Validação de marcadores moleculares do tipo microssatélites em bananeira

Paulo Henrique da Silva¹; Cláudia Fortes Ferreira²; Alberto Duarte Vilarinhos²; Edson Perito Amorim²; Ana Yamaguishi Ciampi⁵; Robert Neil Gerard Miller⁶; Manoel Teixeira Souza Júnior⁷

¹Graduando em Agronomia da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia; ²Pesquisador (a) da Embrapa Mandioca e Fruticultura; ⁵Pesquisadora da Embrapa Recursos genéticos e Biotecnologia; ⁶Professor da Universidade Católica de Brasília; ⁷Pesquisador da Embrapa Agroenergia

INTRODUÇÃO

A banana é um dos produtos alimentares mais produzidos no mundo atualmente, com mais de 130 países produtores. Torna-se muito importante pois é grande geradora de fonte e renda empregando milhões de pessoas em todo o território nacional, principalmente no Nordeste do pais, onde a maioria dos produtores são de baixa renda.

Dentre os fatores limitantes da cultura está o cultivo de variedades pouco resistentes a pragas e doenças; e uma estratégia para a solução deste problema é a do programa de melhoramento na busca de variedades mais produtivas e resistentes. Sendo assim os marcadores moleculares torna-se uma ferramenta acessória aos programas de melhoramento.

Dentre os marcadores moleculares mais utilizados nos estudos genéticos em bananeira, os marcadores microssatélites, destacam-se por serem altamente informativos, multialélicos e por apresentarem alta reprodutibilidade.

Este trabalho objetivou a validação de marcadores moleculares microssatélites EST e BAC – SSRs para auxílio ao programa de mapeamento genético da bananeira, em diplóides de bananeira contrastantes para resistência a Sigatoka amarela e negra.

METODOLOGIA

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Biologia Molecular localizado na Embrapa Mandioca e Fruticultura, na cidade de Cruz das Almas – BA. Para realização deste estudo utilizou-se o DNA de 22 plantas provenientes de populações segregantes (F₂) do banco de Germoplasma de Banana da Embrapa Mandioca e Fruticultura. O DNA dos acessos foi extraído utilizando o protocolo

CTAB (brometo de centiltrimetilâmonio) descrito por Doyle & Doyle, com modificações. As amplificações conduzidas em termociclador empregando-se um programa com ciclo inicial de 94 °C por 3 min, seguido de 30 ciclos de: 94 °C por 40 s, a temperatura de anelamento de cada primer por 40 s e 72 °C por 1 min. e uma extensão final pela polimerase a 72 °C por 4 minutos. O produto das amplificações foram validados em gel desnaturantes de poliacrilamida a 5 % e visualizados por coloração com prata (Creste et al., 2001).

As estimativas de heterozigosidade e PIC (*Polymorphism Information Content*) foram obtidas com o auxílio do programa PowerMarker (Liu & Muse, 2005).

RESULTADOS

Foram validados um total de 96 primers, sendo que destes 58 foram avaliados e obteve-se: 34 polimorfismo, 4 monomórficos, 11 necessitam de ajuste na temperatura de anelamento, 9 não apresentaram produto de amplificação, e os outros 38 restantes encontram-se em fase de avaliação. A média do número de alelos por primer foi de 4,5 com variação de 2 a 9 sendo que os primers CNPMF-05 e MASR 158 apresentaram maior número de alelos, com 9 alelos cada um. A heterozigosidade média apresentada foi de 0,6181 e PIC (*Polymorphism Information Content*) médio foi de 0,5157.

CONCLUSÃO

Os primers foram otimizados e validados usando diferentes temperaturas de anelamento por meio da prática do PCR e os valores do PIC demonstraram um alto conteúdo informativo, sendo importantes para trabalhos de melhoramento genético de bananeira.

REFERÊNCIAS

CRESTE, S.; TULMANN NETO, A.; FIGUEIRA, A. Detection of single sequence repeat polymorfisms in denaturing polyacrylamide sequencing gels by silver staining. **Plant Molecular Biology Reporter**, v.19, p.299-306, 2001.

LIU, K.; MUSE, S.V. PowerMarker: An integrated analysis environment for genetic marker analysis. **Bioinformatics**, v21, p.2128–2129, 2005.

Palavras-chave: Musa spp., primers, PCR.