

ERIC-PCR diferencia guaranazeiro cultivado de espécies afins (*Paullinia* spp)

Silva, DCB¹, Sousa, NR², Silva, GF², Filho, FJN³

¹Bolsista PAIC/FAPEAM

²Laboratório de Biologia Molecular – Embrapa Amazônia Ocidental

³Melhoramento Genético de Guaranazeiro - Embrapa Amazônia Ocidental
daphne.silva@cpaa.embrapa.br

Palavras-chave: *Paullinia cupana*, diversidade genética, marcador molecular, polimorfismo e germoplasma.

A caracterização por DNA do germoplasma de guaranazeiro tem sido possível com a utilização de seqüências universais, visto que as tentativas de desenvolvimento de *primers* específicos não foram bem sucedidas. As evidências de que coleção de germoplasma de guaranazeiro contém pouca variabilidade genética apesar da poliploidia da espécie, levanta a questão de que os métodos utilizados para discriminar o germoplasma ainda não foram totalmente eficientes. Os elementos ERIC (*Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus*) foram descobertos em regiões intergênicas do genoma de eubactéria, são caracterizados como pequenas unidades repetitivas de 127 pb contendo região central altamente conservada com repetições invertidas de 40 pb. A técnica tem sido amplamente utilizada em estudos de genética e evolução de microrganismos por ter reprodutibilidade e rapidez. Em plantas, a técnica de ERIC-PCR não amplifica necessariamente regiões intergênicas, contudo os perfis de bandas obtidos permitiram a geração de *fingerprintings*. Desse modo, o objetivo deste trabalho foi analisar o potencial dos primers ERIC-PCR para identificação da variação intra e interespecífica. A pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Amazônia Ocidental. Foram coletadas amostras de tecido foliar de 12 espécies selvagens (*Paullinia* spp.) e 2 clones melhorados de guaranazeiros (*Paullinia cupana* var. *sorbilis* (Mart.) Ducke), conservadas no Banco Ativo de Germoplasma. O DNA foi extraído a partir das folhas jovens pelo método CTAB. As reações de PCR foram realizadas em volume de 20 µL contendo 20 ng de DNA genômico, 1X de tampão (500 mM de KCl, 100 mM de Tris-HCl pH 8,4, 1% de Triton X- 100) 1,5 mM MgCl₂, 0,8 mM de dNTP, 0,5 µM de cada primers (ERIC1R e ERIC2) e 2U de *Taq* DNA polimerase. As condições de amplificação foram: 94°C por 3 min e seguido de 40 ciclos de 94°C por 1 min, 52°C por 1 min, e 65°C por 3 min e extensão final de 65°C por 10 min e separados em gel de agarose 1,5%. A diversidade genética foi analisada com base em 18 bandas polimórficas, com tamanho variando de 200 a 3000 pb. A estimativa de similaridade de Jaccard variou de 0,13 (entre espécies afins) a 0,88 (entre cultivares clonais de guaranazeiro). A análise de agrupamento pelo método UPGMA revelou o elevado poder de discriminação da técnica de ERIC-PCR, que foi capaz de separar as espécies afins do guaranazeiro cultivado.

Apoio Financeiro: EMBRAPA e FAPEAM