



^

MARCADORES SSR: APLICAÇÕES EM GENÉTICA E MELHORAMENTO FLORESTAL

RENAN M. PORTELA
CAIO A. F. C. GOMES

1º EDIÇÃO

**MARCADORES SSR: APLICAÇÕES
EM GENÉTICA E MELHORAMENTO
FLORESTAL**

Todo o conteúdo apresentado neste livro é de responsabilidade do(s) autor(es).

Esta publicação está licenciada sob [CC BY-NC-ND 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

Conselho Editorial

Prof. Dr. Ednilson Sergio Ramalho de Souza - UFOPA
(Editor-Chefe)

Prof. Dr. Laecio Nobre de Macedo-UFMA

Prof. Dr. Carlos Erick Brito de Sousa-UFMA

Prof. Dr. Rodolfo Maduro Almeida-UFOPA

Prof. Me. Éfrem Colombo Vasconcelos Ribeiro-IFPA

Prof. Me. Jorge Carlos Silva-ULBRA

“Acreditamos que um mundo melhor se faz com a difusão do conhecimento científico”.

Equipe Home Editora

Renan Marcelo Portela
Caio Augusto Fidelix Carneiro Gomes

MARCADORES SSR: APLICAÇÕES EM GENÉTICA E MELHORAMENTO FLORESTAL

1ª Edição

Belém-PA
Home Editora
2024

© 2024 Edição brasileira
by Home Editora

© 2024 Texto
by Autor

Todos os direitos reservados

Home Editora
CNPJ: 39.242.488/0002-80
www.homeeditora.com
contato@homeeditora.com
91988165332
Tv. Quintino Bocaiúva, 23011 - Batista
Campos, Belém - PA, 66045-315

Editor-Chefe

Prof. Dr. Ednilson Ramalho

Projeto gráfico

homeeditora.com

Revisão, capa e diagramação

Autor

Bibliotecária

Janaina Karina Alves Trigo Ramos

CRB-8/009166

Produtor editorial

Laiane Borges

Dados Internacionais de Catalogação na publicação (CIP)



M313

Marcadores SSR: aplicações em genética e melhoramento florestal /
Renan Marcelo Portela, Caio Augusto Fidelix Carneiro Gomes. –
Belém: Home, 2024.

Livro em PDF
40p.

ISBN: 978-65-6089-051-0
DOI: 10.46898/home.f25fc205-5766-4159-acc5-
879511da35a2

1. Marcadores SSR. I. Portela, Renan Marcelo. II. Gomes, Caio
Augusto Fidelix Carneiro. III. Título.

CDD 619

Índice para catálogo sistemático

I. Biotecnologia.

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO	7
1 INTRODUÇÃO	9
2 MARCADORES GENÉTICOS MORFOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS E MOLECULARES.....	12
3 ASPECTOS IMPORTANTES NA ESCOLHA DE MARCADORES MOLECULARES.....	16
4 MARCADORES SSR: CARACTERÍSTICAS GERAIS	19
5 PRINCIPAIS APLICAÇÕES DOS MARCADORES SSR NA CONSERVAÇÃO GENÉTICA E NO MELHORAMENTO FLORESTAL	21
5.1 Estrutura genética em plantas	21
5.2 Estudo do fluxo gênico.....	23
5.3 Estudo do tamanho efetivo populacional.....	25
5.4 Análise de parentesco e paternidade	26
5.5 Caracterização e proteção de cultivares	28
5.6 Seleção assistida e associação com caracteres de interesse silvicultural	29
5.7 Considerações finais	31
REFERÊNCIAS	31

APRESENTAÇÃO

Espécies florestais representam uma fonte imensurável de recursos genéticos atuais e potenciais para a humanidade. Dessa forma, o conhecimento e caracterização desses recursos são essenciais para elucidar aspectos relevantes da biologia das espécies para fins de manejo, conservação e melhoramento genético. Nesse sentido, o emprego de técnicas moleculares é fundamental, visto que fornece informações adequadas e precisas, em comparação às informações fenotípicas ou uso de marcadores morfológicos. Especialmente, a análise molecular de plantas com base em marcadores microssatélites possui diversas aplicações na conservação genética e melhoramento de plantas. Portanto, esse trabalho teve como objetivo apresentar uma revisão da literatura científica sobre os principais aspectos relativos aos marcadores microssatélites, suas vantagens e desvantagens em relação aos demais marcadores, suas principais aplicações na conservação genética e melhoramento florestal. A bibliografia analisada mostrou que devido aos avanços na área molecular e estatística computacional, são possíveis diversas aplicações e análises para os microssatélites, tornando os métodos moleculares um instrumento imprescindível para a conservação, gestão, manejo e melhoramento florestal, fornecendo informações essenciais no sentido de nortear as melhores estratégias e auxiliar na tomada de decisões.

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Espécies florestais representam uma fonte imensurável de recursos genéticos atuais e potenciais à humanidade. Entretanto, grande parte desses recursos é destruída de modo irreversível, antes mesmo de seu inteiro conhecimento e uso, exigindo medidas urgentes de sua conservação (KAGEYAMA, 1987). Dessa forma, conhecer e caracterizar esses recursos é fundamental para elucidar aspectos relevantes da biologia das espécies para fins de manejo, conservação e melhoramento genético.

Nesse contexto, o emprego de técnicas moleculares fornece informações adequadas e precisas, em comparação as informações fenotípicas ou uso de marcadores morfológicos, pois devido ao seu poder de detectar diferenças genéticas sem o efeito de fatores ambientais, e ainda em idade precoce, sem necessitar que o organismo se desenvolva (KORDROSTAMI; RAHIMI, 2015; SANTOS et al., 2016). A análise molecular de plantas possui diversas aplicações na conservação genética e melhoramento vegetal, como: estudos de diversidade genética, inferências acerca da estrutura genética, fluxo gênico, sistema reprodutivo, tamanho efetivo, análise de parentesco, reconstituição de *pedigrees*, resolução de problemas taxonômicos, estudos filogenéticos, mapeamento genético, sinalização de genes e seleção assistida visando resistência a pragas e doenças, avaliação e caracterização de germoplasma, introgressão de genes, seleção genômica ampla e associação com caracteres quantitativos, estudos de interação genótipo-ambiente, registro e proteção de materiais genéticos desenvolvidos (BORÉM; CAIXETA, 2009; KORDROSTAMI; RAHIMI, 2015; OLIVEIRA, 2006; TURCHETTO-ZOLET et al., 2017).

Atualmente, há um vasto número de marcadores disponíveis, os quais diferem nos seus princípios, metodologias e aplicações potenciais, bem como os recursos técnicos, financeiros e laboratoriais necessários. Entre os marcadores disponíveis, o mais popular atualmente são os microssatélites (TURCHETTO-ZOLET et al., 2017). Esses marcadores são

sequências repetidas, constituídas de 1 a 6 nucleotídeos que se repetem lado a lado em forma de *tandem*. Esse tipo de marcador é amplamente usado em análises genéticas, em uma vasta gama de seres vivos, sobretudo, devido ao seu elevado grau de informações e transferibilidade entre espécies (BORÉM; CAIXETA, 2009).

