Caracterização molecular do tipo de citoplasma (N, S e T) em acessos de uma coleção brasileira de germoplasma de cebola.

Maria do Desterro M. dos Santos¹, Anne Giselle R. Buzar², Maria Esther de N. Fonseca³, Valter R. Oliveira³, Antônio C. Torres^{3,4}; Leonardo S. Boiteux^{3,4}.

¹Universidade de Brasília (UnB), Programa de Pós-Graduação em Botânica, 70910-900 Brasília (DF); ²UnB, Faculdade de Agronomia e Veterinária, 70910-900 Brasília (DF); ³Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças (CNPq), Embrapa Hortaliças, CP 218, 70359-970 Brasília-DF; ⁴Bolsista CNPq; E-mail: boiteux@cnph.embrapa.br

RESUMO

O emprego de linhagens maternas com o fenótipo de macho-esterilidade (ME) é indispensável na produção de híbridos comerciais de cebola (*Allium cepa* L.). O objetivo do presente estudo foi avaliar, via marcadores moleculares, a incidência dos diferentes tipos de citoplasma (N, S e T) em acessos de uma coleção brasileira de germoplasma de cebola. A metodologia empregada para avaliação do citoplasma foi a descrita por Engelke *et al.* (2003). Nos 65 acessos estudados foi observada a presença de todos os três tipos de citoplasma. A caracterização via PCR se mostrou adequada para a identificação em larga escala dos três tipos de citoplasma. Sistemas eficientes para identificação de citoplasma de cebola poderá facilitar o desenvolvimento de híbridos específicos para os trópicos.

Palavras-chave: *Allium cepa*, macho-esterilidade, germoplasma, híbridos.

ABSTRACT – Molecular characterization of cytoplasm type (N, S, and T) in accessions of an onion germplasm collection from Brazil.

The employment of male-sterile lines is crucial for commercial onion (*Allium cepa* L.) hybrid seed production. Different molecular marker systems employing polymerase chain reaction (PCR) have been able to identify polymorphisms between normal and male-sterile onion lines. However, this type of analysis is not yet so extensive in onion germplasm adapted to Brazilian environments. In the present study, the occurrence of distinct cytoplasm types (N, S, and T) was evaluated in 65 onion accessions using the PCR-based methodology described by Engelke *et al.* (2003). All the three types of cytoplasm were found in this germplasm. The PCR-based methodology allowed the prompt separation of the cytoplasm types in accessions

adapted to tropical regions and it could be a tool for assisting the development of hybrids for these target areas.

Keywords: *Allium cepa*, germplasm, hybrid, male-sterility, onion.

INTRODUÇÃO

Linhagens ME são indispensáveis na produção comercial de híbridos da cebola (*Allium cepa* L.). O fenótipo ME em cebola é resultante da interação entre um *locus* recessivo no núcleo e um fator citoplasmático (JONES & CLARKE, 1943). Neste modelo existem dois tipos de citoplasma: N (normal) e S (estéril). Um sistema de ME distinto foi caracterizado e o citoplasma estéril foi denominado de T, cujo fenótipo ME é influenciado por três *loci* restauradores que segregam independentemente (SCHWEISGUTH, 1973). Marcadores capazes de distinguir os citoplasmas N, S e T têm sido importantes para auxiliar no processo de incorporação de ME em acessos elite de cebola. Novos marcadores moleculares, de menor custo operacional, foram desenvolvidos para identificar os citoplasmas N, S e T via PCR a partir de informação de seqüência do DNA mitocondrial (SATO, 1998; ENGELKE *et al.*, 2003). Análises moleculares via PCR para identificação da freqüência e distribuição dos citoplasmas S e T em variedades brasileiras já têm sido conduzidas (LEITE & ANTHONISEN, 2004; SANTOS *et al.*, no prelo). No entanto, muitas variedades de potencial valor como progenitores de híbridos não foram ainda caracterizadas. O objetivo deste trabalho foi ampliar a análise dos tipos citoplasma N, S e T em uma coleção de germoplasma de 65 acessos de interesse para o melhoramento genético desta hortaliça para as condições brasileiras.

