

TRANSFERIBILIDADE DE MARCADORES MICROSSATÉLITES EM AVEIA

Jossana Santos¹; Simone Meredith Scheffer Basso²; Sandra Patussi Brammer³; Patrícia Frizon²; João Leodato Nunes Maciel⁴; Alfredo do Nascimento Junior⁴; Nadia Canali Lângaro²; José Maurício Cunha Fernandes⁴

¹Bióloga, Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS, Brasil. E-mail: jojossana@hotmail.com.

²Engenheira Agrônoma, Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS, Brasil. E-mail: sbasso@upf.br, patriciafrizon@gmail.com, nclangaro@upf.br

³Bióloga, Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS, Brasil. E-mail: sandra.brammer@embrapa.br.

⁴Engenheiro Agrônomo, Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS, Brasil. E-mail: joao.nunes-maciel@embrapa.br, alfredo.nascimento@embrapa.br, mauricio.fernandes@embrapa.br

Transferibilidade é a capacidade que marcadores moleculares desenvolvidos para uma espécie têm em amplificar segmentos de DNA de outra espécie, dependendo da distância evolutiva, sintenia e da complexidade dos genomas envolvidos. Marcadores microssatélites (SSR - Simple Sequence Repeats) ocorrem abundantemente nos genomas das espécies e representam excelente ferramenta de análise de DNA, principalmente em estudos evolutivos e de diversidade, gerando subsídios para a caracterização e conservação de recursos genéticos. Para algumas espécies, ainda há poucos SSR específicos, devido ao elevado custo para o desenvolvimento destas sequências. Portanto, uma das estratégias para estudos de diversidade genética é o emprego de marcadores microssatélites desenvolvidos para espécies relacionadas. O objetivo deste trabalho foi verificar a transferibilidade de marcadores SSR desenvolvidos para as espécies *Avena sativa* L., *Triticum aestivum* L. e *Hordeum vulgare* L., visando à validação e uso em espécies de *Avena* (*A. strigosa* Schreb, *A. brevis* Roth. e *A. sativa* L.). Foram avaliadas cinco cultivares de *A. sativa*, cinco cultivares de *A. strigosa* e duas cultivares de *A. brevis* utilizando-se, até o momento, 15 pares de primers desenvolvidos para *A. sativa*, 42 desenvolvidos para *T. aestivum* e 14 para *H. vulgare*. O DNA foi extraído do tecido de folhas jovens pelo método CTAB. As amplificações de PCR foram realizadas em 15 µL de solução contendo: 50 ng de DNA, 0,75 U de Taq polimerase, 0,2 µM de cada primer (forward e reverse), 1x de tampão de reação, 2,5 mM de MgCl₂. As reações foram conduzidas em termociclador GeneAmpThermal Cycler 9700 (Applied Biosystems - ABI) com a seguinte programação: um ciclo a 95°C por 3 min; 10 ciclos de 94°C por 30s, 60°C por 30s e 72°C por 30s (decrecendo 1°C por ciclo até 50°C); 25 ciclos de 94°C por 30s, 50°C por 30s, 72°C por 30s e um ciclo de 72°C por 15 min. Os produtos da amplificação foram identificados em gel de agarose 2% e o marcador DNA Ladder empregado foi de 100 pb, a uma voltagem de 120V por duas horas e visualizados via brometo de etídeo em fotodocumentador digital GelDoc XR (Bio-Rad). Do total de 71 primers genômicos testados, onze (73%) desenvolvidos para *A. sativa* foram eficientes em *A. strigosa* e *A. brevis*, sete (17%) desenvolvidos para *T. aestivum* e oito (57%) para *H. vulgare* amplificaram fragmentos em *A. sativa*, *A. strigosa* e *A. brevis*. Especificamente para *A. strigosa*, houve a amplificação de dois primers de *A. sativa* apenas em uma das cultivares, demonstrando que há diferenças interespecíficas. Para os demais casos, a amplificação foi em todas as cultivares, embora houvessem diferenças no polimorfismo. Estes resultados estão de acordo com o esperado, uma vez que o maior nível de amplificação ocorreu dentro do gênero *Avena*. Portanto, os marcadores SSR utilizados foram eficientes em relação à transferibilidade e potencialmente úteis para detectar níveis de diversidade genética nos genótipos estudados.

Agradecimentos: Bolsa convênio UPF/Capes/Embrapa nº 15/2014.