

**BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**Padronização e validação de marcadores moleculares para estudos  
de diversidade genética em *Mauritia flexuosa* L.f.**

**José Augusto Siqueira de Castro**

Agosto/2023  
Rio Verde – GO

**José Augusto Siqueira de Castro**

**Padronização e validação de marcadores moleculares para estudos de diversidade genética em *Mauritia flexuosa* L.f.**

Projeto de Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano - Campus Rio Verde, como parte das exigências da disciplina TCC-214 – Trabalho de Curso II, do curso de Bacharelado em Ciências Biológicas.

**Orientadora:** Maria Andréia Correa Mendonça

Agosto/2023  
Rio Verde – GO

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP  
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
**Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano**

S355p Siqueira de Castro, José Augusto  
Padronização e validação de marcadores moleculares para estudos de diversidade genética em *Mauritia flexuosa* L.f. / José Augusto Siqueira de Castro; orientadora Maria Andréia Corrêa Mendonça. -- Rio Verde, 2023.  
21 p.

TCC (Graduação em Bacharelado em Ciências Biológicas) -- Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde, 2023.

1. Buriti. 2. *Mauritia flexuosa*. 3. SSR. 4. Microssatélites. 5. Diversidade Genética. I. Corrêa Mendonça, Maria Andréia, orient. II. Título.

## TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610, de 19 de fevereiro de 1998, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano a disponibilizar gratuitamente o documento em formato digital no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

### IDENTIFICAÇÃO DA PRODUÇÃO TÉCNICO-CIENTÍFICA

- |  |   |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Tese (doutorado)            | <input type="checkbox"/> Artigo científico              |
| <input type="checkbox"/> Dissertação (mestrado)      | <input type="checkbox"/> Capítulo de livro              |
| <input type="checkbox"/> Monografia (especialização) | <input type="checkbox"/> Livro                          |
| <input checked="" type="checkbox"/> TCC (graduação)  | <input type="checkbox"/> Trabalho apresentado em evento |

Produto técnico e educacional - Tipo:

Nome completo do autor:

José Augusto Siqueira de Castro

Matrícula:

2019102230540092

Título do trabalho:

Padronização e validação de marcadores moleculares para estudos de diversidade genética em *Mauritia flexuosa* L.f.

### RESTRICÇÕES DE ACESSO AO DOCUMENTO

Documento confidencial:  Não  Sim, justifique:

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIIF Goiano: 18 /08 /2023

O documento está sujeito a registro de patente?  Sim  Não

O documento pode vir a ser publicado como livro?  Sim  Não

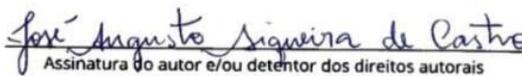
### DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O(a) referido(a) autor(a) declara:

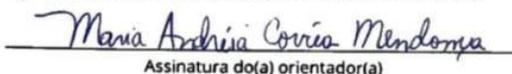
- Que o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- Que obteve autorização de quaisquer materiais incluídos no documento do qual não detém os direitos de autoria, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- Que cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

Rio Verde, Goiás  
Local

18 /08 /2023  
Data

  
Assinatura do autor e/ou detentor dos direitos autorais

Ciente e de acordo:

  
Assinatura do(a) orientador(a)

Regulamento de Trabalho de Curso (TC) – IF Goiano - Campus Rio Verde

ANEXO V - ATA DE DEFESA DE TRABALHO DE CURSO

Aos dezessete dias do mês de agosto de dois mil e vinte e três, às 14 horas, reuniu-se a Banca Examinadora composta por: Profa. Dra. Maria Andréia Corrêa Mendonça (orientadora), Prof. Dr. Alessandro Ribeiro de Moraes (Professor EBTT, IF Goiano campus Rio Verde) e M. Sc. Géssica Ferreira da Costa (mestre em Biodiversidade em Conservação, Analista Molecular Caraíba Genética), para examinar o Trabalho de Curso (TC) intitulado “Padronização e validação de marcadores moleculares para estudos de diversidade genética em *Mauritia flexuosa* L.f.” de autoria de José Augusto Siqueira de Castro, estudante do curso de Bacharelado em Ciências Biológicas do IF Goiano – Campus Rio Verde, sob Matrícula nº 2019102230540092. A palavra foi concedida ao estudante para a apresentação oral do TC, em seguida houve arguição do candidato pelos membros da Banca Examinadora. Após tal etapa, a Banca Examinadora decidiu pela APROVAÇÃO da estudante. Ao final da sessão pública de defesa foi lavrada a presente ata, que, após apresentação da versão corrigida do TC, foi assinada pelos membros da Banca Examinadora e Mediador de TC. A presidente da banca assinará em nome da Ma. Géssica Ferreira da Costa.

Rio Verde, 17 de agosto de 2023.

