



I CICLO DE PALESTRAS  
SOBRE USO DE

# MARCADORES MOLECULARES

NA PESQUISA AGROPECUÁRIA

# ANAIS

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Tabuleiros Costeiros  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

# **I Ciclo de Palestras sobre o Uso de Marcadores Moleculares na Pesquisa Agropecuária**

*Ana Veruska Cruz da Silva*  
Editora técnica

**Embrapa**  
Brasília, DF  
2012

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

**Embrapa Tabuleiros Costeiros**

Av. Beira Mar, 3250  
49001-970 Aracaju, SE  
Fone: (79) 4009-1344  
Fax: (79) 4009-1399  
www.cpatc.embrapa.br  
cpatc.sac@cpatc.embrapa.br

**Unidade responsável pelo conteúdo e edição**

Embrapa Tabuleiros Costeiros

**Comitê Local de Publicações da Embrapa Tabuleiros Costeiros**

Presidente: *Ronaldo Souza Resende*

Secretária-executiva: *Raquel Fernandes de Araújo Rodrigues*

Membros: *Ana Veruska Cruz, Edson Patto Pacheco, Élio César Guzzo, Hymerson Costa Azevedo, Joézio Luis dos Anjos, Josué Francisco da Silva Junior, Paulo César Falanghe Carneiro, Semíramis Rabelo Ramalho Ramos e Viviane Talamini*

Supervisão editorial

*Raquel Fernandes de Araújo Rodrigues*

Projeto gráfico, capa e editoração eletrônica

*Raquel Fernandes de Araújo Rodrigues*

**1ª edição**

CD-ROM (2012): 100 exemplares

**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 Tabuleiros Costeiros

---

Ciclo de Palestras sobre Uso de Marcadores Moleculares na Pesquisa Agropecuária (1 : 2012 : Aracaju, SE)

I Ciclo de Palestras sobre Uso de Marcadores Moleculares na Pesquisa Agropecuária, Aracaju, SE, Brasil, 26 e 27 de novembro de 2012 / Ana Veruska Cruz da Silva, editora técnica. – Brasília, DF : Embrapa, 2012.  
1 CD-ROM.

ISBN 978-85-7035-131-9

1. Marcador molecular. 2. Pesquisa. I. Embrapa Tabuleiros Costeiros. II. Silva, Ana Veruska Cruz da. IV. Título.

CDD 574.873 28

©Embrapa 2012

## **Editora Técnica**

**Ana Veruska Cruz da Silva**

Engenheira-agrônoma, doutora em Produção Vegetal,  
pesquisadora da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju,  
SE, [ana.veruska@embrapa.br](mailto:ana.veruska@embrapa.br).

## Comissão Organizadora

**Ana Veruska Cruz da Silva** - pesquisadora da Embrapa Tabuleiros Costeiros

**Renato Guimarães Silveira** - bolsista PIBIC/FAPITEC/Embrapa Tabuleiros Costeiros

**Marina Ferreira da Vitória** - bolsista PIBIC/FAPITEC/Embrapa Tabuleiros Costeiros

**Aline Gonçalves Moura Bonfim** - analista da Embrapa Tabuleiros Costeiros

## **Comissão Técnico-científica**

**Ana Veruska Cruz da Silva** - pesquisadora da Embrapa Tabuleiros Costeiros

**Raquel Fernandes de Araújo Rodrigues** - analista da Embrapa Tabuleiros Costeiros

**Allivia Rouse Carregosa Rabbani** - pesquisadora FAPITEC/UFS

**Luzia Nilda Tabosa Andrade** - pesquisadora da Empresa de Desenvolvimento Agropecuário de Sergipe (Emdagro)

## Apresentação

O I Ciclo de Palestras sobre o Uso de Marcadores Moleculares na Pesquisa Agropecuária tem como objetivo divulgar algumas das diversas formas com que essa ferramenta biotecnológica tem sido utilizada. Além disso, apresentar alguns resultados alcançados por instituições de ensino e pesquisa do Estado de Sergipe, e atualizar profissionais, laboratoristas, técnicos e estudantes quanto à aplicação dessa ferramenta.

Foi do convívio com alunos de graduação e pós-graduação no Laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Tabuleiros Costeiros, que surgiu a iniciativa para a realização do evento, apresentando-se como uma oportunidade de atualização no tema, onde os novos conhecimentos possam ser utilizados em seus trabalhos de pesquisa, monografias, dissertações e teses.

Para a Embrapa Tabuleiros Costeiros, a realização desse evento, bem como o registro das palestras proferidas e dos resumos das pesquisas desenvolvidas por estudantes bolsistas e pesquisadores, é motivo de grande satisfação, e ilustra a relevância do tema em programas de melhoramento genético e biodiversidade.

Agradecemos à Fapitec-SE por viabilizar a realização deste Seminário através do Programa de Auxílio ao Pesquisador para a Realização de Reunião ou Evento Científico e Tecnológico no Estado de Sergipe (PRAEV).

Desejamos aos participantes que aproveitem todos os conhecimentos apresentados para o fortalecimento da habilidade do diálogo científico e tecnológico na sua essência.

Ana Veruska Cruz da Silva  
Editora técnica

# Sumário

## Caderno de Palestras

Marcadores moleculares como ferramenta no melhoramento genético de plantas.....	10
Caracterização de germoplasma.....	15
Isolamento e caracterização de <i>Xylella fastidiosa</i> em Sergipe.....	22
Identificação de espécies de <i>Meloidogyne</i> em canaviais do Nordeste brasileiro.....	25
Pacotes bioestatísticos utilizados para estudos de diversidade genética.....	30
Perspectivas do uso de marcadores moleculares para a seleção de ruminantes adaptados ao clima tropical.....	35

## Caderno de Resumos

Caracterização preliminar de acessos de coqueiro-gigante utilizando-se marcadores microssatélites.....	42
Marcador isoenzimático na identificação da diversidade genética de <i>Erythrina velutina</i> Willd.....	44
Bancos de germoplasma do Estado de Sergipe estudados por marcadores moleculares.....	46
Uso de marcadores moleculares em culturas agrícolas do Estado de Sergipe.....	48
Caracterização do banco ativo de germoplasma de jenipapeiro em Sergipe.....	50
Espécies nativas do Estado de Sergipe caracterizadas por marcadores moleculares.....	52

Identificação de duplicatas no BAG mangaba por rapd.....	54
Variabilidade genética entre acessos de jureminha.....	55
Identificação de marcas moleculares associadas à verminose em ovinos.....	56
Avaliação de métodos de extração de DNA genômico em <i>Jatropha curcas</i> L.....	57
Alterações fisiológicas e enzimáticas em sementes de pimenta habanero.....	59
Expressão da enzima isocitrato-liase em sementes de pimenta habanero colhidas em diferentes estádios de desenvolvimento.....	61
Expressão das enzimas alfa-amilase e endo-beta-mananase em sementes de pimenta habanero.....	63
Expressão genica associada à rota biossintética da giberelina durante o desenvolvimento de sementes de pimenta.....	65
Padrões protéicos em sementes de pimenta habanero em função do desenvolvimento e processo de secagem.....	67



I CICLO DE PALESTRAS  
SOBRE USO DE  
MARCADORES  
MOLECULARES  
NA PESQUISA AGROPECUÁRIA

# Caderno de Palestras



# MARCADORES MOLECULARES COMO FERRAMENTA NO MELHORAMENTO GENÉTICO DE PLANTAS

---

Marcelo Sfeir de Aguiar<sup>1</sup>

Nas últimas décadas o melhoramento genético convencional tem se baseado na genética mendeliana, associado à genética quantitativa e ao desenvolvimento de métodos estatísticos. Sua importância e contribuição para aumentar a produtividade e a qualidade das culturas e atender à demanda mundial crescente por alimentos são inquestionáveis. No entanto, o melhoramento convencional é um processo moroso e os ganhos são cada vez mais difíceis de serem alcançados. A natureza poligênica das características de importância agrônômica e a interação do genótipo com o ambiente constituem alguns dos grandes desafios para os melhoristas de planta.

Por esta razão, os melhoristas têm buscado formas de continuar obtendo ganhos genéticos integrando técnicas clássicas do melhoramento com aquelas modernas de biologia molecular, em particular, os marcadores moleculares. Com o advento dos marcadores moleculares, vários trabalhos têm sido realizados visando utilizá-los como ferramenta auxiliar nos programas de melhoramento para aumentar o conhecimento básico das culturas e das características estudadas, bem como para a geração e o desenvolvimento de cultivares melhorados de uma maneira mais rápida, precisa e a custos mais baixos.

Atualmente, existe um grande número de marcadores moleculares que pode ser utilizado para fornecer informações úteis aos estudos genéticos e no melhoramento genético de plantas. Cada tecnologia apresenta vantagens e desvantagens e o uso de uma ou de outra vai depender, entre outros fatores,

---

<sup>1</sup> Pesquisador da Embrapa Tabuleiros, Aracaju, SE.



I CICLO DE PALESTRAS  
SOBRE USO DE  
**MARCADORES  
MOLECULARES**  
NA PESQUISA AGROPECUÁRIA

do objetivo do estudo, da infraestrutura disponível, dos recursos financeiros para o investimento, da disponibilidade de recursos humanos com treinamento apropriado e nível de conhecimento da genética molecular da espécie a ser estudada.

Marcadores moleculares podem ser definidos como todo e qualquer fenótipo molecular oriundo de um gene expresso ou de segmento específico do DNA.

Os primeiros marcadores moleculares desenvolvidos foram os marcadores isoenzimáticos ou bioquímicos embasados em diferentes formas moleculares (variantes) de uma mesma enzima, apresentando função idêntica ou similar, presente em um mesmo indivíduo. Esses marcadores, geralmente fornecem ampla informação genética para diversas aplicações e sua técnica é relativamente barata e acessível. Por isso, mesmo hoje, com técnicas mais modernas, as isoenzimas continuam sendo uma classe de marcadores muito útil para análises genéticas que não precisam de uma amostragem ampla do genoma. Porém, quando o estudo requer uma cobertura mais ampla do genoma, como no caso de mapeamento genético ou caracterização detalhada de germoplasma, as isoenzimas apresentam limitações como à reduzida cobertura do genoma, baixo polimorfismo identificado, influência do ambiente (polimorfismo enzimático em resposta a condições ambientais), diferenças na atividade isoenzimática associadas a estágios diferentes de desenvolvimento e a complexidade de alguns zimogramas (padrões de bandas), cuja interpretação é dificultada.

Com o aprimoramento das técnicas de biologia molecular, o DNA passou a ser o ponto focal no desenvolvimento de novos marcadores, os chamados marcadores de DNA que são caracterizados pela detecção da variação natural nas sequências de DNA entre indivíduos e são herdados geneticamente. Os diferentes tipos de marcadores diferenciam-se pela tecnologia utilizada para revelar variabilidade no DNA, e assim variam quanto à habilidade de detectar diferenças entre indivíduos, custo, facilidade de uso, consistência e repetibilidade.



Os principais marcadores podem ser classificados em grupos conforme a metodologia utilizada para identificá-los: marcadores baseados na hibridação com sondas específicas e os marcadores baseados na amplificação do DNA via reação de polimerização em cadeia “PCR” (*Polymerase Chain Reaction*) e marcadores derivados de sequências expressas. Entre os identificados por hibridação estão os marcadores RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) e os minissatélites ou locos VNTR (*Variable Number of Tandem Repeats*). Já aqueles revelados por amplificação incluem os marcadores RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*), SCAR (*Sequence Characterized Amplified Regions*), Microssatélites ou SSR (*Single Sequence Repeat*), AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) e STS (*Sequence Tagged Sites*) (Vale salientar que na literatura são citados também outros tipos de marcadores).

Os marcadores de DNA vêm sendo utilizados como importante ferramenta nos programas de melhoramento genético de plantas. A tecnologia dos marcadores tem viabilizado o estudo da diversidade genética dentro dos bancos de germoplasma permitindo ao melhorista: identificar os acessos duplicados, avaliar o sistema de coleta e manutenção por meio da identificação de regiões geográficas de maior diversidade, bem como auxiliar na escolha dos genitores fornecendo informações genéticas adicionais e mais detalhadas dos genótipos a serem cruzados, aumentando a probabilidade de sucesso nos programas de melhoramento.

Outra vantagem na utilização dos marcadores está na caracterização de variedades, híbridos ou linhagens para auxiliar na proteção de cultivares. Atualmente, a proteção de cultivares tem se baseado quase que exclusivamente em descritores morfológicos. Com o acúmulo de variedades no mercado e a estreita base genética das espécies agronomicamente importantes, os caracteres morfológicos passaram a não permitir a discriminação entre as variedades. Os marcadores de DNA permitem identificar um padrão único destes marcadores (*fingerprinting*) para cada variedade auxiliando no registro e na proteção de novas variedades. A caracterização molecular além de auxiliar na proteção de cultivares também tem auxiliado na avaliação da pureza genética de cultivares



e de sementes, o que nem sempre é possível por meio das características morfológicas.

