentaram a maior similaridade, em torno de 75%. O fenograma gerado mantém as relações conhecidas de *pedigree*, considerando que os genótipos CR108/9 e 20CA2 foram selecionados de um cruzamento de cebola 'Baia' x Valcatorce, enquanto os genótipos do grupo 1 são resultantes de seleções recorrentes dentro de populações do tipo Baia e os genótipos do grupo 2 são oriundos do grupo americano "Grano". Um número maior de populações e de fragmentos de AFLP deve ser incluído para o estabelecimento das relações de parentesco entre as populações de cebola de dias curtos em desenvolvimento ou cultivadas no Nordeste brasileiro, de forma a auxiliar na geração de novas cultivares para a região.

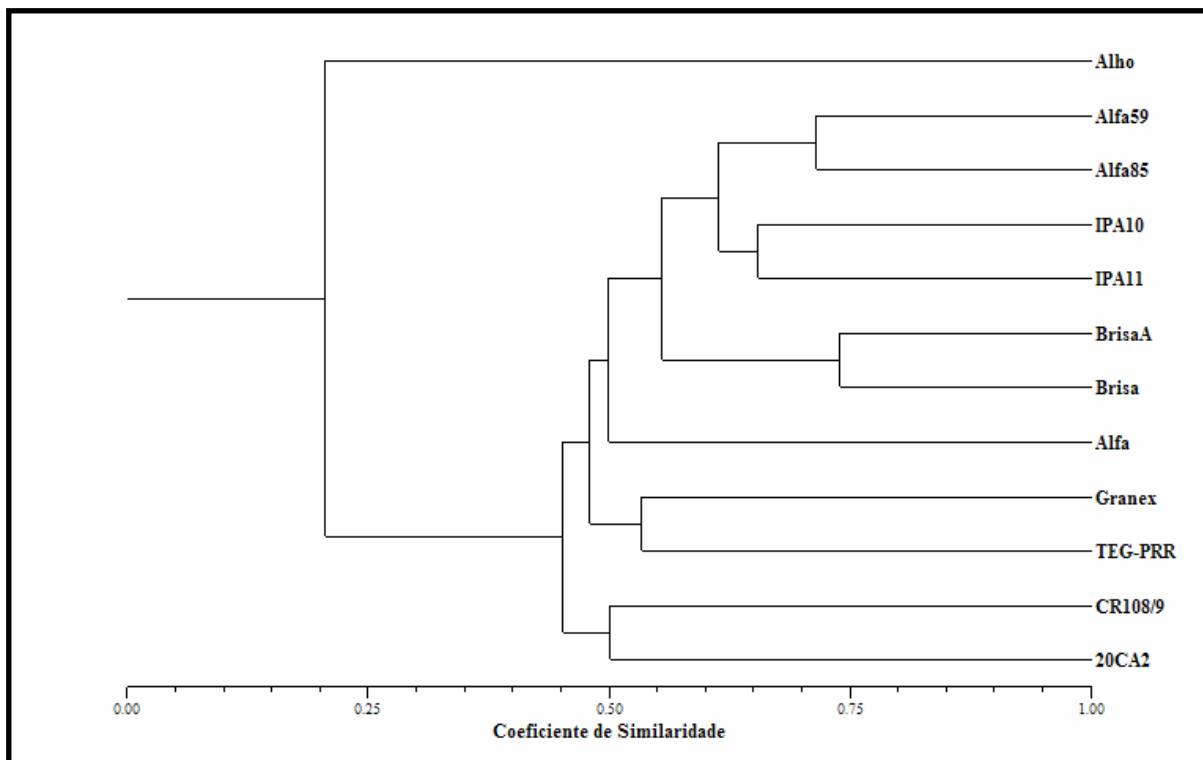


Figura 1. Fenograma construído pelo método de agrupamento UPGMA, utilizando o coeficiente de similaridade de Jaccard (J) a partir dos perfis de amplificação de AFLP de 11 indivíduos de oito populações de cebola (*Allium cepa*) e alho nirá (*A. tuberosum*).

LITERATURA CITADA

- COSTA, N. D.; CANDEIA, J. A.; ARAÚJO, M. T. 1999. Importância econômica da cebola no Nordeste. In: QUEIROZ, M. A. de, GOEDERT, C. O., RAMOS, S. R. R. *Recursos Genéticos e Melhoramento de Plantas para o Nordeste Brasileiro* (on line: www.cpatsa.embrapa.br/catpub/). Petrolina-PE.
- COSTA, N.D.; SANTOS, C.A.F. ; QUEIROZ, M.A. de; ARAUJO, H.M. de ; OLIVEIRA, V.R de; MENDONÇA, J.L.L. de; CANDEIA, J.A. 2005. Alfa São Francisco: variedade de cebola para cultivo de verão. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE OLERICULTURA, 45. *Resumos...* Fortaleza. ABH (CDROM).
- CRESTE, S; TULMANN NETO, A; FIGUEIRA, A. 2001. Detection of single sequence repeat polymorphisms in denaturing polyacrilamide sequencing gels by silver staining. *Plant Molecular Biology Reporter*, v.19, n.4, p.299-306
- ROPHLF, F.J. 1989. NTSYS-pc numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 1.80. Exeter Software, Setauket, N.Y.
- VOS, P.; HOGERS, R.; BLEEKER, M.; REIJANS, M.; VAN DER LEE, T.; HORNES, M.; FRIJTERS, A.; POT, J.; PELEMAN, J.; KUPIER, M.; ZABEAU, M. 1995 AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research* 23: 4407-4414.

AGRADECIMENTOS

Apoio financeiro do BNB-Etene-Fundeci.