

Ciências Biológicas

AMPLIFICAÇÃO DE SEQUÊNCIAS DE DNA SATÉLITE VIA PCR EM TRÊS ESPÉCIES DE Piper L. DA AMAZÔNIA

Larissa Roberta Rodrigues Leme - 9º período Ciências Biológicas/Bacharelado, ICN/UFLA, bolsista PIBIC/CNPq - larissa.leme@estudante.ufla.br

Tiago Yukio Inoue - Coorientador, Pós-graduando em Genética e Melhoramento de Plantas, ICN/UFLA - tiago.inoue1@estudante.ufla.br

Giovana Augusta Torres - Orientadora, Professora do Departamento de Biologia, ICN/UFLA - gatorres@ufla.br - Orientador(a)

Resumo

A espécie *Piper hispidinervum* C. DC, nativa da Amazônia brasileira, tem despertado grande interesse por constituir fonte de extração comercial de safrol. Além dela, o banco de Germoplasma Embrapa-Acre conserva também *P. aduncum* L., *P. hispidum* Sw. e *P. affinis hispidinervum*, de teores variados de safrol e outros compostos tais como dilapiol e sarisan. Estudos das relações entre essas espécies, com diferentes abordagens, revelam controvérsia taxonômica com hipóteses de que *P. hispidinervum* possa ser um quimiotipo de *P. aduncum*, e *P. affinis hispidinervum* um ecotipo ou híbrido entre as duas outras espécies. O objetivo do trabalho é amplificar sequências repetitivas de DNA satélite, via PCR, identificadas previamente para três espécies de *Piper* da Amazônia. Sementes das espécies foram cedidas pelo Banco de Germoplasma Embrapa-Acre e semeadas em vasos com substrato poroso em casa de vegetação. Foram utilizadas folhas jovens na extração de DNA genômico e quantificado via NanoDrop®. Análises prévias identificaram as sequências satélite CL304, CL444 e CL509 de *P. aduncum*, CL97 e CL234 de *P. affinis hispidinervum*, CL402 e CL458 de *P. hispidinervum* e CL779 e CL919 de *P. nigrum*. Primers desenhados no software Primer 3 para cada uma das sequências, foram utilizados em experimentos de amplificação por PCR com duas temperaturas de anelamento: 59 e 57,5°C. Os produtos de PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 1%. A amplificação foi bem sucedida para a maioria dos clusters, com exceção dos identificados em *P. nigrum*. Os resultados esperados por monômero eram de 152 pb (CL304), 91 pb (CL444), 89 pb (CL509), 222 pb (CL97), 296 pb (CL234), 92 pb (CL402), 108 pb (CL458), 129 pb (CL779) e 209 pb (CL919). Na temperatura de 59°C, CL97 e CL304 formaram bandas únicas de intensidade variada com tamanho de 500-600 pb e 200 pb, respectivamente. Já CL444 apresentou pequeno bandeamento com arraste na faixa de 600-900 pb. O padrão de bandas em escada, típico de sequências repetidas em tandem, foi obtido apenas em CL402 (com 200, 400, 600 e 800 pb) e CL458 (com 250 e 500 pb). A 57,5°C, apenas CL509 apresentou amplificação e bandeamento característico com 150, 300, 450 e 600 pb. Os produtos de PCR obtidos são indicados para uso como sondas em experimentos de hibridização in situ fluorescente (FISH) para localização física dessas sequências nos cromossomos.

Palavras-Chave: DNA repetitivo em tandem, PCR, Pimenta longa.

Instituição de Fomento: CNPq

Link do pitch: https://youtu.be/_oqghHpNqiY