Os marcadores também têm auxiliado os melhoristas na construção de mapas genéticos de ligação com o objetivo de gerar informações básicas e necessárias para a realização de estudos mais avançados, como o mapeamento de genes de interesse associados à características qualitativas ou quantitativas, bem como os estudos comparativos de sintenia genômica.

Outra aplicação importante dos marcadores tem sido na seleção assistida por marcadores (SAM). A SAM se baseia na seleção indireta utilizando dados fenotípicos e dados moleculares para a presença ou ausência de um fenótipo desejado por meio da sequência ou padrão de bandas do marcador molecular localizado em um gene ou próximo deste. Esta técnica tem auxiliado o melhorista de plantas na introgressão de genes via programa de retrocruzamento, na piramidação de genes de interesse em uma única variedade e na seleção para características de interesse.

Importante ressaltar, que os marcadores apresentam outras inúmeras aplicações como no estudo de filogenias, *pedigree*, diagnose de doenças, predição de híbridos simples, mapeamento comparativo, clonagem de genes com base em mapas, entre outras.

Com o rápido avanço das técnicas, juntamente com a simplificação e redução dos custos, os marcadores de DNA têm sido utilizados rotineiramente em programas de melhoramento genético de plantas, aumentando a eficiência e proporcionando maiores ganhos genéticos. Entretanto, é importante destacar que o papel dos marcadores moleculares não é substituir as atuais técnicas do melhoramento genético convencional e sim, auxiliá-las, visando incrementar os ganhos genéticos nos programas de melhoramento.



## Referências

BORÉM, A.; CAIXETA, E. T. **Marcadores moleculares**. 2ª Ed. Viçosa, 2009. 532p.

FALEIRO, F. G. **Marcadores genético-moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos**. Planaltina, DF : Embrapa Cerrados, 2007. 102 p.

GUIMARÃES, C. T; MAGALHÃES, J. V. de; LANZA, M. A.; SCHUSTER, I. **Marcadores moleculares e suas aplicações no melhoramento genético**. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v.30, n.253, nov./dez 2009.

MILACH, S. C. K. Marcadores de DNA. **Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v.5, p.14-17, 1998b.

OLIVEIRA, C. B. de O.; CAIXETA, E. T.; ZAMBOLIM, E. M.; ZAMBOLIM, L.; SAKIYAMA, N. S. **Aplicação técnica de marcadores moleculares no melhoramento de plantas**. Campinas: Instituto Agronômico (Documentos IAC , 81), 2007. 17p



# CARACTERIZAÇÃO DE GERMOPLASMA

Karla Cristina Santos Freire<sup>1</sup>

Em função da grande importância da cultura para o País, foram criados e vêm sendo mantidos bancos de germoplasma. Estes têm como finalidade principal reunir em um local parte da variabilidade genética, visando a evitar a perda de genes ou de combinações gênicas (erosão genética), para, dessa forma, assegurar ampla base genética para programas de melhoramento (FUKUDA, 1996). Considerado parte essencial da biodiversidade, o recurso genético é utilizado pelo homem para a promoção do desenvolvimento sustentável da agricultura e produção de alimentos. Os recursos que são utilizados em pesquisas de melhoramento genético e biotecnologia e que são responsáveis pelo manejo da variabilidade dentro de cada espécie, designa-se germoplasma.

Segundo Allard (1971), germoplasma também pode ser definido como a soma total de materiais de uma espécie, sejam eles representados sob a forma de plantas, tecidos, sementes ou estruturas mais simples. Os bancos de germoplasma, normalmente, são constituídos por variedades antigas (etnov variedades), variedades modernas (melhoradas) e variedades silvestres do mesmo gênero da cultura. Em função de reunirem ao mesmo tempo constituições genéticas de diferentes origens e de diferentes níveis de melhoramento, podem constituir-se em ótimas fontes de genes para os programas de melhoramento genético. Entretanto, para que toda essa variabilidade seja utilizada com frequência e eficiência, é necessário que o pesquisador conheça o germoplasma disponível em relação à variabilidade e ao desempenho agrônômico.

Como uma estratégia de combate a erosão genética de espécies nativas, pesquisadores se empenham em metodologias para conservação dos germoplasmas. A conservação *ex situ* é a mais utilizada, que se fundamenta

<sup>1</sup> Doutoranda da Rede Nordeste de Biotecnologia.



na conservação das espécies a campo, fora do lugar de origem, em Bancos de Germoplasma (BAGs). Os BAGs são unidades conservadoras de material genético de uso imediato ou com potencial de uso futuro, onde não ocorre o descarte de acessos, o que os diferencia das coleções de trabalho, que são aquelas em que se elimina o que não interessa ao melhoramento genético.

De acordo com Brondani et al. (2006), com a implantação de um BAG, a variabilidade genética não somente é conservada, como pode ser ampliada, com a introdução constante de novos acessos e/ou cultivares, oriundos de programas de melhoramento e de áreas de ocorrência. A diversidade adquirida com esse procedimento possibilita o surgimento de novas combinações alélicas, bem como de adaptações a ambientes específicos, resultando em vantagens para a espécie.

No Nordeste brasileiro existem aproximadamente 21 BAGs, que conservam aproximadamente 15 mil acessos de várias espécies (NASS, 2007), destacando-se as frutíferas. As atividades que caracterizam um BAG são identificadas pelas fases sequenciais envolvidas na manutenção de recursos genéticos, como coleta, multiplicação, caracterização, avaliação e conservação (GIACOMETTI, 1988).

O conhecimento da variabilidade genética das populações do Banco Ativo de Germoplasma que sofrem pressão antrópica pode contribuir para o desenvolvimento de um manejo adequado da população florestal, a fim de evitar a redução dessa variabilidade. Outros benefícios podem ser agregados com o manejo, como a coleta de sementes das espécies que compõem os fragmentos, estas podem ser utilizadas na recomposição de áreas degradadas e ajudar na recomposição de novos ambientes.

A caracterização do germoplasma é o ponto de partida para que o pesquisador defina quais acessos serão incluídos na etapa de avaliação agrônômica. Portanto, primeiro o pesquisador faz uma caracterização mais ampla e, a partir daí, define com maior objetividade os acessos que serão submetidos à etapa de avaliação agrônômica, etapa esta em que os acessos são avaliados em experimentos mais elaborados, que permitem a obtenção de informações sobre o desempenho dos



genótipos em relação aos principais caracteres de interesse (HIDALGO, 2003).

A caracterização do germoplasma pode ser realizada por meio do emprego de caracteres fenotípicos (agronômicos e descritores morfológicos), dados de passaporte e marcadores moleculares. Dentre estas ferramentas, a de mais fácil utilização e de menor custo, é a caracterização por meio dos dados de passaporte, desde que estas informações estejam disponíveis, o que não ocorre para grande parte dos acessos da maioria dos bancos de germoplasma. A utilização de marcadores moleculares na caracterização de germoplasma vem crescendo nos últimos anos, principalmente em função de estes não sofrerem influência do ambiente e possibilitarem a geração de uma grande quantidade de informação referente ao genoma da espécie (MÜHLEN et al., 2000; COLOMBO et al., 2000; CARVALHO et al., 2001; ELIAS et al., 2001; ZACCARIAS et al., 2004). Contudo, o custo dessa metodologia ainda é o principal entrave para a utilização em larga escala. Dentre os caracteres fenotípicos, os agrônômicos, apesar de importantes, não são adequados para a caracterização de germoplasma em função de serem muito influenciados pelo ambiente (ELIAS et al., 2001). Desta forma, cresce a importância da utilização dos descritores morfológicos na caracterização do germoplasma por serem relativamente de fácil aferição, de menor custo e menos influenciados pelo ambiente.

Segundo Leão (2009), os recursos fitogenéticos são conservados para serem utilizados quando for necessário, e isto só é possível quando suas características e utilidades forem conhecidas. Através da análise de um conjunto de dados sobre o germoplasma, podemos diferenciar seus acessos, determinar sua utilidade, estrutura, variabilidade genética e relações entre eles, e localizar genes que estimulem o seu uso na produção ou no planejamento, ou no melhoramento de culturas.

A avaliação da diversidade genética entre os acessos de um BAG resulta em informações de potenciais genitores a serem utilizados em programas de melhoramento, possibilita a identificação de duplicatas e o intercâmbio de germoplasma entre pesquisadores. Com esse intuito, foi implantado em 2009,



o Banco Ativo de Germoplasma de Jenipapeiro no Campo Experimental Jorge Sobral, em Nossa Senhora das Dores, na Embrapa Tabuleiros Costeiros. Apesar de se tratar de cultivo extensivo, a exploração do jenipapeiro parece pode ser uma atividade em potencial, devido aos baixos custos com insumos, proporcionando renda para grande número de famílias. Na literatura, poucos são os trabalhos encontrados envolvendo o melhoramento do jenipapeiro. A escassez de informações da espécie associada à exploração extrativista torna a espécie bastante vulnerável, com risco de perdas de genótipos com características superiores, para aproveitamento econômico e também acarreta em uma possível redução de sua diversidade (SOUZA, 2007).

No Brasil, o sistema de conservação de recursos genéticos é coordenado pela Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia e funciona através de uma rede de coleções ativas (Bancos Ativos de Germoplasma) situados em diversos locais do país em Unidades de Pesquisa, Universidades e Instituições Estaduais.

Para identificação de genes de interesse, é fundamental o conhecimento do grau de variabilidade genética. Para isso, podem ser realizadas avaliações morfológicas e/ou moleculares.

Os marcadores mais antigos e amplamente difundidos são os que têm como base características morfológicas. Estes ainda continuam sendo aplicados com eficiência e suas principais vantagens residem no fato de serem simples, rápidos e com baixo custo de análise.

Marcadores moleculares também têm sido amplamente utilizados na caracterização de germoplasmas, principalmente por fornecer informações sobre a variabilidade genética ao nível do DNA eliminando possíveis efeitos ambientais. A combinação das duas avaliações (morfológica e molecular) pode resultar em importantes informações para a gestão do BAG e uso em programas de melhoramento da espécie.



Para que variedades cultivadas sejam constituídas, é necessário que haja diversidade genética suficiente, capaz de selecionar indivíduos que possam ser utilizados em programas de melhoramento. Por isso, o estudo dos componentes da variabilidade da espécie reveste-se de grande importância, especialmente para espécies nativas ainda pouco estudadas, cuja magnitude da diversidade é desconhecida.

Iniciativas como essa, permitirão ampliar a oferta de variabilidade genética de fruteiras, de importância econômica, e de fruteiras nativas, para utilização nos programas de melhoramento, mediante a reestruturação das coleções dos BAGs e a otimização das ações de introdução, caracterização, avaliação e conservação de germoplasma regional.

## Referências

ALLARD, R. W. **Princípio de melhoramento genético de plantas**. São Paulo: Edgard Blucher Ltda., p. 381, 1971.

BRONDANI, C.; BRONDANI, R. P. V.; RANGEL, P. H. **Utilização de marcadores moleculares em programas de ampliação de base genética de espécies cultivadas**. Santo Antônio de Goiás: EmbrapaArroz e Feijão, p. 36, 2006.

CARVALHO, L. J. C. B.; ACHAAL, B. A. Assessing genetic diversity in the cassava (*Manihot esculenta* Crantz) germplasm collection in Brazil using PCR-based markers. **Euphytica**, Dordrecht, v.120, n.1, p.130-140, 2001.

COLOMBO, C.; SECOND, G.; CHARRIER, A. Diversity within American cassava germ plasm based on RAPD markers. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v.23, n.1, p.189-199, 2000.

ELIAS, M.; McKEY, D.; PANAUD, O.; ANSTETT, M. C.; ROBERT, T. Traditional management of cassava morphological and genetic diversity by the Makushi



Amerindians (Guyana, South America): Perspectives for on-farm conservation of crop genetic resources. **Euphytica**, Dordrecht, v.120, n.1, p.143-157, 2001.

FUKUDA, W. M. G. **Banco de germoplasma de mandioca: manejo, conservação e caracterização**. Cruz das Almas: EMBRAPA – CNPMF, p.103, 1996.

GIACOMETTI, D. C. Descritores para caracterização e avaliação de germoplasma. In: ENCONTRO SOBRE RECURSOS GENÉTICOS, I. 1988, Jaboticabal, SP. **Anais ...** Jaboticabal: UNESP - FCAV / EMBRAPA - CENARGEN, p.129-139, 1988

HIDALGO, R. Variabilidad genética y caracterización de espécies vegetales. In: FRANCO, T. L.; HIDALGO, R. (Eds.). **Análisis estadístico de datos de caracterización morfológica de recursos fitogenéticos**. Cali: IPGRI, p.89, 2003.

