

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Meio-Norte
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Anais

II Jornada Científica

Embrapa Meio-Norte



Teresina, 14 e 15 de setembro de 2016

Embrapa Meio-Norte
Teresina, PI
2016

Embrapa Meio-Norte

Av. Duque de Caxias, 5.650, Bairro Buenos Aires
Caixa Postal 01
CEP 64006-220, Teresina, PI
Fone: (86) 3198-0500
Fax: (86) 3198-0530
www.embrapa.br/meio-norte
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Unidade responsável pelo conteúdo e edição

Embrapa Meio-Norte

Comitê de Publicações

Presidente: *Jefferson Francisco Alves Legat*

Secretário-administrativo: *Jeudys Araújo de Oliveira*

Membros: *Ligia Maria Rolim Bandeira, Flavio Favaro Blanco, Luciana Pereira dos Santos Fernandes, Orlane da Silva Maia, Humberto Umbelino de Sousa, Pedro Rodrigues de Araujo Neto, Carolina Rodrigues de Araujo, Danielle Maria Machado Ribeiro Azevedo, Karina Neob de Carvalho Castro, Francisco das Chagas Monteiro, Francisco de Brito Melo, Maria Teresa do Rêgo Lopes, José Almeida Pereira*

Normalização bibliográfica e editoração eletrônica: *Orlane da Silva Maia*

Capa: *Luciana Pereira dos Santos Fernandes*

1ª edição

Publicação digitalizada (2016)

Revisores Ad hoc (Embrapa Meio-Norte)

Aderson Soares de Andrade Junior, Adriana Mello de Araújo, Alitieni Moura Lemos Pereira, Ana Lúcia Horta Barreto, Angela Puchnick Legat, Braz Henrique Nunes Rodrigues, Bruno de Almeida Souza, Cândido Athayde Sobrinho, Edson Alves Bastos, Fabíola Helena dos Santos Fogaça, Francisco José de Seixas Santos, Geraldo Magela Côrtes Carvalho, João Avelar Magalhães, Jorge Minoru Hashimoto, José Ângelo Nogueira de Menezes Júnior, José Lopes Ribeiro, Lúcio Flavo Lopes Vasconcelos, Maria Clideana Cabral Maia, Maurisrael de Moura Rocha, Paulo Fernando de Melo Jorge Vieira, Paulo Henrique Soares da Silva, Raimundo Bezerra de Araújo Neto, Ricardo Montalvan Del Aguila, Rosa Maria Cardoso Mota de Alcântara, Tânia Maria Leal, Teresa Herr Viola, Valdenir Queiroz Ribeiro

Comissão organizadora

Coordenador: *Edvaldo Sagrilo*

Membros: *José Oscar Lustosa de Oliveira Júnior, Bruno de Almeida Souza, Flávio Favaro Blanco, Izabella Cabral Hassum, Jefferson Francisco Alves Legat, Paulo Sarmanho da Costa Lima, Danielle Maria Machado Ribeiro Azevedo, Juliana Priscila Sussai, Magda Cruciol, Orlane da Silva Maia, Francisco de Assis David da Silva*

A linguagem escrita, os conceitos e opiniões emitidos nos resumos constantes desta publicação, são de inteira responsabilidade dos respectivos autores. A Comissão Organizadora não assume responsabilidades pelos dados e conclusões apresentadas nos trabalhos publicados nos anais desta jornada.

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Meio-Norte

Jornada de Iniciação Científica da Embrapa Meio-Norte (2. : 2016 : Teresina, PI).

Anais da II Jornada Científica da Embrapa Meio-Norte / II Jornada Científica da Embrapa Meio-Norte, Teresina, PI, 13 a 14 de setembro de 2016. – Teresina : Embrapa Meio-Norte, 2016. 126 p.

Sistema requerido: Adobe Acrobat Reader.

Modo de acesso: <<http://www.cpamn.embrapa.br/jornada2016/downloads/EMBRAPAEBOOK.pdf>>.

1. Pesquisa científica. 2. Iniciação científica. 3. Agricultura. 4. Pecuária. 5. Tecnologia. I. Título. II. Embrapa Meio-Norte.

