

Ciências Biológicas

**Otimização do protocolo para obtenção de preparações cromossômicas para cariotipagem molecular em citótipos do clado 'brizantha' (Urochloa P. Beauv. – Poaceae)**

Giulya Karoline Corrêa Pila - 5<sup>o</sup> módulo de Ciências Biológicas, UFLA, bolsista PIBIC/UFLA.

Nathália Gomide Zanetti Bonetti - Doutoranda em Genética e Melhoramento de Plantas, Laboratório de Citogenética Vegetal do Departamento de Biologia, UFLA.

Dr. Sanzio Carvalho Lima Barrios - Pesquisador da EMBRAPA Gado de Corte em Campo Grande - MS.

Dra. Cacilda Borges do Valle - Pesquisadora da Embrapa gado de Corte em Campo Grande - MS

Profa. Dra. Vânia Helena Techio - Orientadora – Professora associada do Departamento de Biologia, UFLA. - Orientador(a)

**Resumo**

Espécies de *Urochloa* P. Beauv. são conhecidas pelo seu potencial forrageiro com destaque para as espécies do clado 'brizantha', *Urochloa brizantha* (Hoschst. ex A. Rich) R.D. Webster, *Urochloa decumbens* (Stapf) R.D. Webster e *Urochloa ruziziensis* (R. Germ. & C.M. Evrard). A utilização de técnicas citomoleculares, como hibridização in situ fluorescente (FISH), procuram esclarecer aspectos relacionados à composição de genomas ou de subgenomas, como nas espécies alopoliploides *U. brizantha* e *U. decumbens*. A análise do DNA repetitivo pode incrementar os estudos de cariotipagem genômica e inferir sobre a relação filogenética entre as espécies. Devido a sua especificidade, o DNA satélite possibilita a discriminação e caracterização de subgenomas em alopoliploides, permitindo um melhor entendimento da evolução dessas sequências. O DNA ribossômico (rDNA) 5S e 35S também se caracterizam como DNA repetitivo em tandem e podem ser utilizados como controle positivo da FISH, visto que são genes com sequências conservadas. Desse modo, o objetivo deste estudo foi otimizar e aperfeiçoar os procedimentos de preparações cromossômicas para a aplicação da FISH em análises de cariotipagem por meio do mapeamento de sequências de DNA satélite em acessos do clado 'brizantha'. Raízes foram coletadas e pré-tratadas com ciclohexamida por 2h para bloqueio do fuso mitótico e obtenção de C-metáfases. Passado esse tempo, as raízes foram fixadas em carnoy (3:1) e armazenadas em freezer até momento de uso. As regiões meristemáticas foram excisadas e submetidas à digestão enzimática com mix contendo celulase "Onozuka R10" (0,7%), celulase Sigma-Aldrich (0,7%), pectoliase Sigma-Aldrich (1%) e citohelicase Sigma-Aldrich (1%) por 1h e 30 min a 37°C. As lâminas foram preparadas pela técnica de dissociação celular e secagem ao ar e avaliadas em microscopia de luz e posteriormente testadas para FISH. A avaliação buscou analisar a qualidade das C-metáfase presentes nas lâminas, selecionando aquelas que apresentaram cromossomos espalhados e sem sobreposição, ideais para a aplicação de técnicas citomoleculares. As lâminas de FISH analisadas foram feitas com a *U. brizantha* 4x e apresentaram seis sítios rDNA 5S, o que corrobora com estudos anteriores de cariotipagem deste material. Portanto, os resultados obtidos foram satisfatórios e confirmam o êxito da aplicação do protocolo de preparação cromossômica, sendo, então, possível dar início à aplicação da FISH com o uso de sondas de DNA satélite.

Palavras-Chave: Brachiaria, FISH, C-metáfase.

Instituição de Fomento: UFLA, CAPES, CNPq e FAPEMIG

Link do pitch: [https://youtu.be/ReF6gk\\_h\\_Z4](https://youtu.be/ReF6gk_h_Z4)

Sessão: 3

Número pôster: 66

Identificador deste resumo: 3517-18-3657

novembro de 2024