MATERIAL E MÉTODOS

DNA genômico foi purificado de 65 populações de uma coleção pertencente ao germoplasma do CNPH (Tabela 1). A análise, via PCR, foi conduzida essencialmente como descrita na metodologia de Engelke *et al.* (2003). Os amplicons foram separados por eletroforese em gel de agarose (1,5%) em tampão TAE 1X, fotodocumentados e analisados de acordo com os padrões produzidos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos 65 acessos estudados foi observada a presença de todos os três tipos de citoplasma (S/N/T) (Tabela 1). Os resultados obtidos com a técnica de Engelke *et al.*

(2003), em termos de classificação do tipo de citoplasma, foram bem consistentes e de fácil interpretação, embora ajustes metodológicos possam ainda ser introduzidos para melhorar a visualização dos amplicons que identificam o citoplasma T. Mesmo com estas limitações, a metodologia descrita por Engelke *et al.* (2003) mostrou-se adequada para identificação rápida e precisa de plantas com citoplasma N, S e T. A disponibilidade de sistemas eficientes para identificação do tipo de citoplasma poderá facilitar o desenvolvimento de híbridos específicos para estas regiões.

LITERATURA CITADA

- ENGELKE T; TEREFE D; TATLIOGLU T. 2003. A PCR-based marker system monitoring CMS-(S), CMS-(T) and (N)-cytoplasm in the onion (*Allium cepa* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, v.107, p. 162-167.
- JONES H; CLARKE A. 1943. Inheritance of male sterility in the onion and production of hybrid seed. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science*, v. 43, p. 189-194.
- LEITE DL; ANTHONISEN D. 2004. O uso de marcadores moleculares na caracterização citoplasmática em cebola como auxílio no melhoramento de cultivares híbridas. *Horticultura Brasileira*, v.22, n.2, (suplemento CD-ROM).
- SANTOS CAF; LEITE DL; COSTA ND; OLIVEIRA VR; SANTOS ICN; RODRIGUES MA; LIMA RSN. 2006. Identificação dos citoplasmas “S”, “T” e “N” via PCR em populações de cebola no Vale do São Francisco. *Horticultura Brasileira* (no prelo).
- SATO Y. 1998. PCR amplification of CMS-specific mitochondrial nucleotide sequences to identify cytoplasmic genotypes of onion (*Allium cepa* L.). *Theoretical Applied Genetics*, v.96, p.367-370.
- SCHWEISGUTH B. 1973. Etude d' un nouveau type de stérilité mâle chez l'oignon, *Allium cepa* L. *Annual Améliation Plant*, v. 23, p.221-233.

Tabela 1 - Acessos de cebola avaliados para tipo de citoplasma via metodologia de Engelke *et al.* (2003). Embrapa Hortaliças, Brasília, 2007.

CULTIVARES	CITOPLASMA S	CITOPLASMA N	CITOPLASMA T
Perfecta F1	X		
Optima F1	X		
Aurora	X		
Pêra Norte		X	X
Bola Precoce		X	X
13-Doce	X		
Petrolina		X	X
10-Doce	X		
Baia Periforme		X	X
BRS Cascata		X	X
EX 3001	X		
XP 8418	X		
Pêra IPA-4		X	
Roxa IPA-3		X	
TX24	X		
TX06	X		

TX02	X		
PiraOuro	X		
Régia	X		
TX05		X	X
TX03	X		
Mutuali IPA-8		X	X
Conquista		X	X
Beta Cristal	X	X	
Mercedes	X		
XP 3237	X		
Excel		X	X
Franciscana IPA-10		X	
Yellow Granex	X		
São Paulo	X		
Texas Grano 502		X	X
Belém IPA-9	X		
Granex 429	X		
Crioula Alto Vale	X		
Vale Ouro IPA-11		X	X
Norte 14		X	
CNPH 6400	X		
Brisa IPA-12	X		
TG 1015Y	X		
Boreal		X	X
CNPH 6327	X		
Roxa Barreiro		X	
TX07	X		
Texas Grano 6300		X	
Henry's Special	X		
Madrugada	X		
Composto IPA-6	X		
White Creole	X		
Texas Early Grano	X		
Granex 33	X		
Jubileu		X	X
CNPH 6336	X		
Serrana		X	X
CNPH 6324	X		
Baia do Cedo		X	X
XP 8010	X		
EX 3001	X		
Red Creole		X	
Alfa Tropical Antracnose		X	X
Alfa Tropical FM1		X	X
Valenciana (VAL)-14		X	
IPA-2		X	X
Granex Ouro	X		
Mayon	X		
Rijnsburger		X	