*(assinado eletronicamente)*

Profa. Dra. Maria Andréia Corrêa Mendonça

Orientadora

*(assinado eletronicamente)*

Prof. Dr. Alessandro Ribeiro de Moraes

Membro da Banca Examinadora

*(assinado eletronicamente)*

Ma. Géssica Ferreira da Costa

Membro da Banca Examinadora

*(assinado eletronicamente)*

Profa. Dra. Maria Andréia Corrêa Mendonça

Mediadora de TC - Bacharelado em Ciências Biológicas

Documento assinado eletronicamente por:

- Alessandro Ribeiro de Moraes, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 18/08/2023 16:07:18.
- Maria Andreia Correa Mendonca, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO, em 17/08/2023 22:21:07.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 17/08/2023. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifgoiano.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 522636  
Código de Autenticação: 03c2e59394



## **Agradecimentos**

Quero expressar minha sincera gratidão em primeiro lugar aos meus pais, Daniel e Claudete, por valorizarem a educação e possibilitarem a minha dedicação exclusiva aos estudos, sem vocês nada teria sido possível. Não existem palavras suficientes para descrever o quanto sou grato. Obrigado por acreditarem constantemente em mim.

Agradeço a minha tia Odete que mudou a minha vida quando ela me disse em 2012 que “se eu tirasse apenas notas acima de 8, eu ganharia uma bolsa do São Paulo”. Esse desafio abriu meus olhos para uma valorização do conhecimento.

Agradeço em nome da minha Vó Zilda e Vó Luzia o grande apoio que minha família sempre me deu.

Agradeço a minha orientadora Maria Andreia, por me acolher como seu aluno de iniciação científica, monitoria, e trabalho de curso. Obrigado por ter acreditado no meu potencial, por todos os valiosos ensinamentos, pela paciência e também pelo respeito ao longo desse percurso. Ela me apresentou a desafiadora e incrível área do conhecimento que é a Genética. Suas fantásticas aulas me encantavam e fizeram com que eu desenvolvesse o desejo de aprender sempre mais sobre esse tema.

Agradeço ao PELD EBMN e ao Laboratório de Bioquímica e Genética pela parceria no desenvolvimento desse projeto. Em especial a Ma. Géssica Ferreira pela paciência em me explicar inúmeras vezes como extrair DNA, amplificar e correr gel de eletroforese. Agradeço também ao João Lucas e a Beatriz pela parceria e amizade. Eles que me ensinaram, com muita paciência, a utilizar todos os equipamentos do laboratório. Sem vocês eu não teria conseguido.

Agradeço aos amigos que eu fiz durante esses anos de curso, Igor, Fernanda, Stheffany, Isabella, Wictor, Atos, Thiago, Ana Carolina, Taiza, Samara, Gustavo, Marco Aurélio e também aos demais colegas do bloco da biologia. Sem vocês tudo teria sido mais difícil e menos divertido. Em especial, quero agradecer a Kamila, por ter sido meu braço direito durante todos esses anos, com um toque de choros, desabafos e muitas risadas. E ao Valdeir, pelas caronas diárias e parceria de sempre.

Agradeço também aos amigos que vida me deu, Alinne, Jéssica, Maura, Humberto, Genézio, Marine, Gabriel, Emily, Gleyson, João Pedro, Marcos e Eduardo. Obrigado por sempre acreditarem em mim.

Quero fazer um agradeco mais que especial a minha melhor amiga Beatriz. Ela foi durante todos esses anos a minha torcedora número um, a minha metade, o meu lenço, a minha psicóloga, a minha fã e AMIGA. Eu não consigo dizer em palavras o quão grato sou em tê-la comigo.

Agradeço a instituição IF Goiano por se tornar minha casa durante esse período, assim como a cada professor e professora que contribuíram com minha formação.

Por fim, meus agradecimentos aos membros da banca por sua participação e pelas generosas contribuições.

## Resumo

O presente estudo teve como objetivo realizar a padronização e validação de marcadores microssatélites visando a análise da diversidade genética de buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.). Para tal, selecionou-se um conjunto de marcadores microssatélites com base em bancos de dados genéticos e literatura relevante. As amostras de buriti foram coletadas em diferentes áreas geográficas para garantir a representatividade da diversidade genética. A extração de DNA foi realizada utilizando o método CTAB (2X) com modificações para buritizeiro, seguida da amplificação dos marcadores microssatélites por PCR. Os produtos amplificados foram analisados por eletroforese em gel de agarose para verificar a presença dos fragmentos esperados. Os resultados foram promissores, pois os marcadores microssatélites revelaram variações genéticas distintas entre as populações de buriti amostradas, fornecendo insights sobre a estrutura genética das populações e relação com fatores ambientais e históricos ligados à fragmentação. Essas implicações abrem caminho para uma compreensão mais aprofundada da diversidade genética do buriti em Goiás e suas implicações para a ecologia e conservação da espécie.