LEÃO, A. P. **Caracterização morfoagronômica de acessos de *Coffea arabica* L.** 64p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. 2009.

MÜHLEN, G. S.; MARTINS, P. S.; ANDO, A. Variabilidade genética de etnovarietades de mandioca, avaliada por marcadores de DNA. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.57, n.2, p.319-328, 2000.

NASS, L. L. **Recursos Genéticos Vegetais**. Brasília:Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, p. 858, 2007.

SOUZA, C. N. **Características físicas, físico-químicas e químicas de três tipos de jenipapos (*Genipa americana* L.)**. Dissertação de mestrado, Ilhéus- Bahia, 2007.

ZACARIAS, A. M.; BOTHA, A. M.; LABUSCHAGNE, M. T.; BENESI, I. R. M. Characterization and genetic distance analysis of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) germplasm form Mozambique using RAPD fingerprinting. **Euphytica**, Dordrecht, v.138, n.1, p.49-53, 2004.



# ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE *XYLELLA FASTIDIOSA*, EM SERGIPE

Luzia Nilda Tabosa Andrade<sup>1</sup>

*Xylella fastidiosa*, bactéria limitada aos vasos do xilema, é agente causal de diversas doenças de importância econômica como a requeima do cafeeiro (*Coffea arabica*), escaldadura da ameixeira (*Prunus salicina*) e o mal de Pierce da videira (*Vitis vinifera*) (Wendland et al., 2003). Uma das subespécies (*X. fastidiosa* subsp. *pauca*) é a causadora da clorose variegada dos citros (CVC), considerada uma das mais importantes doenças da citricultura no Brasil. Sua importância decorre do fato de afetar todas as variedades comerciais de laranja doce, a principal exploração brasileira (Lee et al., 1992). A CVC provoca a redução na produção em termos de peso e número de frutos (Laranjeira & Palazzo, 1999) além de diminuir a vida útil dos pomares (Neto & Lopes, 2003). A doença foi constatada pela primeira vez em 1987, na região Norte de São Paulo, de onde se espalhou tornando-se uma ameaça à citricultura brasileira (Rosetti & De Negri, 1990). Em Sergipe, foi comprovada em 1996 (Melo et al., 1996; Laranjeira et al., 1996) e, atualmente já se encontra disseminada em toda a região produtora do estado, causando prejuízos a quem depende direta e indiretamente dessa atividade agrícola. A transmissão da *X. fastidiosa* nas plantas se dá por enxertia e na dependência de insetos vetores (cidadéldeos), responsáveis pela disseminação natural da bactéria. A presença constante em pomares de espécies de cigarrinhas vem sendo alvo de maiores estudos, e admite-se que a dispersões do patógeno em médias e longas distâncias são feitas por meio de mudas contaminadas (Carlos et al. 1997). A doença pode ser detectada por observação de sintomas nas folhas e frutos e por métodos de diagnóstico sorológicos e moleculares. Dentre estes os testes moleculares implicam maior sensibilidade e precisão, portanto a técnica de PCR “Polymerase Chain Reaction” proporciona um diagnóstico rápido e seguro, sem a presença de reações inespecíficas (Minsavage et al., 1994; Pooler & Hartung, 1995). O



objetivo deste estudo foi diagnosticar e caracterizar a *X. fastidiosa* pela técnica de PCR, em amostras de citros, coletadas em pomares da região citrícola de Sergipe. Foram coletadas folhas sintomáticas de pomares da região citrícola de Sergipe, abrangendo quatorze municípios, formando um total de 155 amostras compostas. O material sintomático foi analisado nos laboratórios do Fundecitrus, Araraquara, SP, e no Biotecnologia Molecular da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE. De cada amostra sintomática foram retirados os pecíolos e feito perfusão dos mesmos (Lima et al., 1997; Teixeira et al, 2001); bem como foram realizados o isolamento do material vegetal, o plaqueamento da bactéria em meios específicos, em seguida a extração do DNA genômico e, sua caracterização molecular por AP-PCR (*Arbitrarily Primed – PCR*). Para realização do AP-PCR foi selecionado, pelo menos um representante de cada isolado, proveniente dos municípios da região citrícola de Sergipe e, como padrão foram utilizados as linhagens de São Paulo (J1a12 e 9a5c) cujo DNA genômico foi sequenciado no Projeto Genoma *Xylella*. As reações de PCR utilizando material da perfusão de pecíolos constatou a presença da bactéria *Xylella fastidiosa* em 65% das amostras analisadas, porém o isolamento não ocorreu na mesma proporção. Das 155 amostras processadas, foram obtidas 32 clones (colônias). Com esse número foi possível realizar a reação de RAPD e identificar os perfis de *Xylella fastidiosa* presente no Estado de Sergipe, em amostras de citros. Pela análise do gel de agarose das amostras, observou-se que existe apenas uma linhagem de *Xylella fastidiosa* originária da região citrícola de Sergipe.

## Referências

CARLOS, E.F., RODRIGUES NETO, J. & BERETTA, M.J.G. A bactéria *Xylella fastidiosa*. In: DONADIO, L.C. & MOREIRA, C.S. Clorose variegada dos citros. 1ª ed., Fundecitrus. 1997.

LARANJEIRA, F.F., MÜLLER, G.W., TRINDADE, J. & SILVA, L.M.S. Constatação da clorose variegada dos citros (CVC) no Estado de Sergipe. **Fitopatologia**

---

<sup>1</sup> Pesquisadora da Empresa de Desenvolvimento Agropecuário de Sergipe.



**Brasileira**, v.21, p. 521. 1996.

LARANJEIRA, F. & PALAZZO, D. A. Danos qualitativos à produção de laranja Natal ´ causados pela clorose variegada dos citros. **Laranja**, v.20, p.77-91, 1999.

LEE, R. F. et al. Development of a serological assay for citrus variegated chlorosis – a new disease of citrus in Brazil. **Precedings Florida States Horticulture Society**, winter haven, v. 105, p.32-34,1992.

LIMA, J.E.O; MIRANDA, V.S; ROBERTO, S.R; COUTINHO, A; PALMA, R.R; PIZZOLITTO, A.C. Diagnose da clorose variegada dos citros por microscopia ótica. **Fitopatologia Brasileira**, v.22, n.3, p.370-374, 1997

MELO, M.B. de; LARANJEIRA, F.F.; SILVA, L.M.S. da & TRINDADE, J. Clorose variegada dos citros (CVC) em pomares de Sergipe. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.19, n.3, p. 271-274. 1996.

MINSAVAGE, V. G.; THOMPSON, C. M.; HOPKINS, D. L.; LEITE, R. M. V. B. & STALL, R. E. Development of a polymerase chain reaction protocol for detection of *Xylella fastidiosa* in plant tissue. **Phytopathology**, v.84, n.5, p. 456-461, 1994.

NETO, J. R & LOPES, S. A. Manejo integrado de doenças bacterianas dos citros. **Fitopatologia Brasileira**, v.28 (Suplemento), p. S72-S74, 2003.

POOLER, M.R; HARTUNG, J.S. Specific PCR detection and identification of *Xylella fastidiosa* strains causing citrus variegated chlorosis. **Current Microbiology**, v.31, p.377-381, 1995

ROSSETTI, V & DE NEGRI, D. Clorose variegada dos citros (CVC). Revisão. In: TEÓFILO S. J. (ED.) **Laranja**, v.11, n.1, p.1-14, 1990.



TEIXEIRA, D.C; PALMA, R.R; FRANCISCHINI, F.J.B; DE AQUINO, R; MONTEIRO, P.B. Comparação de duas metodologias de extração da bactéria *Xylella fastidiosa* de tecidos de citros. **Fitopatologia Brasileira**, v.26 (suplemento), p.273, 2001.

WENDLAND, A.; TRUFFI, D.; LEITE JÚNIOR, R.P. & CAMARGO, L.E.A. Seqüenciamento e variabilidade do fragmento genômico de *Xylella fastidiosa* amplificado pelos iniciadores RST31/33. **Fitopatologia Brasileira**, v.28 n.3, 2003.



# IDENTIFICAÇÃO DE ESPÉCIES DE *MELOIDOGÝNE* EM CANAVIAIS DO NORDESTE BRASILEIRO

Lílian Margarete Paes Guimarães<sup>1</sup>

O cultivo da cana-de-açúcar está associado a história econômica, social e cultural do Brasil. A indústria canvieira é uma das principais atividades sócio econômicas do Nordeste gerando empregos e renda. Levando-se em consideração a necessidade e a crescente procura por novas alternativas de combustível, o Governo Federal tem promovido incentivos à produção do etanol, como combustível renovável de alto valor agregado com responsabilidade social e ambiental. No entanto a produção de cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.) no Nordeste tem sido baixa quando comparada com as regiões Sudeste e Centro-Oeste. Várias causas são consideradas para diminuição da produção, tais como fertilidade do solo, baixo índice pluviométrico, pragas e doenças. Dentre as doenças, as nematoses se destacam devido à alta incidência e aos elevados custos para o controle. As principais nematoses em cana-de-açúcar são causadas pelos endoparasitos sedentários *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood e *M. javanica* (Treub) Chitwood, e pelo nematoide das lesões radiculares *Pratylenchus zaeae* Graham, um endoparasito migrador (CADET; SPAUL, 2005).

Os nematoides são organismos microscópicos, vermiformes, apresentando simetria bilateral, podendo ser de vida livre, parasitas de plantas, de insetos, animais, fungos, bactérias, algas ou mesmo outros nematoides. Os nematoides parasitos de plantas não estão distribuídos uniformemente no solo, motivo pelo qual, é possível constatar, as altas populações de duas ou mais espécies, em uma mesma área (BARROS et al., 2000; CHAVES et al, 2002). Além do mais,

<sup>1</sup> Professora da Universidade Federal da Paraíba, Campus de Areia.



nem sempre, uma mesma variedade de cana se comporta como resistente ou tolerante em relação às diferentes espécies de nematoides (CHAVES et al., 2004). O uso contínuo de poucos genótipos por muito tempo proporcionou evolução e consequente estabelecimento dos problemas fitossanitários causados por esses patógenos (MOURA, 2000).

Para que se aplique uma medida de controle é necessária avaliação da área cultivada. Essa avaliação é realizada antes da renovação de talhões de cana-de-açúcar, que apresentam variações nas dimensões, na maioria das vezes são maiores que 1 ha com produtividade baixa (menor que 40 t/ha). Variações nas densidades populacionais, podem ser observadas na presença de um ou ambos parasitos (*Meloidogyne* e *Pratylenchus*), consideradas altas, maiores que 500 adultos e juvenis para *Meloidogyne* spp., e maiores que 5.000 adultos e juvenis para *P. zaei* (MOURA; GUIMARÃES, 2004).

Com o propósito da obtenção de variedades resistentes a esses parasitos alguns estudos estão sendo desenvolvidos em todo Nordeste. No entanto, para que ocorra aumento na produtividade exige maior conhecimento dos parasitos existentes no campo, sendo necessária a utilização de técnicas para quantificação e identificação dos nematoides.

Sabe-se que os fitonematoides são organismos de difícil identificação pelo tamanho diminuto e dificuldade de observação microscópica das estruturas internas, pois, algumas são pouco visíveis, sendo necessários exemplares em excelentes condições como também técnicos treinados com experiência para diagnóstico através da microscopia óptica convencional (HEYNS, 1983; OLIVEIRA, 2009). Com o advento da biologia molecular algumas técnicas já são utilizadas em todo mundo para identificação e até quantificação desses parasitos tais como: eletroforese de isoenzimas, extração de DNA, RFLPs (Restriction fragment length polymorphisms), PCR (Reação de Polimerização em Cadeia) entre outras (PERRY; MOENS; STAR, 2010).

Entretanto, à utilização de técnicas como a eletroforese de isoenzimas, que



consiste na migração de moléculas ionizadas de acordo com suas cargas elétricas e pesos moleculares em um campo elétrico, é a mais difundida para identificação do gênero *Meloidogyne* spp. em canaviais nordestino (ALONSO; ALFENAS, 2006).

A metodologia proposta por Alfenas et al. (1998) com modificações, na avaliação por marcadores isoenzimáticos, o gel de poliacrilamida a 7% AA/BIS (acrilamida e bis-acrilamida) é preparado e posteriormente revelado em uma solução corante (RAMMAH; HIRSHMANN, 1990; CARNEIRO et al., 1998). A interpretação dos géis é feita com base no número, intensidade da coloração e posição das bandas de proteínas de isoesterase, no gel de poliacrilamida.

Os fenótipos enzimáticos são designados por uma letra e um número que corresponde, respectivamente, a inicial do nome específico e ao número de bandas (ESBENSHADE; TRIANTAPHYLLOU, 1985, 1990).

