

TRANSFERABILIDADE DE INICIADORES ORIUNDOS DE GÉRBERA

(*Gerbera L.*) PARA CAMOMILA (*Chamomilla recutita* (L.) Rauschert)

CINTIA SILVEIRA GARCIA¹; SILVANA ALVES ROSA²; LUCIANA DALLEGRAVE SCHROEDER²; KARINE ELISE JANNER DE FREITAS²; VIVIANE KOPP DA LUZ³; ANTONIO COSTA DE OLIVEIRA⁴

¹Universidade Federal de Pelotas – cintia.s.garcia@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – sil.pel@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – dallegrave.lu@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – karinejanner@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – vivikp05@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – acostol@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A espécie *Chamomilla recutita* (L.) Rauschert que pertence à família Asteraceae, é a principal representante do gênero *Matricaria* que apresenta em torno de 45 variedades entre diploides ($2n = 2x = 18$) e tetraploides ($2n = 4x = 36$) conhecidas mundialmente (DAS, 2014; TSIVELIKA et al., 2018). É uma planta alógama, de polinização preferencialmente cruzada, o que caracteriza a heterozigose e a constituição genética única dos indivíduos em suas populações (BESPALHOK; GUERRA; OLIVEIRA, 2007; SINGH et al., 2011).

Devido a heterogeneidade dos indivíduos dentro de uma população, a caracterização molecular é considerada uma ferramenta importante por possibilitar que novos acessos de interesse sejam incluídos em programas de melhoramento genético. Assim, essa caracterização serve como base para os programas de melhoramento delinear estratégias de aumento de produtividade e conservação da espécie (SOUZA, 2015).

Os marcadores microssatélites (SSRs) são sequências simples repetidas que podem ser divididos em SSR genômico e EST-SSR. Os ESTs-SSR são sequências provenientes de regiões mais conservadas do genoma em termos evolutivos e menos polimórficos que os SSR genômicos, sendo amplamente utilizados em estudos para estimar a variabilidade por terem maior probabilidade de estarem associados a expressão gênica (FILHO et al., 2013; PACHECO et al., 2007; PAN et al., 2018; ROJAS GONZALEZ et al., 2011).

A conservação de locos do tipo EST-SSR permite que um mesmo conjunto de marcadores sejam utilizados em diferentes espécies para estudos de associações (SOUSA et al., 2018). Espécies sem genoma de referência como a camomila e a gérbera que pertencem a família Asteraceae, têm sido alvo de estudos com esse tipo de marcador. Essa conservação permite a alta transferibilidade e o estudo de regiões específicas do genoma (MISSIO et al., 2009; WANG et al., 2019).

A gérbera (*Gerbera spp.*) é uma planta originária do Sul da África e Ásia, sendo uma planta herbácea, que pertence à família Asteraceae assim como a camomila, girassol, a margarida e o crisântemo (PEREIRA, 2013). E considerada uma das plantas ornamentais de grande importância no mercado mundial (BENEMANN, 2015; PEREIRA, 2013).

O conhecimento da variabilidade genética a partir de marcadores moleculares em populações de camomila é de grande importância para o melhoramento da cultura, já que possibilita a identificação de populações

candidatas que apresentem genes relacionados principalmente aos metabólitos secundários. O objetivo deste trabalho foi verificar a transferibilidade e eficiência de marcadores ESTs-SSR prospectados para gérbera em camomila.

2. METODOLOGIA

O trabalho foi realizado no Laboratório de Biologia Molecular do Centro de Genômica e Fitomelhoramento, na Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas (UFPel).

Para verificar a transferibilidade de iniciadores de gérbera para camomila, foram testados 50 pares de iniciadores EST-SSR, com tamanho de amplicons variando de 100 a 300 pb, prospectados para gérbera por Benemann (2012). Os *iniciadores* de gérbera foram disponibilizados pelo Laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, do Departamento de Botânica do Instituto de Biologia da UFPel.