Nesse sentido, esse trabalho teve como objetivo apresentar uma revisão da literatura científica a respeito dos principais aspectos relativos aos marcadores microssatélites, suas vantagens e desvantagens em relação aos demais marcadores e suas principais aplicações na área de conservação genética e melhoramento florestal.

CAPÍTULO II

**MARCADORES GENÉTICOS MORFOLÓGICOS,
BIOQUÍMICOS E MOLECULARES**

2 MARCADORES GENÉTICOS MORFOLÓGICOS, BIOQUÍMICOS E MOLECULARES

Os marcadores morfológicos são características fenotípicas, geralmente de fácil visualização, e com mecanismos de herança mendeliana, que podem ser utilizados para avaliar diferenças genéticas entre dois ou mais indivíduos. Esses foram os primeiros marcadores genéticos utilizados, sendo base para o melhoramento genético convencional em caracteres discretos, de modo que as características fenotípicas desejáveis são selecionadas nos genitores. As aplicações para esse tipo de marcador incluem: identificação de genótipos, caracterização da variabilidade, diferenciação entre acessos, agrupamentos (SOUZA; SORRELLS, 1991; ZHONG-HU, 1991) e, de maneira menos eficiente, em mapas de ligação genética para várias espécies de plantas.

Entretanto, diversas limitações são associadas aos marcadores morfológicos (BORÉM; MIRANDA, 2017; PATERSON; TANKSLEY; SORRELLS, 1991): há um número reduzido de características que podem ser utilizadas; um número reduzido de caracteres podem ser estudados simultaneamente devido aos efeitos de interações gênicas; o acentuado efeito de genes determinantes podem afetar a análise genética para caracteres de importância silvicultural; o resultado da interação decorrente dos genes com ambiente irá alterar a expressão do fenótipo, refletindo na análise (HARTL; CLARK, 2010).

Devido aos avanços tecnológicos obtidos, por volta da década de 1950, surgiram os chamados marcadores bioquímicos, como exemplos, os terpenos e as proteínas (isoenzimas e aloenzimas) (TURCHETTO-ZOLET et al., 2017). As primeiras moléculas a serem empregadas como marcadores genéticos bioquímicos foram metabólitos secundários, como antocianinas e compostos fenólicos, usados para diferenciar variedades de espécies vegetais (GROVER; SHARMA, 2016). Logo após, os marcadores enzimáticos, apesar de detectarem um baixo grau de polimorfismo, foram utilizados em diversos estudos como análises filogenéticas, acesso da variabilidade genética, identificação de acessos e

de forma mais limitada na associação de caracteres de importância (BORÉM; MIRANDA, 2017), além de servir de base para teorias evolutivas, citando-se principalmente a teoria neutralista da evolução, e a teoria quase neutra da evolução (KIMURA, 1968; KIMURA; OHTA, 1974; OHTA; GILLESPIE, 1996). É importante ressaltar que a base desse tipo de marcador vem das modificações pós-tradução das enzimas, podendo produzir proteínas conformacionais, ocasionando polimorfismos em resposta a condições ambientais, diferenças nas atividades enzimáticas, podendo haver alterações associadas a diferentes níveis de desenvolvimento, além de ter uma reduzida cobertura do genoma (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998).

Após alguns anos, esses marcadores perderam popularidade devido ao surgimento das técnicas de marcadores moleculares de DNA com capacidade de detectar maiores polimorfismos, possibilitando a análise do genótipo sem a necessidade de ocorrência da expressão fenotípica; excluindo-se a influência do ambiente no polimorfismo, com uma amostragem mais ampla do genoma, pois os marcadores bioquímicos amostram apenas as regiões ativas na expressão gênica (GROVER; SHARMA, 2016; KORDROSTAMI; RAHIMI, 2015).

Nos anos 1980, a tecnologia de marcadores moleculares foi rotineiramente usada nas mais diversas espécies e, desde então, eles vêm sendo aperfeiçoados e suas metodologias evoluem em conjunto com os avanços nas técnicas de sequenciamento em larga escala (GROVER; SHARMA, 2016). De maneira genérica, os marcadores de DNA podem ser classificados em três categorias, sendo os baseados em hibridização, baseados em *PCR* e baseados em sequenciamento.

Em espécies vegetais, os marcadores microssatélites são usados sobretudo em estudos relacionados a testes de parentesco, sistema de reprodução, diversidade genética e estudos evolutivos, por se tratarem de sequências com alta taxa evolutiva. Mesmo em comparações de germoplasmas com estreita base genética, geralmente, é possível detectar um alto número de alelos por loco SSR (SELKOE; TOONEN, 2006). Como vantagens, esses marcadores são codominantes, multialélicos, baseados

em PCR, estão distribuídos de forma ampla no genoma e necessitam de pequena quantidade de DNA coletado dos indivíduos a serem analisados (BUSO et al., 2003).

CAPÍTULO III

ASPECTOS IMPORTANTES NA ESCOLHA DE MARCADORES MOLECULARES

3 ASPECTOS IMPORTANTES NA ESCOLHA DE MARCADORES MOLECULARES

Os marcadores diferem nos seus princípios, metodologias e aplicações potenciais, bem como os recursos técnicos, financeiros e laboratoriais necessários (Tabela 1). Nesse sentido, dependendo de seus propósitos específicos, a escolha de um ou mais desses marcadores nem sempre é uma tarefa simples. O marcador genético ideal deve ser altamente polimórfico, apresentar herança codominante e distribuir-se uniformemente por todo o genoma, devem ser de fácil acesso, as análises devem ser de baixo custo, alto rendimento, reprodutíveis entre laboratórios, e transferíveis entre populações e/ou espécies (GROVER; SHARMA, 2016). Infelizmente, não existe nenhum tipo de marcador que atenda a todos esses requisitos.

Porém, de acordo com o tipo de estudo, é possível escolher entre os diferentes marcadores moleculares para encontrar aquele que melhor se adapte às necessidades, considerando-se: disponibilidade dos marcadores; complexidade da técnica e investimento de tempo; níveis polimorfismos estimados na população estudada; quantidade e qualidade do DNA disponível; transferibilidade entre laboratórios, populações, *pedigrees* e espécies; tamanho e a estrutura da população a ser estudada; disponibilidade de técnica e laboratorial; custo por unidade de informação e orçamento disponível; tipo de herança do marcador (dominante/co-dominante) e informação genética necessária na população (KORDROSTAMI; RAHIMI, 2015).