Palavras-chave: Buriti, SSR, *Mauritia flexuosa*, Microssatélites

## SUMÁRIO

1. Introdução e Justificativa .....	10
2. Objetivo Geral.....	12
2.1 Objetivos específicos .....	12
3. Metodologia .....	12
3.1 Definição da área de amostragem .....	12
3.2 Coleta .....	13
3.3 Extração de DNA .....	14
3.4 Avaliação Qualitativa.....	14
3.5 Avaliação Quantitativa.....	14
3.6 Marcadores Moleculares .....	14
3.7 Amplificações .....	15
4. Resultados e Discussão .....	15
4.1 Extração e Qualidade da do DNA .....	16
4.2 Amplificações e visualização dos fragmentos de DNA.....	17
5. Conclusão .....	18
Referências bibliográficas .....	19

## 1. Introdução e Justificativa

As palmeiras são excelentes bioindicadores de mudanças temporais e espaciais no bioma da floresta tropical (BOGOTA-ANGEL et al., 2021). *Mauritia flexuosa* L. f., vulgarmente conhecida como buriti ou miriti em algumas regiões ao norte do Brasil é considerada por diversos pesquisadores como a árvore da vida (VAN DER HOEK et al., 2019), isso devido sua importância cultural, econômica e ecológica. Essa palmeira é encontrada em diversas regiões da América do Sul, principalmente em áreas úmidas como pântanos, margens de rios e áreas alagadas. É conhecido por suas várias utilidades, incluindo a produção de alimentos, materiais de construção e produtos medicinais (VIRAPONGSE et al., 2017).

Por outro lado, desde o sancionamento do Novo Código Florestal foi permitido a supressão de vegetações presentes em córregos intermitentes onde geralmente há a presença de veredas, regiões alagadas e com uma grande abundância de buritis. Como consequência, nos últimos anos, temos evidenciado uma série de episódios de degradação de veredas e derrubamento de buritis, impulsionado pelo desenvolvimento agrícola (OLIVEIRA, 2017).

A região sudoeste do estado de Goiás pode ser considerada um modelo para a realização de estudos que estejam interessados em investigar os efeitos da perda e a fragmentação de habitats naturais sobre a biodiversidade, uma vez que esta região tem experimentado elevado nível de perda e fragmentação de habitats, devido à expansão de atividades agrícolas (CARNEIRO et al., 2011; SIQUEIRA e FARIA, 2019). Apesar disso, pouco se sabe a respeito da biodiversidade regional, uma vez que, para muitos grupos taxonômicos, a maioria dos estudos se resume apenas a levantamento de espécies.

A perda de habitat devido ao aumento da pressão humana é uma das principais causas da perda da biodiversidade global (FLETCHER et al., 2018). Na maioria dos casos, a perda de habitat leva à fragmentação de paisagens remanescentes em vários fragmentos pequenos e isolados dentro de uma matriz modificada pelo homem (AGUILAR et al., 2019). Nas últimas décadas, a fragmentação de habitats promovida pela ação antrópica vem operando em uma escala muito mais rápida do que muitas populações podem se adaptar (SCHLAEPFER et al., 2018). Esses fenômenos podem impactar profundamente as características genéticas das espécies, alterando o

tamanho da população e os padrões de fluxo gênico (ZAMBRANO et al., 2019). Sabe-se que a limitação da dispersão associada à perda e fragmentação do habitat pode levar, a depender do contexto e da população, a um declínio na diversidade genética, isto é, seus efeitos tornam as espécies mais vulneráveis (RAFFARD et al., 2021), pois comumente ocorre redução no tamanho da população (AGUILAR, 2019), levando a diminuição do fluxo gênico, aumento do coeficiente de endogamia (BLAMBERT, 2019) e fixação de alelos deletérios (WALLER, 2021), consequentemente reduzindo a variabilidade genética (HOWARD, 2017).

Nesse contexto, o uso de marcadores microssatélites para estimar diversidade genética tem sido utilizado devido à sua alta variabilidade e à capacidade de fornecer informações sobre os padrões genéticos (AMOM, 2017). Esses marcadores também são conhecidos como SSRs (Simple Sequence Repeats), e possuem sequências repetidas de 2 a 6 nucleotídeos de DNA, são marcadores codominantes e polimórficos (VIEIRA et al, 2016). Na literatura já existem trabalhos que utilizaram esses marcadores para estimar diversidade genética em buriti (MELO, 2018), entretanto o objetivo foi comparar populações presentes no Cerrado e na Amazônia.

Todas estas informações nos revelam a necessidade e a forma de se avaliar a diversidade genética das populações de buriti presente no sudoeste de Goiás, as quais estão constantemente sendo expostas a fatores que a longo prazo promovem perda de variabilidade genética. Para que isso seja possível, é necessário que se padronize e valide microssatélites produzidos para o buritizeiro em populações do Brasil Central. A padronização estabelece procedimentos uniformes para a análise, garantindo resultados confiáveis e comparáveis (VIEIRA et al, 2016). E a validação, por sua vez, atesta a sensibilidade dos marcadores em capturar as diferenças genéticas reais (GOVINDARAJ et al, 2015).

