

C. Ciências Biológicas - 8. Genética - 4. Genética Molecular**AVALIAÇÃO PRELIMINAR DE MARCADORES ISSR DI E TRINUCLEOTIDEOS EM GERMOPLASMA DE MANDIOCA DA REGIÃO DO BAIXO AMAZONAS**Sandra Barbosa de Sousa ¹Miguel Costa Dias ²Nelcimar Reis Sousa ²Gilvan Ferreira da Silva ²João Ferdinando Barreto ²

1. Bolsista PIBIC/FAPEAM

2. Embrapa

INTRODUÇÃO:

A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é amplamente cultivada devido a sua capacidade de adaptação a vários tipos de solos, resistência a pragas e tolerância à seca, além de ser fonte de subsistência de pequenos agricultores e comunidades tradicionais. A região norte destaca-se como uma das principais produtora e consumidora de farinha de mandioca. Na Amazônia, as variedades de mandioca representam excelente fonte de variabilidade genética para enriquecimento das coleções de germoplasma. A conservação, avaliação e caracterização de germoplasma consiste na principal estratégia para identificação de genótipos para serem explorados na geração de novas variedades. A caracterização da diversidade genética dos bancos de germoplasma geralmente envolve a análise de número elevado de acessos. Em varias culturas, os ISSR (Inter-simple sequence repeat) tem se revelado como método rápido e consistente para caracterização de germoplasma, devido a conteúdo informativo, universalidade e reprodutibilidade. Os ISSRs são baseados na amplificação entre regiões de microssatélites, que se repetem em *tandem* de mono-,tri-,tetra-,penta ou até mesmo hexanucleotídeos. O objetivo do trabalho foi identificar marcadores ISSR para caracterização preliminar do germoplasma de mandioca da região do Baixo Amazonas

METODOLOGIA:

A Embrapa Amazônia Ocidental possui um BAG de mandioca regional com cerca de 500 acessos coletados em diferentes localidades da Bacia Amazônica. Foram estudados 120 acessos de mandioca coletados na região do Baixo Amazonas. O DNA genômico foi extraído de tecido foliar de acordo com o protocolo CTAB 2% (Doyle & Doyle, 1987) e quantificado no espectrofotômetro Nanodrop. Preliminarmente, foram selecionados 26 primers do kit set # 9 (801-900) da University of British Columbia (UBC) para análise de polimorfismo do germoplasma. A reação de PCR foi realizada usando 15µl de reação contendo 1,5µl de tampão IB 10x, 1,0µl de dNTP (10mM), 1,0µl de DNA (50ng/µl), 1,0µl de primer (5mM) e 0,2µl de *Taq polimerase* (5u/µl). O programa de amplificação utilizando foi: 94°C de desnaturação por 2 minutos, seguido de 35 ciclos de amplificação, sendo 94°C por 30 segundos, 45°C por 30 segundos e 72°C por dois minutos. A reação finalizada com 72°C por 10 minutos e resfriamento a 4°C. O produto da PCR foi visualizado em gel de agarose a 1,5%, corado com brometo de etídio.

RESULTADOS:

Os 26 primers ISSR selecionados apresentaram numero variável de bandas polimórficas, porem o maior numero foi observado nos ISSR di-nucleotídeos ancorados na extremidade 3'. Os di-nucleotídeos mais comuns foram (AG)_n, (GA)_n e (CA)_n. Os *primers* selecionados ISSR (807, 808, 809, 810, 811, 813; 818, 820, 824, 826, 828, 834, 840, 842, 846, 847, 849, 868, 879, 884, 885, 886, 887, 888, 889, 890) têm potencial para gerar cerca de 150 bandas com tamanho variando entre 200 e 3000 pb.

CONCLUSÃO:

Os *primers* ISSR ancorados dinucleotídeos e não ancorados trinucleotídeos produziram padrão de bandas polimórficos que poderão definir a caracterização genética do germoplasma de mandioca.

Instituição de Fomento: SEG-Macroprograma 01/Embrapa

Palavras-chave: Manihot,, Acesso, Diversidade .