CDD 607

© Embrapa 2016

AValiação Preliminar de Primers ISSR para Caracterização Molecular de Acessos de Pau-Ferro da Embrapa Meio-Norte

Jarbson Henrique Oliveira Silva¹; Raiane de Sousa Oliveira²; Maria Fernanda da Costa Gomes³; Sérgio Emílio dos Santos Valente⁴ Paulo Sarmanho da Costa Lima⁵;

¹Graduando em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI, oliveirahenrique2@outlook.com;

²Graduanda em Ciências Biológicas, Universidade Estadual do Piauí, Teresina, PI;

³Mestranda em Genética e Melhoramento, Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI;

⁴Professor Associado II da Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI;

⁵Pesquisador da Embrapa Meio-Norte, Teresina-PI;

RESUMO

Pau-ferro (*Caesalpinia ferrea*) é uma planta perenifólia característica de mata pluvial atlântica que possui importância medicinal e comercial. Entretanto, devido a seu potencial madeireiro, populações dessa espécie têm sofrido processos de devastação o que tem levado a perda de variabilidade genética. Dessa forma, tornam-se necessários estudos moleculares como subsídio aos programas de conservação e melhoramento da espécie. Uma vez que a seleção de *primers* é um pré-requisito para estudos de caracterização molecular, objetivou-se avaliar *primers* ISSR em acessos de Pau-Ferro da Embrapa Meio-Norte. Para a extração do DNA utilizou-se folhas jovens e frescas. Posteriormente, foi feita PCR (*Polymerase Chain Reaction*) com um total de 23 *primers* ISSR e 3 acessos da espécie. Dos 23 *primers* testados, 10 foram selecionados com base no número considerável de locos e na resolução dos fragmentos. Os 10 iniciadores ISSR selecionados nesse estudo geraram ao todo 87 locos, sendo o percentual total de polimorfismo desses locos igual a 50,6%.

PALAVRAS-CHAVE: *Caesalpinia ferrea*, marcadores moleculares, variabilidade genética.

INTRODUÇÃO

O pau-ferro (*Caesalpinia ferrea* Mart. ex Tul. var. *ferrea*), também conhecida como jucá, é uma planta pertencente à família Fabaceae que ocorre nos estados do Piauí, Bahia, Espírito Santo e Rio de Janeiro. A árvore é bastante ornamental, principalmente por sua copa arredondada. É uma planta perenifólia ou semidecídua, heliófita, seletiva higrófila, característica de mata pluvial atlântica. Apresenta ampla dispersão, porém geralmente em baixa densidade populacional (LORENZI, 2002).

C. ferrea é ainda empregada na construção civil e marcenaria em geral por apresentar uma madeira dura e pesada. Entretanto, devido a essa característica, populações dessa espécie têm sido devastadas no nordeste do Brasil e atualmente é uma árvore em processo de erosão genética (SOUSA et al., 2014). Portanto, faz-se necessário o desenvolvimento de estudos moleculares de caracterização da diversidade genética como subsídio aos programas de conservação e melhoramento dessa espécie. Os marcadores ISSR têm tido, atualmente, grande aplicabilidade em estudos que visam analisar variabilidade genética em populações, pois são eficazes na detecção de polimorfismo.

O polimorfismo é um parâmetro frequentemente utilizado para estimar a eficiência dos marcadores na avaliação da diversidade genética (GRAVITOL et al., 2011). Um pré-requisito para se obter as estimativas de diversidade genética de uma espécie é a seleção de *primers* (CHAGAS et al., 2015). Desse modo, objetivou-se avaliar *primers* ISSR em acessos de pau-ferro da Embrapa Meio-Norte.

MATERIAL E MÉTODOS

Os procedimentos foram realizados no laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Meio-Norte. O DNA genômico foi extraído de acordo com o kit Qiagen DNeasy® a partir de folhas jovens de três acessos de Pau-Ferro (PF-06, PF-09, PF-10) coletados no Banco de Germoplasma de Forrageiras Nativas da Embrapa Meio-Norte.

Foram testados 23 *primers* que já haviam sido otimizados para outras espécies de plantas pertencentes a mesma família do pau-ferro. As reações de amplificação do DNA foram completadas para se obter um volume final de 10 µL, contendo os seguintes reagentes: 1X Tampão [20 mM Tris-HCl pH 8,4, 50 mM KCl]; 1,5 mmol L⁻¹ MgCl₂; 1 mmol L⁻¹ dNTP; 0,3µM de oligonucleotídeos iniciadores, 0,5 unidade de Taq DNA polimerase, 0,5 µL de DNA (7 ng/µL) e água ultra pura.

As reações foram conduzidas em termociclador Veriti™ 96 Well Thermal Cycler (Applied Biosystems) sob os seguintes passos: 1 minuto e 30 segundos a 94°C para desnaturação inicial, seguido de 40 ciclos, cada ciclo consistiu de 94°C por 40 segundos, temperatura de anelamento por 45 segundos, 72° por 2 minutos, e uma extensão final a 72° por 7 minutos.

Os fragmentos de DNA gerados pelas amplificações foram separados em gel de agarose (1,5%) utilizando o agente intercalante GelRed com tampão de carregamento e fotografados sob luz ultravioleta. Para a corrida das amostras no gel, utilizou-se voltagem igual a 80V durante 2 horas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os 23 *primers* utilizados foram analisados de acordo com o número considerável de locos e com a boa resolução dos fragmentos, desse modo, foram selecionados 10 *primers* (Tabela 2). *Primers* que não geraram amplificação como o UBC 835 e o UBC 848 foram descartados (Figura 2).