Tabela 1. Características importantes em relação a marcadores moleculares popularmente utilizados em genética e melhoramento florestal com base Farooq e Azam (2002); Kordrostami e Rahimi, (2015); Portela, 2019)

Características	RFLP	RAPD	AFLP	SSR's	SNP's
DNA necessário (µg)	10	0,02	0,5 a 1,0	0,05	0,05
Baseado em PCR	Não	Sim	Sim	Sim	Sim
Qualidade do DNA	Alta	Alta	Moderada	Moderada	Alta
Tipo de Polimorfismo	Mudança de base única, inserção, deleção	Mudança de base única, inserção, deleção	Mudança de base única, inserção, deleção	Mudança na repetição	Mudança de base única, inserção, deleção
Dominância	Co-dominante	Dominante	Dominante/Co-dominante	Co-dominante	Co-dominante
Reprodutibilidade	Alta	Instável	Alta	Alta	Alta
Custo por análise	Alto	Baixo	Moderado	Baixo	Baixo
Custo de desenvolvimento	Baixo	Baixo	Moderado	Alto	Alto
Precisa de dados de sequência	Sim	Não	Não	Sim	Sim
Acurácia	Muito alta	Muito baixa	Media	Alta	Muito alta
Abundancia no genoma	Alta	Muito alta	Muito alta	Media	Media
Nível de polimorfismo*	Baixo	Baixo a moderado	Baixo a moderado	Alto	Alto
Herança	Codominante	Dominante	Dominante	Codominante	Codominante
Utilidade na seleção assistida	Moderada	Baixa a moderada	Baixa a moderada	Alta	Alta

*O nível de polimorfismo (heterozigosidade média) é uma média da probabilidade de que dois alelos tomados aleatoriamente possam ser distinguidos; RFLP = *Restriction Fragment Length Polymorphism*; RAPD = *Random Amplified Polymorphism DNA*; AFLP = *mplified Fragment Length Polymorphism*; SSR = *Simple Sequence Repeats*; SNP's = *Single Nucleotide Polymorphism*.

CAPÍTULO IV

MARCADORES SSR: CARACTERÍSTICAS GERAIS

4 MARCADORES SSR: CARACTERÍSTICAS GERAIS

Para estudos necessitem de muitos polimorfismos entre sequências de DNA, uma das técnicas mais indicadas é *SSR* (“*Simple Sequence Repeats*”) ou microssatélites. Essa técnica tem como base o uso de pares de *primers* na reação de PCR para detectar variações em *loci* de sequências repetitivas. Os polimorfismos em um loco são em decorrência das diferenças no número de vezes em que os nucleotídeos se repetem em determinado loco, podendo ser mono-, di-, tri-, tetra-, penta- e hexa-nucleotídeos. Os microssatélites podem ainda ser classificados de acordo com as sequências repetidas, podendo ser perfeita (quando as sequências não são interrompidas por bases que não sejam do motivo), imperfeita (quando ocorre a presença de alguma base alheia ao motivo), interrompida (ocorre de forma intercalada uma pequena sequência alheia ao motivo) e composta (ocorrem duas sequências repetidas de forma adjacente) (BUSO et al., 2003). Consequentemente, essas variações geram diferenças nos comprimentos dos segmentos, as quais podem ser detectadas pela reação de polimerase em cadeia (PCR) e visualizadas na etapa de separação de fragmentos amplificados no gel de eletroforese.

Esses marcadores têm como vantagem o fato de serem codominantes, multialélicos, baseados em PCR, estarem distribuídos de forma ampla no genoma e necessitarem de pequena quantidade de DNA coletado dos indivíduos a serem analisados (BUSO et al., 2003). A dinâmica mutacional dessas regiões genômicas ainda não é totalmente bem compreendida (SCHLÖTTERER, 2000), embora saiba-se que a taxa de mutação de microssatélites é muito elevada em relação a outras partes do genoma, geralmente variando em cerca de 10^{-2} a 10^{-6} nucleotídeos por *locus* em cada geração (SIA et al., 2000). Diversos mecanismos mutacionais vem sendo sugeridos e propostos, de modo a buscar explicar e elucidar a alta taxa de mutação, citando-se os erros durante a recombinação; *crossing-over* desigual; deslizamento da polimerase durante a replicação ou reparo do DNA (STRAND et al., 1993).

Em relação à inclusão de erros durante a recombinação, cepas de *E. coli*, com ou sem sistema de recombinação funcional, apresentaram uma taxa de mutação semelhante, sugerindo que a recombinação não é o mecanismo predominante na geração de variabilidade de microssatélites (LEVINSON; GUTMAN, 1987).

Sobre o *crossing-over* desigual, quando ele ocorre pode carregar mudanças acentuadas, como a perda ou ganho de um grande número de repetições. Isso decorre porque quando regiões repetitivas de microssatélites estão presentes, um grampo pode ser formado durante a sinapse, o que significa que apenas partes, geralmente de comprimento diferente, de cada cromossomo serão trocadas e um cromossomo receberá um maior fragmento por causa do maior número de repetições de microssatélites trocados, enquanto o cromossomo homólogo recebe um número menor de repetições (OLIVEIRA et al., 2006).

No caso da replicação ou reparo do DNA, pode ocorrer deslizamento (*slippage*) da DNA polimerase, onde uma fita de DNA dissocia-se temporariamente da outra e revincula-se rapidamente em uma posição diferente da anterior, ocasionando erros de emparelhamento de bases, podendo ocorrer adição ou perda de sequências (OLIVEIRA et al., 2006).

Segundo Oliveira et al. (2006), os modelos teóricos para estimativa das taxas de mutação são usados para derivar o número esperado de alelos em uma população a partir da heterozigosidade observada e também nas análises estatísticas de variabilidade genética, entretanto, todos os modelos apresentam algumas desvantagens quando aplicados a dados de microssatélites. Quatro modelos podem ser usados, sendo o modelo de alelos infinitos (*Infinite alleles model*), mutação passo-a-passo (*Stepwise mutation model*), modelo de duas fases (*two phase model*) e o modelo de K-alelos (*K-alleles model*).

CAPÍTULO V

PRINCIPAIS APLICAÇÕES DOS MARCADORES SSR NA CONSERVAÇÃO GENÉTICA E NO MELHORAMENTO FLORESTAL

5 PRINCIPAIS APLICAÇÕES DOS MARCADORES SSR NA CONSERVAÇÃO GENÉTICA E NO MELHORAMENTO FLORESTAL

5.1 Estrutura genética em plantas

A estrutura genética diz respeito a maneira que a variabilidade genética se encontra distribuída entre e dentro dos níveis hierárquicos populacionais, no tempo e espaço (YOUNG; BOYLE; BROWN, 2001). Nesse sentido, os marcadores microssatélites, em comparação com outras classes de marcadores, são altamente polimórficos e amplamente utilizados para responder várias questões relacionadas à genética de populações de plantas.

O conhecimento da distribuição da variabilidade genética entre e dentro das populações de plantas naturais é essencial para adotar estratégias competentes para germoplasma *ex situ* e *in situ* conservação (NASS, 2007; TAMBARUSSI et al., 2016) e microssatélites são extremamente úteis para estimar parâmetros genéticos da população como estrutura populacional, análise de parentesco, paternidade e fluxo gênico (COELHO et al., 2018).

