

Desenvolvimento de novos marcadores microssatélites para *Mangifera indica* L.

Alves, EOS¹; Albuquerque, HYG²; Lima Neto, FP²; Souza, AP³; Corrêa, RX¹.

¹Universidade Estadual de Santa Cruz, UESC, Ilhéus, BA; ²Embrapa Semiárido, CPTSA, Petrolina, PE; ³Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, São Paulo, SP

elaini@ymail.com

Palavras-chave: SSR, Manga, melhoramento genético, heterozigiosidade, PCR

A manga é uma das frutas mais cultivadas em diversas partes do mundo, pois tem grande aceitação no mercado. Existe uma grande diversidade de variedades de manga devido às diferenças de preferências nas diversas regiões em que se cultiva. Enquanto isso, é papel dos programas de melhoramento genético identificar e/ou desenvolver novos cultivares que conquistem o mercado com novas vantagens. Os marcadores moleculares são potentes ferramentas para subsidiar o melhoramento genético, já que podem acessar a informação genética de forma direta. Esse trabalho visou o desenvolvimento de marcadores microssatélites como ferramenta adicional em estudos genéticos em manga. Uma biblioteca enriquecida com regiões microssatélites foi desenvolvida com base no DNA genômico da cultivar 'Tommy Atkins'. Este DNA foi digerido com a enzima de restrição *AfaI* e seus fragmentos foram ligados aos adaptadores *Rsa* 21 (5' CTCTTGCTTACGCGTGGACTA 3') e *Rsa* 25 (5' TAGTCCACGCGTAAGCAAGAGCACA 3') e, então, preamplificados usando primers complementares aos adaptadores. Os produtos de amplificação foram incubados com sondas biotiladas (CT)₈ e (GT)₈ por 10 minutos para hibridização. Em seguida, os fragmentos de DNA enriquecidos foram capturados por meio de esferas magnéticas cobertas com estreptavidina. Esses fragmentos selecionados foram amplificados por PCR, clonados em vetor pGEM-T e usados para transformar bactérias XL1-BLUE. Um total de 48 clones positivos foi selecionado para sequenciamento. Trinta e quatro locos microssatélites foram obtidos dos 48 clones positivos. Foi viável obter 32 pares de desenhos de primers com base nas sequências flanqueadoras dos locos microssatélites. Vinte acessos de *Mangifera indica* L. foram utilizados na validação destes primers. As Reações em Cadeia da Polimerase para amplificar DNA dos 20 acessos de manga com os novos primers continham um volume total de 10 µL incluindo 20 ng de DNA, 0,8µM de cada primer, 1 µL de tampão 10x, 4 mM de dNTP mix, 2 mM de MgCl₂. O seguinte programa de PCR foi usado para todos os locos: 94 °C por 2 min, 35 ciclos de 94 °C por 30 s, 54 ° por 45 s, 72 ° por 1 min e uma extensão final de 6 min a 72 °C. Os produtos de amplificação foram submetidos a eletroforese vertical em géis de poliacrilamida desnaturante (6%), os quais foram corados com nitrato de prata. O tamanho dos alelos foi estimado por comparação ao ladder de DNA de 10-pb. Dezesesseis primers amplificaram com eficiência considerável. O número médio de alelos por loco foi 4 (variando de 2 a 6). Os valores médios de níveis de heterozigiosidade observada (H_o) e esperada (H_e) foram 0,438 (0 a 1) e 0,625 (0,405 a 0,794), respectivamente. A média dos valores de Polymorphism Information Content (PIC) foi de 0,551, sugerindo que os locos microssatélites analisados são moderadamente informativos.

Apoio Financeiro: CAPES, UESC, UNICAMP e EMBRAPA