

## Distribuição de microssatélites no genoma de leguminosas mediante hibridização *in situ* fluorescente

Bortoleti, KCA<sup>1,2</sup>; Benko-Iseppon, AM<sup>1</sup>; Belarmino, LCS<sup>1</sup>; Oliveira, ARS<sup>1</sup>; Abdelnoor, RV<sup>3</sup>; Nascimento IR<sup>4</sup>; Brasileiro-Vidal, AC<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Genética e Biotecnologia Vegetal, Departamento de Genética, Universidade Federal de Pernambuco

<sup>2</sup>Colegiado de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Vale do São Francisco

<sup>3</sup>Embrapa Soja. <sup>4</sup>Universidade Federal Rural de Pernambuco

brasileiro\_vidal@hotmail.com

**Palavras-chave:** FISH, oligonucleotídeos, Leguminosas, análise *in silico*, DNA repetitivo

Os microssatélites consistem em unidades de repetição (1 a 5pb) distribuídas em tandem, que podem estar dispersas ao longo dos genomas ou associadas a regiões heterocromáticas. Tais características têm permitido sua utilização na construção de mapas cromossômicos mediante hibridização *in situ* fluorescente (FISH), auxiliando no entendimento da organização genômica entre espécies proximamente relacionadas. O presente trabalho caracterizou a distribuição de oligonucleotídeos sintéticos (AG)<sub>8</sub>, (AAG)<sub>5</sub>, (ACC)<sub>5</sub>, (CTC)<sub>5</sub> e (TGA)<sub>6</sub> em *Phaseolus vulgaris*, *P. lunatus*, *Vigna unguiculata*, *V. radiata* e *Glycine max*, identificando marcas cromossômicas para a comparação destas leguminosas. Lâminas foram hibridizadas com sondas de oligonucleotídeos e reibridizadas com DNAr 5S e 45S, provenientes de *Lotus japonicus* e *Arabidopsis thaliana*, respectivamente. Em soja, esta análise estendeu-se a uma investigação genômica, a partir de sequências disponibilizadas no banco de dados SoyBase (<http://www.soybase.org/>), usando o programa BLASTN com os seguintes parâmetros: formato de saída de alinhamentos sem lacunas, matriz de comparação blossom62, valor W padrão, *e-value* 0.1 ou menor e filtro de baixa complexidade desligado. Os oligonucleotídeos [(AAG)<sub>5</sub>]<sub>10</sub>, [(AAC)<sub>5</sub>]<sub>10</sub>, [(AG)<sub>8</sub>]<sub>15</sub>, [(CTC)<sub>5</sub>]<sub>10</sub> e [(TGA)<sub>6</sub>]<sub>10</sub> foram utilizados como sondas, adotando como ponto de corte valores de identidade de pareamento inferiores a 77%, objetivando caracterizar número, tamanho e localização destas unidades de repetições no genoma. A FISH com oligonucleotídeos evidenciaram marcações pericentroméricas e proximais, embora um padrão de distribuição disperso tenha prevalecido ao longo dos cromossomos das espécies analisadas, com exceção de (AG)<sub>8</sub> em soja que não revelou marcações visíveis. O oligonucleotídeo (AAG)<sub>5</sub> revelou uma marcação pericentromérica evidente em *P. lunatus*, tratando-se de um marcador cromossômico para tal espécie. Na hibridização com (ACC)<sub>5</sub> notou-se a presença de seis marcações fortes em *V. unguiculata*, estando uma delas localizada no par cromossômico 10, portador do sítio de DNAr 45S. O microssatélite (TGA)<sub>6</sub> revelou uma marcação bem evidente no cromossomo 10 de *P. lunatus*, identificado pela presença de DNAr 5S. Algumas divergências observadas no padrão de distribuição e na intensidade dos sinais entre os genomas das espécies confirmam a hipótese de que as sequências de DNA repetitivo apresentam uma composição heterogênea. Na análise genômica de soja, foram observados 92, 84, 83, 142 e 103 sítios de repetições para os oligonucleotídeos (AG)<sub>8</sub>, (AAG)<sub>5</sub>, (ACC)<sub>5</sub>, (CTC)<sub>5</sub> e (TGA)<sub>6</sub>, respectivamente, de tamanhos variáveis entre 30 a 454 pb, localizados, principalmente, em regiões de alta a moderada densidade gênica, por vezes associados a genes e elementos transponíveis. Considerando o pequeno tamanho, fica evidente que estas sequências não correspondem aos sítios observados pela FISH, uma vez que esta técnica evidencia apenas sequências com comprimentos acima de 1-3kb. Sugere-se que as marcações localizadas por FISH estejam associadas a regiões de heterocromatina e que sejam constituintes dos mais de 1.000 *scaffolds* existentes no sequenciamento da soja, não sendo, por essa razão, detectadas pela análise *in silico*. Apoio financeiro: CNPq, Embrapa, UFPE