



DESENVOLVIMENTO DE MARCADORES MICROSSATÉLITES PARA CARACTERIZAÇÃO DA DIVERSIDADE GENÉTICA NATURAL EM POPULAÇÕES DE *QUALEA GRANDIFLORA* MART.

Lia Maris Orth Ritter

Mariza Monteiro; Miklos Bajay; Renata Gabriella V. de C e Souza; Maria Andréia Moreno; Elza Martins Ferraz; Paulo Yoshio Kageyama

Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz.
Av Padua Dias, 11 - Bairro Agronomia, Piracicaba SP.
Autor para contato: lmritter@esalq.usp.br

INTRODUÇÃO

O desmatamento tem levado à perda de variabilidade genética de muitas espécies do cerrado (Martins *et al.*, 2006). As alterações antrópicas ou até mesmo o manejo florestal, reduzem a variabilidade genética das espécies. Segundo Young *et al.*, (1996) são diversos efeitos de estrutura de famílias, ou seja: associados à forma como os genes se estruturam no espaço, formando sub - populações homogêneas, aumentando as chances de ocorrer cruzamentos entre aparentados, levando à fixação de alelos raros, deriva genética e à indução de endogamia, promovendo um aumento da divergência genética entre populações.

A diversidade genética é fundamental para a sustentabilidade e estabilidade do ecossistema. Segundo Botrel *et al.*, (2006), a variação genética presente em uma espécie, essencial para sobrevivência e adaptação a possíveis mudanças do ambiente, é a base para programas de conservação genética. A diferenciação das populações em nível intra - específico, causada pelo isolamento genético por várias gerações, é um fator muito relevante para a conservação. Para Gribel (2001), compreender estes padrões intra - específicos é de fundamental importância para a definição de estratégias de conservação e uso sustentado dos recursos genéticos.

OBJETIVOS

Este trabalho teve por objetivo construir uma biblioteca genômica enriquecida, a fim de utilizar os marcadores microssatélites nos estudos de diversidade genética em populações de *Qualea grandiflora* Mart, espécie típica do cerrado brasileiro.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi escolhido um indivíduo de *Qualea grandiflora* Mart numa área de cerrado stricto sensu em Brotas, São Paulo, cujas folhas se encontravam no estágio jovem/intermediário. A coleta foi realizada com auxílio de podão e as folhas foram acondicionadas em sacos plásticos de polietileno vedados, envoltos em jornal, acondicionados em caixas de isopor com gelo e transportados imediatamente para o laboratório, onde foram armazenados a 5 graus em geladeira.

Para o desenvolvimento dos microssatélites, menos de 24 h após a coleta do material foliar, o DNA foi extraído 30 vezes para garantir amostras de qualidade e quantidade suficientes (concentração de 250 ng/ul = 5ul). Foi utilizado o protocolo de Ferreira e Gratapaglia (1996) adaptado, utilizando - se tampão CTAB em concentração de 3%. Posteriormente, foi construída uma biblioteca genômica enriquecida (segundo Billote *et al.*, 1999) onde foram selecionados os clones positivos contendo o DNA que foi seqüenciado. O desenho de pri-

mers foi realizado com o auxílio dos softwares Bioedit e Primer 3.

RESULTADOS

Com base no sequenciamento de quatro placas de DNA de *Q. grandiflora*, foram desenhados 22 pares de primers contendo motivos de no mínimo 6 repetições e quantidade acima de 40% de bases nitrogenadas Guanina e Citosina.

Os iniciadores foram testados em gel de poliacrilamida corado com nitrato de prata, usando amostras de DNA de 130 indivíduos diferentes a partir de quatro diferentes populações de Cerrado. Só seis primers não mostraram amplicons. Foram selecionados oito primers que apresentaram melhor visualização (sem a presença de sombras ou stutters) para realizar os estudos de diversidade genética de quatro populações de *Q. grandiflora*. Os valores de PIC (Conteúdo de Informação Polimórfica) foram altos para todos os locos utilizados.

CONCLUSÃO

Os marcadores microssatélites desenvolvidos neste estudo mostraram - se ferramentas muito importantes para o estudo da diversidade genética de *Qualea grandiflora* Mart em populações naturais em remanescentes de cerrado no estado de São Paulo. Na continuidade dos trabalhos estão sendo analisados 100 indivíduos adul-

tos de cada população e 300 progênies a fim de conhecer melhor o fluxo gênico da espécie em questão.

REFERÊNCIAS

- BILLOTTE, N.; LAGODA, P.J.L.; RISTERUCCI, A.M.; BAURENS, F.C. Microsatellite - enriched libraries: applied methodology for the development of SSR markers in tropical crops. *Fruits*, v.54, p.277 - 288, 1999.
- BOTREL, M.C.G.; SOUZA, A.M.; CARVALHO, D.; PINTO, S.I.C.; MOURA, M.C.O.; ESTOPA, R.A. Caracterização genética de *Calophyllum* brasileiro Camb. em duas populações de mata ciliar. *Revista Árvore*, Viçosa, v.30, n.5, p.821 - 827, 2006.
- FERREIRA, M.E.; GRATAPAGLIA, D. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. 2° ed. Brasília: EMBRAPA CENARGEN, 220 p., 1996.
- GRIBEL, R. Biologia reprodutiva de plantas amazônicas: importância para uso, manejo e conservação de recursos naturais. *Humanidades*, Brasília DF, n.47, p.110 - 114, 2001.
- MARTINS, K. ; CHAVES, L. J. ; BUSO, G.S.C ; KAGEYAMA, P.Y. . Mating system and fine - scale spatial genetic structure of *Solanum lycocarpum* St.Hil. (Solanaceae) in the Brazilian Cerrado. *Conservation Genetics*, v. 7, p. 957 - 969, 2006.
- YOUNG, A.; BOYLE, T.; BROWN, T. The population genetics consequences of habitat fragmentation for plants. *Tree*, v. 11, n. 10, p. 413 - 418, 1996.