

## Análise de Fingerprint de variedades elites de mandioca via marcadores de DNA

Carolina Macedo Miranda<sup>1</sup>; Iane dos Santos Queiroz<sup>1</sup>; Paulo Henrique da Silva<sup>2</sup>; Claudia Fortes Ferreira<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Estudante de Engenharia Florestal da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia; <sup>2</sup>Pos-Doutorando da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia; <sup>3</sup>Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura. E-mails: lol\_fsa@hotmail.com, q.iane@hotmail.com, claudia.ferreira@embrapa.br

**Introdução** – A crescente demanda de produtos e melhoristas por mudas de mandioca faz com que o *fingerprint* de variedades elites se torne obrigatório dentro de um programa de melhoramento genético. A técnica do DNA *fingerprint* permite a identificação correta dos materiais, assegurando assim, os direitos dos melhoristas em casos, por exemplo, de contestação de idoneidade. **Objetivos** – Selecionar um conjunto de *primers* com poder discriminatório para uso no *fingerprint* de 22 variedades elites de mandioca pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma de Mandioca (BAG – Mandioca) da Embrapa Mandioca e Fruticultura, assim como também otimizar o equipamento *Fragment Analyzer Automated CE System*, de forma a acelerar o processo de obtenção dos mesmos. **Material e Métodos** – O DNA de folhas jovens de mandioca foi extraído seguindo o protocolo de Doyle & Doyle (1990). Para as reações de PCR foram utilizados *primers* ISSR. As reações de PCR foram realizadas com 2,5 µL de DNA 10 ng, 2,25 µL de primer ISSR (2 µM), 2,0 µL de Taq DNA Polimerase 0,5 U, 1,5 µL de MgCl<sub>2</sub> 25 mM, 1,2 µL de dNTP 2,5 mM, 1,5 µL de Tris KCl 1 x, e 4,05 µL de água Mili-Q em um volume final de 15 µL. As reações de PCR foram amplificadas em termociclador Veritti (Applied Biosystems) com os seguintes ciclos: 94 °C por 3 minutos seguidos de 39 ciclos de 94 °C por 45 segundos, temperatura de anelamento específica de cada *primer* por 45 segundos, 72 °C por 1 minuto, e uma extensão final pela polimerase de 72 °C por 7 minutos. A eletroforese dos fragmentos amplificados foi realizada no equipamento *Fragment Analyzer Automated CE System (Advanced Analytical)* por meio de eletroforese capilar. A caracterização molecular (DNA *fingerprint*) foi tabulada em planilha de dados. Os perfis dos marcadores ISSR de cada genótipo foram obtidos somente pela presença (1) e ausência (0) de bandas de alta densidade. Foram analisados os valores de *I<sub>b</sub>* (Informativeness of a band), *R<sub>p</sub>* (poder de resolução de um primer), e confundimento -  $c = [x^2 + (1 - x)^2]^{n/x}$ . **Resultados** – Onze *primers* tiveram seus *I<sub>b</sub>* e *R<sub>p</sub>* calculados, entretanto, com base nos valores de *R<sub>p</sub>*, somente os primers ISSR 29, 79, 77 e 37 foram utilizados nos cálculos do *fingerprint* por apresentarem os maiores valores. Com base nos cálculos, a probabilidade de se pegar dois acessos de esse grupo e possuírem o mesmo bandejamento, por exemplo, somente usando o primer ISSR-29, ou probabilidade de confundimento, é baixa ( $c = 8.09 \times 10^{-7}$ ) com  $D = 1 - c$ , = 99% - certeza de que dois indivíduos selecionados aleatoriamente são diferentes se somente o primer ISSR-29 for utilizado. Isso demonstra que os *primers* selecionados com base nos valores de *R<sub>p</sub>*, são capazes de serem usados quando se quer investigar a identidade de um material externo, contra esse grupo de indivíduos e, portanto, servirem de *primers* com alto poder discriminatório para uso na técnica do DNA *fingerprint* de variedades elites de mandioca. Quando se usam dois *primers*, o poder deles se multiplica, a cada inclusão de um novo *primer*. **Conclusões** – Os *primers* selecionados por apresentarem os maiores valores de *R<sub>p</sub>* nesse estudo, poderão ser usados no *fingerprint* de variedades elites do programa de melhoramento genético de mandioca da Embrapa Mandioca e Fruticultura.

**Palavras-chave:** *Manihot esculenta*; marcadores de DNA; *fragment analyzer*, poder discriminatório de *primers*.