Em síntese, a exploração da diversidade genética do buriti em Goiás é uma jornada que ultrapassa as fronteiras da pesquisa científica. Ela tem um alcance mais amplo, envolvendo questões sociais e ecológicas. Através da padronização e validação de marcadores microssatélites, busca-se fornecer informações relevantes para um posterior estudo em escala maior, sobre a diversidade genética do buriti no sudoeste de Goiás.

## **2. Objetivo Geral**

Padronizar técnica de PCR e validar diferentes marcadores moleculares para estudos de diversidade genética em *Mauritia flexuosa* L.f.

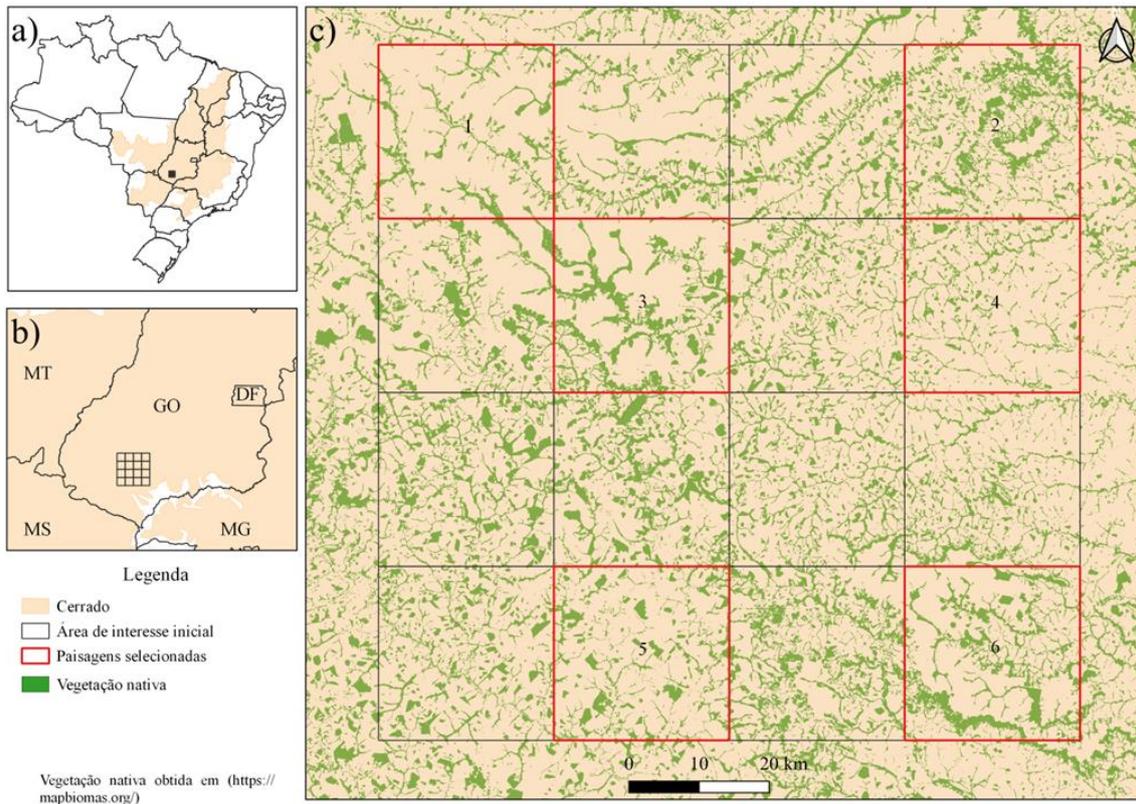
### **2.1 Objetivos específicos**

- I. Amostrar no mínimo 80 indivíduos;
- II. Selecionar entre 4 a 5 marcadores microssatélites;
- III. Verificar se os fragmentos foram amplificados.

## **3. Metodologia**

### **3.1 Definição da área de amostragem**

O sítio de estudo da presente proposta situa-se na região sudoeste do estado de Goiás. Esse trabalho faz parte de um *Projeto Ecológico de Longa Duração - Efeitos da composição e configuração das paisagens sobre a biodiversidade: uma análise multinível* (PELD EBMN), na qual a área de amostragem é composta por 16 paisagens (25 km x 25 km) dentro de um limite de interesse (100 km x 100 km). Essas paisagens foram caracterizadas quanto à composição (% cobertura vegetal) e a configuração (número de manchas) dos habitats naturais baseados nos dados do Mapbioma (SOUSA, 2020) referentes ao ano de 2019. Dentre essas paisagens, o PELD selecionou seis para compor efetivamente o sítio de amostragem. As seis paisagens juntas totalizam 375.000 hectares e possuem distintas características estruturais, uma vez que apresentam diferentes porcentagens de cobertura vegetal nativa (ha), que estão distribuídas em números variados de fragmentos (Tabela 1).



**Figura 1:** Sítio PELD composto pelas seis paisagens (25km x 25km) que estão marcadas em vermelho e situadas na região sudoeste do Estado de Goiás, Brasil.

