



Evento	Salão UFRGS 2015: SIC - XXVII SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2015
Local	Porto Alegre - RS
Título	Otimização da amplificação de SSR (microssatélites) para validação de primers em <i>Herbertia zebrina</i>
Autor	ALEXANDRE CRISTANTE MARTINS
Orientador	TATIANA TEIXEIRA DE SOUZA CHIES

Título do trabalho

Otimização da amplificação de SSR (microsatélites) para validação de *primers* em *Herbertia zebrina*

Nome do autor

Alexandre Cristante Martins

Nome da orientadora

Prof^ª. Dr^ª. Tatiana Teixeira de Souza Chies

Instituição de origem

Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS

Introdução

A espécie endêmica sul-riograndense *Herbertia zebrina* Deble, cuja distribuição se restringe à região sudoeste do município de Encruzilhada do Sul e estende-se até a região noroeste do município de Amaral Ferrador, representa uma das sete espécies do gênero *Herbertia* Sweet (Iridaceae, Iridoideae, Tigridieae) descritas para o Estado integrando o Bioma Pampa. Até o presente momento, pouco se conhece sobre a ecologia, fenologia, demografia e variabilidade genética presente nas populações de *H. zebrina*, conhecimento imprescindível na elaboração de novas estratégias voltadas à conservação da biodiversidade dos Campos Sulinos frente ao crescente aumento de áreas com cultivos agrícolas na região. Com o intuito de avaliar os graus de variabilidade genética das populações de *H. zebrina* ao longo de sua distribuição, marcadores de microsatélites SSR (Simple Sequence Repeats) serão analisados. Para otimizar tais análises, testes de PCR (Polymerase Chain Reaction) e de gradiente de temperatura com *primers* espécie-específicos e de amplificação cruzada a partir de *primers* elaborados para *Sysirinchium micranthum* Cav. e *S. vaginatum* Spreng, espécies relacionadas à *H. zebrina*, estão sendo conduzidos.

Materiais e Métodos

Vinte Amostras de DNA extraídas de materiais foliares de nove populações de *H. zebrina* provenientes de coletas realizadas em excursões pela Serra do Sudeste, foram previamente quantificadas por espectrofotometria e armazenadas em laboratório. Um conjunto de *primers*, elaborado a partir de bibliotecas genômicas enriquecidas de microsatélites para *H. zebrina*, *S. micranthum* e *S. vaginatum*, foi desenhado. As amplificações de PCR foram executadas no termociclador com um volume de reação de 30µL: 16,8 H₂O esterilizada, 3µL tampão TE' 10x, 1,2µL MgCl₂, 1µL dNTP, 1,5µL *primer* direto, 3µL *primer* reverso, 0,3µL FAM, 0,2µL Taq e 3µL de amostra. Os parâmetros de amplificação por PCR foram: desnaturação inicial por 3 minutos à 95°C, 30 ciclos de desnaturação por 30 segundos à 94°C, anelamento por 30 segundos em temperaturas distintas para cada *primer*, alongamento por 30 segundos à 72°C e extensão final por 10 segundos à 72°C. Os produtos das amplificações foram examinados por eletroforese em gel de agarose 2%, corados com GelRed™ e o tamanho aproximado de seus fragmentos, reconhecidos por comparação com um marcador de peso molecular Ladder 100pb. Os géis foram fotografados sob exposição à luz branca e UV utilizando-se um fotodocumentador.

Resultados

Até o presente momento, as amostras de DNA das populações de *H. zebrina* foram testadas com cinco *primers*. De todas as amplificações realizadas, apenas os *primers* VAG-A2 e VAG-A3, construídos para *S. vaginatum*, não demonstraram resultados satisfatórios. Os *primers* espécie-específicos P02 e P18 apresentaram boas amplificações, sendo que as melhores temperaturas de anelamento observadas foram, respectivamente, 68°C e 62,6°C. O *primer* SM-A8, originalmente desenhado para *S. micranthum*, amplificou com eficiência 17 das 20 amostras de *H. zebrina* em temperatura de anelamento de 59°C, sugerindo potencialidade para seu uso em amplificações cruzadas por seu caráter interespecífico.