



TESTES DE GRADIENTE DE TEMPERATURA COM PRIMERS ISSR EM ACESSOS DE MILHOS CRIoulos PROSPECTADOS NO NORTE DE MINAS GERAIS

MATHEUS HENRIQUE TEIXEIRA; JEFFERSON JOE MOREIRA ALVES; LUAN SOUZA DE PAULA GOMES; ANA CAROLINA ATAIDE SILVEIRA; DEMERSON ARRUDA SANGLARD

Introdução: Dentre os marcadores de DNA baseados em PCR para estudos de diversidade, destaca-se o ISSR (*Inter Simple Sequences Repeats*), o qual apresenta vantagens como baixo custo relativo, alta reprodutibilidade e dispensa quanto aos conhecimentos prévios dos genomas. **Objetivos:** Estudar a otimização das condições de amplificação via PCR (gradientes de temperaturas de anelamento), envolvendo primers ISSR e os genomas de acessos de milhos crioulos (*Zea mays* L.) oriundos do Norte de Minas Gerais. **Material e métodos:** As extrações de DNAs seguiram um protocolo CTAB adaptado, utilizando-se folhas maduras de milhos crioulos. Para otimização das amplificações com primers ISSR (Coleção UCB, Canada), foram realizados testes de gradientes de temperaturas de anelamentos em termociclador configurado para o espectro de 45°C a 65°C, gerando 12 temperaturas dentro deste intervalo. As reações seguiram a seguinte programação: uma fase inicial de desnaturação a 94°C por 5 min; seguida por 35 ciclos de [desnaturação (94°C por 1 min), anelamento (45°C a 65°C por 1 min) e extensão (72°C por 2 minutos)]; e uma fase de extensão final de 72°C por 7 min / conservação a 4°C. Utilizou-se DNA's de dois indivíduos escolhidos em uma coleção de 44 acessos, variando-os a cada teste. Na placa de PCR (96 poços), testou-se quatro primers por reação, tendo as linhas como variantes de genótipos e primers; e colunas quanto às diferentes temperaturas. **Resultados:** Durante a execução do estudo, foram testados 56 primers ISSR, sendo que 34 deles caracterizam-se como sendo amplamente polimórficos, sob temperaturas de anelamento específicas identificadas nos gradientes: primers UCB 816, 820, 823, 828, 829, 836, 850, 880, 884 e 890 (46°C); 808, 810, 812, 825, 827, 847, 849 e 855 (47°C); 818 e 876 (48°C); 848 (49°C); 864, 865, 886, 887 e 889 (51°C); 807, 830 e 888 (54°C); 842, 856 e 866 (56°C); 858 e 867 (59°C). Quanto aos primers dispensados, 18 deles não amplificaram e quatro geraram apenas bandas monomórficas. **Conclusão:** A identificação prévia das temperaturas de anelamentos (PCR) que otimizem polimorfismos em uma população sob estudo, mostra-se como uma etapa imprescindível na otimização de tempo e insumos de Biologia Molecular.

Palavras-chave: Diversidade, Otimização, *Zea mays* L, Testes, Anelamento.