

Desenvolvimento de sistema de genotipagem molecular, baseado em marcadores microssatélites, para determinar a identidade genética de cultivares de tabaco

Ribeiro, CAG¹; Tanure, JPM²; Maciel, TEF²; Vilaça, ST²; Marcelino, FC³; Barros, EG²

¹ Universidade Federal de Viçosa – UFV

² Laboratório de Análises Genéticas – AgroGenética, Viçosa/MG

³ Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Soja
carlosbiotec@yahoo.com.br

Palavras-chave: *Nicotiana tabacum*, genotipagem molecular, identidade genética, SSR, *fingerprinting*

O desenvolvimento de sistemas de identificação molecular para determinar e rastrear a identidade genética de um cultivar vegetal representa um grande desafio frente aos sistemas de certificação e proteção de variedades utilizados no país, até então fundamentados em descritores fenotípicos. Além disso é uma questão estratégica para empresas detentoras de germoplasma, interessadas no desenvolvimento de ferramentas que permitam o monitoramento de pureza varietal e o rastreamento de materiais ao longo da cadeia produtiva e comercial. Entretanto, a utilização de análises de DNA para a proteção varietal ainda é limitada pela inexistência de sistemas padronizados e robustos de avaliação molecular para a maioria das espécies, a exemplo do que acontece para cultivares de tabaco (*Nicotiana sp.*). Esse trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de sistema de genotipagem molecular, baseado em marcadores microssatélites, para a determinação de identidade genética de cultivares de tabaco de interesse comercial para a agroindústria. Foram selecionados 32 marcadores microssatélites na literatura, de acordo com seu índice de informatividade alélica e da cobertura do genoma da espécie, sendo selecionados tanto a partir do genoma nuclear quanto do cloroplasto. Para a seleção dos marcadores mais informativos, foram testados 49 genótipos de *Nicotiana tabacum*, dos grupos Burley e Virginia. Para assegurar boa representatividade da diversidade alélica de cada cultivar, foram analisadas 1350 amostras, com uma média de 27,5 indivíduos para cada genótipo, analisados em *bulk*. O DNA foi extraído pelo método do CTAB modificado, a partir de material foliar. Os produtos de PCR foram visualizados em géis de poliacrilamida corados com brometo de etídeo, e foram utilizados marcadores de tamanho molecular para monitoramento do número e tamanho dos alelos de cada genótipo. Para os marcadores polimórficos foram calculados o Conteúdo de Informação de Polimorfismo (PIC). Para compor um sistema de genotipagem molecular robusto e informativo, foram selecionados aqueles marcadores que apresentaram padrões consistentes de amplificação e interpretação e que evidenciaram polimorfismos alélicos bem definidos entre os genótipos. Assim, dez microssatélites foram selecionados para o grupo de cultivares analisados. Tais marcadores apresentaram de 2 a 3 alelos e um PIC que variou de 0,078 a 0,5487, com média de 0,3412. Do total de marcadores analisados foi possível selecionar um grupo que evidenciou alto padrão de polimorfismo entre os genótipos testados, além de garantir uma ampla cobertura do genoma de *Nicotiana tabacum*. A partir do grupo de marcadores selecionados, análises de agrupamento por similaridade genotípica, de genealogia e identidade genética inequívoca de cultivares poderão ser realizadas para genótipos de interesse, fornecendo uma ferramenta estratégica em processos de certificação de pureza genética, propriedade intelectual e rastreabilidade ao longo da cadeia produtiva. Apoio financeiro: FAPEMIG.