

Prospecção de Marcadores Moleculares Potenciais para Estudos Filogeográficos em Espécies de Tigridieae (Iridaceae)



paz no plural

Denis Dias Dornelles¹, Tatiana T. de Souza-Chies²,

1. Departamento de Botânica, bolsista PIBIC/CNPq; 2. Orientador
Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

INTRODUÇÃO

No Brasil, os Campos Sulinos gaúchos apresentam uma formação vegetal complexa e rica em endemismos e nele encontra-se uma das maiores famílias de monocotiledôneas, Iridaceae, representada por 37 espécies, 17 delas relacionadas na lista de táxons da flora do Rio Grande do Sul com algum grau de ameaça de extinção. As informações obtidas por meio de estudos filogeográficos têm proporcionado o avanço da compreensão dos processos evolutivos envolvidos na diversificação de linhagens vegetais através de sua distribuição geográfica, bem como têm suportado estratégias de conservação de recursos genéticos da flora (AVISE). Embora o conhecimento filogenético dos representantes desta tribo venha sendo esclarecido, a variabilidade genética ao longo da distribuição geográfica das espécies incluídas em Tigridieae ainda é pouco compreendida. Deste modo, torna-se importante realizar a prospecção de sequências de DNA adequadas para inferências filogeográficas em espécies de Tigridieae.

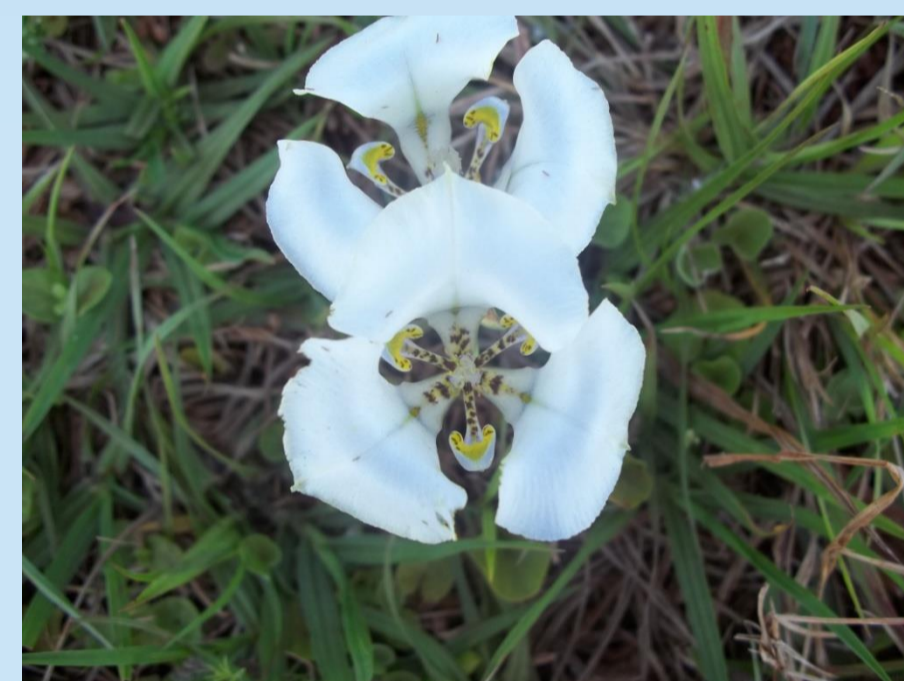
OBJETIVOS

- ✓ Identificar e caracterizar sequências do genoma plastidial potenciais para estudos filogeográficos em Iridaceae (Iridoideae);
- ✓ Caracterização da diversidade genética presente nas regiões potenciais do genoma plastidial em espécies de Tigridieae.