Com o auxílio dessa técnica já foram identificadas populações em várias unidades produtoras dos estados da Paraíba e Pernambuco. Em Pernambuco, pode-se afirmar que *M. incognita* predominou com aproximadamente 67% e *M. javanica* com 33% das populações identificadas. A Paraíba apresentou em todas as áreas estudadas uma população 100% de *M. incognita*. No entanto, ocorreu a presença de dois fenótipos dessa espécie para esterase I1(EST I1) e I2 (EST I2) (MEDEIROS, 2011). Com esses resultados pode-se fazer um manejo mais adequado para as áreas estudadas, obtendo-se assim um controle mais eficiente.

## Referências

ALFENAS, A. C. **Eletroforeses de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos**. Minas Gerais: Editora Universidade Federal de Viçosa. 1998. 574 p.

ALONSO, S.K.; ALFENAS, A.C. I soenzimas na taxonomia e na genética de fitonematóides. (Eds.). **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos**



e aplicações em plantas e microrganismos. Viçosa: Editora UFV, 2006. p. 525-543.

BARROS, A.C.B.; MOURA, R.M.; PEDROSA, E.M.R. Aplicação de Terbufos no controle de *Meloidogyne incognita* raça 1 e *Pratylenchus zeae* em cana-de-açúcar. Parte 1 – Efeitos na cana planta. **Fitopatologia Brasileira**, v.24, p.73-78, 2000.

CARNEIRO, R. M. D. G.; CASTAGNONE-SERENO, P.; DICKSON, D. W. Variability among four populations of *Meloidogyne javanica* from Brazil. **Fundamental and Applied Nematology**, Montrouge, v. 21, n. 4, p. 319-326. 1998.

CHAVES, A.; PEDROSA, E.M.R.; MOURA, R.M. Efeitos da aplicação de terbufos sobre a densidade populacional de nematóides endoparasitos em cinco variedades de cana-de-açúcar no Nordeste. **Nematologia Brasileira**, v.26, p.167-176, 2002.

CHAVES, A.; PEDROSA, E.M.R.; MELO, L.J.O. Efeito de carbofuran, torta de filtro e variedades sobre a densidade populacional de fitonematóides em áreas com mau desenvolvimento da cana-de-açúcar. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v. 28, p. 101-103. 2004.

CADET, P.; SPAUL, V.W. Nematode parasites of sugarcane. In: LUC, M.; SIKORA, R.A.; BRIDGE, J. **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**. Cambridge: CABI, p. 645-674. 2005.

HEYNS, J. Problems of species delimitation in the genus *Xiphinema*, with special reference to monosexual species. In: STONE, A.R.; PLATT, H.M.; KHALIL, L.F. (Eds.). **Concepts in Nematode Systematics**. Systematics Association & Academic Press, London –UK, p. 163-174.

MEDEIROS, J.E. **Influencia da fertirrigação na nematofauna e caracterização isoenzimática de *Meloidogyne* spp. em cana-de-açúcar**. 2011, Tese (Doutorado



em Fitopatologia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2001.

MOURA, R. M. Controle integrado dos nematóides da cana-de-açúcar no Nordeste do Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRA DE NEMATOLOGIA, 22., 2000, Uberlândia. **Anais...** Uberlândia: Sociedade Brasileira de Nematologia, 2000. p. 88-94.

MOURA, R.M.; GUIMARÃES, L.M.P. Dados históricos e evolutivos da fitonematologia da cana-de-açúcar. **Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, v.1, p. 69-78. 2004.

OLIVEIRA, A.M.G.; MACHADO, A.C.Z.; KUBO, R.K.; HARAKAVA, R. Diagnose de *Aphelenchoides fragariae* e *Pratylenchus* spp. pela aplicação da tecnologia do código de barras do DNA. **Nematologia Brasileira**, v. 33, p. 218-225.

PERRY, R.P.; MOENS, M.; STARR, J.L. Root-knot nematodes. Cambridge: CABI. 2010. 468p.

RAMMAH, A.; HISRSCHIMANN, H. Morphological comparison of three host races of *Meloidogyne* species. **Journal of Nematology**, Hanover, v. 21, n. 3, p. 342-346. 1990.



## Pacotes bioestatísticos utilizados para estudos de diversidade genética

---

Allívia Rouse Carregosa Rabbani<sup>1</sup>

O conceito de impressão genética foi introduzido pela primeira vez na década de 1980, e nessa ótica foram criados os marcadores moleculares (Jaffrey et al., 1985). Estes têm sido vistos como instrumentos para um grande número de aplicações, dentre elas, a localização de um gene para a melhoria das variedades de plantas (Gupta et al., 1999). Também se tornaram extremamente populares para análise filogenética, acrescentando novas dimensões nas teorias evolutivas, e se tornaram o principal instrumento para mensuração da diversidade genética existente entre grupos de indivíduos e de populações (Collard e Mackill, 2008).

Vários tipos de marcadores moleculares são utilizados para avaliar o polimorfismo de DNA e são geralmente classificados como marcadores de hibridização e/ou de reação em cadeia da polimerase (PCR, *Polymerase Chain Reaction*) (Mohan et al., 1997). Independente da técnica base, os fragmentos de DNA amplificados são separados por eletroforese e os padrões de bandeamento são detectados por diferentes métodos, tais como coloração e autorradiografia (Swati et al., 1999).

Entretanto, o padrão eletroforético definido pelos marcadores por si só não podem ser analisados, existem um conjunto de cálculos que associados ao padrão de bandeamento objetam sobre o material estudado. Para estimativas razoavelmente precisas e imparciais da diversidade genética, a devida atenção deve ser dedicada às estratégias de amostragem dos dados, o tipo de distância genética, o tipo de agrupamento, entre outros métodos multivariados para a determinação das relações genéticas.

---

<sup>1</sup> Bolsista de Desenvolvimento Científico Regional do CNPq/FAPITEC, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE.



Foi na década de 1990 que houve a difusão dos primeiros pacotes estatísticos para a biologia molecular, onde programas foram criados especificamente para auxiliar os estudos de diversidade (Garnier-Gere e Dillmann, 1992; Kumar et al., 1993; Rohlf, 1993). Os programas possibilitavam a geração de resultados em um espaço curto de tempo, automatizando e agilizando as inferências e tomada de decisões sobre o material alvo. Esse passo foi importante principalmente para os institutos de pesquisa que manipulavam um grande volume de dados.

Inicialmente os primeiros programas para biologia molecular foram desenhados em linguagem C++ para computadores IBM. Estes foram elaborados por grupos de pesquisas nas diversas universidades pelo globo, e sendo disponibilizados gratuitamente, porém eram restritos a poucos pesquisadores e muito difíceis de serem manipulados. Atualmente, a maioria dos programas são intuitivos, sendo projetados para sistemas operacionais como Windows, Unix/Linux ou Macintosh. Entre os mais conhecidos, estão o Arlequin v. 3.5 (Excoffier e Lischer 2010), Genodive (Meirmans e Tienderen, 2004), MEGA v.5 (Tamura et al., 2011), Structure v.2.3 (Hubisz et al., 2009), Genepop 4.1 (Rousset, 2008), Genes (Cruz, 2006), Genetix v.4.05 (Belkhir et al., 1996-2004), SPAGED1 (Hardy et al., 2002); DBOOT (Coelho, 2001), PowerMarker v.3.25 (Liu e Muse, 2005), PAUP\* v.4.0 (Swofford, 2002), NTSysPc v.2.2 (Rohlf, 1998) e o Genalex v.6.5 (Peakall and Smouse, 2012). A depender do marcador utilizado e dos parâmetros que devem ser estimados, um conjunto destes programas pode ser aplicado para a obtenção dos cálculos.

Atualmente a utilização de ferramentas estatísticas por meio de programas de computador é fundamental para a abordagem de questões complexas, relacionados à análise e interpretação dos resultados. Os diversos pacotes matemáticos para análise da variabilidade, em sua maioria, estão disponíveis gratuitamente na rede mundial de computadores. Muitos desempenham funções similares, com diferenças quanto à interface de utilizador, o tipo de dados de entrada e de saída, e do sistema operacional. Nestes termos, a seleção do programa dependerá das preferências individuais do usuário, do tipo de dados e da facilidade de uso.



A descoberta do DNA e a necessidade de gerar informação foi o impulso imprescindível para a criação destes softwares. Os pacotes estatísticos, a cada nova geração, se tornam mais fáceis e intuitivos apesar da complexidade de seu funcionamento. O contínuo aprimoramento das técnicas em nível de DNA proporciona a evolução e concepção de novos programas, sendo cada vez mais confiáveis para a geração e interpretação de resultados para a análise da diversidade genética.

### Referências

BELKHIR, K.; BORSA, P.; CHIKHI, L.; RAUFASTE, N.; BONHOMME, F. **GENETIX 4.05, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations**. Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5171, Université de Montpellier II, Montpellier (France). 1996-2004.

COELHO, A.S.G. **DBOOT**: Avaliação dos erros associados a estimativas de distâncias/similaridades genéticas através do procedimento de bootstrap com número variável de marcadores, versão 1.1. Goiânia: Departamento de Biologia Geral, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, 2001.

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, n.1491, p.557-572, 2008.

CRUZ, C. D. **Programa Genes - Análise multivariada e simulação**. 1. ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2006. v. 1. 175 p.

EXCOFFIER, L.; LISCHER, H.E. L. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. **Molecular Ecology Resources**, v.10, p. 564-567, 2010.

GARNIER-GERE, P.; DILLMANN, C. A computer program for testing pairwise



linkage disequilibria in subdivided populations. **Journal of Heredity**, v.83, n.3, p.239, 1992

GUPTA, P.K.; VARSHNEY, R.K.; SHARMA, P.C.; Ramesh, B. Molecular Markers and their applications in wheat breeding. **Plant Breeding**, v.118, p.369-390, 1999.

HARDY, O.J.; VEKEMANS, X. SPAGEDi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. **Molecular Ecology Notes**, v.2, p. 618-620, 2002.

HUBISZ, M.; FALUSH, D.; STEPHENS, M.; Pritchard, J. Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. **Molecular Ecology Resources**, v.9, p.1322-1332, 2009.

JEFFREYS, A.J.; WILSON, V.; THEIN S.L. Individual-specific 'fingerprints' of human DNA. *Nature*, v.316, p.76-79, 1985.

KUMAR, S.; TAMURA, K.; NEI, M. **Manual for MEGA: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Software**. Pennsylvania State University, University Park, PA, 1993.

LIU, K.; MUSE, S.V. PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. **Bioinformatics**, v.21, n.9, p. 2128-2189, 2005.

MEIRMANS P.G.; VAN TIENDEREN P.H. GENOTYPE and GENODIVE: two programs for the analysis of genetic diversity of asexual organisms. **Molecular Ecology Notes**, v.4, p. 792-794, 2004.

MOHAN, M.; NAIR, S.; BHAGWAT, A.; KRISHNA, T.G.; YANO, M.; BHATIA, C.R.; Sasaki, T. Genome mapping, molecular markers and marker-assisted selection in crop plants. **Molecular Breeding**, v.3, p. 87-103, 1997.



PEAKALL, R.; SMOUSE, P.E. GenAIEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. **Bioinformatics**, In press. 2012.

ROHLF, F.J. NTSYS-PC. **Numerical taxonomy and multivariate analysis system**. Exeter Software, Setauket, N.Y, 1993.

ROHLF, F.J. **NTSYSpc Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System Version 2.0 User Guide**. Applied Biostatistics Inc., Setauket, New York. 1998, 37 p.

ROUSSET, F. Genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. **Molecular Ecology Resources**, v.8, n.1, p.103–106, 2008

SWATI, P.; PRABHAKAR, K.; RANJEKAR, G.; VIDYA S. Molecular markers in plant genome analysis. **Plant Molecular Biology Group**, v. 411, p.6-8, 1999.

SWOFFORD, D. L. **PAUP\***. Phylogenetic analysis using parsimony (\*and other methods). Sinauer Associates, Sunderland, MA, 2002.

TAMURA, K.; PETERSON, D.; PETERSON, N.; STECHER, G.; NEI, M.; KUMAR, S. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. **Molecular Biology and Evolution**, v.28, p.2731-2739, 2011.



# PERSPECTIVAS DO USO DE MARCADORES MOLECULARES PARA A SELEÇÃO DE RUMINANTES ADAPTADOS AO CLIMA TROPICAL

---

Debora Andréa Evangelista Façanha<sup>1</sup>

A maioria dos animais domésticos criados nos países tropicais descende de animais introduzidos pelos colonizadores europeus, os quais passaram por longo período de seleção natural, adquirindo características que possibilitaram a sua sobrevivência em ambientes com temperaturas elevadas, agentes patogênicos e parasitos novos, alimentação diferente, cujos descendentes adaptaram-se às condições tropicais (Silva, 2008).

