Caracterização molecular para o estabelecimento de *fingerprint* de híbridos de bananeiras ornamentais utilizando marcadores ISSR e SSR

Franciele Nunes de Almeida¹, Rafael Reis²; Danilo Velame²; Edímille Vivian Batista Menezes Ramalho²; Rafaella de Lima Roque³; Janay Almeida dos Santos-Serejo⁴; Cláudia Fortes Ferreira⁴

¹Bolsista Macroprograma Embrapa, UFRB-Embrapa Mandioca e Frucitultura; ²Bolsista Fapesb, graduando em Biologia da UFRB; ²Bolsista Macroprograma-Embrapa em Biologia-UFRB; ³Mestranda em Recursos Genéticos Vegetais-UFRB; ⁴Pesquisador da Embrapa Mandioca. E-mails: fran_nual_@hotmail.com, rafaeldamatta19@gmail.com, viih_viih@hotmail.com, rafaellaroque@hotmail.com, janay@cnpmf.embrapa.br, claudiaf@cnpmf.embrapa.br

A utilização de fruteiras ornamentais constitui-se em alternativa para o segmento da floricultura. A plasticidade das fruteiras variam desde o uso como plantas de parques, jardins, flores de corte, plantas de vaso, folhagens, até uso como minifrutos ornamentais. A Embrapa Mandioca e Fruticultura possui Bancos de Germoplasma (BAGs) de diferentes fruteiras, que recentemente começaram a ser explorados para diversas finalidades ornamentais. Dentre esses bancos, destaca-se o da Bananeira, com 341 acessos. Com o recente crescimento do mercado de ornamentais, a identificação correta de materiais é de primordial importância para se garantir e proteger os direitos intelectuais tanto do melhorista, quanto das empresas e parceiros envolvidos na criação e lançamento de novos híbridos ornamentais; principalmente em casos de contestação de idoneidade, que é indispensável na floricultura de variedades propagadas vegetativamente. Portanto, o objetivo deste trabalho é caracterizar híbridos de bananeira pertencentes ao BAG-bananeira da Embrapa Mandioca e Fruticultura, utilizando-se primers ISSR (Inter-Simple Sequence Repeats) e SSR (Simple Sequence Repeats). Para tanto, procedeu-se à extração de DNA de sete amostras de folhas jovens de híbridos de bananeira a partir do protocolo de Doyle e Doyle. As reações de ISSR e SSR foram completadas para volume final de 15 µL contendo os seguintes reagentes: dNTP 2,5mM,Tris/KCL10x, MgCl₂ mM, 1,0, Taq 5U μL⁻¹ (ISSR) e Taq 2U μL⁻¹ (SSR), Primer 2,0 µL e DNA 2,5 ng µL-1. As mesmas foram amplificadas utilizando o seguinte programa: 94°C por três minutos, seguido de 35 ciclos de 94°C por 45 segundos, 47°C, 48°C, 50°C, 57°C (dependendo da temperatura de anelamento, Ta, de cada *primer*) por 45 segundos e 72°C por um minuto, com uma extensão final de 72°C por 5 minutos. Após a amplificação, os produtos das reações foram separados por eletroforese em gel de agarose 2% (ISSR) e 3% (SSR) e coradas com brometo de etídio. Dos 86 primers ISSR testados, 14 foram eficientes na amplificação do DNA das amostras analisadas, e dos primers SSR, 11 obtiveram amplificação desejável das amostras. A próxima etapa consistirá no uso das fórmulas de "Resolving power" (Rp) e "Informativeness of a band" (lb); propostas por Prevost e Wilkinson (1999) para a identificação dos melhores primers e as principais bandas para o estabelecimento do fingerprinting, ou perfil eletroforético, de cada híbrido, e as informações depositadas no banco de dados criado para essa finalidade. Portanto, os marcadores ISSR e SSR foram eficientes na amplificação das amostras avaliadas e poderão ser empregados no estabelecimento de fingerprinting de híbridos de bananeiras ornamentais.

Palavras-chave: perfil eletroforético; Musa spp.; marcadores de DNA