

CARACTERIZAÇÃO DE MARCADORES MICROSSATÉLITES EM PLANTAS NATIVAS DO CERRADO BRASILEIRO

GONTIJO, Orlando José da Silva¹; CAMARGO, Nábia Gonçalves²; OLIVEIRA, Ana Clara de³

¹Estudante de Iniciação Científica – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Câmpus Urutáí - GO. orlandojoosesg@gmail.com.br;

²Estudante de Iniciação Científica – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Câmpus Urutáí - GO. nabyagoncalves@hotmail.com; ³ Professora orientadora – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Câmpus Urutáí - GO. anaclara.barbosa@ifgoiano.edu.br; ³.

RESUMO: O Cerrado é o um dos biomas que apresenta a mais rica flora dentre as savanas do mundo e possui um alto índice de endemismo. Com a modernização das técnicas da Genética surgiram diversos tipos de marcadores moleculares que detectam o polimorfismo genético diretamente no DNA. Os microssatélites se destacam por serem altamente polimórficos. Essas sequências apresentam elevada taxa de mutação, sendo altamente informativas e apresentando elevado potencial de utilização em programas de melhoramento de plantas, na construção de mapas genéticos, na identificação de indivíduos, entre outras aplicações. O presente trabalho teve como objeto caracterizar microssatélites no genoma de plantas nativas do Cerrado brasileiro, depositadas em bancos de dados de DNA. O estudo foi realizado por meio da obtenção de sequências do DNA de vinte plantas, em seguida foi feita a caracterização de microssatélites no genoma e o desenho de *primers* que flanqueiam os marcadores encontrados. Foram localizados 123 microssatélites, sendo 38 monos, 79 di, 5 tris e 1 tetranucleotídeo.

Palavras-chave: Bioinformática. Cerrado. Microssatélites. Nativas. Plantas.

INTRODUÇÃO

A Bioinformática tem apresentado um papel fundamental na análise das informações disponibilizadas por projetos de sequenciamento de genomas, incluindo diversas plantas. O Cerrado é o um dos biomas que apresenta a mais rica flora dentre as savanas do mundo e possui em alto índice de endemismo (KLINK & MACHADO, 2005)

Os avanços das técnicas modernas de Genética e Biologia Molecular proporcionaram o surgimento de diversos tipos de marcadores moleculares que detectam o polimorfismo genético diretamente no DNA (Faleiro, 2007). Dentre os diferentes tipos de marcadores, os microssatélites se destacam por serem altamente polimórficos. Essas sequências apresentam elevada taxa de mutação (com ampla variação no número de unidades repetidas), sendo altamente informativas e apresentando elevado potencial de utilização em programas de melhoramento de plantas, na construção de mapas genéticos e na identificação individual (Byrne et al., 1996, Goldstein & Schlotterer, 1999). Esses marcadores são muito atrativos para os geneticistas de plantas por apresentarem as seguintes características: são tipicamente codominantes e multialélicos, permitindo uma discriminação precisa de indivíduos próximos; são abundantes e

uniformemente dispersos no genoma de plantas; podem ser analisados por ensaios de PCR (*Polymerase Chain Reaction* ou Reação em Cadeia da Polimerase) e suas informações podem ser facilmente compartilhadas entre laboratórios (Brondani et al., 1998).

Assim, o presente estudo teve como objetivo o uso de ferramentas de bioinformática para obter e caracterizar marcadores microssatélites de sequências de plantas nativas do Cerrado brasileiro depositadas em banco de dados de DNA.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo utilizou ferramentas de bioinformática, sendo todos os dados e programas utilizados disponíveis online e de uso gratuito. Inicialmente foi realizado um estudo bibliográfico em relação à temática envolvida, tais como: Bioinformática (banco de dados, ferramentas, etc.), plantas nativas do Cerrado, marcadores moleculares (com ênfase nos marcadores microssatélites). Posteriormente foi realizada uma busca de vinte espécies de plantas nativas do Cerrado brasileiro dentre as mais conhecidas popularmente, por meio de artigos e sites que caracterizam a flora do bioma em questão.