No entanto, no início do século XX, no sentido de aumentar a produtividade desses animais, foram importadas raças exóticas oriundas de clima temperado, causando uma drástica substituição das raças nativas, e cujas progênes apenas eram avaliadas e selecionadas quanto ao aspecto produtivo, como capacidade de ganho de peso e no rendimento de carcaça, produção de leite (Egito et al. 2006). Entretanto, o sucesso de uma criação depende da escolha de raças ou grupos genético melhor adaptados às condições climáticas de uma determinada região, para a qual se deve considerar também a eficiência produtiva, adaptabilidade ao clima, prolificidade e sobrevivência.

Existem dois caminhos para o incremento da produção nos rebanhos criados na região tropical: o primeiro consiste em utilizar genótipos mais produtivos e fornecer a esses animais um ambiente modificado, de acordo com as seus requerimentos fisiológicos de desempenho. O segundo se refere à utilização de

---

<sup>1</sup> Professora Doutora da Universidade Federal Rural do Semiárido, Departamento de Ciências Animais.



animais adaptados, dentre os quais podem ser selecionados os mais produtivos (Silva, 2008). No caso de ruminantes, a utilização de raças nativas assume um importante papel e vem sendo cada vez mais defendida no mundo, devido ao grande potencial adaptativo de cada grupo genético ao ambiente no qual evoluiu.

Em se tratando de animais de interesse zootécnico, adaptação não significa apenas sobrevivência, mas também reprodução e produção capazes de justificar a sua utilização dentro de um sistema produtivo. Segundo Sejian et al. (2010), animais criados em regiões semiáridas geralmente são sujeitos a mais de um fator estressante simultaneamente e, embora o estresse térmico seja o mais severo, esses animais podem adaptar-se mediante o acionamento de mecanismos termorreguladores, ainda em detrimento de outras funções orgânicas, sobretudo as relacionadas à produção e reprodução. Neste contexto, as características morfológicas do pelame e da epiderme, assim como as reações termorreguladoras, sobretudo ritmo respiratório e taxa sudoreção são importantes mecanismos reguladores da temperatura corporal, cuja associação com respostas endócrinas, bioquímicas e hematológicas permite inferir sobre a homeostase configurando-se como indicadores seguros de adaptabilidade (Sejian et al., 2010).

Atualmente existe um pequeno número de estudos visando à caracterização adaptativa das raças de animais utilizados para a produção de alimentos. No entanto, alguns resultados já foram obtidos através de protocolos amplos, definidos para a avaliação de reações termorreguladoras, além de respostas homeostáticas. Assim, procurou-se no presente trabalho abordar pontos relativos à fenotipagem de animais de produção considerando os aspectos adaptativos, com ênfase voltada para ruminantes, sobretudo às raças nativas de regiões tropicais. Acredita-se que tais animais adquiriram, ao longo de suas histórias evolutivas, características morfofisiológicas que garantiram sua adaptação ao ambiente quente e que tais características podem ser indicadas por marcadores moleculares que precisam ser identificados e utilizados nos programas de Melhoramento Genético.



I CICLO DE PALESTRAS  
SOBRE USO DE  
MARCADORES  
MOLECULARES  
NA PESQUISA AGROPECUÁRIA

O conhecimento sobre as trocas térmicas em animais mantidos sob condições naturais pode contribuir para os programas de Melhoramento Genético, através da identificação e inclusão das características que promoveram a adaptação por favorecerem o balanço calórico dos animais. A seleção para adaptação ao clima quente deve favorecer o fluxo de calor entre os animais e o ambiente, o que define as características a serem consideradas nos programas de seleção (Finch et al., 1985). Os animais adaptados ao calor apresentam respostas fenotípicas que envolvem características morfológicas, sobretudo as de pelame, e fisiológicas, estas mais complexas.

Os aspectos relativos ao pelame, por exemplo, tem alta herdabilidade (Silva, 2008) e podem ser incluídas em programas de seleção. A termólise evaporativa através da sudorese e da taquipnéia são de fato eficientíssimas, entretanto é difícil estabelecer o quanto de cada um desses mecanismos se deve a fatores genéticos ou ambientais. Embora os animais tenham a capacidade orgânica para suar ou para ofegar sem comprometer o equilíbrio ácido-base, essas atividades necessitam obrigatoriamente de *inputs* ambientais para serem acionados e, provavelmente por esta razão, podem ter baixa herdabilidade. A seleção para resistência ao estresse térmico pode ser conduzida através das informações fenotípicas e de pedigree, no entanto, recentemente vem sendo proposta a seleção através do uso de marcadores moleculares. Os progressos genéticos obtidos com o uso de métodos tradicionais em populações pequenas, como as raças nativas, podem ser retardados pelo processo natural de obtenção de informações ou pelo longo tempo necessário para gerar o volume de dados suficientes para uma seleção segura. Neste caso a seleção através do uso de marcadores moleculares vem se configurando como uma técnica promissora, apesar de pouco ter sido publicado até os dias atuais.

Uma abordagem interessante sobre genes envolvidos com respostas ao estresse térmico foi publicada por Collier et al. (2008), na qual foi relatado que tais respostas estão altamente correlacionadas com as HSPs (Heat Shock Proteins), uma família de genes também comprovadamente relacionada com estressores de naturezas diversas, como frio, calor, privação de oxigênio e de alimentos



(Feder & Hofmann, 1999). Já foi reportada a associação entre termotolerância e alguns SNPs específicos, como são HSP 70-1, sendo este sugerido como um possível marcador molecular para para seleção assistida em bovinos (Basiricò et al., 2011).

Resultados similares foram encontrados por Li et al. (2011), trabalhando com vacas Holandesas na China, enquanto que Charoensook et al. (2012) trabalhando também com bovinos demonstraram a influência do polimorfismo da HSP 90-AB1 na tolerância ao calor. A caracterização dos principal membro da família, a HSP70-1 foi analisada em caprinos por Gade et al. (2010) e a sequencia de análises revelou um gene codificado por 641 aminoácidos, como referido em bovinos. A influencia do ambiente térmico na expressão gênica da HSP foi estudada em caprinos por Dangi et al., (2012), que encontraram resultados contrastantes, nos quais apenas HSP60 e HSP70 exibiram uma expressão diferenciada comparando-se as estações do ano, em região temperada. Todos esses resultados podem sugerir um possível envolvimento da família HSP na redução dos efeitos negativos do estresse térmico.

Outros genes recentemente estudados em relação aos seus possíveis efeitos sobre a termotolerância são aqueles relacionados à  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  -ATPase. Dois diferentes SNPs foram encontrados no gene ATP1A1 e foram associados à termotolerância na espécie bovina. (Li et al. Liu et al., 2010; Liu et al., 2011) enquanto que Wang et al. (2011) encontraram associação significativa para o gene ATP1B2.

Até a presente época as informações obtidas sobre genes envolvidos com termotolerância são promissoras e confirmam que este é o caminho mais viável a ser seguido. Até o ano 2030 estima-se que o planeta será cerca de  $2^\circ\text{C}$  mais aquecido que nos dias atuais, justificando assim a importância vital de se identificar animais resistentes ao estresse térmico, que possam ser criados em sistemas extensivos para a produção de proteína nestas condições extremas. Assim, estudos futuros são fundamentais para dar suporte à hipótese de que esses marcadores moleculares relacionados possam ser utilizados para todas as



espécies de animais de produção.

## Referências

- Basiricò, L., Morera, P., Primi, V., Lacetera, N., Nardone, A., Bernabucci, U. (2011). Cellular thermotolerance is associated with heat shock protein 70.1 genetic polymorphisms in Holstein lactating cows. *Cell Stress and Chaperones*. 16, 441–448.
- Collier, R.J. , Collier, J.L., Rhoads, R.P., Baumgard, L.H. 2008. Invited Review: Genes Involved in the Bovine Heat Stress Response. *Journal of Dairy Science*. 91:445-454.
- Dangi, S.S., Gupta, M., Maurya, D., Yadav, V.P., Panda, R.P., Singh, G., Mohan, N.H., Bhure, S.K., Das, B.C., Bag, S., Mahapatra, R., Taru Sharma, G., Sarkar, M. 2012. Expression profile of HSP genes during different seasons in goats (*Capra hircus*). *Trop. Anim. Health Prod.* doi: 10.1007/s11250-012-0155-8.
- Egito, A. A; Mariante, A. S; Albuquerque, M. S. M. Programa brasileiro de conservação de recursos genéticos animais. **Archivos de Zootecnia**, v. 51, n. 4, p. 39-52, 2002.
- Feder, M.E., Hofmann, G.E., 1999. Heat-shock proteins, molecular chaperones, and the stress response: evolutionary and ecological physiology. *Annu. Rev. Physiol.* 61:243-282.
- Finch, V. A., Dmi'el, Razi., Shkolnik, A., Taylor, R., 1980. Why black goats in hot deserts? Effects of coat color on exanges of wild and domestic goats. *Physiological Zoology*. 53, 19-25.
- Gade, N., Mahapatra, R.K., Sonawane, A., Singh, V.K., Doreswamy, R., Saini. M. 2010. Molecular characterization of Heat Shock Protein 70-1 gene of goat (*Capra hircus*). *Mol. Biol. Int.* Article ID 108429, 7 pages. doi:10.4061/2010/108429



Li, Q., Han, J., Du, F., Ju, Z., Huang, J., Wang, J., Li, R., Wang, C., Zhong, J. 2011. Novel SNPs in HSP70A1A gene and the association of polymorphisms with thermo tolerance traits and tissue specific expression in Chinese Holstein cattle. *Mol. Biol. Rep.* 38:2657-2663.

Liu, Y., Li, D., Li, H., Zhou, X., Wang, G. 2011. A novel SNP of the ATP1A1 gene is associated with heat tolerance traits in dairy cows. *Mol. Biol. Rep.* 38:83-88.

Liu, Y.X., Zhou, X., Li, D.Q., Cui, Q.W., Wang, G.L. 2010. Association of ATP1A1 gene polymorphism with heat tolerance traits in dairy cattle. *Genet. Mol. Res.* 9: 891-896.

Sejian, V., Srivastava, R. S., 2010. Effects of melatonin on adrenal cortisol functions of Indian goats under thermal stress. *Veterinary Medicine International*. 2010, article 348919, 1-6.

Silva, R. G., 2008. *Biofísica Ambiental "Os Animais e seu Ambiente"*. Sao Paulo:Funep.450 p.

Wang, Z., Wang, G., Huang, J., Li, Q., Wang, C., Zhong, J. 2011. Novel SNPs in the ATP1B2 gene and their associations with milk yield, milk composition and heat-resistance traits in Chinese Holstein cows. *Mol. Biol. Rep.* 38:1749-1755.



I CICLO DE PALESTRAS  
SOBRE USO DE  
MARCADORES  
MOLECULARES  
NA PESQUISA AGROPECUÁRIA

# Caderno de Resumos



# CARACTERIZAÇÃO PRELIMINAR DE ACESSOS DE COQUEIRO-GIGANTE UTILIZANDO-SE MARCADORES MICROSSATÉLITES

Julie Anne Espíndola Amorim<sup>1</sup>; Leandro Eugenio Cardamone Diniz<sup>2</sup>; Ana Veruska Cruz da Silva<sup>3</sup>; Semíramis Rabelo Ramalho Ramos<sup>4</sup>; Michelle Muhler Ferreira Tavares<sup>5</sup>; Paulo Manoel Pontes Lins<sup>6</sup>; Wilson Menezes Aragão<sup>7</sup>

Acessos de coqueiro gigante são mantidos em poucas coleções no Brasil, estabelecidas na década de 80 e que, em função da idade e altura das plantas, precisam ser regeneradas. Contudo, por ser uma planta perene e alógama, há necessidade de conhecimento aprofundado sobre a divergência e estrutura genética dos acessos mantidos em coleções para estabelecer as estratégias de amostragem da população a ser regenerada. As técnicas de marcadores de DNA estão entre as mais adequadas aos estudos de variabilidade genética em coqueiro, por serem independentes das variações ambientais e cobrirem todo o genoma. Este estudo objetivou caracterizar dois acessos de coqueiro gigante por meio de marcadores microssatélites (SSR), visando-se ao estudo da diversidade genética com fins de auxiliar o estabelecimento de parâmetros para a regeneração do germoplasma. Foram avaliadas 101 amostras provenientes dos acessos Gigante do Oeste Africano (GOA) e 100 do Gigante do Brasil da Praia do Forte (GBrPF). Os quatro primers utilizados para a avaliação do acesso GOA mostraram-se polimórficos (92%), com variação de 2 a 4 alelos por loco. Dos cinco primers utilizados para o acesso GBrPF, quatro apresentaram polimorfismo (82%), com variação de 2 a 3 alelos por loco. Foi possível detectar

<sup>1,5</sup> UFS, Aracaju - SE - Brasil., [julie\\_\\_anne@hotmail.com](mailto:julie__anne@hotmail.com), [muhlerbio@hotmail.com](mailto:muhlerbio@hotmail.com).