O modo como a variabilidade genética está distribuída entre e dentro das populações florestais no tempo e espaço, é influenciada por forças evolutivas (mutação, seleção, migração, deriva genética e fluxo gênico) e fatores ecológicos, como os atributos da espécie, citando-se o modo de reprodução, sistema reprodutivo, sistema sexual, polinização e dispersão de sementes, fenologia e estágio sucessional; Atributos da população, citando-se tamanho, dinâmica, densidade e padrão espacial; Atributos da paisagem, tais como distâncias, heterogeneidade ambiental e perturbações antrópicas (HAMRICK; GODT, 1990; KEVIN et al., 2004; LOVELESS; HAMRICK, 1984; 1987; MARQUARDT; EPPERSON, 2004).

Conhecer e identificar os padrões em que a variabilidade está distribuída em populações naturais possibilita estabelecer práticas conservacionistas eficientes (FRANKEL et al., 1996), sendo esse entendimento a base para técnicas de manejo nas florestas naturais e conservação genética.

Diferentes medidas biométricas têm sido propostas e usadas para o estudo da diversidade genética, visando elucidar os efeitos da deriva genética, estimar e prever o nível de variação genética existente e verificar sua distribuição. Uma métrica eficiente e muito utilizada para avaliar a estrutura genética populacional é baseada na estatística F de Wright (1951, 1978), onde descreve uma estrutura para mensurar a variação na frequência gênica entre subpopulações, propondo três índices de fixação: F_{IS} , F_{IT} e F_{ST} onde as letras subscritas indicam os níveis hierárquicos populacionais, como no caso o 'I' é indivíduo, 'S' é subpopulação e 'T' é o total de subpopulações.

Considerando que os marcadores SSR podem possuir muitos alelos em um *locos*, uma dúvida corriqueira é em relação ao o que é mais eficiente na avaliação genética: um número maior de *loci* ou de alelos. Embora não haja critérios comumente aceitos para a seleção desses dos *primers*, alguns autores discorrem sobre o assunto.

Merritt et al. (2015) analisaram 6782 marcadores microssatélites publicados entre 1997 e 2012, onde estudou as correlações entre heterozigidade observada e esperada (H_o e H_e) e número de alelos (A), de acordo com as características do tipo de repetição, comprimento de motivo, região de motivo, frequência de repetição e tamanho, onde os motivos dinucleotídeos exibiram (A), (H_o) e (H_e) significativamente maiores do que a maioria dos outros motivos. A frequência de repetição e a região do motivo correlacionaram-se positivamente com (A), (H_o) e (H_e), porém as correlações com o tamanho dos microssatélites foram mínimas. Dessa forma, os comprimentos dos motivos dinucleotídeos com grandes frequências de repetição podem ser os melhores, quando o objetivo do pesquisador for visar alta variação genética.

Fischer et al. (2017) compararam a variação de microssatélites em relação a SNPs (polimorfismo de nucleotídeo único, de *single nucleotide polymorphism*) genômicos em *Arabidopsis halleri*, um organismo modelo para estudo da biologia genética vegetal. Suas estimativas de diferenciação genética entre populações (F_{ST}) com base em ambos os tipos de marcadores foram correlacionadas, entretanto, as estimativas

baseadas em microssatélites foram significativamente maiores do que aquelas de *SNPs*, possivelmente as causas incluem o número limitado de marcadores microssatélites usados (no estudo em questão foram 20), viés dos marcadores, bem como a alta variância nas estimativas oriundas de microssatélites.

5.2 Estudo do fluxo gênico

O fluxo gênico pode ser entendido como um termo genérico que diz respeito à migração de genes entre e dentro de populações. Podendo ainda ser entendido como a mudança evolutiva na frequência dos alelos, decorrente do movimento de gametas entre populações (SLATKIN, 1985; 1989). Esse é um dos parâmetros genéticos populacionais mais importantes para fins de conservação genética e manejo, pois pode restringir o processo evolutivo por ser capaz de prevenir a adaptação às condições locais e promover a evolução, aumentando a variabilidade, espalhando novos genes e combinações e genes em populações (SLATKIN, 1989). Caso não se tenha fluxo gênico, é possível que as populações acumulem diferenças genéticas em uma escala temporal, podendo se tornar espécies distintas (SLATKIN, 1985).

O estudo do fluxo gênico pode ser feito basicamente de duas maneiras, sendo métodos diretos (usando observações diretas ou de estimativas de distância de dispersão e de sucesso reprodutivo) e indiretos (usando dados genéticos de amostras de indivíduos em várias subpopulações para a inferência de taxas de migração) (BEERLI; PALCZEWSKI, 2010; SLATKIN, 1985; 1987). Há vários métodos indiretos que podem ser estimados com base em marcadores microssatélites, citando-se estimadores baseados em frequências alélicas e análogos a estatística F_{ST} (MICHALAKIS; EXCOFFIER, 1996); no número de alelos privados; na autocorrelação espacial; estimadores de máxima verossimilhança baseados em frequências alélicas (RANNALA; HARTIGAN 1996; TUFTO et al., 1996); baseados nas genealogias dos indivíduos amostrados, segundo a teoria da coalescência (KINGMAN, 1982) com

taxas de migração estimadas usando procedimentos de Wakeley (1998), Bahlo e Griffiths (1998) e Beerli e Felsenstein (1999).

Wu et al. (2016), baseando-se nos conceitos de fluxo gênico e procurando elucidar os efeitos das variáveis geográficas e ambientais no padrão de diferenciação genética espacial, utilizaram *loci* microssatélites para o estudo de 58 populações de *Myriophyllum spicatum* distribuídas pela China. Seus resultados indicaram que as cadeias de montanhas agem como uma barreira ao fluxo gênico e revelou que tanto o clima quanto as barreiras geográficas influenciaram significativamente a divergência genética entre as populações de *M. spicatum*, mostrando que a geografia e o ambiente juntos desempenharam papéis fundamentais na formação da estrutura genética e fluxo gênico em *M. spicatum*.

Hevroy et al. (2018) estudaram treze populações naturais de *Grevillea* sp. em um *hotspot* internacional de biodiversidade no sudoeste da Austrália, utilizando a estimativa de fluxo gênico baseado em medidas de diferenciação para fazer inferências acerca dos processos genéticos, ecológicos e biogeográficos que determinam os padrões de polinização e dispersão das populações estudadas. Seus resultados indicaram altos níveis de variação genética e um fraco isolamento pela distância nas populações próximas ao rio e populações de várzea, sugerindo grandes tamanhos populacionais efetivos e forte conectividade, com poucas evidências de fluxo genético unidirecional, como seria de se esperar devido a hidrocoria. Houve, no entanto, uma quantidade surpreendente de mistura genética em populações de várzeas, o que poderia ser explicado por inundações e/ ou movimentos irregulares e polinizadores alimentados com néctar. Os autores recomendam que para conservação de espécies ribeirinhas raras, deve-se evitar um impacto nos processos hidrodinâmicos, como lençóis freáticos e dinâmica de inundação, pois podem impactar diretamente nas plantas.

