

Michele S. da Silva¹, Priscilla M. Zamberlan¹, Aline M. C. Ramos-Fregonezi¹, João R. Stehman²,
Sandro L. Bonatto³, Loreta B. Freitas¹

1-Laboratório de Evolução Molecular UFRGS; 2- Laboratório de Taxonomia Vegetal UFMG; 3- Laboratório de Biologia Genômica e Molecular PUCRS.

INTRODUÇÃO

Uma biblioteca enriquecida em marcadores moleculares tipo microssatélites (SSRs) foi previamente construída para *Aureliana fasciculata* var. *fasciculata*, espécie arbustiva que ocorre na Mata Atlântica (figura 1). A partir dela foram desenhados nove conjuntos de *primers* para amplificação dos *loci* de interesse. O objetivo deste trabalho foi caracterizar a variabilidade destes *loci* e avaliar sua transferabilidade para outras espécies do gênero.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisados 20 indivíduos de duas populações: Japi (São Paulo) e Serra Bonita (Bahia). O DNA total das amostras foi extraído. Foram realizados testes para identificar a temperatura de anelamento ótima para as reações de amplificação por PCR de cada *locus*. Os *loci* amplificados foram genotipados em sequenciador automático MegaBACE1000 com o marcador de peso ET-550R. O tamanho dos fragmentos dos *loci* foi obtido através do programa GeneticProfiler 2.2. Os cálculos de diversidade foram realizados com o auxílio dos programas FSTAT293 e Arlequin3.5.1.2, utilizando-se correção de Bonferroni.



Figura 1. Espécime de *A. fasciculata* var. *fasciculata*

RESULTADOS E CONCLUSÃO

Dos nove *loci*, sete tiveram amplificação bem-sucedida. A variabilidade encontrada foi satisfatória, com em média quatro alelos por *locus*. As comparações dos valores de heterozigidade observada e esperada indicam que ambas as populações estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg (tabela 1).

Tabela 1. Características dos *loci* de SSR de *Aureliana fasciculata* var. *fasciculata*, incluindo motivo de repetição, temperatura de anelamento (T_a), faixa de tamanho dos alelos (pb), número de alelos por *locus* (A), e heterozigosidades esperada (H_E) e observada (H_O) para as duas populações analisadas.

Locus	Repetição	T_a (°C)	Tamanho do alelo (bp)*	<i>A. fasciculata</i> var. <i>fasciculata</i>					
				Japi (n=20)			Serra Bonita (n=20)		
				A	H_E	H_O	A	H_E	H_O
AFF-A3	(TG) ₅ C(GT) ₅ (TA) ₆	54	256 - 262	4	0.706	0.067	3	0.550	0.250
AFF-B3	(AC) ₁₁ (AT) ₉	63	160 - 164	2	0.512	0.950	2	0.501	0.850
AFF-C7	(GT) ₇	62	243 - 251	2	0.053	0.053	2	0.142	0.050
AFF-C9	(TA) ₇ (GT) ₁₂ TT(GT) ₆	58	163 - 169	2	0.450	0.550	3	0.188	0.050
AFF-D2	(GT) ₈	63	250 - 264	3	0.554	0.800	5	0.585	1.000
AFF-G5	(AG) ₄ (TG) ₆	60	159 - 173	2	0.050	0.050	4	0.191	0.100
AFF-H2	(CT) ₇ (GT) ₂ GC(GT) ₉	63	251 - 261	5	0.192	0.150	3	0.272	0.100
Média					0.359			0.347	

Tabela 2 : Transferabilidade de sete marcadores tipo SSR desenvolvidos para *A. fasciculata* var. *fasciculata* em outras variedades e demais espécies do gênero.

Espécies (número de amostras)	AFF-A3	AFF-B3	AFF-C7	AFF-C9	AFF-D2	AFF-G5	AFF-H2
<i>Aureliana angustifolia</i> (2)	-	+	-	-	-	-	+
<i>Aureliana brasiliiana</i> (3)	+	+	-	+	+	+	+
<i>Aureliana darceyi</i> (3)	+	+	+	-	+	-	+
<i>Aureliana fasciculata</i> var. <i>tomentella</i> (3)	-	+	-	-	+	-	+
<i>Aureliana fasciculata</i> var. <i>longifolia</i> (3)	+	+	+	+	+	+	+
<i>Aureliana sellowiana</i> (2)	-	+	-	+	+	-	+
<i>Aureliana velutina</i> (3)	+	+	-	-	+	-	+
<i>Aureliana wettsteiniana</i> (3)	-	+	-	-	+	-	-

Os testes de desequilíbrio de ligação mostram que os *loci* não estão ligados ($P > 0,002$), sinalizando que é possível utilizá-los como marcadores independentes em análises populacionais. Os *loci* apresentaram transferabilidade para outras variedades de *A. fasciculata*, bem como outras espécies do mesmo gênero (tabela 2), o que permite o início de estudos de genética de populações também nestes grupos.