Após a escolha das plantas nativas a serem avaliadas, foram pesquisadas sequências de DNA dessas plantas no banco de dados público *GenBank*

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), um dos bancos pioneiros criados para depósito de sequências de DNA. Foram obtidos diversos dados sequenciados das espécies selecionadas e organizados utilizando o formato FASTA opção fornecida pelo próprio banco de dados, o qual fornece a sequência de DNA e sua descrição. Estes dados foram utilizados para a busca e caracterização do genoma quanto às regiões repetitivas (marcadores microssatélites), conhecida como Anotação Genômica. A busca dos microssatélites foi realizada por meio do programa WebSat (Martins et al., 2009). Então os microssatélites encontrados foram caracterizados quanto aos seguintes critérios: (1) De acordo com o tamanho do motivo de repetição (número de nucleotídeos repetidos em *tandem*): mono, di, tri, tetra, penta e hexanucleotídeos; (2) De acordo com as classes: perfeitos, imperfeitos, interrompidos e compostos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram encontrados microssatélites para 17 dentre as 20 espécies utilizadas no estudo, não obtendo dados apenas para *Hymenaea strobocarpa* (jatobá do Cerrado) e *Platonia insignis* (bacuri) (Figura 2). Observou-se que para sete dessas espécies foram encontrados número ≥ 10 microssatélites, sendo elas: *Mauritia flexuosa* (buriti), *Acrocomia aculeata* (macaúba), *Anadenanthera colubrina* (anjico), *Dipteryx alata* (baru), *Casearia sylvestris* (guaçatonga), *Genipa americana* (genipapo) e *Lychnophora pinaster* (arnica).

Foram encontrados um total de 123 microssatélites, caracterizados de acordo com o número de microssatélites (Figura 1).

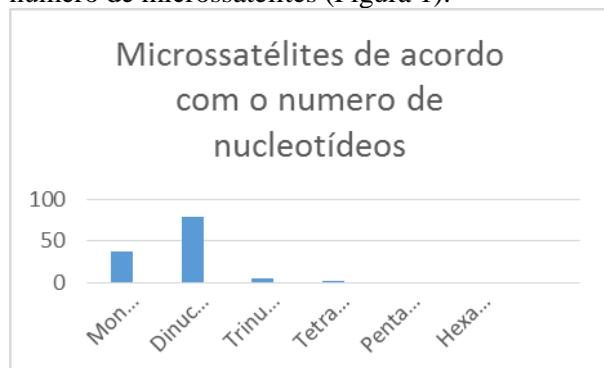


Figura 1. Distribuição dos microssatélites.

Esse resultado era esperado, uma vez que quanto maior for o motivo de repetição mais raro

ele é. No entanto, um resultado diferente do esperado foi encontrado, a quantidade de trinucleotídeos e o aparecimento de um tetranucleotídeo, considerado raro. Obteve-se um número médio de 7 microssatélites por planta, mas esse número variou de 1 (*Genipa americana*) a 20 (*Tabebuia chrysotricha*).

Foram desenhados os microssatélites ou SSR (*simple sequence repeat*) encontrados para as vinte espécies, as sequências dos *primers* (*forward* e *reverse*) e suas respectivas temperaturas de anelamento (*T_a*), sendo estes resultados separados por espécie

CONCLUSÃO

Muitos dados estão disponíveis na internet precisando de pessoas dispostas e qualificadas a analisá-los, sendo que a maioria das ferramentas de bioinformática é de uso gratuito e há diversos artigos e materiais disponíveis que divulgam e ensinam a usar tais ferramentas. O presente estudo possibilitou trabalhar com dados já dispostos progredindo assim o campo do conhecimento das espécies trabalhadas, facilitando então, novas e sofisticadas pesquisas que possam contribuir positivamente para a conversão do Cerrado Brasileiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRONDANI, R. P. V., BRONDANI, C., TARCHINI, R., & GRATTAPAGLIA, D. (1998). Development, characterization and mapping of microsatellite markers in *Eucalyptus grandis* and *E. urophylla*. *Theoretical and Applied Genetics*, 97(5-6), 816-827.
- FALEIRO, F. G. (2007). Marcadores genético-moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos. **Planaltina: Embrapa Cerrados**.
- GOLDSTEIN, D. B., & SCHLÖTTERER, C. (1999). Microsatellites: evolution and applications (1 ed.). **Oxford: Oxford University Press**.
- MARTINS, W. S., LUCAS, D. C. S., NEVESs, K. F. S., & BERTIOLI, D. J. (2009). WebSat - A web software for microsatellite marker development. *Bioinformation*, 3(6), 282-283.
- KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. A. conservação do Cerrado Brasileiro. *Megadiversidade*, v. 1, n. 1, p. 147 – 155, 2005.