5.3 Estudo do tamanho efetivo populacional

O conceito de tamanho efetivo populacional (N_e) refere-se ao número de indivíduos que se reproduzem e deixam descendentes, desta maneira, transmitindo os genes para a próxima geração. Esse conceito é fundamental para fins de conservação, genética e melhoramento, pois é um dos principais fatores determinantes da perda de variabilidade em populações ameaçadas de extinção (SOLÉ-CAVA, 2001). Quanto menor o tamanho efetivo de uma população, maiores são os efeitos da deriva genética, como aumento da variância entre populações, diminuição da diversidade dentro de populações, colaborando para fixação ou perda de alelos (RIDLEY, 2006).

O tamanho efetivo é conceitualmente equivalente ao de uma população idealizada em relação ao modelo populacional de Fisher (1930) e Wright (1931), considerando que reduz a variabilidade genética na mesma taxa que a população do estudo (SEBBENN; SEOANE, 2005). Dessa forma, o tamanho efetivo teórico pode diferir do tamanho senso de uma população, sendo, na maioria das vezes, menor (WRIGHT, 1938). Na literatura, são descritos diferentes tipos de estimadores para o tamanho efetivo, podendo eles serem baseados em marcadores moleculares microssatélites, sendo usado como medida de representatividade genética de a partir determinada amostra (VENCOVSKY; CROSSA, 2003).

Com objetivo de elucidar as implicações para a coleta de sementes com fins de conservação e melhoramento genético, Mori et al. (2015) analisaram, usando *loci* microssatélites, 192 progênies de polinização aberta coletadas de 30 árvores matrizes de *Handroanthus heptaphyllus* (Ipê-rosa) oriundas de duas populações de Botucatu. Os autores obtiveram um tamanho efetivo de variância menor do que o esperado em progênies de meios-irmãos ($N_e=4$), o qual variou entre 2,15 a 3,81. Implicando conseqüentemente em um número maior de árvores matrizes para a coleta de sementes, devido a autofecundações e cruzamentos entre aparentados aumentarem o parentesco dentro das progênies e reduzirem

o tamanho efetivo, logo, sementes devem ser coletadas de um número maior de árvores para conservação.

Tambarussi et al. (2016) estudaram três populações naturais de *Cariniana legalis* (jequitibá-rosa) localizadas uma em Ibicatu e duas em Mogi Guaçu, ambas no Estado de São Paulo/Brasil, utilizando microssatélites. No estudo, foi estimado o tamanho efetivo populacional de variância (N_e) de acordo com $N_e=0,5/\theta$, sendo θ o coeficiente de coancestria. O tamanho do censo foi de 65 árvores com ($N_e=32,5$), 22 árvores com ($N_e=10,9$) e 4 árvores com ($N_e=2,3$), respectivamente para as populações Ibicatu, Mogi Guaçu I e Mogi Guaçu II. Os autores ressaltam que devido à endogamia e à presença de um elevado número de indivíduos aparentados nas populações, e que dessa forma, caso não ocorra fluxo de pólen, as populações terão uma redução no potencial evolutivo, e mesmo com altos níveis de diversidade genética, os altos níveis de coancestria dentro das populações podem levar à endogamia devido ao acasalamento entre os parentes, resultando em depressão por endogamia.

5.4 Análise de parentesco e paternidade

O uso de marcadores moleculares na análise de paternidade de plantas e estudos de fluxo gênico é corriqueiro, pois as aloenzimas geralmente não possuem variabilidade suficiente para determinar o parentesco por exclusão (CHAKRABORTY; MEAGHER; SMOUSE, 1988), enquanto cada loco de microssatélites tem muitos alelos relativamente raros e na maioria dos casos um indivíduo pode ser excluído paternidade usando apenas alguns *loci* (DOW; ASHLEY; HOWE, 1995; DOW; ASHLEY, 1996). O parentesco pode ser estimado com base em dados genéticos, que fazem uso dos marcadores moleculares para estimar o parentesco com base em uma medida quantitativa de parentesco ou por métodos genealógicos que empregam dados de *pedigree* baseados em relações de parentesco.

Os microssatélites, por serem codominantes, quando se trata de indivíduos diploides, possibilita a identificação de dois alelos em um loco específico, permitindo estimar sua composição alélica e genotípica, de modo que os marcadores microssatélites são muito informativos e recomendados para o cálculo dos coeficientes de parentesco (OLIVEIRA et al., 2006).

Há vários métodos de se estimar os coeficientes de parentesco usando marcadores moleculares, os quais são bem discutidos na literatura (LI; WEEKS; CHAKRAVARTI, 1993; LYNCH; RITLAND, 1999; QUELLER; GOODNIGHT, 1989; WANG, 2002) e de modo generalista podem ser categorizados em dois grupos: os baseados no método dos momentos e os baseados em métodos de verossimilhança. Os estimadores fundamentados no método dos momentos buscam estimar a relação entre os indivíduos em termos de probabilidades de identidade por descendência. Já os baseados em métodos de verossimilhança estimam a probabilidade de indivíduos se encaixarem em um dado parentesco (TAYLOR, 2015).

Silva et al. (2015), em estudos com *Araucaria angustifolia*, utilizaram quatro métodos de estimação do coeficiente de parentesco (LYNCH; RITLAND, 1999; QUELLER; GOODNIGHT, 1989; RITLAND, 1996; WANG, 2002), para três diferentes distâncias entre os pares de indivíduos (sem critério de distância, 25 e 50 metros). O coeficiente estimado pelo método de Ritland (1996) foi considerado o de melhor desempenho, enquanto que os outros estimadores de parentesco não tiveram robustez, e indicaram inadequação dos dados aos modelos utilizados, pois com exceção do método de Ritland, os demais estimadores pressupõem populações em equilíbrio de Hardy-Weinberg, o que não era o caso devido a endogamia nos regenerantes.

5.5 Caracterização e proteção de cultivares

No caso de genótipos melhorados e espécies com estreita base genética, objetivando-se provar se determinada cultivar é única, as informações moleculares são mais adequadas e precisas em relação as informações fenotípicas dos marcadores morfológicos. O emprego de descritores morfológicos na caracterização de cultivares é recomendado, entretanto, apresenta limitações, sofrendo influência do ambiente, não serem estáveis e muitos descritores podem ser avaliados apenas na fase adulta das plantas, o que requer tempo e espaço físico para as avaliações (VIEIRA et al., 2001). Além disso, no caso da caracterização de cultivares de base genética estreita, a utilização de tais descritores pode não ser eficiente, considerando as semelhanças morfológicas. Assim, é necessário obter marcadores mais estáveis que, juntamente com os descritores morfológicos, sejam eficientes na caracterização.

Maciel (2014) utilizou nove *loci* microssatélites para analisar a divergência entre 90 clones-elite de *Eucalyptus* spp. usando a distância genética de Rogers (1972) modificada por Wright (1978). De acordo com as análises, os genótipos não se encontraram organizados em grupos bem definidos. Entretanto, estimar as distâncias genéticas entre os genótipos auxilia nos cruzamentos, de modo que ao usar indivíduos mais distantes no delineamento dos cruzamentos, haja maior segregação nos futuros ciclos de melhoramento, além do aumento da base genética. Dessa forma, os clones 6045 e A217 foram os que apresentam maior distanciamento genético.