Tabela 2. *Primers* ISSR selecionados e temperaturas de anelamento otimizadas para caracterização molecular de *Caesalpinia ferrea*.

<i>Primer</i>	Sequência 5'-3'	Temperatura de anelamento (°C)	Percentual de bandas polimórficas (%)	Total de bandas
UBC 807	(AG) ₈ T	52	57,1	7
UBC 818	(CA) ₈ G	49	20,0	5
UBC 826	(AC) ₈ C	56	42,9	7
UBC 827	(AC) ₈ G	60	66,7	9
UBC 830	(TG) ₈ G	50	28,6	7
UBC 834	(AG) ₈ YT	54	72,7	11
UBC 836	(AG) ₈ YA	54	46,2	13
UBC 842	(GA) ₈ YG	52	41,7	12
UBC 855	(AC) ₈ YT	56	75,0	8
UBC 886	VDV(CT) ₇	50	37,5	8
Total			50,6	87

Os 10 iniciadores ISSR selecionados nesse estudo geraram ao todo 87 locos. O número de locos variou de 05 (UBC 818) a 13 (UBC 836) locos por iniciador, com média de 8,7. Segundo Chagas (2015), 70 locos gerados é um número suficiente para discriminar os genótipos e avaliar a diversidade genética de uma população. Como o número de locos gerados no presente estudo foi superior, é, portanto, satisfatório para caracterização molecular de *Caesalpinia ferrea*.

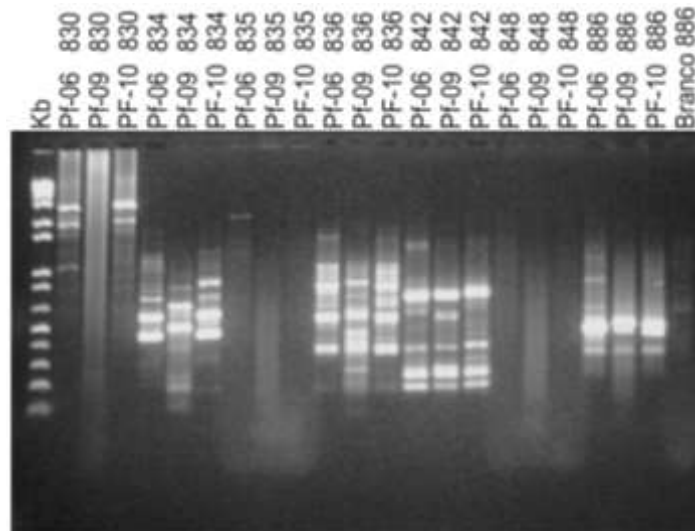


Figura 2. Perfil eletroforético obtido pela amplificação do DNA extraído de 03 acessos de Pau-Ferro (PF-06, PF-09 e PF-10) com os iniciadores UBC-830, 834, 835, 836, 842, 848, 886.

O polimorfismo genético é a variação genética na sequência de alelos, na sequência de bases nucleotídicas ou na estrutura cromossômica (STRACHAN, 2002). No gel de agarose esse polimorfismo pode ser observado pela diferença no padrão das bandas. O percentual de bandas polimórficas variou de 20% (UBC 818) a 75% (UBC 855), sendo o percentual total igual a 50,6%. A baixa taxa de polimorfismo encontrada pode ser explicada pelo número reduzido de acessos analisados. Para análises mais precisas, torna-se necessária a realização de mais testes utilizando um número maior de acessos da mesma população.

CONCLUSÃO

Um total de 10 iniciadores ISSR foram pré-selecionados e considerados com potencial para caracterização molecular de *Caesalpinia ferrea*.

Agradecimentos: À Embrapa pelo suporte e ao CNPq pelo financiamento.

REFERÊNCIAS

- CHAGAS, K. P. T. et al. Seleção de marcadores ISSR e diversidade genética em uma população de *Elaeis guineensis*. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 10, n. 1, p. 147-152, 2015.
- GRATIVOL, C. et al. High efficiency and reliability of inter-simple sequence repeats (ISSR) markers for evaluation of genetic diversity in Brazilian cultivated *Jatropha curcas* L. accessions. **Molecular Biology Reports**, The Hague, v. 38, n. 7, p. 4245-4256, 2011.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. 4. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. v. 1, 368 p.
- SOUSA, C. C. et al. Comparison of methods to isolate DNA from *Caesalpinia ferrea*. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 13, n. 2, p. 4486-4493, 2014.
- STRACHAN, T.; READ, A. P. **Genética molecular humana**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2002.