**Tabela 1:** Composição e configuração das paisagens, selecionadas como sítios PELD, Goiás, Brasil

Paisagem	Área de cobertura vegetação nativa (ha)	Porcentagem de cobertura vegetal nativa	Número de fragmentos de vegetação nativa
1	6.651,47	10,68	243
2	11.527,71	22,93	765
3	12.317,30	19,73	275
4	10.776,33	12,03	510
5	11.230,76	17,99	488
6	13.911,27	22,31	473

### 3.2 Coleta

Foram coletadas folhas de 10 indivíduos reprodutivos por local. Para evitar autocorrelação espacial e aumentar a quantidade de informação por população na amplificação de microsatélites, amostramos apenas indivíduos adultos para evitar os efeitos de alto parentesco na estimativa de parâmetros genéticos e além disso, cada indivíduo amostrado, dentro da mesma população, tinha pelo menos 100 metros de distância um do outro. As plantas foram coletadas em ambientes de veredas incluindo aquelas inseridas em matriz de pastagem ou áreas de cultivo, porém, devido às

diferenças entre níveis de perturbação entre esses ambientes, o tamanho amostral poderá variar.

### **3.3 Extração de DNA**

O DNA genômico foi extraído de aproximadamente 100 mg de folhas jovens coletadas no campo, usando o método de CTAB descrito por Doyle e Doyle (1987), com modificações para o buritizeiro (ROSSI; ROSSI, 2014).

### **3.4 Avaliação Qualitativa**

O gel de agarose foi preparado na concentração de 0,8%, usando tampão TBE (Ácido Tris-Bórico-EDTA). Para carregamento nos poços de gel, as amostras foram preparadas usando 6 µL de DNA template, 4 µL de água, 3 µL de GelRed (Thermo Fisher) e 2 µL de tampão de carregamento, totalizando um volume de 15 µL. Após a execução, o gel foi visualizado usando um sistema de fotodocumentação para observar as bandas de DNA.

### **3.5 Avaliação Quantitativa**

Esta avaliação envolveu o uso de espectrofotometria para determinar a quantidade de DNA total e o nível de pureza ou contaminação. Foi utilizado o espectrofotômetro Nanodrop, com 1 µL da amostra utilizada para teste. O espectrofotômetro analisa a pureza e a concentração de DNA com base na densidade óptica, considerando que o DNA absorve a luz no comprimento de onda de 260 nm, enquanto as proteínas e outros grupos de matéria orgânica absorvem a luz principalmente em torno de 280 nm e 230 nm. Por isso através dele é possível mensurar o grau de pureza da amostra de DNA.

### **3.6 Marcadores Moleculares**

Os microssatélites utilizados para os testes foram os desenvolvidos por (MENEZES et al, 2012), descritos na Tabela 1. Das nove SSR, devido o curto tempo para a apresentação dos resultados desta monografia, optou-se em testar em um indivíduo de cada paisagem coletada, somente os primers MF3, MF8, MF9 e MF11 que possuem os maiores números de alelos e taxas de heterozigosidade, bem como temperaturas de melting iguais.

**Tabela 1:** Pares de iniciadores de microssatélites polimórficos, nome do loco, motivo de repetição, sequência dos iniciadores, faixa de tamanho (bp), temperatura específica de ligação (Tm), número de alelos (NA), heterozigosidade observada (HO) e heterozigosidade esperada (HE).

Locus	Repeat motif characterized	Primer sequence (5'-3')	Size range (bp)	Tm (°C)	N <sub>A</sub>	H <sub>O</sub>	H <sub>E</sub>
MF3	(GA) <sub>19</sub>	TCACCGATCTAACTTGACCAAA TCCTTTCTCTCTTTGACCCAC	100-134	56	15	0	0.92
MF8	(AG) <sub>23</sub>	ACCGATCATGGTGGTAGAACTC AATTCACCGATCAAACCCC	101-171	56	18	0.33	0.93
MF9	(AG) <sub>19</sub>	ATACATCGCGCATATCTCACTG ATTCCCACACTCCCTCACTAGA	113-215	56	25	0.22	0.96
MF11	(AG) <sub>17</sub>	AGAGATTGGGGAGGGGAAG TCTCCCTCTCTTTTCGTGTC	103-195	56	21	0.13	0.95
MF12	(GA) <sub>7</sub> (GA) <sub>8</sub>	AAACCGAGAGAGAGGGAGAAAAG CTCGTCTGATTTCCTCTTCCTG	114-178	56	26	0.46	0.94
MF14	(AGA) <sub>11</sub>	CGGGATAGGAGGTTTCAGTGTAG CTCCACCTCTTTGTCTGATTC	110-276	56	14	0.05	0.91
MF17	(AG) <sub>7</sub> (AG) <sub>8</sub>	AGGGCTTCTGGAAGTGTGCATAG TCCTCTTCTCTCCCTCTTG	155-191	56	12	0.51	0.89
MF18	(CT) <sub>16</sub>	ATCATCGAAGTTTCATCCATCA CAGAGGGAAATGAACACAGAGA	154-192	48	14	0.58	0.90
MF29	(GA) <sub>8</sub> (GA) <sub>9</sub>	GATCGGGTGAGGAATTTTGTAG CTCTCTCTTCCCTCTCGGAT	124-196	48	13	0	0.88