Moreira (2017), com o objetivo de realizar a caracterização molecular de acessos de *Coffea arabica* por meio de marcadores microssatélites, utilizou acessos de Bourbon, variedades antigas e cultivadas da coleção do banco ativo de germoplasma de café da EPAMIG (Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais). Esses acessos e variedades antigas e cultivadas totalizaram 14 grupos. A discriminação das populações de acordo com os dados moleculares mostrou que cada população tem similaridade com mais de um grupo, indicando grande

variação entre indivíduos que constituem cada um desses grupos ou deficiência dos marcadores microssatélites usados para caracterizá-las. A autora destaca, ainda, que o fato de se verificar alta similaridade de um grupo com ele próprio é indicativo de se tratar de um grupo com características homogêneas. No estudo, não foram todos os grupos estudados que tiveram essa similaridade com os respectivos grupos de origem, possivelmente devido a indivíduos da mesma população serem originados de diferentes localidades ou possivelmente serem híbridos, além do café arábica ter estreita base genética, ocasionando variedades muito aparentadas e com alta similaridade entre elas.

5.6 Seleção assistida e associação com caracteres de interesse silvicultural

O processo de seleção assistida por marcadores moleculares (SAM), nos programas de melhoramento genético de plantas, dá-se pela associação entre determinados alelos com características desejáveis, de modo a identificar genótipos superiores em populações segregantes. Esse método oferece benefícios potenciais quando se trata de características de baixa herdabilidade, difíceis e/ou de alto custo de medição ou que se medem numa idade avançada (COLLARD; MACKILL, 2008).

Na seleção assistida, o sucesso depende do grau de associação entre marcador utilizado e a característica de interesse, de modo que quanto maior é a associação, menor a chance de ocorrer recombinação marcador e gene que controla a característica, e maior será a eficiência da seleção. Sua aplicação com microssatélites pode ser utilizada com objetivo de resistência a pragas e doenças; de associação com caracteres discretos ou contínuos de importância silvicultural; ou quando a avaliação fenotípica apresenta custos, ou ambientes específicos, como no caso de estresse salino, déficit hídrico, eficiência fotossintética, ou quando o caráter manifesta-se apenas em fases avançadas do ciclo da árvore, de modo que a SAM pode ser feita nos estágios iniciais, reduzindo

consideravelmente o tempo necessário para um ciclo de seleção (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998).

Para que haja a implementação eficiente da SAM, o gene/QTL (*quantitative traits loci*) que é associado a característica desejada deve ter sido previamente identificado ou mapeado, de modo a monitorar a presença dos alelos favoráveis. É importante frisar que nos marcadores SSR, na maioria das vezes, o que ocorre é a associação entre alelos e características, não significando que ele controla as características (COLLARD; MACKILL, 2008). Deve-se ainda considerar se o caractere é quantitativo ou qualitativo, o modo de ação gênica, em relação a aditividade, dominância ou recessividade, efeito da marca na expressão fenotípica, e a eficiência com que o marcador discrimina o caractere de interesse.

Zarpelon et al. (2015) mapearam QTLs para a mancha-de-Calonectria, uma das principais doenças foliares em plantios brasileiros de *Eucalyptus*, a qual é causada por *Calonectria pteridis*. Usando microssatélites, os autores detectaram cinco QTLs ligados a resistência a mancha, entretanto, apenas um foi validado em dois *pedigrees* não relacionados, e seu efeito foi estimado de maneira conservadora, controlando entre 5 e 10% da variação fenotípica para resistência.

Rosado et al. (2016) utilizaram 114 microssatélites com o objetivo de identificar as regiões genômicas ligadas ao controle genético da resistência à murcha de *Ceratocystis* em *Eucalyptus* por meio do mapeamento de QTLs em progênies híbridas derivada do cruzamento entre (*Eucalyptus dunnii* × *Eucalyptus grandis*) × (*Eucalyptus urophylla* × *Eucalyptus globulus*). A população segregante de 127 indivíduos foi fenotipada para resistência à murcha-de-*Ceratocystis*. Cinco QTLs foram identificados para resistência a doença, sendo que um deles se sobrepõe a outros QTLs de resistência a doenças fúngicas já mapeadas anteriormente, sendo consistente com a anotação de vários genes de resistência a doenças no genoma de *E. grandis*.

5.7 Considerações finais

Os métodos e metodologias em biologia molecular estão em constante atualização e evolução, sendo um instrumento imprescindível para a conservação, gestão, manejo e melhoramento, fornecendo informações imprescindíveis no sentido de nortear as melhores estratégias e auxiliar na tomada de decisão.

Os avanços nos métodos moleculares e estatísticos computacionais possibilitaram diversas aplicações para os microssatélites em genética e melhoramento florestal, como por exemplo: verificação e mensuração da diversidade genética e tamanho efetivo das populações; definição de quais populações ou indivíduos a utilizar para recuperação de áreas, conservação; manutenção da diversidade e cruzamentos controlados; compreensão da importância da diversidade genética no sentido de perpetuação das espécies e resistência a perturbações dos ecossistemas; seleção assistida e associação com caracteres de interesses silviculturais; análise de parentesco e paternidade; caracterização e proteção de cultivares.

REFERÊNCIAS

BAHLO, M.; GRIFFITHS, R. C. **Genetree**. Program and documentation distributed by the authors. Department of Mathematics, Monash University, Sydney, Australia. 1998.

BEERLI, P.; FELSENSTEIN, J. Maximum likelihood estimation of migration rates and population numbers of two populations using a coalescent approach. **Genetics**, v. 152, p. 763-773, 1999.

BEERLI P.; PALCZEWSKI, M. Unified framework to evaluate panmixia and migration direction among multiple sampling locations. **Genetics**, v. 185, p. 313-326, 2010.

BORÉM, A.; MIRANDA, G.V. **Melhoramento de plantas**. 7. ed. Viçosa: UFV, 2017.

BORÉM, A.; CAIXETA, E.T. **Marcadores moleculares**. Viçosa-MG: UFV, 2009.

BUSO, G. S. C. Marcadores microssatélites em espécies vegetais. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, v. 6, p. 46-50, 2003.

CHAKRABORTY, R.; MEAGHER, T.R.; SMOUSE, P.E. Parentage analysis with genetic-markers in natural-populations. 1. The expected proportion of offspring with unambiguous paternity. **Genetics**, v. 118, p. 527-536, 1988.

COELHO, N. H. P., TAMBARUSSI, E. V., AGUIAR, B. I., ROQUE, R. H., PORTELA, R. M., BRAGA, R. C., GANDARA, F. B. Understanding genetic diversity, spatial genetic structure, and mating system through microsatellite markers for the conservation and sustainable use of *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd. Ex Mart.. **Conservation genetics**, v. 19, p. 879-891, 2018.

