

Programas de Conservação e Melhoramento



AMPLIFICAÇÃO CRUZADA DE MARCADORES MICROSSATÉLITES DESENVOLVIDOS PARA Melipona subnitida (DUCKE) em Frieseomelitta varia (LEPELETIER)

<u>Vanessa Gomes de Moura</u>^{1*}; Aline Barbosa Negreiros¹; Geice Ribeiro da Silva¹; Isis Gomes de Brito Souza¹; Fábia de Mello Pereira²; Fábio Mendonça Diniz³

¹Universidade Federal do Piauí (UFPI). ²Embrapa Meio-Norte. ³Embrapa Caprinos e Ovinos. *vanessag.moura@hotmail.com

Com escassos estudos, as abelhas-sem-ferrão da espécie Frieseomelitta varia (Lepeletier), apresentam potencial econômico e ecológico que, diante das adversidades ambientais, remete a medidas de conservação que garantam a sobrevivência da espécie. Com isso, o uso de marcadores microssatélites constitui importante ferramenta para auxiliar a elaboração de estratégias de manejo e conservação. Não existe relato de marcadores específicos para esta espécie, porém estudos comprovam a aplicabilidade de marcadores heteroespecíficos em diversas espécies. Dessa forma, com este estudo, objetivou-se selecionar por amplificação cruzada marcadores microssatélites desenvolvidos para Melipona subnitida (Ducke) em Frieseomelitta varia (Lepeletier). O DNA genômico foi extraído de acordo com o protocolo PCI (Fenol-Clorofórmio-Álcool Isoamílico) a partir do tórax de três abelhas operárias. A reação de amplificação (PCR) foi executada em 10 µL de volume total, sendo composto de 0,8 mM de cada dNTP, 0,2 mM de cada primer, 2,5 mM de MgCl₂, 0,7 U de Taq DNA polimerase em tampão 1X e 2 µL (70 ng/µL) de DNA. A programação usada no termociclador foi definida com uma desnaturação inicial de 95°C por 5min; seguida por 40 ciclos com temperatura de desnaturação de 95°C por 40s, temperatura de anelamento abrangendo valores de 55°C a 60°C por 30s, 72°C por 40s, e uma extensão adicional de 72°C por 7 min. Os produtos de PCR foram visualizados em gel de poliacrilamida desnaturante a 6%. Para estimar número de alelos, heterozigosidade observada (HO) e esperada (HE) empregou-se o software Cervus v3.0.7. Dos 23 loci testados, foram amplificados 11 (Msub02, Msub07, Msub09, Msub11, Msub18, Msub20, Msub26, Msub30, Msub37, Msub48 e Msub51), correspondendo a 48% do total, com tamanhos variando entre 100 e 200 pb. O número de alelos variou de um (Msub09, Msub38, Msub48 e Msub51) a cinco (Msub37), com a média 2,09 (±1,30). Nos loci Msub9 e Msub20 não houve presença de heterozigotos, o valor máximo encontrado de HO foi de 1,0 para os loci Msub11, Msub26, Msub30 e Msub480, enquanto o HE foi de 0,87 para o locus Msub48. Portanto, a amplificação de 11 marcadores heterólogos dão indícios destes microssatélites serem úteis em estudos populacionais com a espécie Frieseomelitta varia (Lepeletier).

Palavras-chave: abelhas-sem-ferrão; primers heterólogos; genética de populações.

Agradecimentos: Embrapa Meio-Norte, Embrapa Caprinos e Ovinos, Universidade Federal do Piauí, Rede Nordeste de Biotecnologia – RENORBIO e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).