

053 - DESENVOLVIMENTO DE MARCADORES MOLECULARES MICROSSATÉLITES E ESTUDO DA DIVERSIDADE GENÉTICA DE UMA POPULAÇÃO NATURAL DE *Manilkara huberi* (DUCKE) STANDL. (SAPOTACEAE) NA AMAZÔNIA BRASILEIRA ORIENTAL (Development of microsatellite molecular markers and study of the genetic diversity of a natural population of *Manilkara huberi* (Ducke) Standl. (Sapotaceae) at the oriental Brazilian Amazon)

Azevedo, V.C.R.¹, Vinson, C.C.², Silva, V.P.³, Almeida, T.N.⁴, Kanashiro, M.⁵, Ciampi, A.Y.⁶

O desmatamento e a exploração predatória da madeira fazem necessária a promoção de um manejo florestal sustentável. A maçaranduba (*Manilkara huberi*) é uma espécie amazônica madeireira hermafrodita, de grande ocorrência e intensamente explorada devido à dureza e alta resistência de sua madeira. Para estudos genéticos da espécie, foram desenvolvidos 14 marcadores microsatélites ou SSR (“Simple Sequence Repeats”). Esses marcadores são co-dominantes, multi-alélicos, sendo ideais para estudos de paternidade, fluxo gênico, variabilidade genética, sistemas de cruzamento. Para o desenvolvimento dos marcadores SSR, o DNA total foi extraído segundo o protocolo de CTAB 2%, e digerido com a enzima TSP 509 I. Após o processo de enriquecimento da biblioteca genômica, o DNA foi ligado ao vetor pGEM-T e transformado em *E. coli*, cepa XL1-Blue. Na seleção por hibridização com sonda poli AG/TC, foram obtidos 271 clones positivos dos quais 251 foram seqüenciados, e 29 pares de primers desenhados utilizando o software Primer 3. Do total, 24,1% (sete pares) não amplificaram e 75,8% (22 pares) amplificaram em temperaturas de anelamento que variaram desde 52°C à 62°C. Estes foram analisados quanto ao número de alelos polimórficos/loco em gel desnaturante de poli(acrilamida) 4%, corado com nitrato de prata. Quatorze pares de primers apresentaram polimorfismo satisfatório. A análise populacional foi realizada em seqüenciador automático 377 utilizando a técnica de primer tail, com 288 indivíduos provenientes da Floresta Nacional do Tapajós, Belterra, PA, utilizando 8 locos que apresentaram maior polimorfismo. Foi obtida uma média de 18,25 alelos/loco, heterozigosidade esperada de 0,86 e heterozigosidade observada de 0,70 e índice de fixação 0,19 significativo (CI 95% 0,134 a 0,245) indicando endogamia. O teste de exclusão de paternidade revelou que utilizando esses locos é possível excluir um falso pai com 99,9% de confiança. Análises de famílias meio-irmãs ainda estão sendo realizadas, para a definição de fluxo de pólen, fluxo gênico, sistemas de cruzamento e análise de diferentes gerações. Os resultados obtidos indicam que esses locos permitem uma discriminação individual precisa e eficiente para estudos de paternidade e genéticos importantes para a definição de estratégias adequadas à conservação e manejo da espécie.

¹Bióloga, mestranda, Universidade de Brasília-UnB, CNPq.

²Bióloga, M.Sc., Universidade Federal do Pará-UFPa, Projeto Dendrogene.

³Bolsista, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, FUNTEC/IBAMA/DFID

⁴Eng. Florestal, Ph.D., Embrapa Amazônia Oriental

⁵Biólogo, Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.