

C. Ciências Biológicas - 8. Genética - 4. Genética Molecular

Seleção de iniciadores microssatélites-SSr para fins de genotipagem da população F2 de *Ricinus communis* L.

Edna Lôbo Machado NBIO - UFRB
Simone Alves Silva NBIO - UFRB
Cláudia Fortes Ferreira EMBRAPA - Ba
Camila Nogueira Pestana NBIO - UFRB
Agenildo de Sousa Santos NBIO - UFRB
Luciel dos Santos Fernandes NBIO - UFRB

1. Doutoranda em Ciências Agrária - UFRB
2. Orientadora- Profa Dra.- UFRB
3. Co-Orientadora - Dra. - EMBRAPA
4. Discente do curso de Bacharelado em Cien. Biológicas- UFRB
5. Discente do curso de Bacharelado em Cien. Biológicas- UFRB
6. Discente do curso de Bacharelado em Cien. Biológicas- UFRB

INTRODUÇÃO:

A *Ricinus communis* L. é uma planta de grande importância sócio-econômica para o Nordeste. Apresenta-se como fonte energética alternativa ao petróleo e seus derivados. O principal problema para a exploração racional da mamoneira para produção de biodiesel na região Nordeste está relacionado à indisponibilidade de sementes de cultivares adaptadas, com alto teor de óleo e tolerantes a pragas e doenças, que possam atender às necessidades dos agricultores e processadores da matéria prima produzida. O uso de marcadores moleculares na caracterização e identificação de genes de importância agrônômica tem permitido obter avanços consideráveis nos programas de melhoramento genético. Marcadores moleculares do tipo microssatélite -SSR podem ser aplicados com diversas finalidades, como, por exemplo, estudar a estrutura genética de populações, análise de filogenias; detecção de ligação gênica com caracteres mono e poligênicos; avaliação de germoplasma; seleção indireta de características agrônômicas, dentre outros. Assim sendo, objetivou-se testar iniciadores microssatélites em indivíduos da população F2, proveniente do cruzamento entre MPA17 e Nordestina, a fim de selecionar aqueles que apresentarem bom padrão de amplificação para futura genotipagem em todos os indivíduos da população F2.

METODOLOGIA:

O DNA da população F2 (Obtida a partir da autofecundação da população F1 proveniente do cruzamento entre as cultivares MPA17 e Nordestina) foi extraído pelo método CETAB, quantificado e a concentração ajustada para 10ng/µl. Foram utilizados nos testes doze pares de iniciadores SSR desenvolvidos para a mamona pela equipe do Dr. José B. Pinheiro, em 2009, professor da USP. Nos testes, foram utilizados três indivíduos da população F2, para cada par de primer. A reação de amplificação, com volume final de 25µl, conteve 20mM de Tris-HCl (pH 8,4), 50mM de KCl e 1,5mM MgCl, 50ng de DNA, 0,81M de cada primer (F e R), 150 1M dNTPs e 1U de Taq. Os ciclos de amplificação foram: 1 min. a 94 °C + 35 ciclos (1min a 94 °C + 1 min a 60 °C + 1min a 72 °C) + 72° por 10 min. Para cada par de primer montou-se uma reação-testemunha contendo todos os componentes, exceto o DNA. A visualização dos fragmentos foi através de gel de agarose a 3%. Como padrão de peso molecular utilizou-se o lader 100pb.

RESULTADOS:

Os doze pares de primers testados geraram fragmentos com bom padrão de amplificação e tamanho esperado. As amostras testemunhas (sem DNA) não amplificaram, indicando que as amplificações das amostras foram realmente do DNA genômico da mamoneira e que os primers utilizados não apresentam contaminação. Sendo

assim, todos os doze pares de primers SSR testado serão utilizados na análise da população F2 através da genotipagem desses indivíduos e mais os genitores. As seqüências e nomes dos primers SSR que foram utilizados são:

Rco2-F:CTAGCTTTGGGGCACAGTC (AC)12 e R:GAAAATAGGTGCGTATGAAAC;
Rco3-F:GATGTGAGCCCATTATGCTG (GA)22 e R:TCAGAAATACCTCTAGGCGACA; Rco8F:CGTGTGTCTGTGTGCATGTC (TG)10 e R:CCTCAACCCTTTGCTGTTTC; Rco11F:GCGTGGACTAACTTCAAGCA (TC)10(GT) e R:CCCCATTAGCATCGAGAAAG; Rco12F:AAGACTGCACCTCCTCCTA (TG)88(GA)9 e R:TGCTGGAACAAACCCTGATA; Rco13F:GGTGCTTCCAGAAATTCAGTT (GA)23 e R:GGAGGGGAAAGACAGGATTC; Rco15F: CACGCACGTAAAGCAAAC (AG)18 e R:GCGAAGAAACCAAATGGAG; Rco22F:ATCCGCCGACAATAGCAG (AAAC)3(AC)9(TC)5 R:GCAACACTCTCTCCCTGAA; Rco23F:CATGGATGTAGAGGGTTCGAT (GA)15(AG)8 e R: CAGCCAAGCCAAAGATTTTC; Rco26F:TTGCTTGTCAAAGGGGAGTT (CT)19 R:TCATTTTGAGGGGAGAAACCA Rco298 F:GGAGAAAAGAAAGGGAGAAGG (GA)7 e R:GCCAAAAGCACACTTAATTTGA; Rco30F:TGAAACTTTGGAGCTTGAGAGA (AG)19 e R:GGTCCCACACATTCATACACA.

CONCLUSÃO:

Os iniciadores microssatélites - SSR testados, mostraram-se eficientes na amplificação de regiões genômicas específicas de *Ricinus communis* L e podem ser utilizados na genotipagem da população F2.

Palavras-chave: Melhoramento genético, marcadores SSR, Teor de óleo na semente.