<sup>2,3,4,7</sup> Embrapa Tabuleiro Costeiros, Aracaju - SE - Brasil., [leandro.diniz@cpatc.embrapa.br](mailto:leandro.diniz@cpatc.embrapa.br), [semiramis.ramos@embrapa.br](mailto:semiramis.ramos@embrapa.br), [ana.veruska@embrapa.br](mailto:ana.veruska@embrapa.br), [wilson@cpatc.embrapa.br](mailto:wilson@cpatc.embrapa.br).

<sup>6</sup> SOCOCO S.A. Agroindústria da Amazônia, Moju - PA - Brasil., [mpmlins@uol.com.br](mailto:mpmlins@uol.com.br).



I CICLO DE PALESTRAS  
SOBRE USO DE  
MARCADORES  
MOLECULARES  
NA PESQUISA AGROPECUÁRIA

a presença de 42 indivíduos geneticamente divergentes no acesso GOA e de 58, no acesso GBrPF. Há necessidade de se realizar estudos adicionais incluindo-se novos e diferentes marcadores, a fim de confirmar os indivíduos ou grupos geneticamente divergentes.

**Palavras-chave:** *Cocos nucifera*; diversidade genética; regeneração de germoplasma; SSR

**Órgãos de Financiamento:** CNPq; FAPITEC-SE



# MARCADOR ISOENZIMÁTICO NA IDENTIFICAÇÃO DA DIVERSIDADE GENÉTICA DE *Erythrina velutina* WILLD

Marília Freitas de Vasconcelos Melo<sup>1</sup>, Itamara Bomfim Gois<sup>2</sup>, Sheila Valéria Álvares Carvalho<sup>3</sup>, Renata Silva-Mann<sup>4</sup>

Devido à exploração puramente predatória dos recursos naturais, grande parte da biodiversidade vem sendo perdida antes mesmo de ser conhecida. Diante disso, se percebe a necessidade eminente de estudos sobre ecologia e genética de populações naturais, para o conhecimento da estrutura genética das mesmas e assim obter informações indispensáveis à conservação das espécies de interesse. As ferramentas biotecnológicas são fundamentais nessas pesquisas, com o uso dos marcadores moleculares (bioquímicos e DNA), que têm sido amplamente utilizados na caracterização genética de populações naturais de plantas e animais. Esse trabalho foi realizado com o objetivo de identificar a diversidade genética de *Erythrina velutina* Willd. por meio de marcadores isoenzimáticos, visando a seleção de matrizes divergentes, em duas populações naturais do Estado de Sergipe (Mata Atlântica e Caatinga), para fins de recuperação de áreas degradadas e conservação da espécie. Foram amostrados vinte indivíduos em cada população. Um total de 15 sistemas enzimáticos foi testado. Dos quinze sistemas apenas seis (Isocitrato desidrogenase; Superóxido dismutase; Malato desidrogenase; Esterase; Peroxidase; Glucose-6-fosfato desidrogenase)

<sup>1</sup> Mestre em Biotecnologia em Recursos Naturais pela Universidade Federal de Sergipe - Avenida Marechal Rondon s/n - Jardim Rosa Elze - São Cristóvão, SE - 49100-000. E-mail: mariliafv@yahoocom.br.

<sup>2</sup> Mestre em Ecologia e Conservação pela Universidade Federal de Sergipe- Avenida Marechal Rondon s/n - Jardim Rosa Elze - São Cristóvão, SE - 49100-000.

<sup>3</sup> Doutoranda em Ciências Florestais pela Universidade Federal de Lavras- Campus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000 - Lavras/MG.

<sup>4</sup> Professora Doutora do Departamento de Engenharia Agrônômica da Universidade Federal de Sergipe - Avenida Marechal Rondon s/n - Jardim Rosa Elze - São Cristóvão, SE - 49100-000.



I CICLO DE PALESTRAS  
SOBRE USO DE  
MARCADORES  
MOLECULARES  
NA PESQUISA AGROPECUÁRIA

foram empregados na estimativa de parâmetros genéticos, por serem passíveis de interpretação. A heterozigosidade média observada foi de 0,5091, portanto, maior que a esperada (0,4262), o que indica uma maior ocorrência de heterozigotos do que a esperada pelo equilíbrio de Hardy-Weinberg. Essa informação é confirmada pelo valor encontrado para o índice de fixação de Wright (-0,2731). Conclui-se que as populações de *E. velutina* estudadas possuem variabilidade genética suficiente a serem utilizadas em programas de melhoramento e conservação da espécie, portanto, sendo necessária a conservação “in situ” e “ex situ” como forma de preservação da biodiversidade.

**Palavras-chave:** heterozigosidade; enzimas; conservação; genética.



# BANCOS DE GERMOPLASMA DO ESTADO DE SERGIPE ESTUDADOS POR MARCADORES MOLECULARES

Andrea Borges de Menezes<sup>1</sup>, Allívia Rouse Carregosa Rabbani<sup>2</sup>, Renata Silva-Mann<sup>3</sup>

O Banco Ativo de Germoplama (BAG) é uma coleção de material vegetal com o fim de conservar plantas consideradas de importância atual ou futura com caráter prioritário para a população. Centros de pesquisas em Sergipe, visando conservar, e manter o desenvolvimento de culturas com características interessantes para a agricultura, vêm promovendo ações no Estado. Por exemplo, a Embrapa Tabuleiros Costeiros está construindo estes bancos, e alguns deles já foram estudados geneticamente por marcadores moleculares em nível de DNA pelo Laboratório de Biotecnologia; dentre os quais podem ser citados o de batata-doce (*Ipomoea batatas* Lam.) localizado no município de Umbaúba com 52 acessos; o de mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) com 55 acessos instalados na cidade de Itaporanga d'Ajuda; o de moringa (*Moringa oleifera* Lam.) com 16 acessos, alocado em Nossa Senhora das Dores; o de jenipapo (*Genipa americana* L.) no município de Nossa Senhora das Dores, com 120 acessos; e o de nim indiano (*Azadirachta indica* A. Juss.) com 54 acessos em Aracaju. Estes já foram estudados por marcadores tipo RAPD para análise de estrutura, diversidade genética e caracterização de genótipos. Outra instituição que também vem promovendo a conservação dos recursos genéticos é a Universidade Federal de Sergipe pelo grupo Genaplant (Grupo de Pesquisa em Genética Aplicada a Conservação e Melhoramento de Plantas), que possui o BAG de Pinhão-Manso (*Jatropha curcas* L.) com 17 acessos, onde

<sup>1</sup> Aluna do curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Sergipe (UFS), 49000-000, São Cristóvão – Sergipe, Brasil (a.b.menezes@hotmail.com).

<sup>2</sup> Bolsista de Desenvolvimento Científico Regional do CNPq/FAPITEC, UFS (alliviarouse@hotmail.com)

<sup>3</sup> Professora Adjunta da UFS (renatamann@hotmail.com).



I CICLO DE PALESTRAS  
SOBRE USO DE  
MARCADORES  
MOLECULARES  
NA PESQUISA AGROPECUÁRIA

estudos de expressão gênica e com marcadores moleculares tipo RAPD já foram utilizados para diferenciação de genótipos e de características interessantes. Grandes desafios e oportunidades se apresentam para os programas de recursos genéticos associados à aquisição, conservação, caracterização e disponibilização de materiais genéticos para uso, contudo a conservação de um BAG implica na manutenção da coleção, sendo empregadas para isto algumas estratégias, dentre elas as ferramentas moleculares. Tais ferramentas permitem a avaliação da diversidade e estrutura genética entre os acessos de um BAG que gera informações sobre potenciais genitores a serem utilizados em programas de melhoramento; possibilita a identificação de duplicatas e o intercâmbio de germoplasma entre pesquisadores, conciliando os esforços da conservação da agrobiodiversidade com o desenvolvimento sustentável.

**Palavras-chave:** DNA; BAG; estrutura.



# USO DE MARCADORES MOLECULARES EM CULTURAS AGRÍCOLAS DO ESTADO DE SERGIPE

Airan Miguel dos Santos Panta<sup>1</sup>, Allívia Rouse Carregosa Rabbani<sup>2</sup>, Renata Silva-Mann<sup>3</sup>

Atualmente a biotecnologia vem se tornando uma importante ferramenta nas culturas agrícolas. Em particular, Sergipe, apresenta estudos auxiliados por marcadores moleculares, com o intuito de caracterização, melhoramento e conservação das espécies com importância agrícola. A Universidade Federal de Sergipe, pelo grupo Genaplant (Grupo de Pesquisa em Genética Aplicada a Conservação e Melhoramento de Plantas), visa à promoção da caracterização dos recursos genéticos no Estado, dentre eles a Alface (*Lactuca sativa* L.), mamona (*Ricinus communis* L.) e cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.); em ambas as espécies, o uso de marcadores RAPD e SSR foi essencial para a caracterização. Outra espécie estudada é o pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) e a moringa (*Moringa oleifera* Lam.), sendo estas últimas arbóreas e em fase de domesticação, devido aos seus múltiplos usos, sendo realizados estudos com expressão de genes e marcadores ISSRs e RAPD. Os resultados obtidos com estes marcadores têm auxiliado no pré-melhoramento das espécies e neste sentido foi possível quantificar a similaridade genética. Outra espécie em fase de domesticação é o alecrim-de tabuleiro (*Lippia gracilis* Schauer), o qual foi caracterizado por marcadores RAPD. Os marcadores também são úteis na caracterização de espécies com potencial medicinal e na indústria de cosméticos como o mulungu (*Erythrina velutina* Willd.), o vetiver [*Vetiveria zizanioides* (L.) Nash], e a Catingueira (*Poincianella pyramidalis*). Estudos desta natureza

<sup>1</sup> Aluno do curso de Engenharia Agrônômica da Universidade Federal de Sergipe (UFS), 49000-000, São Cristóvão – Sergipe, Brasil (airanmiguel@hotmail.com).

<sup>2</sup> Bolsista de Desenvolvimento Científico Regional do CNPq/FAPITEC, UFS (alliviarouse@hotmail.com).

<sup>3</sup> Professora Adjunta da UFS (renatamann@hotmail.com).



I CICLO DE PALESTRAS  
SOBRE USO DE  
MARCADORES  
MOLECULARES  
NA PESQUISA AGROPECUÁRIA

também foram realizados para caracterização de genótipos de aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi.), que tem sido explorada para uso na agroindústria alimentícia. A Embrapa Tabuleiros Costeiros também está promovendo estudos de culturas de interesse para o Estado, sendo que alguns deles já foram analisados geneticamente por marcadores moleculares em nível de DNA pelo Laboratório de Biotecnologia, como a batata-doce (*Ipomoea batatas* Lam.) espécie de grande importância econômica, a mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes) espécie que apresenta alto teor de ácido ascórbico, o jenipapo (*Genipa americana* L.) e o caju (*Anacardium occidentale* L.) com importância econômica e cultural, o nim indiano (*Azadirachta indica* A. Juss.) para produção de bioinseticidas, e por fim a moringa, importante para o tratamento de água e produção de biodiesel. Desta forma, os marcadores moleculares vêm conquistando grandes espaços nos trabalhos e pesquisas aplicadas a conservação e uso de recursos genéticos, em virtude da sua grande potencialidade para identificação de polimorfismos genéticos em nível de DNA.

**Palavras-chave:** UFS, Embrapa, agricultura.



# CARACTERIZAÇÃO DO BANCO ATIVO DE GERMOPLÁSMA DE JENIPAPEIRO EM SERGIPE

Karla Cristina Santos Freire<sup>1</sup>, Ana Veruska Cruz da Silva<sup>2</sup> e Ana da Silva Léo<sup>2</sup>

O jenipapeiro (*Genipa americana* L.) é uma espécie frutífera pertencente à família das *Rubiaceas*, de comum ocorrência no Brasil. O objetivo do presente trabalho foi caracterizar o Banco Ativo de Germoplasma de Jenipapeiro da Embrapa Tabuleiros Costeiros, utilizando a caracterização morfo-agronômica e molecular. Os 160 indivíduos do BAG foram avaliados a cada seis meses quanto às à altura da planta (AP), diâmetro da copa (DC), comprimento foliar (CF) e largura foliar (LF), número de nós (N), número de folhas (NF), vigor vegetativo (V), além das características morfológicas da folha como: formato (FF), coloração foliar jovem (CFJ), coloração foliar adulta (CFA) e tipo de borda (BF). Os dados foram analisados por estatística descritiva utilizando-se medidas de tendência central (média) e de variabilidade de dados (desvio padrão, mínimo e máximo), e os métodos de similaridade do coeficiente de correlação de Pearson e método de agrupamento UPGMA. Para análise dos marcadores ISSR foram utilizados 12 iniciadores de síntese, e os dados binários foram usados para realizar as análises de agrupamento com base no coeficiente de similaridade, diversidade genética e Análise de Variância Molecular (AMOVA). Com a análise dos resultados, verificou-se a formação de quatro grupos distintos. O genótipo CR1-2 apresentou-se de forma superior aos demais. Os indivíduos apresentam certo parentesco, que pode ser resultante do processo de fragmentação que as aéreas naturais de ocorrência vêm sofrendo durante décadas, ocasionando cruzamentos entre indivíduos próximos. É fundamental dar continuidade na ampliação do BAG, inserindo novos acessos.