### 3.7 Amplificações

Realizou-se as amplificações em um volume total de 20 µL contendo: 10 µM de GoTaq® Green Master Mix (2x) da Promega, 1 µM de *primer forward* e 1 µM do primer reverse, 2 µM de água Milli-Q, e 6µl (300ng) de DNA template. As reações foram conduzidas em termociclador sob as seguintes condições: 1 ciclo inicial de desnaturação a 94 °C por 5 minutos, seguido por 35 ciclos de 94 °C por 45 segundos, 45-52 °C (dependendo do primer utilizado) por 45 segundos e 72 °C por 1,5 minutos e 1 ciclo de extensão final de 72 °C por 7 minutos, seguindo o método utilizado por MENEZES (2019), o qual identificou e caracterizou os primers utilizados. Os produtos da amplificação foram separados por eletroforese em gel de agarose a 3% em tampão de corrida TBE 1x (89,5 mM de Tris Base; 88,95 mM de ácido bórico e 2,23 mM EDTA), em voltagem constante de 110 V por quatro horas. Em seguida o gel foi fotografado sob luz ultravioleta usando o sistema de fotodocumentação L-Pix-EX (Loccus Biotecnologia).

## 4. Resultados e Discussão

Os resultados desta pesquisa nos fornecem uma visão inicial da diversidade genética das populações de buriti (*Mauritia flexuosa*) no sudoeste de Goiás, oferecendo contribuições para a compreensão das dinâmicas genéticas subjacentes. Ao coletar indivíduos de cinco populações distintas de buritizeiro (figura 1), foi possível obter uma amostragem das variantes genéticas inerentes a essa espécie. Infelizmente

por questão de logística não foi possível realizar a coleta na paisagem 1. Na tabela 2 está a quantidade de indivíduos coletados por paisagem.

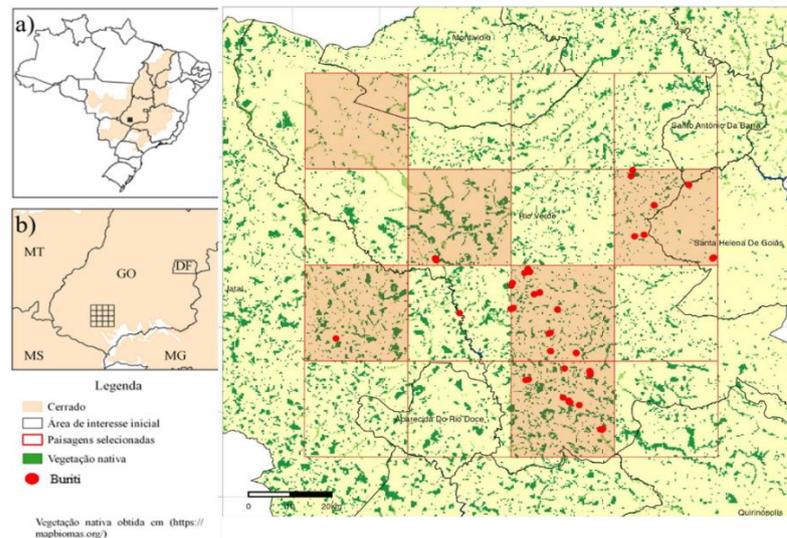


Figura 2: Localização dos buritis amostrados no mapa do sítio PELD composto pelas seis paisagens (25km x 25km) situadas na região sudoeste do Estado de Goiás, Brasil.

**Tabela 2:** Número de indivíduos coletados por paisagem.

Paisagem	Nº de indivíduos coletados
2	6
3	15
4	4
5	16
6	18

#### 4.1 Extração e Qualidade da do DNA

A avaliação da qualidade do DNA extraído ocorreu por meio da quantificação no Nanodrop da Thermo Fisher. Na tabela 3 é possível visualizar as relações A260/280 (concentração de DNA em relação as proteínas) e A260/230 (concentração de DNA em relação a metabólitos secundários e componentes do tampão) dos 5 indivíduos que utilizou -se para testar os microssatélites.

Conforme mencionado por Watson (2015), o intervalo desejável para a relação A260/280 é de 1,8 a 2,2. Os resultados alcançados ficaram entre 1,6 e 2,0, indicando a ausência de contaminação por proteínas. Para a relação A260/230, o padrão ótimo é de 2,0 a 2,2, de acordo com Esfandani (2019). Valores inferiores a 2 denotam

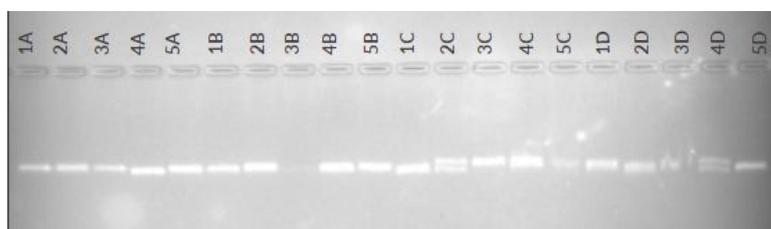
possíveis contaminações por polissacarídeos, sais ou solventes orgânicos. No contexto deste estudo, os resultados oscilaram entre 1,4 e 2,0. A média da concentração de DNA em cada amostra foi de 480,78 ng/μl. Em um estudo conduzido por (ABOUL-MAATY et al, 2019), ao comparar métodos de extração de DNA, concluiu-se que o DNA de qualidade adequada para análises moleculares foi obtido quando a relação 260/280 se situou entre 1,8 e 2,0.

