

Otimização De Marcadores Microsatélites Para Estudo De Diversidade Genética Em Castanheira (*Bertholletia excelsa* H.B.K.)

Vanessa Santos Silva, Bolsista PIBIC / CNPq / Embrapa-AC.

Karina Martins, UFSCar, Campus Sorocaba, SP.

Vânia Cristina Rennó Azevedo, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

Dr^a. Lúcia Helena de Oliveira Wadt
Orientador (a) do projeto- Embrapa Acre

INTRODUÇÃO: A Floresta Amazônica abriga numerosas plantas de valor econômico, dentre elas está a castanheira (*Bertholletia excelsa*, Lecytidaceae). As sementes dessa árvore são citadas como um dos produtos florestais não madeireiros mais importantes das reservas extrativistas da região. Essa espécie é valiosa tanto como alimento quanto como renda para as famílias que trabalham com o extrativismo. Para que o uso dessa planta seja uma atividade economicamente e biologicamente sustentável é preciso que se identifique, caracterize e conheça a distribuição e a dinâmica populacional da espécie. O presente estudo teve como objetivo otimizar marcadores microsatélites (SSR) desenvolvidos pela Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia visando estudos sobre a diversidade genética entre populações naturais de castanheiras.

MATERIAIS E MÉTODOS: Foram coletadas, no período de 2006 a 2007, amostras de câmbio em 50 árvores em cada uma das seguintes populações: duas no Seringal Cachoeira (Xapuri), uma no Seringal Filipinas (Brasiléia), uma na Reserva Florestal da Embrapa-Acre (Rio Branco), uma na Colônia Petrolina (Senador Guimard) e uma na fazenda Nova Jerusalém (Acrelândia). As amostras foram armazenadas em tampão de transporte de câmbio (30% CTAB: 70% Etanol) em gelo levadas para o Laboratório de Morfogênese e Biologia Molecular, da Embrapa Acre. Para a extração de DNA de câmbio foi utilizado o protocolo CTAB 2% segundo Ferreira e Grattapaglia (1998) usando como macerador o equipamento Tissue Lyser (Quiagen). O DNA extraído foi quantificado em gel de agarose a 1% corado com Sybr Green ou brometo de etídeo, utilizando o método de comparação de bandas com quantidades conhecidas de DNA padrão lambda (λ). A otimização foi feita para 12 pares de primers SSR desenvolvidos pela Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, utilizando reação de PCR com 13 μ l de volume. Para cada primer foi ajustada a melhor temperatura de anelamento e também foi feito teste de concentração de cloreto de magnésio (15 mM e 30mM).

RESULTADOS: Obteve-se um DNA viscoso, cujas concentrações iniciais variaram de 10 a 200 ng/ μ l. Dos 12 primers testados, para 8 foram possíveis definir temperaturas de anelamento que apresentassem bandas nítidas. Quando esses primers foram utilizados para avaliar 50 indivíduos de cada população 4 foram monomórficos e por isso considerados impróprios para o estudo de diversidade genética da espécie. Apenas 4 primers apresentaram polimorfismo e mesmo assim o número de alelos (máximo de 4) foi muito inferior ao encontrado para outras espécies tropicais (20 alelos para *Manilkara sp*, 183 para *Hymenaea coubaril* e 32 para *Bagassa guianensis*). O tamanho dos alelos amplificados variou de 140 a 260 pares de bases.

CONCLUSÃO: Dos 12 primers SSR de *Bertholletia excelsa* desenvolvidos, apenas 4 se mostraram potenciais para estudos de diversidade genética. Faz-se necessário o desenvolvimento de mais primers, procurando identificar marcadores com maior número de alelos e que possibilitem acessar um maior grau de polimorfismo.

PALAVRAS CHAVES: Diversidade Genética, Castanheira, Marcadores Microsatélites.

FINANCIADORA: PIBIC/CNPq/PPG-7/Natura

