



Universidade: presente!



XXXI SIC

21.25. OUTUBRO • CAMPUS DO VALE

Análise de polimorfismos do gene DFR em indivíduos das espécies de *Petunia axillaris* e *P. exserta* e seus híbridos naturais.

Autora: Elise Teixeira da Fontoura

Orientadora: Loreta Brandão de Freitas

Introdução

Petunia é um típico gênero da família Solanaceae, contendo aproximadamente 14 espécies nativas, distribuídas no sul da América do Sul (**Figura 1**). Suas espécies são caracterizadas por diferentes morfologias relacionadas principalmente a variadas estratégias de polinização. Neste trabalho analisamos polimorfismos do gene DFR, associado à síntese de pigmentos florais, de duas espécies do gênero *Petunia*, *P. axillaris*, com flores brancas, e *P. exserta* com flores vermelhas, e de seus híbridos naturais com coloração intermediária a essas duas (**Figura 2**). Foram analisados 89 indivíduos através de polimorfismos mononucleotídicos e padrões de clivagem (CAPS).

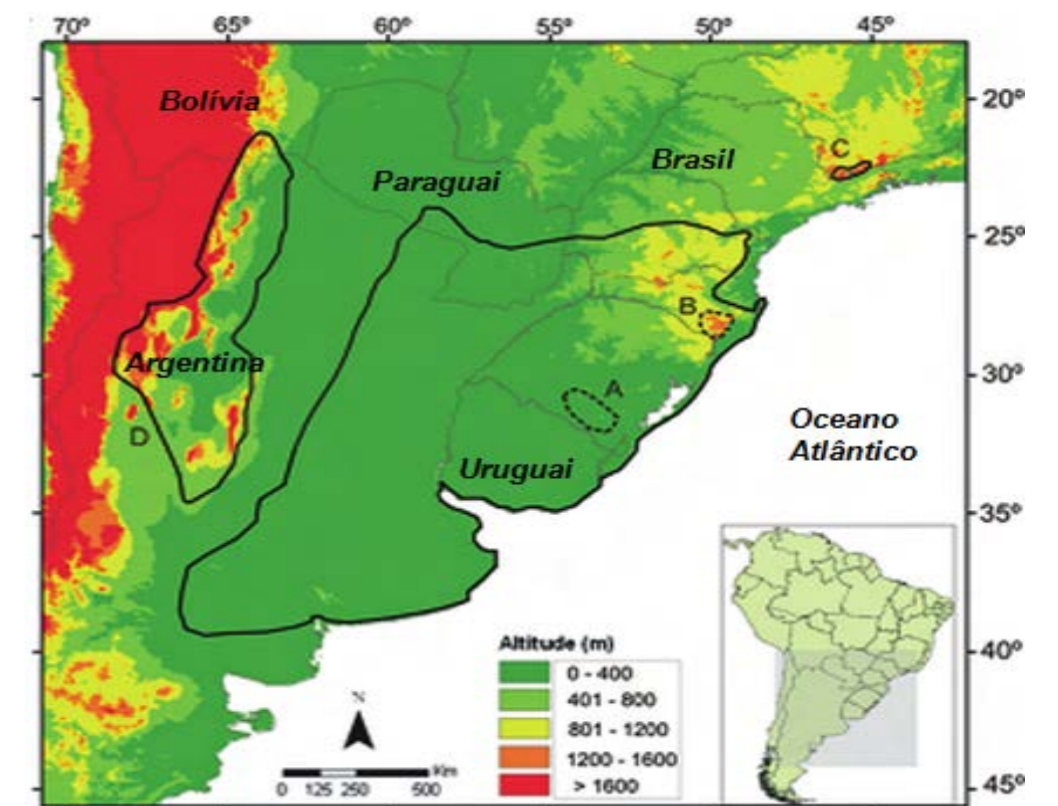


Figura 1. Distribuição geográfica do gênero *Petunia*. (Stehmann et al., 2009)

