

SEQUENCIAMENTO DE NOVA GERAÇÃO NO DESENVOLVIMENTO DE MARCADORES MICROSSATÉLITES DINUCLEOTÍDEOS PARA ABELHAS-SEM-FERRÃO

Geice Ribeiro da Silva^{1*}; Isis Gomes de Brito Souza²; Fábria de Mello Pereira ²; Maria Teresa do Rêgo Lopes²; Bruno de Almeida Souza²; Paul Bentzen⁴; Fábio Mendonça Diniz³

¹UFPI- Universidade Federal do Piauí. ²Embrapa Meio-Norte. ³Embrapa Caprinos e Ovinos. ⁴Dalhousie University (Canada). *geiceamb_bio@yahoo.com.br.

De importância econômica e ecológica, a abelha-sem-ferrão *Meliponafasciculata* Smith 1858 (tiuba) vem sofrendo uma redução populacional significativa provocada pelo desmatamento e uso indiscriminado de agrotóxicos. O uso de marcadores moleculares microssatélites é uma ferramenta importante na caracterização genética populacional, etapa crucial para a conservação da espécie. Dentre estes, os microssatélites dinucleotídeos se destacam por estarem presentes, em sua maior parte, em regiões não codificantes do DNA, e pela elevada taxa de mutação. Nesse intuito, por meio desse estudo, descreve-se o isolamento e identificação dos *loci* de microssatélites de repetições dinucleotídicas de DNA, em abelhas-sem-ferrão *M.fasciculata*, a partir de um banco de dados gerado por meio da técnica de sequenciamento de nova geração (*Next Generation Sequencing* – NGS). Inicialmente, usou-se um kit de preparação de amostras da *Illumina Nextera* de forma a obter *reads* de ~ 200 bp, submetidos a sequenciamento por meio da plataforma *Miseq Benchtop*. *Contigs* foram montados por meio do software CLC Genomics Workbench 7.0.4 (Qiagen) gerando um banco de dados. O software MSDB v.2.4.3 (*Microsatellite Search Building Database*) foi empregado para detectar aqueles com microssatélites dinucleotídicos puros que possuíssem o mínimo dez repetições, submetidos posteriormente ao desenho de *primers*, empregando o software online WebSat. Adotou-se como critérios: tamanhos dos *primers* entre 18 e 20 bp, fragmentos entre 200 e 300 bp em tamanho, Tm acima de 55 °C, diferença de Tm de até 1°C e GC de no mínimo 30%. De 7.193 *contigs* microssatélites dinucleotídicos, 1.352 apresentaram-se puros, sendo mais frequente, os *motifs* (GA/CT)_n e (CT/GA)_n. Esse estudo reforça a importância das repetições dinucleotídicas no desenvolvimento de marcadores moleculares altamente polimórficos para estudos populacionais nas espécie. Adotando como critério de seleção os *contigs* com regiões flanqueadoras acima de 150 bp e microssatélites entre 18 e 28 repetições, um total de 29 *motifs* puros foram identificados. O comprimento dos microssatélites pode ser fator preponderante para o desenvolvimento de marcadores mais polimórficos. A metodologia aqui adotada permitiu o isolamento e a identificação de marcadores moleculares promissores para discriminação genética das populações de abelhas tiuba.

Palavras-chave: Biodiversidade; Primers; Tiuba.

Agradecimentos: Pelo sequenciamento realizado no sequenciador de DNA MiSeq sobre tutela de Elizabeth Ann Nielsen do *Marine Gene Probe Laboratory*. Pelo apoio financeiro concedido pela Embrapa Meio-Norte. E à CAPES pela concessão da bolsa de doutorado.