

Fingerprint de variedades elite de bananeiras e diploides melhorados via marcadores SSR e ISSR

Iane dos Santos Queiroz¹; Carolina Macedo Miranda²; Kátia Nogueira Pestana³; Cláudia Fortes Ferreira⁴

¹Estudante de Engenharia Agrônoma da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Bolsista IC da Fapesb;

²Estudante de Engenharia Florestal da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia; ³Bolsista de Pós-doutorado da Capes/UEFS/Embrapa; ⁴Pesquisadora da Embrapa Mandioca e Fruticultura. E-mails: q.iane@hotmail.com, lol_fsa@hotmail.com, katipestana@yahoo.com.br, claudia.ferreira@embrapa.br

Introdução – A bananeira (*Musa* spp.) é considerada uma cultura extremamente importante para o país, sendo considerada a segunda fruta mais consumida. A banana possui alto valor nutritivo e encontra-se disponível durante todo o ano. Pelo fato da bananeira ser propagada vegetativamente, o surgimento de novas cultivares exige um maior controle sobre a sua multiplicação e comercialização, que pode ser adquirido por meio do uso de marcadores de DNA capazes de estabelecer o *fingerprint* das cultivares, garantindo assim, os direitos do melhorista em casos de contestação de idoneidade. **Objetivos** – O objetivo do trabalho foi fornecer subsídios para a criação de uma base de dados de *fingerprint* de variedades elite de bananeiras e diploides melhorados, bem como otimizar o equipamento Fragment Analyzer (FA) de forma a acelerar o processo da obtenção do *fingerprint* via marcadores ISSR. **Material e Métodos** – Foram avaliados 20 genótipos de bananeira/plátanos pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma de Banana (BAG-Banana) da Embrapa Mandioca e Fruticultura. O DNA genômico foi isolado de acordo com o protocolo descrito por Doyle e Doyle com algumas modificações. A análise de “DNA *Fingerprint*” entre os genótipos foi conduzida utilizando-se *primers* SSR (*Simple Sequence Repeat*) e ISSR (*Inter-Simple Sequence Repeat*). As reações de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) foram feitas utilizando um volume final de 15 µL contendo: dNTP 0,2 mM, Tris/KCl 1x, MgCl₂ 2,0 mM, Taq polimerase 1 U, *primer* 0,5 mM e DNA 25 ng (ISSR) e 30 ng (SSR). As mesmas foram amplificadas e os produtos das reações foram separados por eletroforese em gel de agarose 2,5% (ISSR) e 3% (SSR) e coradas com brometo de etídio. As amostras ISSR foram submetidas à eletroforese capilar para otimizar o uso do equipamento FA e assim, obter a caracterização molecular (DNA *fingerprint*). Os perfis de SSR e ISSR de cada genótipo serão obtidos pela presença (1) e ausência (0) de bandas de alta densidade. As seguintes fórmulas serão usadas para a análise do *fingerprint*: $Ib = \text{informativeness of the band}$ ($Ib = 1 - (2 |0.5 - p|)$); p = proporção dos indivíduos que contem a banda; $RP = \text{resolution power do primer}$ ($Rp = \sum Ib$ que leva em consideração o Ib , e o índice de confundimento ($Ic = [x^2 + (1 - x)^2]^{n/x}$, onde x = proporção média dos fragmentos compartilhados entre os pares de cultivares e n = número médio de fragmentos presentes em um cultivar. O Ib e Rp são usados para a escolha dos *primers* mais informativos para perfazerem o conjunto de *primers* a serem usados no *fingerprint*. **Resultados** – O equipamento Fragment Analyzer foi utilizado para otimização das reações com marcadores ISSR. Dos 48 *primers* SSR testados, 24 foram eficientes na amplificação do DNA das amostras analisadas, e dos *primers* ISSR, 47 obtiveram amplificação desejável. Os *fingerprints* encontram-se em fase de cálculo. **Conclusão** – Foi possível otimizar o equipamento Fragment Analyzer para uso com marcadores ISSR, o que reduziu o tempo de obtenção via corridas por capilares. Os padrões de bandas obtidos pelos marcadores SSR e ISSR serão usados para obtenção do conjunto de *primers* para uso no *fingerprint* molecular das variedades elite e as análises encontram-se em andamento.

Palavras-chave: *Musa* spp.; marcadores de DNA; banco de dados.