**Tabela 3:** Resultado da quantificação de DNA em espectrofotômetro, apresentando as razões 260/280 nm e 260/230 nm e concentração do DNA ([ ]) em ng/μL.

Indivíduo	A260/A280	A260/A230	[ ]
1	1,76	2,97	293,887
2	1,623	2,00	406,43
3	1,65	2,20	370,833
4	1,862	1,90	231,624
5	1,847	2,10	515,087

#### 4.2 Amplificações e visualização dos fragmentos de DNA

A subsequente amplificação via PCR validou a aplicabilidade desses marcadores, fornecendo uma visão sobre as variações genéticas interpopulacionais. Na figura 3, um exemplo de separação por eletroforese em gel de agarose a 3%, de fragmentos obtidos a primers MF9 e MF11, em indivíduos amostrados nas paisagens X, Y e Z, em que é possível identificar dois alelos diferentes em indivíduos homocigotos (linhas aa e bb), bem como nos indivíduos heterocigotos (linhas cc e dd).



**Figura 1:** Perfil eletroforético, em gel de agarose, de cinco genótipos de *M. flexuosa*, obtido com os primers MF3, MF8, MF9 e MF11 desenvolvidos por Menezes et al (2012). Da esquerda para a direita plantas 1, 2, 3, 4 e 5 e os primers MF3 (A), MF8 (B), MF9 (C) e MF11 (D).

A análise das amostras amplificadas, revelando a presença de duplas bandas de DNA no gel de agarose a 3%, indica a ocorrência de heterocigose em indivíduos. Esse

achado nos revela, mesmo que de forma introdutória, um pouco da diversidade genética presente nessas populações (SPADONI et al, 2019, FEDERMAN et al 2012).

Essa abordagem é congruente com a abordagem genética moderna, que enfatiza a importância de marcadores altamente informativos para discernir as nuances genéticas das espécies (KALIA et al 2019).

## **5. Conclusão**

Podemos concluir que os resultados apresentados nesta pesquisa se alinham com a literatura atual em genética de populações, fornecendo informações relevantes para um posterior estudo em escala maior, sobre a diversidade genética do buriti no sudoeste de Goiás. A utilização estratégica de marcadores microssatélites, juntamente com métodos avançados de análise, destaca a contribuição significativa dessa pesquisa para o campo da genética de populações de plantas. O entendimento que será adquirido a partir da padronização e validação desses resultados da diversidade genética do buriti não apenas enriquece nosso conhecimento científico, mas também sustenta abordagens informadas para a conservação e o manejo sustentável desta espécie, assegurando sua resiliência diante de desafios ambientais em evolução.

## Referências bibliográficas

- ABOUL-MAATY, Nadia Aboul-Ftooh; ORABY, Hanaa Abdel-Sadek. Extraction of high-quality genomic DNA from different plant orders applying a modified CTAB-based method. **Bulletin of the National Research Centre**, v. 43, n. 1, p. 1-10, 2019.
- AGUILAR, Ramiro et al. Habitat fragmentation reduces plant progeny quality: a global synthesis. **Ecology letters**, v. 22, n. 7, p. 1163-1173, 2019.
- ALBERTS, Bruce. Molecular biology of the cell. **Garland science**, 2017.
- AMOM, T.; NONGDAM, P. The use of molecular marker methods in plants: a review. **International Journal of Current Research and Review**, v. 9, n. 17, p. 1-7, 2017.
- ANDERSON, James; WRIGHT, Drew; MEKSEM, Khalid. Agarose gel electrophoresis and polyacrylamide gel electrophoresis for visualization of simple sequence repeats. **Microsatellites: Methods and Protocols**, p. 167-177, 2013.
- BOGOTA-ANGEL, Giovanni et al. Climate and geological change as drivers of Mauritiinae palm biogeography. **Journal of Biogeography**, v. 48, n. 5, p. 1001-1022, 2021.
- CARNEIRO, G. T; CABACINHA, C. D; FARIA, K. M. S. et al. Cobertura florestal do município de Rio Verde, GO: estrutura e composição da paisagem entre 2005 e 2008. **Geografia**, Rio Claro, v. 36, n. 2, p. 335-357, 2011.
- CASTRO, Domingos Augusto Mendonça et al. Genetic structure analysis of *Mauritia flexuosa* natural population from the Lençóis Maranhenses region using microsatellite markers. **Scientia Agricola**, v. 79, 2021.
- ESFANDANI-BOZCHALOYI, S.; SHEIDAI, M.; KALALEGH, M. Hassanzadeh. Comparison of DNA extraction methods from Geranium (Geraniaceae). **Acta Botanica Hungarica**, v. 61, n. 3-4, p. 251-266, 2019.
- FANG, G.; HAMMAR, S.; GRUMET, R. A quick and inexpensive method for removing polysaccharides from plant genome DNA. **BioTechniques**, v. 13, p. 52-54, 1992.

