

OTIMIZAÇÃO DE SISTEMA DE GENOTIPAGEM BASEADO EM MARCADORES MICROSSATÉLITES DESENVOLVIDOS PARA O MOGNO (*Swietenia macrophylla*: Meliaceae) E SUA APLICAÇÃO EM CONSERVAÇÃO GENÉTICA DE ESPÉCIES FLORESTAIS NA AMAZÔNIA.

Thana Esashika¹ & Maristerra R. Lemes¹

¹Laboratório de Genética e Biologia Reprodutiva de Plantas/ INPA.

Dentre as espécies florestais da Amazônia, o mogno (*Swietenia macrophylla* King) é a mais valiosa (1m³ serrado = US\$ 1.200). O mogno tem sofrido intensa pressão exploratória que aliada à destruição do habitat, pode comprometer a viabilidade de suas populações naturais. Nesse sentido, estudos sobre genética de populações são de fundamental importância para nortear estratégias de conservação e manejo de espécies florestais. Microsatélites são marcadores de DNA altamente polimórficos, co-dominantes que apresentam elevada diversidade alélica (Ferreira & Grattapaglia, 1998). Recentemente 10 locos microsatélites foram desenvolvidos e caracterizados para *S. macrophylla* (Lemes *et al.* 2002) possibilitando sua aplicação em estudos sobre a genética de populações da espécie (Lemes *et al.* 2003; Novick *et al.* 2003). Este estudo tem como objetivo otimizar as condições de amplificação, bem como caracterizar 24 locos microsatélites previamente desenvolvidos para *S. macrophylla* (Lemes *et al.* 2002), a fim de disponibilizar um maior número desses marcadores para a espécie. Pretende-se também investigar a transferibilidade desses marcadores para outras duas espécies da família Meliaceae: a andiroba (*Carapa guianensis*) e o cedro (*Cedrela odorata*). O DNA genômico total foi extraído de folhas utilizando-se protocolo CTAB (Ferreira & Grattapaglia, 1998). A otimização das condições de amplificação dos locos foi realizada variando-se a temperatura de anelamento dos *primers* microsatélites. A caracterização dos locos foi feita em gel de poliacrilamida 4% corado com nitrato de prata. Os parâmetros genéticos estimados foram: número de alelos (A), heterozigosidade esperada (He), probabilidade de exclusão de paternidade e probabilidade de identidade genética. As frequências alélicas e os parâmetros genéticos foram calculados utilizando-se o programa FSTAT. Após análise das seqüências utilizando-se o programa BLAST, verificou-se que quatro dos 24 locos tratavam-se de clones repetidos. Dos 20 locos restantes, 12 que apresentaram boa resolução dos alelos (bandas) foram selecionados para avaliação de polimorfismo em 20 indivíduos de *S. macrophylla*. Os locos apresentaram alto conteúdo informativo (no médio de alelos por loco = 10.3 e He média = 0.823). A probabilidade

combinada de exclusão de paternidade foi de 0,9999977 e de identidade genética = 1.44×10^{-15} (Tabela 1).

Tabela 1 – Parâmetros genéticos de 12 locos de *S. macrophylla* avaliados em 20 indivíduos: A – Número de alelos; He – heterozigosidade esperada; Q – probabilidade de exclusão de paternidade; QC – probabilidade combinada de exclusão de paternidade; I – probabilidade de identidade genética e IC – probabilidade combinada de identidade genética.

Locus	A	He	Q	I
	8	0.772	0.4357	0.0953
	5	0.787	0.4473	0.1002
	9	0.806	0.3925	0.0754
Sm 12	10	0.827	0.3628	0.0653
Sm 18	14	0.889	0.2455	0.0288
Sm 20	14	0.900	0.2287	0.0248
Sm 28	11	0.793	0.3803	0.0682
Sm 36	11	0.803	0.4076	0.0705
Sm 39	13	0.861	0.2934	0.0417
Sm 43	7	0.741	0.4762	0.1160
Sm 48	9	0.762	0.4385	0.0943
Sm 49	13	0.920	0.1535	0.0196
Média	10.33	0.823	QC=0.9999977	IC=1.44×10^{-15}

Oito locos microssatélites desenvolvidos para *S. macrophylla* foram amplificados quando testados em *Carapa guianensis* e *Cedrela odorata*, no entanto, não foram detectados polimorfismos indicando que esses microssatélites não são compartilhados por essas espécies.

Ferreira, M. E. & Grattapaglia, D. 1998. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. EMBRAPA/CENARGEN, Brasil. 220p.

Lemes, M. R.; Brondani, R. P. V.; & Grattapaglia, D. 2002. Multiplexed system of microsatellite markers for genetic analysis in mahogany, *Swietenia macrophylla* King (Meliaceae), a threatened neotropical timber species. *Journal of Heredity*, 93: 287-290.

Lemes, M.R., Gribel, R., Proctor, J & Grattapaglia, D. 2003. Population genetic structure of mahogany (*Swietenia macrophylla* King, Meliaceae) across the Brazilian Amazon, based on variation at microsatellite loci: Implications for conservation. *Molecular Ecology*, 12: 2875 - 2883.

Novick, R. S., Dick, C., Lemes, M.R., Navarro, C., Caccone, A & Bermingham, E. 2003. Genetic structure of Mesoamerican populations of Big-leaf mahogany (*Swietenia macrophylla*) inferred from microsatellite analysis. *Molecular Ecology*, 12: 2885 - 2893.