



INTER-SINGLE-SEQUENCE-REPEAT (ISSR) EM *Mycosphaerella fijiensis*, SELEÇÃO DE LOCOS E PADRONIZAÇÃO DA PCR.

Álison Thiago Barbosa Pereira¹; Gilvan Ferreira Silva, Luadir Gasparotto²,
Rogério Eiji Hanada³, Nelcimar Reis Sousa²

¹Bolsista CNPq. alison.barbosa@cpaa.embrapa.br; ²Embrapa Amazônia Ocidental.
gilvan.silva@cpaa.embrapa.br; ³Pesquisador INPA

Palavras-chave: *Mycosphaerella fijiensis*, ISSR, Sigatoka-negra

A sigatoka-negra é uma doença causada pelo fungo *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, considerado o fitopatógeno de maior importância na maioria das regiões produtoras de banana no mundo. O ataque resulta na produção de frutos pouco desenvolvidos e impróprios à comercialização ou pode até causar a morte das plantas. A análise da estrutura genética da população do patógeno, juntamente com a busca de estratégias para o controle da doença, principalmente por meio de melhoramento visando resistência, é a forma mais econômica e ambientalmente correta. O marcador ISSR tem como base a amplificação por PCR entre seqüência simples repetidas (SSR) usando oligonucleotídeo que são repetições complementares aos microssatélites. Deste modo, este trabalho teve por objetivo padronizar da técnica de ISSR em *M. fijiensis* e selecionar iniciadores para caracterização genética da população. Para padronização da técnica de ISSR foram testados diferentes concentrações de DNA (25ng e 50 ng) MgCl₂ (1,5 mM ; 2,0 mM e 2,5 mM), dNTP (0,25mM e 0,50mM) e quantidade de Taq polimerase phoneutria (1U e 2U), as reações foram realizadas em volume de 15 µL com 0,3 µM de iniciador. Após a padronização foram testados oligonucleotídeos baseados na lista set#9 (primers 801-900) da UBC. A melhor condição de amplificação foi 50ng de DNA, 2 mM de MgCl₂ e 0,5 mM de dNTP e 1 U de Taq polimerase. Dos 100 primers analisados 53 apresentaram amplificação de 1 a 8 bandas, destes 25 foram selecionados para análise de polimorfismos. Doze oligonucleotídeos que apresentam as repetições AT e TA com diferentes ancoras em 3': (AT)8T, (AT)8G, (AT)8C, (TA)8A, (TA)8C, (TA)8G, (AT)8YA, (AT)8YC, (AT)8YG, (TA)8RT, (TA)8RC, (TA)8RG não apresentaram amplificação, isso se deve possivelmente à inexistência desse microssatélite no genoma de *M. fijiensis* ou a amplificação entre os SSR não foi possível por estar em distância maior do que a capacidade de amplificação da enzima, os dados também indicam que os ISSR mais abundantes no genoma são os que apresentam as repetições AG, CT e ACC.

Fontes financiadoras: CNPq