FEDERMAN, Sarah et al. Isolation of 13 novel highly polymorphic microsatellite loci for the Amazonian Palm *Mauritia flexuosa* Lf (Arecaceae). **Conservation Genetics Resources**, v. 4, n. 2, p. 355-357, 2012.

GOVINDARAJ, Mahalingam; VETRIVENTHAN, M.; SRINIVASAN, Mahalingam. Importance of genetic diversity assessment in crop plants and its recent advances: an overview of its analytical perspectives. **Genetics research international**, v. 2015, 2015.

HAILU, Getu; ASFERE, Yirgashewa. The Role of Molecular Markers in Crop **Improvement and Plant Breeding Programs: A. Agric. J**, v. 15, p. 171-175, 2020.

HAMILTON, Matthew B. **Population genetics**. John Wiley & Sons, 2021

KALIA, Rajwant K. et al. Microsatellite markers: an overview of the recent progress in plants. **Euphytica**, v. 177, n. 3, p. 309-334, 2011.

LIMA, Natácia Evangelista de et al. Filogeografia de populações naturais do buriti (*Mauritia flexuosa* L. f., Arecaceae) do Brasil Central. 2012.

MASON, Annaliese S. SSR genotyping. **Plant genotyping: methods and protocols**, p. 77-89, 2015.

MELO, Warita A. et al. The road to evolutionary success: insights from the demographic history of an Amazonian palm. **Heredity**, v. 121, n. 2, p. 183-195, 2018.

MENEZES, E. V. et al. Development and characterization of DNA microsatellite primers for buriti (*Mauritia flexuosa* L.f.). **Genetics and Molecular Research**, v. 11, n. 4, p. 4058–4062, 2012.

MIGUEL-PEÑALOZA, Ara et al. Do habitat fragmentation and degradation influence the strength of fine-scale spatial genetic structure in plants? A global meta-analysis. **AoB Plants**, v. 15, n. 3, p. plad019, 2023.

OLIVEIRA, José Carlos. Especialistas alertam para a degradação das veredas do Cerrado. **Câmara dos Deputados**, 2017. Disponível em:<  
<https://www.camara.leg.br/noticias/511777-especialistas-alertam-para-a-degradacao-das-veredas-do-cerrado/>>. Acesso em: 18 de agosto de 2023.

RAFFARD, A. et al. Intraspecific diversity loss in a predator species alters prey community structure and ecosystem functions. **PLoS Biology**, v. 19, n. 3, p. e3001145, 2021.

ROSSI, F. S.; ROSSI, A. A. B. Diversidade genética em populações naturais de *Mauritia flexuosa* L. f. (Arecaceae) com uso de marcadores ISSR. **Sci. For.**, v. 42, n. 104, p. 10, 2014

SANDER, N. L. et al. Rivers shape population genetic structure in *Mauritia flexuosa* (Arecaceae). **Ecology and Evolution**, v. 8, n. 13, p. 6589–6598, jul. 2018.

SIQUEIRA, Mariana Nascimento; FARIA, KMS. Análise da dinâmica da paisagem no município de Rio Verde, Goiás, Brasil: Uma ferramenta para a escolha de áreas prioritárias para a conservação. **Sociedade & Natureza**, v. 31, n. 8, 2019.

SPADONI, A. et al. A simple and rapid method for genomic DNA extraction and microsatellite analysis in tree plants. **Journal of Agricultural Science and Technology**, v. 21, n. 5, p. 1215-1226, 2019.

VAN DER HOEK, Y.; ÁLVAREZ SOLAS, S.; PEÑUELA, M. C. The palm *Mauritia flexuosa*, a keystone plant resource on multiple fronts. **Biodiversity and Conservation**, v. 28, n. 3, p. 539–551, 15 mar. 2019.

VIEIRA, M. L. C. et al. Microsatellite markers: what they mean and why they are so useful. **Genetics and Molecular Biology**, v. 39, p. 312-328, 2016.

VIEIRA, Maria Lucia Carneiro et al. Microsatellite markers: what they mean and why they are so useful. **Genetics and molecular biology**, v. 39, p. 312-328, 2016.

VIRAPONGSE, A. et al. Ecology, livelihoods, and management of the *Mauritia flexuosa* palm in South America. **Global Ecology and Conservation**, v. 10, p. 70–92, abr. 2017.

WATSON, James D. et al. Biologia molecular do gene. **Artmed Editora**, 2015.