COLLARD, B. C. Y.; MACKILL, D. J. Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v. 363, p.557-572, 2008.

DOW, B. D.; ASHLEY, M. V.; HOWE, H. F. Isolation and characterization of highly variable (GA/CT)_n microsatellites in the bur oak, *Quercus macrocarpa*. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 91, p. 137-141, 1995.

DOW, B. D.; ASHLEY, M. V. Microsatellite analysis of seed dispersal and sapling parentage in bur oak, *Quercus macrocarpa*. **Molecular Ecology**, v.5, p. 615-627, 1996.

FAROOQ, S.; AZAM, F. Molecular markers in plant breeding-II. Some prerequisites for use. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 5, p.1141-1147, 2002.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 2 ed. Brasília: Embrapa-Cenargen, 1998.

FISCHER, M. C et al. Estimating genomic diversity and population differentiation – an empirical comparison of microsatellite and SNP variation in *Arabidopsis halleri*. **BMC Genomics**, v. 18, p. 1-15, 2017.

FISHER, R. A. **The Genetical Theory of Natural Selection**. 2. ed. Dover: Dover Publications Inc., 1930.

FRANKEL, O. H.; BROWN, A. H. D.; BURDON, J. J. **The conservation of plant biodiversity**. Cambridge: Cambridge University, 1996.

GROVER, A.; SHARMA, P. C. Development and use of molecular markers: past and present. **Critical Reviews in Biotechnology** v. 36, p. 290-302, 2016.

HAMRICK, J. L.; GODT, M. J. W. Allozyme diversity in plant species. In: BROWN, A. et al. **Plant population genetics, breeding and genetic resources**. Sunderland: Sinauer Associates, 1990. p. 42-63.

HARTL, D. L.; CLARK, A. G. **Princípios de Genética de populações**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

HEVROY, T. H.; MOODY, M. L.; KRAUSS, S. L. Population genetic analysis reveals barriers and corridors for gene flow within and among riparian populations of a rare plant. **AoB PLANTS**, v.10, p. 1-12, 2018.

KAGEYAMA, P. Y. Conservação "in situ" de recursos genéticos de plantas. **Revista IPEF**, v. 35, p.7-37, 1987.

KEVIN, K.; NG, S.; LEE, L.; KOH, L. Spatial structure and genetic diversity of two tropical tree species with contrasting breeding systems and different ploidy levels. **Molecular Ecology**, Oxford, v.13, n.5, p.657-669, 2004.

KINGMAN, J. F. The coalescent. **Stochastic processes and their applications**, v.13, p. 248, 1982.

KIMURA, M. Evolutionary rate at the molecular level. **Nature**, v. 217, p. 624-626, 1968.

KIMURA, M.; OHTA, T. On some principles governing molecular evolution. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 71, p. 2848-2852, 1974.

KORDROSTAMI, M.; RAHIMIM, M. Molecular markers in plants: concepts and applications. **G3M**, v.13, p. 4024-4031, 2015.

KUMAR, P. et al. Potential of molecular markers in plant biotechnology. **Plant Omics journal**, v. 2, p. 141-162, 2009.

LEVINSON, G.; GUTMAN, G.A. Slipped-strand mispairing: A major mechanism for DNA sequence evolution. **Mol Biol Evol**. V.4, p.203-221, 1987.

LI, C. C.; WEEKS, D. E.; CHAKRAVARTI, A. Similarity of DNA fingerprints due to chance and relatedness. **Human Heredity**, v. 43, n. 1, p. 45-52, 1993.

LOVELESS, M. D.; HAMRICK, J. L. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 15, p. 65-95, 1984.

LOVELESS, M. D.; J. L. HAMRICK. Distribución de la variación genética en especies arbóreas tropicales. **Revista de Biología Tropical**, v. 35, 165-175. 1987.

LYNCH, M.; RITLAND, K. Estimation of pairwise relatedness with molecular markers. **Genetics**, v. 152, p. 1753-1766, 1999.

MACIEL, K. J. S. **Análise da diversidade e divergência genética em clones Eucalyptus spp. potencialmente importantes para Goiás**. 2014. 64 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2014.

MARQUARDT P. E; EPPERSON, B. K. Spatial and population genetic structure of microsatellites in white pine. **Molecular Ecology**, v. 13, p. 3305-3315, 2004.

MERRITT, B. J et al. An empirical review: characteristics of plant microsatellite markers that confer higher levels of genetic variation. **Applications in Plant Sciences**, v. 3, n. 8, 2015. Doi: 10.3732/apps.1500025.

MICHALAKIS, Y.; EXCOFFIER, L. A generic estimation of population subdivision using distances between alleles with special reference for microsatellite loci. **Genetics**, v. 142, p. 1061-1064, 1996.

MOREIRA, J. R. **Caracterização molecular de acesso de Coffea arabica por marcadores microssátelites**. 2017. 41 f. Dissertação (Mestrado em Genética e melhoramento), Universidade Federal de Viçosa, p. 41, 2017.

MORI, N. T. et al. Sistema de cruzamento em populações de *Handroanthus heptaphyllus* (Veli.) Mattos e suas implicações para a coleta de sementes para fins de conservação e Melhoramento genético. **Scientia Forestalis**, v. 43, n. 107, p. 675-681, 2015.

NASS, L. L. **Recursos genéticos vegetais**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007.

OHTA, T.; GILLESPIE, J. H. Development of neutral and nearly neutral theories. **Theoretical Population Biology**, v. 49, n. 2, p. 128-42, 1996.

OLIVEIRA, E. J. et al. Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. **Genetics and Molecular Biology**, v. 29, p. 294-307, 2006.

PATERSON, A. H., TANKSLEY, S. D.; SORRELLS, M. E. DNA markers in plant improvement. **Advances in Agronomy**, v. 46, p. 39-90, 1991

QUELLER, D. C.; GOODNIGHT, K. F. Estimating relatedness using molecular markers. **Evolution**, v. 43, p. 258-275, 1989.

RANNALA, B.; HARTIGAN, J. A. Estimating gene flow in island populations. **Genetical Research**, v.67, n. 2, p. 147-158, 1996.

RIDLEY, M. **Evolução**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006.

RITLAND, K. Estimators for pairwise relatedness and individual inbreeding coefficients. **Genetical Research**, v.67, p.175-185, 1996a

ROGERS, J. S. Measures of genetic similarity and genetic distance. **University of Texas Publication**. Austin, v. 7, p. 145-153, 1972.

ROSADO, C. C. G. et al. QTL mapping for resistance to *Ceratocystis* wilt in *Eucalyptus*. **Tree Genetics and Genomes**, v. 12, n. 4, p. 1-10, 2016.

SANTOS, D. N. et al. Molecular characterization and population structure study of cambuci: strategy for conservation and genetic improvement. **Genetic and Molecular Resources**, v. 15, n. 4, 2016.