<sup>1</sup> Universidade Federal de Sergipe, Avenida Marechal Rondon, s/n, Cidade Universitária Prof. José Aloísio de Campos, CEP: 49100-000 São Cristóvão, SE. E-mail: freirekc@gmail.com.

<sup>2</sup> Embrapa Tabuleiros Costeiros (CPATC), Avenida Beira Mar, 3250, CP 44, Sementeira, 49025-040 Aracaju, SE. E-mail: Ana.veruska@embrapa.br, Ana.ledo@embrapa.br



I CICLO DE PALESTRAS  
SOBRE USO DE  
MARCADORES  
MOLECULARES  
NA PESQUISA AGROPECUÁRIA

Os resultados do presente trabalho serão úteis no uso e gestão do BAGjenipapo e em futuros programas de melhoramento da espécie.

**Palavras-chaves:** *Genipa americana* L., variabilidade genética, ISSR.



# ESPÉCIES NATIVAS DO ESTADO DE SERGIPE CARACTERIZADAS POR MARCADORES MOLECULARES

Laryssa de Oliveira Carvalho<sup>1</sup>, Allívia Rouse Carregosa Rabbani<sup>2</sup>, Renata Silva-Mann<sup>3</sup>

As espécies nativas têm apresentado inúmeros usos potenciais e ainda carecem de conhecimentos básicos. Os marcadores moleculares têm sido ferramentas úteis na caracterização destas espécies. Espécies como aroeira vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi.), cajá (*Spondias lutea* L.), canafístula (*Cassia grandis* L.), juazeiro (*Zizyphus joazeiro* Martius), jenipapo (*Genipa americana* L.), jatobá (*Hymenaea courbaril* var. *stilbocarpa* (Hayne) Lee et Lang.), pau-ferro (*Caesalpinia ferrea* Mart.), mulungu (*Erythrina velutina* Willd), falso ingy (*Lonchocarpus sericeus* (Poir.) Kunth), e pau-pombo (*Tapirira guianensis* Aublet.), localizadas na Região do Baixo São Francisco Sergipano e em São Cristóvão, foram pesquisadas por meio de marcadores morfológicos e moleculares tipo RAPD, ISSRs e isoenzimas pelo grupo Genaplant (Grupo de Pesquisa em Genética Aplicada a Conservação e Melhoramento de Plantas) da Universidade Federal de Sergipe com objetivo de quantificar a similaridade genética de populações visando à geração de subsídios para a definição de estratégias de coleta de sementes e produção de mudas em programas de recuperação de matas ciliares junto ao Grupo Restauração. O grupo de Biotecnologia da Embrapa Tabuleiros Costeiros, por meio dos marcadores moleculares tipo RAPD, também tem estudado espécies como a mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) de grande importância social, econômica e cultural visando à caracterização de germoplasma. Os trabalhos vêm apontando a erosão genética na espécie. O mesmo grupo também analisou

<sup>1</sup> Aluna do curso de Farmácia da Universidade Federal de Sergipe (UFS), 49000-000, São Cristóvão – Sergipe, Brasil (laryssa\_farm@hotmail.com).

<sup>2</sup> Bolsista de Desenvolvimento Científico Regional do CNPq/FAPITEC, UFS (alliviarouse@hotmail.com).

<sup>3</sup> Professora Adjunta da UFS (renatamann@hotmail.com).



I CICLO DE PALESTRAS  
SOBRE USO DE  
MARCADORES  
MOLECULARES  
NA PESQUISA AGROPECUÁRIA

uma orquídea (*Cattleya labiata* Lindl.) ameaçada de extinção por marcadores ISSRs e RAPD, e a caracterização genética contribuiu para o conhecimento da estrutura genética, e os resultados podem ser usados para definir estratégias para programas de conservação e melhoramento. A variação genética presente em uma espécie é essencial para sobrevivência e adaptação a possíveis mudanças do ambiente. Portanto, o conhecimento genético, em especial para as espécies ameaçadas, é fundamental para o estabelecimento de estratégias, além de orientar a prospecção visando à conservação *in situ* e *ex situ*.

**Palavras-chave:** DNA, conservação, diversidade.



# IDENTIFICAÇÃO DE DUPLICATAS NO BAG MANGÁBA POR RAPD

Tatiana Santos Costa<sup>1</sup>; Camila Santos Almeida<sup>2</sup>; Ana Veruska Cruz da Silva<sup>3</sup>;  
Ana da Silva Léo<sup>3</sup>; Josué Francisco da Silva Júnior<sup>3</sup>

A mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) é uma espécie frutífera e laticífera nativa do Brasil, da família Apocynaceae, e que apresenta grande importância social, econômica e cultural nas áreas em que ocorre. O Banco Ativo de Germoplasma de Mangabeira da Embrapa Tabuleiros Costeiros foi instalado em 2009, no município de Itaporanga d'Ajuda. O objetivo do presente trabalho foi verificar a existência de duplicatas entre os acessos desse BAG, utilizando 13 iniciadores de síntese. Pela geração de 82 fragmentos foi possível identificar grupos divergentes por meio dos agrupamentos UPGMA e ACoP. Do conjunto total, 49 acessos foram geneticamente distintos e seis semelhantes. Além da identificação de duplicatas, por meio dos marcadores RAPD, foi possível obter um perfil molecular único e estimar a variabilidade existente entre todos os acessos avaliados.

**Palavras-chave:** *Hancornia speciosa* Gomes; variabilidade genética; marcadores moleculares.

**Órgãos de Financiamento:** Embrapa.

<sup>1</sup> Universidade Federal de Lavras, Doutorado em Biotecnologia. Lavras, MG. E-mail: Tatiana\_itase@hotmail.com.

<sup>2</sup> Universidade Federal de Sergipe, Mestranda em Biotecnologia. E-mail: kmilinhafsa@hotmail.com.

<sup>3</sup> Embrapa Tabuleiros Costeiros, Avenida Beira Mar, 3250, CP 44, Jardim, 49025-040 Aracaju, SE. E-mail: ana.veruska@embrapa.br, ana.ledo@embrapa.br, josue.francisco@embrapa.br.



# VARIABILIDADE GENÉTICA ENTRE ACESSOS DE JUREMINHA

Josefa Grasiela Silva Santana<sup>1</sup>; José Henrique Albuquerque Rangel<sup>1</sup>; Evandro Neves Muniz<sup>1</sup>

A jureminha (*Desmanthus virgatus*) é uma leguminosa arbustiva, perene, de ampla ocorrência na região Nordeste. Pode também ser conhecida como anis-debode, canela-de-ema, junco-preto, pena-da-saracura e vergalho-de-vaqueiro, totalizando 24 espécies. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a variabilidade genética entre 13 acessos de jureminha utilizando marcadores moleculares RAPD (Amplificação Casualizada de DNA polimórfico). As amostras foram obtidas da Coleção da Embrapa Tabuleiros Costeiros, originadas de populações nativas do Estado de Sergipe. A análise da matriz de similaridade obtida resultou em um dendrograma e na matriz de similaridade, onde os genótipos foram agrupados pelo método UPGMA, usando-se o programa Treeview. Os acessos foram divididos em dois grupos principais, subdivididos em dois grupos secundários. A variabilidade genética observada pelo uso do RAPD confirma a existência de variabilidade entre os acessos, que foi previamente observada por características morfológicas, indicando a necessidade da ampliação desse estudo em todos os acessos para melhor manutenção do BAG e implantação de estratégias de melhoramento genético da espécie.

**Palavras-chave:** *Desmanthus virgatus* (L.) Willd., RAPD.

<sup>1</sup> Universidade Federal de Sergipe. Avenida Marechal Rondon, s/n, Cidade Universitária Prof. José Aloísio de Campos, CEP: 49100-000 São Cristóvão, SE. E-mail: [grasi\\_agronomia@hotmail.com](mailto:grasi_agronomia@hotmail.com).

<sup>2</sup> Embrapa Tabuleiros Costeiros, Avenida Beira Mar, 3250, CP 44, Jardim, 49025-040 Aracaju, SE. E-mail: [jose.rangel@embrapa.br](mailto:jose.rangel@embrapa.br), [evandro.muniz@embrapa.br](mailto:evandro.muniz@embrapa.br).



# IDENTIFICAÇÃO DE MARCAS MOLECULARES ASSOCIADAS À VERMINOSE EM OVINOS

Evandro Neves Muniz<sup>1</sup>; Cassia Renata Pinheiro<sup>2</sup>, Hymerson Costa Azevedo<sup>1</sup>, Amaury Apolônio de Oliveira<sup>1</sup>

O crescimento da criação da raça de ovino Santa Inês na região nordestina advém de suas características de alta prolificidade, adaptação e rusticidade, consequentemente contribui para o investimento em pesquisas que visam incrementar a capacidade produtiva e outras aptidões dessa raça. Nesse âmbito a Embrapa Tabuleiros Costeiros tem se preocupado em manter a diversidade genética dessa raça através da conservação de um rebanho de ovinos vivos. Entretanto a diversidade genética dessa raça é ameaçada principalmente pelo elevado grau de consangüinidade. Nesse sentido, a caracterização molecular dos genótipos, através de marcadores de DNA, pode auxiliar no direcionamento de cruzamentos que possibilitem a obtenção de indivíduos com maior heterose, recuperando a diversidade da espécie. Nesse trabalho foram analisados 10 indivíduos presentes no Núcleo de Conservação de Ovino Santa Inês. O DNA foi obtido a partir de sangue venoso e extraído pelo método de Miller. Foram utilizados 12 primers RAPD. Os resultados gerados foram convertidos em uma matriz binária e analisados pelo software NTSYSpc 2.11. Os resultados mostram uma alta similaridade genética entre os genótipos, o que corrobora com outros estudos e evidencia a importância do monitoramento genético nessa espécie com o intuito de maximizar a variabilidade do rebanho.

**Palavras-chave:** consanguinidade, cruzamentos, diversidade genética, rapd, variabilidade.

<sup>1</sup> Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE. E-mail: evandro.muniz@embrapa.br; <sup>2</sup> USP/Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz - ESALq, Doutoranda em Genética e Melhoramento de Plantas. Piracicaba, SP. E-mail: cassiapinheiro@gmail.com.



# AVALIAÇÃO DE MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE DNA GENÔMICO EM *Jatropha curcas L.*

Vanice Dias de Oliveira<sup>1</sup>; Ana Veruska Cruz da Silva<sup>2\*</sup> e Ana da Silva Léo<sup>2</sup>

O pinhão manso (*Jatropha curcas L*) vem sendo cultivado em mais de 50 países por ter alto potencial para produzir óleo biocombustível, mas ainda é uma cultura que carece de informações científicas sobre o nível de variabilidade genética em suas populações. Para o estudo dessa variabilidade e outras análises moleculares é necessária a obtenção de DNA genômico de boa qualidade e puro. Entretanto, alguns métodos de extração de DNA não atendem a este fim devido à diversidade de componentes no material vegetal usado, tais como polissacarídeos, fenóis, entre outros, não ocorrendo a extração ou quando acontece, obtém-se DNA com baixa concentração e pureza. Dessa forma são requeridas modificações e/ou adaptações nos protocolos de isolamento que geralmente são feitas no tampão de extração ou e no processo de desproteinização. Assim, este trabalho teve como objetivo testar, avaliar e comparar protocolos distintos de extração de DNA em folhas de pinhão manso para sua posterior utilização em estudos moleculares. Foram testados os protocolos: (a) Doyle e Doyle (1991) com modificações 1; (b) Doyle e Doyle (1991) com modificações 2; (c) Cavalcanti (2004) e (d) Subramanyan et al. (2009). Para extração de DNA, utilizou-se 10 amostras coletadas em quatro municípios de Sergipe, cada: Carira, Dorés, Frei Paulo e Umbaúba. O DNA foi quantificado por espectrofotometria e sua qualidade medida por eletroforese em gel de agarose 1%, corado com brometo de etídio (0,4 µg/mL). Para as reações RAPD utilizou-se 10 primers, seguida da corrida eletroforética em gel de agarose 1% e visualização em transiluminador.

<sup>1</sup> Bióloga, Mestre em Agroecossistemas - Email: vanicedias@gmail.com.

<sup>2</sup> Pesquisadora Embrapa Tabuleiros Costeiros – Email: \*ana.veruska@embrapa.br; analedo@cpatc.embrapa.br.