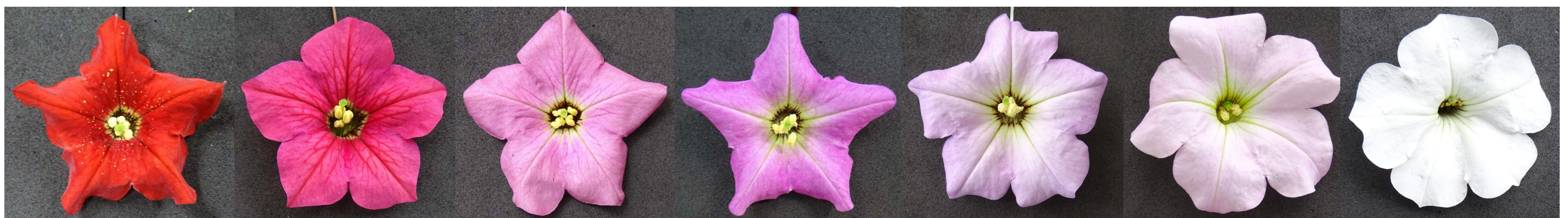


Figura 2. *Petunia exserta*, híbridos interespecíficos e, *Petunia axillaris*, da esquerda para a direita.

Materiais e Métodos

1. Obtenção do marcador CAPS:

- Obtenção da sequência completa do *DFR* das duas espécies alvo e seleção das sequências codificadoras (bancos de dados NCBI);
- Busca por homólogos no transcriptoma de *P. axillaris* e *P. exserta* (pelo algoritmo BLAST);
- Alinhamento sequencial múltiplo por CLUSTALW (programa GenomeNet);
- Obtenção do marcador CAPS, constituído de um par de oligonucleotídeos iniciadores (*primers*) e uma enzima de restrição com o programa SNP2CAPS;

- Os *primers* foram desenhados com o programa Primer BLAST e submetidos aos testes de formação de estruturas diméricas *in silico* com a ferramenta OligoAnalyzer.

2. Genotipagem:

- Extração de DNA (metodologia padrão CTAB);
- Amplificação por PCR;
- Clivagem com enzima de restrição, Hpy8I;
- Análise de polimorfismos entre espécies e indivíduos.

Resultados

Contrariamente ao esperado, de acordo com o transcriptoma das duas espécies, não foi observado um padrão diferenciado de amplificação ou clivagem para *P. axillaris* e *P. exserta*. Ambas as espécies e seus híbridos apresentaram uma banda única e com igual tamanho de amplificação (**Figura 3**).

Embora na comparação do transcriptoma das duas espécies tenha sido encontrada uma mutação de ponto no sítio de clivagem da enzima, os produtos de PCR não foram clivados com Hpy8I.

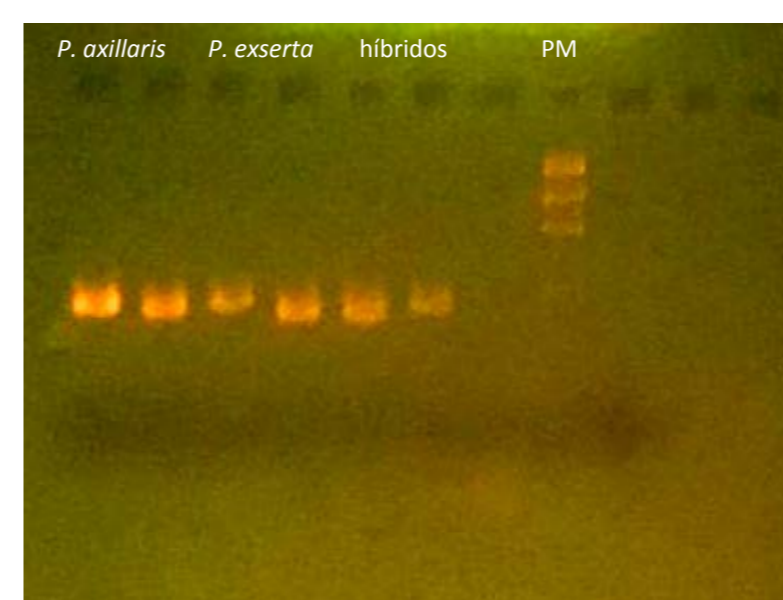


Figura 3. Gel de agarose corado com GelRed ilustrando os produtos de amplificação para *P. exserta*, *P. axillaris* e híbridos para o gene *DFR*

Conclusão

Os resultados até o momento são inconclusivos e novos testes *in silico* e *in vitro* se fazem necessários. Aparentemente, as diferenças entre as espécies se devem a padrões de expressão do gene.