

## C. Ciências Biológicas - 8. Genética - 5. Genética Vegetal

### OTIMIZAÇÃO DE LOCOS DE MICROSSATÉLITES PARA DIFERENTES ESPÉCIES DE *Passiflora*

Juliana Leles Costa <sup>1</sup>

Eder Jorge de Oliveira <sup>2</sup>

Gilmara Alvarenga Fachardo Oliveira <sup>1</sup>

Fabiana Moraes de Carvalho <sup>3</sup>

Jorge Luiz Loyola Dantas <sup>4</sup>

1. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia □ Estudante de Biologia

2. Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical □ Orientador

3. Faculdade Maria Milza - Estudante de Biomedicina

4. Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical □ Co-orientador

### INTRODUÇÃO:

A variabilidade genética das inúmeras espécies do gênero *Passiflora* vem sendo caracterizada por meio de estudos fenotípicos e moleculares. Contudo, a caracterização molecular de passifloras, pode ser considerada incipiente, visto o grande número de espécies ainda não estudadas e o potencial inexplorado para essas espécies com marcadores moleculares (Cerqueira-Silva et al., 2008). Os marcadores do tipo microsatélites, também conhecidos como SSR (Simple Sequence Repeats) são sequências de 1 a 6 pares de bases repetidas em tandem. Suas principais vantagens são a co-dominância, o multialelismo, a geração de alto nível de polimorfismo, alta reprodutividade, rapidez e simplicidade da técnica, baixo custo de utilização e grande poder de resolução (Oliveira et al., 2006). Entre as dificuldades está o alto custo no desenvolvimento dos iniciadores e na difícil análise de polimorfismos em géis de alta resolução. Assim, esse trabalho teve como objetivo otimizar a amplificação de iniciadores de SSR desenvolvidos para *Passiflora edulis* Sims., em outras espécies do gênero.

### METODOLOGIA:

Baseado na qualidade de amplificação dos locos descritos por Oliveira (2006), foram selecionados 40 locos de SSR desenvolvidos para espécie *P. edulis*. Para otimização das condições de reação e amplificação desses locos em outras espécies do gênero *Passiflora*, utilizaram-se os seguintes genótipos *P. ligularis*, *P. foetida*, *P. rubra*, *P. setacea*, *P. suberosa*, *P. cincinnata*, *P. morifolia*, *P. gibertti* e *P. muchronata* e *P. edulis*, como controle. Estes acessos pertencem ao Banco Ativo de Germoplasma de Maracujá da Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical. O DNA foi extraído seguindo protocolo adaptado de Doyle & Doyle (1990). As amplificações foram feitas em termociclador PTC-100 (MJ Research), de acordo com o seguinte programa: 94 °C por 4 min; 30 ciclos a 94 °C por 50s, temperatura de anelamento variando (52 a 60 °C) de acordo com o iniciador por 50s, 72 °C por 60s; extensão final a 72 °C por 7 min. Os produtos da amplificação foram separados por eletroforese em gel de agarose 1000 3%.

### RESULTADOS:

Em função da qualidade de amplificação nas espécies analisadas (bandas nítidas, sem arraste e bandas inespecíficas) foram otimizados 21 locos de SSR. As reações de amplificação foram otimizadas em volume final de 20 µL, concentração de DNA de 10 ng; 0,4 µM dos iniciadores e 1,0 U de Taq DNA Polimerase. Os demais reagentes devem ser utilizados com diferentes concentrações para os locos analisados. O dNTP variou entre 0,2 mM (PE03, PE07, PE09, PE11, PE13, PE19, PE27,

PE37, PE38, PE41, PE58, PE64, PE66, PE74 e PE90) e 0,35 mM (PE15, PE18, PE23, PE59, PE75 e PE88). A variação de MgCl<sub>2</sub> foi de 1,5 mM (PE03, PE07, PE09, PE11, PE13, PE15, PE18, PE23, PE37, PE58, PE59, PE64, PE75 e PE88); 2,0 mM para o loco PE74 e 2,5 mM para PE19, PE27, PE38, PE41, PE66 e PE90. A concentração do tampão foi de 1X (PE03, PE19, PE27, PE37, PE38, PE41, PE58, PE66, PE74 e PE90) e 2X (PE07, PE09, PE11, PE13, PE15, PE18, PE23, PE59, PE64, PE75 e PE88). Já a temperatura de anelamento variou de 52°C (PE19), 56°C (PE09, PE23, PE38, PE59 e PE64), 60°C (PE03, PE07, PE11, PE13, PE15, PE18, PE27, PE37, PE41, PE58, PE66, PE75, PE88 e PE90) e 62°C para o iniciador PE74.

## **CONCLUSÃO:**

Vinte e um locos de microssatélites identificados para *P.edulis* foram otimizados para uso em outras espécies de *Passiflora*. Este resultado trará contribuições para novos estudos com a cultura do maracujazeiro, reduzindo custos e tempo, por não ser necessário o desenvolvimento de outros marcadores específicos para essas espécies.

Instituição de Fomento: CNPq e Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical

Palavras-chave: SSR, maracujá, marcadores moleculares.