Os protocolos de isolamento (c) e (d), este último específico para pinhão manso, não foi possível a extração de DNA nas amostras testadas. Os protocolos (a) e (b) geraram boa quantidade de DNA nas amostras de Dores, Carira e Umbaúba, mas o (a) não permitiu a amplificação nas reações RAPD. O protocolo (b) Doyle e Doyle (1991), modificado 2 foi aquele em que se obteve maior quantidade e maior pureza, permitindo as reações RAPD somente nas amostras de Carira e Umbaúba.

**Palavras-chave:** pinhão manso; protocolos; isolamento de DNA.

**Órgãos de Financiamento:** FAPITEC-SE; Embrapa Tabuleiros Costeiros.



# ALTERAÇÕES FISIOLÓGICAS E ENZIMÁTICAS EM SEMENTES DE PIMENTA HABANERO

Heloisa Oliveira dos Santos<sup>1</sup>; Edila Vilela de Resende Von Pinho<sup>1</sup>; Luis Otávio Rehder<sup>1</sup>; Iolanda Vilela Von Pinho<sup>1</sup>; Maria Manuela Teixeira Carvalho da Rocha<sup>1</sup>; Rucyan Wallace Pereira<sup>1</sup>

A determinação da qualidade das sementes é fundamental para o processo de produção e comercialização. Utilizando-se de técnicas de eletroforese para a avaliação da expressão de enzimas é possível determinar alterações bioquímicas que ocorrem nas sementes na maturação. O objetivo neste trabalho foi avaliar as alterações fisiológicas e enzimáticas em sementes de pimenta durante o desenvolvimento e processos de secagem. Os experimentos foram conduzidos no Laboratório Central de Sementes e na área experimental do Departamento de Agricultura da UFLA. Os frutos foram colhidos em quatro estádios de desenvolvimento, sendo estes: E1-49 , E2- 56 , E3- 63 e E4- 70 dias após a antese. Parte das sementes extraídas dos frutos foi submetida a secagem em estufa de circulação de ar a 35°C até atingirem o teor de água de 9% e a outra parte das sementes foi secada em condições de ambiente, totalizando 16 tratamentos. O desempenho das sementes sob os diferentes tratamentos foi avaliado por meio de testes de germinação, emergência de plântulas, condutividade elétrica e teor de água. e, também determinar a atividade dos sistemas isoenzimáticos através: esterase (EST), catalase (CAT) e superóxido dismutase (SOD) pela técnica de eletroforese. Pelos testes de germinação e vigor observou-se menor qualidade fisiológica de sementes provenientes de frutos no estádio E1 em relação às sementes extraídas de frutos nos estádios E3 e E4. Existem variações na atividade das enzimas EST, CAT e SOD em sementes

<sup>1</sup> Universidade Federal de Lavras – UFLA, Dep. De Agricultura, Setor de Sementes(heloisa.ufs@gmail.com).



extraídas de frutos colhidos em diferentes estádios de desenvolvimento.

**Palavras-chave:** Qualidade de sementes; Eletroforese; ERO's.

**Orgãos de financiamento:** FAPEMIG; CNPq.



# EXPRESSÃO DA ENZIMA ISOCITRATO-LIASE EM SEMENTES DE PIMENTA HABANERO COLHIDAS EM DIFERENTES ESTÁDIOS DE DESENVOLVIMENTO

Iolanda Vilela Von Pinho<sup>1</sup>; Heloisa Oliveira dos Santos<sup>1</sup>; Edila Vilela de Resende Von Pinho<sup>1</sup>; Rucyan Wallace Pereira<sup>1</sup>; Luis Otavio Rehder<sup>1</sup>, Elise de Matos Pereira<sup>2</sup>

Análises da expressão de genes têm auxiliado na elucidação dos processos biológicos complexos. Nesse contexto, entendimento da expressão de genes relacionados à germinação de sementes de pimenta é importante para o desenvolvimento de tecnologias que garantam a produção de sementes com alta qualidade. Assim, objetivou-se neste trabalho caracterizar o padrão de expressão da enzima isocitrato liase, importante no processo de germinação de sementes, durante o desenvolvimento de sementes de pimenta (*Capsicum chinenses* Jacquin) cultivar habanero yellow, provenientes de frutos colhidos em diferentes estádios de desenvolvimento. Foram colhidos frutos com 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63 e 70 dias após a antese (DAA). Foram utilizados também sementes provenientes de frutos colhidos aos 70 dias após antese e submetidos ao repouso por sete dias, totalizando assim 10 pontos de análise. Parte das sementes colhidas nos diferentes estádios foram submetidas à secagem a 35°C até as sementes atingirem 8% de teor de água. As sementes foram submetidas aos testes de teor de água, germinação, primeira contagem de germinação, T50 e emergência de plântulas. A expressão das enzimas foi avaliada por meio das técnicas de PCR em tempo real e eletroforese de proteínas. Foram observadas diferentes padrões de expressão da enzima isocitrato liase em sementes colhidas em diferentes estádios de desenvolvimento. Maior expressão desta enzima foi

<sup>1</sup> Universidade Federal de Lavras – UFLA, Dep. De Agricultura, Setor de Sementes(heloisa.ufs@gmail.com).

<sup>2</sup> Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho – UNESP, Campus Jaboticabal.



observada em sementes com maiores valores de germinação e vigor.

**Palavras-chave:** Eletroforese; RT-qPCR; Germinação.

**Orgãos de financiamento:** FAPEMIG; CNPq.



# EXPRESSÃO DAS ENZIMAS ALFA-AMILASE E ENDO-BETA-MANANASE EM SEMENTES DE PIMENTA HABANERO

Maria Manuela Teixeira Carvalho da Rocha<sup>1</sup>; Heloisa Oliveira dos Santos<sup>1</sup>; Edila Vilela de Resende Von Pinho<sup>1</sup>; Iolanda Vilela Von Pinho<sup>1</sup>; Sophia Mangussi Franchi Dutra<sup>1</sup>, Elise de Matos Pereira<sup>2</sup>

A dormência em sementes de pimenta varia durante o desenvolvimento, o que influencia na determinação do ponto de colheita das mesmas. Nesse contexto, entendimento da expressão de genes relacionados à dormência, durante o desenvolvimento de sementes de pimenta, é importante para o emprego de tecnologias que garantam a produção de sementes com alta qualidade. Assim, objetivou-se neste trabalho caracterizar o padrão de expressão das enzimas amilase e endo-beta-mananase durante o desenvolvimento de sementes de pimenta (*Capsicum chinenses* Jacquin) cultivar habanero yellow, provenientes de frutos colhidos em diferentes estádios de desenvolvimento. Foram colhidos frutos com 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63 e 70 dias após a antese (DAA). Foram utilizados também sementes provenientes de frutos colhidos aos 70 dias após antese e submetidos ao repouso por sete dias. Parte das sementes colhidas nos diferentes estádios foram submetidas a secagem à 35°C ate as sementes atingirem 8% de teor de água. As sementes foram submetidas aos testes de teor de água, germinação, primeira contagem de germinação, T50 e emergência de plântulas. A expressão das enzimas foi avaliada por meio das técnicas de PCR em tempo real e eletroforese de proteínas. Foi observado que as enzimas se expressam de forma diferenciada nos diferentes estádios de desenvolvimento das sementes não submetidas à secagem. Maior expressão da enzima alfa

<sup>1</sup> Universidade Federal de Lavras – UFLA, Dep. De Agricultura, Setor de Sementes(heloisa.ufs@gmail.com).

<sup>2</sup> Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho – UNESP, Campus Jaboticabal.



amilase foi observada em sementes de pimenta não submetidas a secagem. Houve menor expressão de transcritos em sementes nos estádios iniciais de desenvolvimento e submetidas à secagem.

**Palavras-chave:** Transcriptoma; RT-qPCR; Dormência.

**Orgãos de financiamento:** FAPEMIG; CNPq.



# EXPRESSÃO GENICA ASSOCIADA À ROTA BIOSSINTÉTICA DA GIBERELINA DURANTE O DESENVOLVIMENTO DE SEMENTES DE PIMENTA

Rucyan Wallace Pereira<sup>1</sup>; Heloisa Oliveira dos Santos<sup>1</sup>; Edila Vilela de Resende Von Pinho<sup>1</sup>; Sophia Mangussi Franchi Dutra<sup>1</sup>, Elise de Matos Pereira<sup>2</sup>; Maria Manuela Teixeira Carvalho da Rocha<sup>1</sup>

As giberelinas constituem uma classe de substâncias reguladoras de crescimento que atuam na expressão gênica, ativação e síntese de várias enzimas, dentre elas, enzimas que hidrolisam e mobilizam reservas dos tecidos. Nesse sentido, é possível aumentar o desempenho germinativo de muitas espécies com a utilização de GA<sub>3</sub> em sementes. Assim, objetivou-se neste trabalho caracterizar o padrão de expressão de genes associados à rota biossintética da giberelina durante o desenvolvimento e germinação de sementes de pimenta (*Capsicum chinenses* Jacquin) cultivar habanero yellow, provenientes de frutos colhidos em diferentes estádios de desenvolvimento. Foram colhidos frutos com 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63 e 70 dias após a antese (DAA). Foram utilizados também sementes provenientes de frutos colhidos aos 70 dias após antese e submetidos ao repouso por sete dias. Parte das sementes colhidas nos diferentes estádios foram submetidas a secagem à 35 °C até as sementes atingirem 8% de teor de água. As sementes foram submetidas aos testes de teor de água, germinação, primeira contagem de germinação, T50 e emergência de plântulas. A expressão dos genes alvo foi avaliada por meio das técnicas de PCR em tempo real. Foi observado que a expressão dos genes ligados a rota biossintética da giberelina apresenta correlação direta com os dados referentes a germinação e

<sup>1</sup> Universidade Federal de Lavras – UFLA, Dep. De Agricultura, Setor de Sementes(heloisa.ufs@gmail.com).

<sup>2</sup> Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho – UNESP, Campus Jaboticabal.



se apresentam de forma diferenciada nos diferentes estádios de desenvolvimento das sementes não submetidas à secagem. Maior expressão desses genes foi observada em sementes de pimenta não submetidas a secagem.

**Palavras-chave:** Transcriptoma; RT-qPCR; GA<sub>3</sub>.

**Orgãos de financiamento:** FAPEMIG; CNPq.



# PADRÕES PROTÉICOS EM SEMENTES DE PIMENTA HABANERO EM FUNÇÃO DO DESENVOLVIMENTO E PROCESSO DE SECAGEM

Luis Otávio Rehder<sup>1</sup>; Heloisa Oliveira dos Santos<sup>1</sup>; Edila Vilela de Resende Von Pinho<sup>1</sup>; Rucyan Wallace Pereira<sup>1</sup>; Maria Manuela Teixeira Carvalho da Rocha<sup>1</sup>; Sophia Mangussi Franchi Dutra<sup>1</sup>

Na aquisição e manutenção da tolerância à dessecação em sementes, há vários mecanismos envolvidos, entre eles a expressão de proteínas resistentes ao calor. Nessa pesquisa foi avaliada a influência do processo de secagem nos padrões de proteínas resistentes ao calor em sementes de pimenta Habanero, colhidas em diferentes estádios de desenvolvimento. Os experimentos foram conduzidos no Laboratório Central de Sementes e na área experimental do Departamento de Agricultura da UFLA. Os frutos foram colhidos em quatro estádios de desenvolvimento, sendo estes: E1-49 , E2- 56 , E3- 63 e E4- 70 dias após a antese. Parte das sementes extraídas dos frutos foi submetida a secagem em estufa de circulação de ar a 35°C até atingirem o teor de água de 9% e a outra parte das sementes foi secada em condições de ambiente, totalizando 16 tratamentos. O desempenho das sementes sob os diferentes tratamentos foi avaliado por meio de testes de germinação, velocidade de germinação, emergência de plântulas, T50, condutividade elétrica e teor de água. Os padrões das proteínas resistentes ao calor foram avaliados por meio da técnica de eletroforese de proteínas. Dependendo do estádio de desenvolvimento das sementes houve influência do método de secagem sobre o vigor das sementes. Os padrões das proteínas resistentes ao calor foram estáveis independentemente do método de secagem e do estádio de desenvolvimento. No entanto estas

<sup>1</sup> Universidade Federal de Lavras – UFLA, Dep. De Agricultura, Setor de Sementes(heloisa.ufs@gmail.com).



apresentaram bandas específicas caracterizando as sementes de pimenta como tolerantes a dessecação.

**Palavras-chave:** Qualidade de sementes; Eletroforese; Proteínas resistentes ao calor.

**Orgãos de financiamento:** FAPEMIG; CNPq.

# Embrapa

## Tabuleiros Costeiros



Patrocínio:



Ministério da  
Agricultura, Pecuária  
e Abastecimento

GOVERNO FEDERAL  
**BRASIL**  
PAÍS RICO É PAÍS SEM POBREZA