

ESTUDO *IN SILICO* DA OCORRÊNCIA DE MICROSSATÉLITES NO GENOMA DE QUATRO ESPÉCIES DO GÊNERO *Oryza*.

Renata Juliana Ahlert⁽¹⁾, Daniel da Rosa Farias⁽¹⁾, Luciano Carlos da Maia⁽¹⁾, Juliana Severo Castelo Branco⁽¹⁾, Fernando Irajá Félix de Carvalho⁽¹⁾, Antônio Costa de Oliveira⁽¹⁾.
¹Centro de Genômica e Fitomelhoramento – FAEM/UFPel, Campus Universitário, s/nº · Caixa Postal 354, 96010-900, Pelotas, RS - reahlert@hotmail.com.br

Microssatélites ou SSRs (*Simple Sequence Repeat*) são seqüências de nucleotídeos que se repetem em série, sendo tradicionalmente definidos como arranjos formados pela combinação de 1 a 6 bases (MORGANTE & OLIVIERI, 1993). Estas seqüências podem ser encontradas abundantemente em genomas de procaríotos e eucariotos, em regiões codificadoras (*exons* transcritos e traduzidos), UTRs (*exons* transcritos e não traduzidos) ou ainda, em regiões de *introns* (seqüências não transcritas). Segundo LAWSON & ZHANG (2006), historicamente, microssatélites têm sido freqüentemente utilizados para ajudar na classificação e identificação de diferentes espécies.

O gênero *Oryza* compreende um extenso grupo formado atualmente por 23 espécies (LONDO et al., 2006), entretanto, apenas algumas delas possuem importância agrônômica e econômica, sendo a espécie *Oryza sativa* L. (*O. sativa* spp *japonica* e *O. sativa* spp *indica*) a mais cultivada e conseqüentemente, a mais estudada. Um segundo grupo desse gênero, compreende espécies com relativa importância em algumas regiões do mundo, mas que, como fontes potenciais de genes ou alelos, são fundamentais para o melhoramento genético do arroz.

A obtenção de novos marcadores moleculares da classe dos microssatélites é, geralmente, uma tarefa demorada e de custos elevados, especialmente quando feita em laboratório a partir de protocolos convencionais. Neste contexto, o uso da bioinformática para análise de bancos de dados que disponibilizam trechos de regiões seqüenciadas no DNA das espécies de interesse, em busca de regiões de DNA repetitivo, pode prover novos marcadores moleculares (RAJJEV et al., 2005).

Portanto, o estudo objetiva verificar a ocorrência de microssatélites passíveis de serem utilizados como marcadores moleculares para estas espécies, através de buscas em bancos de dados de diferentes espécies do gênero *Oryza*.

A partir do *website* do NCBI (www.ncbi.nih.gov), foram localizadas seqüências de DNA referentes ao genoma das espécies *Oryza rufipogon*, *O. granulata*, *O. glaberrima* e *O. australiensis*, as quais foram depositadas em arquivos no padrão *Fasta* em computadores do Centro de Genômica e Fitomelhoramento (CGF/FAEM/UFPel) e, posteriormente, analisados utilizando o programa computacional *SSRLocator* (Maia, 2007) para localização dos microssatélites. As configurações para os motivos a serem localizados, compreenderam arranjos formados entre dois e 10 pares de bases e com repetições mínimas de 2x10, 3x7, 4x5, 5x5, 6x4, 7x3, 8x3, 9x3 e 10x3, respectivamente, para dímeros, trímeros, tetrâmeros, pentâmeros, hexâmeros, heptâmeros, octâmeros, nonâmeros e decâmeros.

Como resultados da busca no *GeneBank*, foram obtidos o número de seqüências por espécie conforme mostrado na Tabela 1. Ainda na mesma tabela, é indicado o total de nucleotídeos analisados para cada espécie e uma média do tamanho para cada seqüência depositada no banco de dados. De forma geral, o número de seqüências disponíveis para estas espécies é bastante inferior em relação à *O. sativa*, que totaliza atualmente 1.234.099 seqüências no NCBI.

O resultado do total de ocorrências de microssatélites para cada espécie é indicado na Tabela 2, entretanto, para lograr a diferença em razão de diferentes quantidades de seqüências disponíveis para cada espécie, na Tabela 3 estão indicados

os valores percentuais da ocorrência de cada um dos motivos de repetição para cada uma.

Analisando os dados, é possível verificar que a maior ocorrência de SSRs nos motivos dímeros e trímeros é comum nas quatro espécies, totalizando, na média, 69,2% das ocorrências (Tabela 3). Na Tabela 4, é mostrada a frequência de ocorrência de microssatélites em cada uma das espécies analisadas. Pode ser observado que as maiores taxas de ocorrência desses locos estão no genoma de *O. rufipogon*, onde, em média, foi localizado um SSR a cada 25.336 pares de bases, seguido por *O. glaberrina* no qual, em média, a cada 28.214 pb foi detectada a ocorrência de um loco.

