

Utilização de PCR multiplex a partir de marcadores VNTR em mandioca

Naira dos Santos Dias¹; Carolina Macedo Miranda¹; Iane dos Santos Queiroz¹; Ana Claudia Oliveira Barbosa¹; Kátia Nogueira Pestana²; Paulo Henrique Silva³; Rogério Mercês Ferreira Santos²; Eder Jorge de Oliveira⁴; Vanderlei da Silva dos Santos⁴; Claudia Fortes Ferreira⁴

¹Estudante da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia; ²Estudante de Pós-Doutorado em Ciências Agrárias da Embrapa Mandioca e Fruticultura; ³Estudante de Doutorado em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia; ⁴Pesquisador(a) Embrapa Mandioca e Fruticultura. E-mails: nairapiresdias@hotmail.com, lol_fsa@hotmail.com, q.iane@hotmail.com, aina-cob2@hotmail.com, katipestana@yahoo.com.br, pphsilvaufbr@gmail.com, rogeriomercês@gmail.com, eder.oliveira@embrapa.br, vanderlei.silva-santos@embrapab.br, claudia.ferreira@embrapa.br

O uso de marcadores moleculares do tipo VNTR (*Variable Number of Tandem Repeats*) no equipamento *Fragment Analyzer™ Automated TE System* da Advanced Analytical, ocasiona custos elevados por unidade de dado a ser analisado. Assim, a busca por práticas que possam diminuir os custos dos reagentes (kits) e acelerar o tempo de análises genéticas, é uma meta constante no Laboratório de Biologia Molecular. Em vista disso, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a possibilidade do uso de marcadores VNTR em PCR multiplex para posterior utilização no equipamento *FragmentAnalyzer™ Automated TE System* de forma a otimizar o processo e diminuir os custos. Um total de 15 acessos pertencentes ao BAG-Mandioca e Fruticultura foram utilizados. Folhas jovens dos materiais foram coletadas para extração do DNA, seguindo o protocolo de Doyle & Doyle (1990), com algumas modificações. O PCR multiplex foi realizado a partir da utilização de 49 *primers* VNTRs, combinando-se dois a três *primers*, a depender do tamanho do fragmento em pares de base (pb) e da temperatura de anelamento (Ta) (48, 50, 53, 55, 58, 59, 60 e 62°C), totalizando 21 combinações. Os fragmentos foram separados em gel de agarose 3,0 %. Do total de combinações testadas no multiplex, 13 (61,90%) foram eficazes com todos os *primers* e apenas uma das combinações não produziu resultados satisfatórios. Esse trabalho demonstra a possibilidade de redução de tempo e custos com reagentes, em pelo menos 50%, em se tratando do uso do equipamento *Fragment Analyzer™ Automated TE System*, o que reflete em uma economia direta nos custos dos kits/reagentes para as análises moleculares, além de contribuir em curto e longo prazo, para o bom funcionamento do laboratório e obtenção dos resultados.

Palavras Chaves: *Manihot esculenta* Crantz; marcador de DNA; PCR multiplex; economia de custos