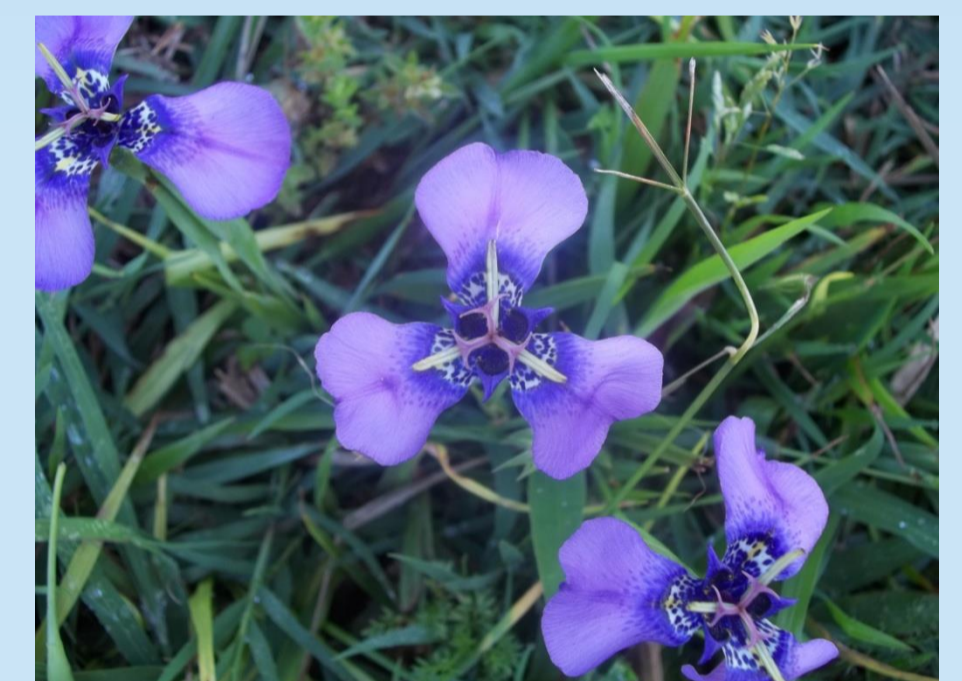
METODOLOGIA

O presente estudo possui foco em oito espécies da tribo Tigridieae. A extração do material foliar coletado foi realizada através do método CTAB(DOYLE e DOYLE). A Eletroforese após extração, para verificação da presença de bandas de DNA foi realizada em gel de agarose 0,8%. As amostras foram amplificadas utilizando reação em cadeia da polimerase (PCR) para as regiões *psbA-trnH* e íntron do gene *rps16* do DNA plastidial. Sucessivamente, as amostras passaram por uma nova eletroforese, em gel de Agarose 1% após o PCR, para quantificar e verificar se houve amplificação do DNA correspondendo ao fragmento selecionado. Foi realizada a purificação das amostras utilizando soluções de Polietileno Glicol e EtOH 80%. Dada por completa a purificação, as amostras passaram por uma última eletroforese em gel de Agarose 1%, com o intuito de observar se o restante do produto de PCR foi removido.

Consecutivamente, as amostras foram sequenciadas conforme o método de Sanger. Após estes procedimentos, as sequências obtidas foram reunidas, editadas e alinhadas. Inicialmente, as sequências foram analisadas quantitativamente através do software Mega 7 MEGA 7 (Kumar *et al.*, 2015) , buscando número de sítios informativos para cada espécie. Posteriormente, outros índices serão calculados



Cypella hauthalii subsp. *opalina* Ravenna



Herbertia aff. *quareimana* Ravenna

Fotos de Stiehl-Alves, E.M.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Até o momento, realizou-se a análise das sequências do espaçador intergênico *psbA-trnH* em duas espécies de Iridaceae em um total de quatro populações: duas de *Cypella hauthalii* subsp. *opalina* Ravenna e duas de *Herbertia* aff. *quareimana* Ravenna. O alinhamento total resultou em 524 pares de base (pb), sendo que 506 sítios são conservados e 18 são variáveis. Separadamente, para a primeira espécie obteve-se 511 pb, 508 sítios conservados e três variáveis, já a segunda espécie possui 523 pb, sendo 522 conservados e uma variável. Analisou-se também as sequências do íntron do gene *rps16* para a segunda espécie já citada, onde se obteve um total de 895 pb e nenhuma variação. Os resultados obtidos através da análise das sequências das espécies citadas acima, não demonstraram a presença de polimorfismos dentro das espécies entre os indivíduos. Para o íntron do gene *rps16*, existem mais amostras amplificadas e purificadas aguardando o sequenciamento. Incluiu-se também no banco de dados cinco indivíduos de cada população das espécies: *Herbertia crosae* Roitman & J.A. Castillo - 1 população, *Herbertia pulchella* Sweet - 4 populações, *Herbertia lahue* (hexaploide) - 1 população e *Herbertia lahue* (octaploide) - 2 populações. Os resultados deste projeto servirão para identificar quais são as sequências do genoma plastidial mais adequadas, visando futuros estudos filogeográficos com espécies da tribo Tigridieae (Iridaceae).

BIBLIOGRAFIA

- Avice JC. 2000. Phylogeography: the history and formation of species. Harvard University Press.
Doyle JJ & Doyle JL (1987) A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochem Bulletin
Kumar S; Stecher G; Tamura K. 2015 MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0. *Molecular Biology and Evolution* (submitted).

Apoio: PIBIC/CNPq e Edital Universal do CNPq.