

ARTÍCULO CIENTÍFICO

Salvador Rojas G.¹, Doriani Rodrigues²,
Marcicleide Lima³ y Spartaco Astolfi Philo⁴

ABSTRACT

**Development and mapping of genic
microsatellites (EST-SSRs) from
camu-camu (*Myrciaria dubia* [H.B.K.]
McVaugh)**

We describe the development of expressed sequence tags - simple sequence repeats (EST-SSRs) or genetic microsatellites of camu-camu, a small round native fruit of the Amazon rain forest, which that has the highest known amount of natural vitamin C of any plant. Two thousand sequences from a camu-camu ESTs library were analyzed and 219 EST-SSRs were selected for the development of SSRs markers, of which 74.2% were perfect simple and 22.7% were perfect interrupted. The EST-SSRs were 13% trinucleotides and 87% dinucleotides; and the most frequent dinucleotides were GA, CT, AG and TC, also found in other dicots. These markers were used to probe their amplification power and to detect polymorphism in camu-camu and other four Mirtaceae family species; moreover, EST-SSRs sequences were also compared with protein sequences at the protein databases of the National Center for Biotechnology Information (NCBI). Of these EST-SSRs, 20.8% had good characteristics for primer design. From this group 15 primers were synthesized, eight of them had a good amplification power and presented polymorphism in 139 access of camu-camu with 7 to 21 alleles/loci. Also six of these polymorphic EST-SSRs amplified in the four mirtaceas species. The sequences of these eight EST-SSRs had some relationship with known proteins, five of them presented values between $<1E-51$ and $<1E-109$. This low cost methodology to obtain EST-SSRs from public libraries, could be used to get markers useful in the diversity, transferability and similarity with known proteins studies.

Key words: Camu-camu, microsatellites EST (EST-SSRs), ESTs Library, transferability.

Radicado: marzo 7 de 2008
Aceptado: junio 6 de 2008

1. Investigador Principal, Centro de Investigación La Libertad, Villavicencio (Meta), CORPOICA. e-mail: srojas@corpoica.org.co
2. Profesora, Facultad de Ciencias, Universidad Federal de Amazonas, Manaus (Brasil).
3. Profesora, Facultad de Ciencias, Universidad Federal de Amazonas, Manaus (Brasil).
4. Profesor, Coordinador Programa de Postgraduación em Biotecnología, Universidad Federal de Amazonas, Manaus (Brasil).

Desenvolvimento e mapeamento de microssatélites gênicos (EST-SSRs) de camu-camu (*Myrciaria dubia* [H.B.K.] McVaugh)

RESUMO

Descrevemos o desenvolvimento marcadores de nucleotídeos repetidos em tandem de seqüências expressas (EST-SSRs) o microssatélites gênicos de camu-camu, a qual é uma pequena fruta nativa da Amazônia que cotem o mais alto conteúdo de vitamina C natural de qualquer fruteira conhecida no mundo. Dois mil seqüências da biblioteca de ESTs de camu-camu foram analisadas e 219 EST-SSRs para o desenvolvimento de marcadores moleculares foram identificadas e analisadas. Dos 219 EST-SSRs 74,2% foram perfeitos simples e 22,7% perfeitos interrompidos. Os EST-SSRs foram 13% trinucleotídeos e 87% dinucleotídeos; os dinucleotídeos mais freqüentes foram GA, CT, AG e TC motivos comuns em outras dicotiledôneas. Os marcadores obtidos foram usados para identificar seu poder de amplificação para detectar polimorfismos e testar a transferibilidade com quatro espécies da família Mirtaceae; além disso, foram comparados com seqüências de proteínas de outras espécies depositadas nas bases de dados do National Center for Biotechnology Information NCBI. Dos EST-SSRs, 20,8% tiveram boas características para o desenho de "primers", deste grupo 15 "primers" foram sintetizados, oito apresentaram polimorfismo para o camu-camu detectando em 139 acessos de camu-camu entre 7 e 21 alelos/loci, além disso, seis de estes EST-SSRs amplificaram em quatro espécies mirtáceas. As seqüências dos oito EST-SSRs tiveram alguma relação com proteínas conhecidas, cinco apresentaram valores entre $<1E-51$ e $<1E-109$. Esta metodologia de obtenção de EST-SSRs de camu-camu a partir de informações de bases de dados públicas ou bibliotecas disponíveis, pode ser aplicada a baixo custo em outras espécies para estudos de diversidade, transferibilidade e nos estudos de similaridade com proteínas conhecidas.

Palavras chave: Camu-camu, microssatélites EST (EST-SSRs), biblioteca ESTs, transferibilidade.

Desarrollo y mapeamiento de microsatélites gênicos (EST-SSRs) de camu-camu (*Myrciaria dubia* [H.B.K.] McVaugh)

RESUMEN

Se describe el desarrollo de marcadores de regiones repetidas consecutivamente en secuencias expresas (*expressed sequence tags - simple sequence repeats*, EST-SSRs) o microsatélites gênicos de camu-camu, pequeño fruto redondo de la Amazonia con el más alto contenido de vitamina C natural en el mundo. Se examinaron dos mil secuencias de una biblioteca de ESTs de camu-camu y se identificaron y analizaron 219 EST-SSRs promisorios para desarrollar marcadores moleculares; de éstos, 74,2% fueron perfectos simples y 22,7% perfectos interrumpidos. Además, 13% fueron trinucleotídeos y 87% dinucleotídeos; los dinucleotídeos más frecuentes fueron GA, CT, GAC y TC, secuencias comunes en otras dicotiledôneas. Los marcadores conseguidos se utilizaron para detectar polimorfismos en camu-camu y para probar la transferibilidad con cuatro especies de la familia Mirtaceae. Además, se compararon con secuencias de proteínas de otras especies depositadas en las bases de datos del National Center for Biotechnology Information (NCBI). El 20,8% de los EST-SSRs obtenidos presentaron características apropiadas para el diseño de cebadores; de este grupo fueron sintetizados 15 cebadores, ocho de los cuales amplificaron y fueron polimórficos. Con ellos fue posible detectar entre 7 a 21 alelos/loci en 139 individuos de camu-camu; además, seis de ellos amplificaron en las cuatro mirtáceas. Las secuencias de los ocho EST-SSRs tuvieron relación con proteínas conocidas y cinco de ellas presentaron valores entre $<1E-51$ y $<1E-109$. Esta metodología de obtención y análisis de EST-SSRs a partir de información de bibliotecas o de bases de datos disponibles se puede aplicar con un costo bajo a otras especies en estudios de diversidad, transferibilidad y similaridad con proteínas conocidas.

Palabras clave: Camu-camu, microsatélites EST (EST-SSRs), biblioteca EST, transferibilidad.