

paula@cmaa.embrapa.br

Palavras-chave: Microsatélites, *Paullinia cupana*, guaranáAmado, MV¹; Angelo, PCS^{2*}; Farias, IP³; Assunção, EN⁴; Lira, MPS⁵; Atroch, AL²; Porto, JR⁶; Astolfi-Filho, S³¹- Doutoranda, UFAM; ²- Pesquisador, Embrapa Amazônia Ocidental; ³- Profs. Drs., UFAM; ⁴-Técnica de Laboratório, UFAM; ⁵- Prof
^a M.Sc UFAM; ⁶-Pesquisador, INPA.

Isolamento e caracterização de marcadores microsatélites em guaranazeiro (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*)

O guaranazeiro é uma dicotiledônea, nativa da Amazônia e pertencente à família *Sapindaceae*. O gênero *Paullinia* possui aproximadamente 147 espécies, distribuídas pela América Tropical e Subtropical, das quais nove ocorrem na Amazônia brasileira, inclusive *P. cupana* (H.B.K.), sendo a variedade *sorbilis*, o guaraná verdadeiro, cultivado comercialmente. Os frutos são cápsulas e, após sofrerem beneficiamento primário (torrefação e limpeza), liberam as amêndoas, que são industrializadas. Estima-se que, da oferta nacional de sementes de guaraná, cerca de 70% seja absorvida pelos fabricantes de refrigerantes. A Embrapa Amazônia Ocidental mantém em Manaus (AM) um Banco de Germoplasma com 250 acessos de guaranazeiro. A caracterização deste germoplasma é de fundamental importância para a conservação dos Recursos Genéticos e para dar suporte ao programa de melhoramento desta espécie. O objetivo desse trabalho foi desenvolver marcadores microsatélites para serem usados na caracterização da diversidade genética contida no Banco de Germoplasma de guaranazeiro da Embrapa. Para a identificação dos loci microsatélites o DNA foi digerido com *Sau3AI* e fragmentos entre 300 e 900 pb foram selecionados e ligados a adaptadores. A seleção de fragmentos contendo microsatélites foi realizada por hibridação com o oligonucleotídeo (CT)₁₂ e com os oligonucleotídeos (CT)₁₂ e (CA)₁₂ marcadas com o complexo biotina/avidina, durante 4 horas, a 60 °C, em SSC 10X/SDS 2%. Os fragmentos selecionados foram amplificados por PCR e clonados pelo sistema TA/topoisomerase. Duas placas de 96 posições da biblioteca genômica enriquecida por CT/GA e duas placas enriquecidas para CT/GA + CA/GT foram seqüenciadas. Das seqüências selecionadas 6,7% continham microsatélites, sendo 75% delas do tipo esperado, ou seja, complementares as sondas e 25% dos arranjos eram de repetições AT, não esperadas. Estes resultados indicam que o enriquecimento para repetições AT pode ser vantajoso. Iniciadores específicos (primers) para regiões flangeadoras aos microsatélites de cinco loci foram desenhados utilizando o aplicativo PRIMER3 e o grau de polimorfismo nestes loci foi testado para 12 genótipos de guaranazeiro. Um locus se mostrou monomórfico e para os outros loci foram encontrados de 2 a 3 alelos. A heterozigosidade observada variou de 0,08 a 0,72 e a esperada variou de 0,55 a 0,69. ■

Apoio Financeiro: FAPEAM.