

Análise de duplicatas no germoplasma de mandioca com base em marcadores moleculares

Luziane Brandão Alves¹; Cátia Dias do Carmo²; Paulo Henrique da Silva²; Eder Jorge de Oliveira³

¹Estudante de Licenciatura em Biologia da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Bolsista IC da Fapesb;

²Estudante de Doutorado em Ciências Agrárias da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia; ³Pesquisador da Embrapa Mandioca e Fruticultura. E-mails: luzianealves@hotmail.com, catiadiasdocarmo@gmail.com, pphsilvaufbr@gmail.com, eder.oliveira@embrapa.br

Introdução – O Banco Ativo de Germoplasma de Mandioca da Embrapa Mandioca e Fruticultura (BAG-Mandioca) possui aproximadamente 1500 acessos conservados *ex situ*. Apesar de bastante representativo, o expressivo número de acessos com similaridades fenotípicas evidenciam a presença de indivíduos considerados duplicatas. A presença de duplicatas resulta em maior demanda de recursos financeiros, decorrente da manutenção desnecessária destes acessos. Diversas estratégias podem ser utilizadas para identificação de duplicatas, a exemplo da análise de dados de passaporte, dados morfológicos e agrônomicos. Contudo, os marcadores de DNA constituem uma ferramenta para identificar polimorfismos diretamente no genoma. Em trabalhos prévios, 372 marcadores dialélicos do tipo *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) identificaram cerca de 48% de acessos duplicados. **Objetivo** - O objetivo deste trabalho foi agregar informações de marcadores multialélicos como os microssatélites (SSRs) para ajudar na identificação de duplicatas no BAG-Mandioca. **Material e Métodos** – Foi realizada a extração do DNA genômico de 797 acessos de mandioca considerados duplicatas com base em SNPs. A genotipagem dos 372 SNPs foi realizada previamente em plataforma Mas sArray (Sequenom iPLEXassay). Oito locos SSRs distribuídos em diferentes grupos no mapa genético da mandioca foram utilizados na genotipagem. As reações de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) dos microssatélites foram realizadas em sistema multiplex e os fragmentos amplificados separados por eletroforese capilar utilizando o equipamento Fragment Analyzer. A identificação de duplicatas foi realizada utilizando o pacote *allelematch*, na plataforma R 3.01. De acordo com o parâmetro *alleleMismatch* a classificação de genótipos únicos de forma inequívoca em grupos com um mínimo de sobreposição é feita quando o número de múltiplos perfis se aproxima de zero. Assim, 18 foi o número máximo de alelos para declarar identidade entre acessos de mandioca com base em marcadores SNPs e SSRs. **Resultados** – Foram identificados 248 grupos de acessos, cujo número de cópias variou entre 2 a 21. Do total de 797 acessos, apenas 36 apresentaram genótipos únicos. Aproximadamente 60% dos acessos de mandioca apresentaram de 2 a 5 cópias. Vinte e três acessos apresentaram múltiplas associações em diferentes grupos e, portanto foram alocados em apenas um dos grupos. **Conclusões** – Os resultados deste trabalho ainda não são conclusivos quanto à percentagem de duplicatas no germoplasma de mandioca, considerando que os SNPs utilizados estão relacionados a rotas metabólicas específicas, a exemplo de biossíntese de amido, metabolismo secundário, resistência a fatores bióticos e deterioração fisiológica pós-colheita. Portanto, a análise do polimorfismo com base nestas regiões genômicas pode levar a uma subamostragem do genoma. Por outro lado, o número de SSRs utilizados até o presente, ainda é insuficiente para uma análise completa destas duplicatas. Assim, novos marcadores SSRs devem ser utilizados nesta genotipagem.

Palavras-chave: *Manihot esculenta* Crantz; microssatélites; SNPs.