O número de locos microssatélites detectados é de grande valia do ponto de vista da obtenção de marcadores moleculares, pois, as quantidades de 142, 93, 38 e 23 de locos encontrados constituem uma quantidade razoável de marcadores para a utilização em várias estratégias para estudos genéticos. Entretanto, o conteúdo informativo desse trabalho, quanto à taxa de ocorrências e ao padrão dos motivos de microssatélites encontrados nas espécies estudadas, não deve ser conclusivo, pois, a quantidade de informação avaliada pode prover erros na análise efetuada.

Tabela 1. Número de seqüências, total de nucleotídeos e tamanho médio das seqüências de quatro espécies do gênero *Oryza*, analisadas para ocorrência de microssatélites. CGF/FAEM/UFPel, Pelotas, 2007.

Espécie	Número de Seqüências	Total de nucleotídeos (pb)	Tamanho médio (pb) Seqüências
<i>Oryza rufipogon</i>	5.605	3.601.744	642,6
<i>Oryza granulata</i>	4.586	2.567.313	559,8
<i>Oryza glaberrina</i>	5.033	2.623.890	521,3
<i>Oryza australiencis</i>	2.635	1.684.154	639,1

Tabela 2. Número de ocorrência de diferentes motivos de microssatélites em quatro espécies analisadas do gênero *Oryza*. CGF/FAEM/UFPel, Pelotas, 2007.

Espécie	MOTIVOS (total)									
	DI	TRI	TETRA	PENTA	HEXA	HEPTA	OCTA	NONA	DECA	TOTAL
<i>Oryza rufipogon</i>	59	31	18	22	3	9	0	0	0	142
<i>Oryza granulata</i>	22	9	2	2	2	1	0	0	0	38
<i>Oryza glaberrina</i>	39	23	11	15	2	0	3	0	0	93
<i>Oryza australiencis</i>	10	5	2	2	1	2	1	0	0	23

Tabela 3. Porcentagem de ocorrência de diferentes motivos de Microssatélites em quatro espécies analisadas do gênero *Oryza*. CGF/FAEM/UFPel, Pelotas, 2007.

Espécie	MOTIVOS (%)									
	DI	TRI	TETRA	PENTA	HEXA	HEPTA	OCTA	NONA	DECA	
<i>Oryza rufipogon</i>	41,5	21,8	12,7	15,5	2,1	6,3	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Oryza granulata</i>	57,9	23,7	5,3	5,3	5,3	2,6	0,0	0,0	0,0	0,0
<i>Oryza glaberrina</i>	41,9	24,7	11,8	16,1	2,2	0,0	3,2	0,0	0,0	0,0
<i>Oryza australiencis</i>	43,5	21,7	8,7	8,7	4,3	8,7	4,3	0,0	0,0	0,0

Tabela 4. Distância média (em pares de base) entre locos microssatélites para quatro espécies analisadas do gênero *Oryza*. . CGF/FAEM/UFPel, Pelotas, 2007.

Espécie	Distância (pb)
<i>Oryza rufipogon</i>	25.364
<i>Oryza granulata</i>	67.561
<i>Oryza glaberrima</i>	28.214
<i>Oryza australiensis</i>	73.224

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

LAWSON, M.J. & ZHANG, L. Distinct patterns of SSR distribution in the Arabidopsis thaliana and rice genomes. **Genome Biology**. v.2, n.7, p.R14. 2006.

LONDO, J.P; CHIANG, Y.C; HUNG, K.H; CHIANG, T.Y; SCHAAL, B.A. Phylogeography of Asian wild rice, *Oryza rufipogon*, reveals multiple independent domestications of cultivated rice, *Oryza sativa*. **Proceedings of the national academy of sciences of the U.S.A.** v.103, n.25, p.9578-9583, 2006.

MAIA L.C.da, Desenvolvimento de ferramenta para análise *in silico* da ocorrência de microssatélites (*single sequence repeats*) no genoma do arroz. **Dissertação de mestrado**, Universidade Federal de Pelotas, UFPel, Brasil, 2007.

MORGANTE, M.; OLIVIERI, A.M. PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics. **The Plant Journal**. v.3, n.1, p.175-182, 1993.

VARSHNEY, R.K.; GRANER, A.; SORRELLS, M.E.; Genic microsatellite markers in plants: features and applications. **TRENDS in Biotechnology**. v.1, n.23, p.48-55, 2005.