

# Sequenciamento “shotgun” para o desenvolvimento de marcadores SSR em *Dipteryx alata* Vogel

Soares, TN<sup>1,2</sup>; Resende, LV<sup>2</sup>; Melo, DB<sup>2</sup>; Brondani, RPV<sup>3</sup>; Telles, MPC<sup>2</sup>; Borba, TCO<sup>3</sup>; Chaves, LJ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal de Goiás

<sup>2</sup>Laboratório de Genética e Biodiversidade, Universidade Católica de Goiás

<sup>3</sup>Laboratório de Biotecnologia, Embrapa Arroz e Feijão  
tnsoares@gmail.com

**Palavras-chave:** baru, cerrado, conservação, microsatélite, seqüenciamento aleatório

O barueiro (*Dipteryx alata*) é uma das espécies nativas do Cerrado amplamente utilizada pela população regional, principalmente pela exploração extrativista. Os marcadores microsatélites, por serem codominantes, multialélicos, abundantes e bem distribuídos ao longo do genoma, são eficientes para avaliar a variabilidade genética em populações naturais, o que é importante para a sugestão de estratégias de conservação e uso do barueiro. Este estudo utiliza uma estratégia de desenvolvimento de *primers* que se baseia no seqüenciamento aleatório de fragmentos provenientes de uma biblioteca genômica “shotgun” para a detecção de regiões microsatélites. O DNA foi extraído, a partir de folhas jovens de barueiro, em seguida foi quantificado e diluído para a fragmentação em sonicador. Após o tratamento das extremidades dos fragmentos de qualidade e tamanho adequados, foram realizadas reações de ligação ao vetor de clonagem. As células transformadas foram aplicadas em placas de petri, contendo meio LB sólido com ampicilina e tetraciclina, que foram incubadas (37°C/12h) e estocadas (4°C). As colônias positivas foram transferidas para uma placa (96 poços) contendo meio líquido *Circle Grow* para o crescimento, secagem e posterior extração dos plasmídios (*minipreps*). O sequenciamento foi realizado no sequenciador automático ABI3100. As seqüências foram depositadas no Sistema Genoma BioFoco, que permitiu, em seguida, a busca por regiões microsatélites. Os *primers* foram inicialmente testados com quatro indivíduos e os padronizados foram avaliados, utilizando 63 indivíduos, quanto aos parâmetros genéticos de diversidade. Das 668 seqüências obtidas, foram encontradas doze regiões microsatélites que possibilitaram a construção dos pares de *primers*. Estas regiões são compostas por motivos com dois a seis nucleotídeos, que variam entre 136 a 380pb. Dez *primers* foram amplificados com sucesso, utilizando-se quatro indivíduos. Ao avaliá-los com 63 indivíduos, cinco apresentaram padrão satisfatório, sendo que dois foram polimórficos, apresentando três alelos cada. As estimativas de  $H_e$  e  $H_o$  para estes locos foram 0,2946 e 0,2879, e 0,1613 e 0,1429, respectivamente. As freqüências de alelos nulos foram de 0.103 e 0.113. As estimativas de probabilidade de exclusão de paternidade e probabilidade de identidade para todos os locos foram de 0.255 e 0,0357, respectivamente. A estratégia de sequenciamento aleatório a partir de bibliotecas “shotgun” é interessante por não realizar a etapa de enriquecimento da biblioteca para regiões repetitivas e possibilita a obtenção de diferentes regiões repetitivas e não só as complementares às sondas utilizadas. O número de *primers* sintetizados e otimizados foi satisfatório, entretanto, foram encontrados baixo número de alelos e polimorfismo, o que indica que há a necessidade de se desenvolver mais pares de *primers* para uma melhor cobertura do genoma e detecção de variabilidade genética em *D. alata*. A continuidade deste trabalho poderá ser realizada pela estratégia utilizada, pois ela se mostrou eficiente para a rápida detecção de regiões repetitivas.

Apoio financeiro: Pró-Reitoria de Pós-graduação e Pesquisa da UCG, CNPq.