SCHLÖTTERER, C. Evolutionary dynamics of microsatellite DNA. **Chromossoma**, v. 109, p. 365-371, 2000.

SEBBENN, A. M.; SEOANE, C. E. S. Estimativa de tamanho efetivo de endogamia por marcadores genéticos. **Revista Árvore**, v. 29, n. 1, p. 1-7, 2005.

SELKOE, K. A.; TOONEN, R. J. Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. **Ecology Letters**, v. 9, n. 5, p. 615-629, 2006.

SIA, E. A. et al. Analysis of microsatellite mutations in the mitochondrial DNA of *Saccharomyces cerevisiae*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** v. 97, p. 250-255, 2000.

SILVA, E. C. B. et al. Coeficientes de herdabilidade e de parentesco em um fragmento florestal de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze utilizando marcadores genéticos. **Scientia Forestalis**, v. 43, p. 147-153, 2015.

SLATKIN, M. Gene flow in natural populations. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 16, p. 393-430, 1985.

SLATKIN, M. Gene flow and the geographic structure of natural populations. **Science**, v. 236, n. 4803, p. 787-792, 1987.

SLATKIN, M.; BARTON, N. H. A comparison of three indirect methods for estimating average levels of gene flow. **Evolution**, Washington, v. 43, n. 7, p. 1349-1368, 1989.

SOLE-CAVA, A. M. Biodiversidade molecular e genética da conservação. In: MATIOLI, S. R. **Biologia molecular e evolução**. Ribeirão Preto: Holos, 2001. p. 193-198.

SOUZA, E., SORRELLS, M.E. Relationship among 70 North American oat germplasms: II. Cluster analysis using qualitative characters. **Crop Science**, Madison, v. 31, p. 605-612, 1991.

STRAND, M. et al. Destabilization of tracts of simple repetitive DNA in yeast by mutations affecting DNA mismatch repair. **Nature**, v. 365, p. 274-276, 1993.

TAMBARUSSI, E. V. et al. Paternity analysis reveals significant isolation and near neighbour pollen dispersal in small *Cariniana legalis* Mart. Kuntze populations in the Brazilian Atlantic Forest. **Ecology and Evolution**, v. 5, p. 4735-5147, 2016.

TAYLOR, H. R. The use and abuse of genetic marker-based estimates of relatedness and inbreeding. **Ecology and Evolution**, v. 5, n. 15, p. 3140-3150, 2015.

TUFTO, J.; ENGEN, S.; HINDAR, K.; Inferring patterns of migration from gene frequencies under equilibrium conditions. **Genetics**, v.144, p.1911-1921, 1996.

TURCHETTO-ZOLET, A. C. et al. **marcadores moleculares na era genômica: metodologias e aplicações**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 2017.

VENCOVSKY, R.; CROSSA, J. Measurements of representativeness used in genetic resources conservation and plant breeding. **Crop Science**, v. 43, p. 1912-1921, 2003.

VIEIRA, E. S. N. Estudo da similaridade genética entre cultivares de feijão carioca por meio de marcadores moleculares RAPD, visando a certificação da pureza genética. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 23, n. 2, p. 43-50, 2001.

WAKELEY, J. Segregating sites in Wright's island model. **Theoretical Population Biology**, v. 53, p. 166-174, 1998.

WANG, J. An estimator for pairwise relatedness using molecular markers. **Genetics**, v. 160, p. 1203-1215, 2002.

WRIGHT, S. **Evolution in mendelian populations**. *Genetics*, v.16, p.97-159, 1931.

WRIGHT, S. Size of population and breeding structure in relation to evolution. **Science**, v. 87, n. 2263, p. 430-2264, 1938.

WRIGHT, S. The genetical structure of populations. **Annual of Eugenics**, v. 15, p. 313-354, 1951.

WRIGHT, S. **Evolution and genetics of populations**. Chicago: University of Chicago Press, 1978.

YOUNG, A.; BOYLE, T.; BROWN, T. The populations genetic consequences of habitat fragmentation for plants. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 11, n. 10, p. 413-418, 2001.

ZARPELON, T. G.; DA SILVA GUIMARÃES, L.M.; FARIA, D.A.; COUTINHO, M. M., NETO, B. C.; TEIXEIRA, R.U.; GRATTAPAGLIA, D.; ALFENAS, A. C. Genetic mapping and validation of QTLs associated with resistance to *Calonectria* leaf blight caused by *Calonectria pteridis* in *Eucalyptus*. **Tree Genetics & Genomes**, v. 11, p. 803-811, 2015.

ZHONG-HU, H. An investigation of the relationship between the F_1 potential and the measures of genetic distance among wheat lines. **Euphytica**, v. 58, p. 65-170, 1991.

SOBRE OS AUTORES

Renan Marcelo Portela é Engenheiro Florestal (2016) pela Universidade Estadual do Centro Oeste, Mestre (2017) e Doutor (2023) em Ciências Florestais com ênfase em proteção de plantas, genética e melhoramento florestal pela Universidade Estadual do Centro Oeste, graduado em Ciências Biológicas (2021) UNICSUL/Positivo e especialista em Biotecnologia e Bioprocessos (2019) pela Universidade Estadual de Maringá.

Atua como Pesquisador Corporativo na Klabin S. A., suas publicações abrangem principalmente as áreas Fitopatologia, Proteção de Plantas, Biometria, Biologia molecular, Genética de Populações, Melhoramento Genético e Resistência Genética a Doenças de Plantas.

Caio Augusto Fidelix Carneiro Gomes é Engenheiro Florestal (2019) formado pela Universidade Estadual do Centro-Oeste, onde desenvolveu pesquisas em patologia florestal, genética e melhoramento.

Possui experiência na área de viveiros florestais e consultoria florestal. Sua experiência profissional abrange empresas nos Estados Unidos e no Brasil. Atualmente desenvolve mestrado em Ciências Florestais, com ênfase em economia florestal na Virginia Tech, EUA.

MARCADORES SSR: APLICAÇÕES EM GENÉTICA E MELHORAMENTO FLORESTAL

As espécies florestais são fontes vitais de recursos genéticos para a humanidade, e o entendimento desses recursos é essencial para seu manejo, conservação e melhoramento genético. A utilização de técnicas moleculares, especialmente análises baseadas em marcadores microssatélites, é fundamental, fornecendo informações precisas e detalhadas. Este estudo revisa a literatura científica sobre marcadores microssatélites, destacando suas vantagens, limitações e aplicações na conservação genética e melhoramento florestal. Os avanços em biologia molecular e estatística computacional ampliaram as possibilidades de aplicação dos microssatélites, tornando-os instrumentos indispensáveis na conservação, gestão e melhoramento de florestas, e cruciais na orientação de estratégias eficazes para a tomada de decisões.

Renan Marcelo Portela

Caio Augusto Fidelix Carneiro Gomes

Home Editora

CNPJ: 39.242.488/0002-80

www.homeeditora.com

contato@homeeditora.com

91988165332

Tv. Quintino Bocaiúva, 23011 - Batista
Campos, Belém - PA, 66045-315