Os 50 *iniciadores* foram testados através da técnica Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) utilizando o termociclador. A reação de amplificação foi realizada em um volume final de 13 µL contendo 50 ng de DNA, 6,75µL de GoTaq Green Master Mix (Promega), 1,25µL de cada iniciadores (10µM) e quantidade de água ultrapura estéril suficiente para completar o volume final. O programa da amplificação foi constituído de um ciclo inicial de desnaturação a 94°C por quatro minutos, seguido de 35 ciclos de 94°C por 45 segundos; 60°C por 45 segundos, 72°C por 90 segundos com um ciclo final a 72°C por cinco minutos. A amplificação e o tamanho dos produtos foram verificados por eletroforese em gel de agarose 2% corado com GelRed®. Em todas as reações de PCR foram utilizados como controle negativo a água DEPC estéril.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados demonstram que dos 50 pares de iniciadores prospectados em gérbera e transferidos para a camomila, em sua maior parte não puderam ser validados devido à ausência de amplificação do fragmento de interesse. Já o controle negativo como esperado, não foi amplificado em nenhum dos testes realizados.

No entanto, para cinco amostras testadas (3, 4, 5, 6 e 8) foi observada a amplificação de um fragmento de baixa intensidade. Levando em consideração que foram testados 50 pares, o número de regiões amplificadas na camomila (10%) não é suficiente para um estudo de variabilidade genética. Com isso, se faz necessário a prospecção de iniciadores específicos de camomila para estudos futuros para se avaliar a variabilidade em diferentes populações.

As regiões EST-SSR que os iniciadores amplificam não foram encontradas no genoma da camomila. Isso indica que apesar dessas duas espécies pertencerem a família Asteraceae, durante a evolução esses genomas foram divergindo. Em vista disso, buscou-se prospectar iniciadores baseados em regiões EST para a espécie *Chamomilla recutita* L. a fim de identificar a variabilidade genética entre populações.

Estudos revelam que a taxa de transferibilidade de marcadores moleculares em espécies que pertencem ao mesmo gênero é considerada elevada, devido a conservação de regiões microssatélites em espécies relacionadas (SCOTT et al., 2003).

Já o estudo realizado por Yamamoto et al. (2001) com iniciadores SSR desenhados para maçã (*Malus domestica*), apresentou uma taxa de 100% de

transferibilidade em pêra (*Pyrus communis*) ambas espécies pertencentes a família Rosaceae.

Por fim, considerando o custo elevado para o desenvolvimento de marcadores microssatélites, e a ausência de informações de determinadas espécies, a estratégia de análise de transferibilidade de iniciadores EST-SSR de uma espécie para outra é bastante promissor.

4. CONCLUSÃO

Este estudo permite concluir que apenas 10% dos iniciadores apresentaram amplicon em camomila.

Agradecimentos: A CAPES, CNPq e a FAPERGS pelo auxílio financeiro.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BENEMANN, D. DE P. et al. Identification, characterization and validation of SSR markers from the gérbera EST database. **Plant OMICS**, v. 5, n. 2, p. 159–166, 2012.

BENEMANN, D. DE P. **Caracterização morfológica e molecular para o auxílio no melhoramento genético em gérbera**. [s.l.] Universidade Federal de Pelotas, 2015.

BESPALHOK, F. J. C.; GUERRA, E. P.; OLIVEIRA, R. DE. **Melhoramento de plantas alógamas**. [s.l]: s.n.].

DAS, M. **Chamomile : medicinal, biochemical, and agricultural aspects**. [s.l.] CRC Press, 2014.

FILHO, J. A. D. et al. Utilização de marcadores moleculares RAPD e EST's SSR para estudo da variabilidade genética em cana-de-açucar. **Revista Ciência Agronômica**, v. 44, n. 1, p. 141–149, 2013.

MISSIO, R. F. et al. Assessment of EST-SSR markers for genetic analysis on coffee. **Bragantia**, v. 68, n. 3, p. 573–581, 2009.

PACHECO, A. C. et al. Germinação de sementes de Camomila [*Chamomilla recutita* (L.) Rauschert] e calêndula (*Calendula officinalis* L.) tratadas com ácido salicílico. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 9, n. 1, p. 61–67, 2007.

PAN, L. et al. EST-SSR marker characterization based on RNA-sequencing of *Lolium multiflorum* and cross transferability to related species. **Molecular Breeding**, v. 38, n. 6, 2018.

PEREIRA, L. G. **Gérbera Submetidas a Diferentes Tensões De Água No Solo**. [s.l.] Universidade Federal de Lavras, 2013.

ROJAS GONZALEZ, S. et al. Diversidade genética em acessos do banco de germoplasma de camu-camu (*Myrciaria dubia* [H.B.K.] McVaugh) do INPA usando

marcadores microssatélites (EST-SSR). **Revista Corpoica - Ciencia y Tecnología Agropecuaria**, v. 12, n. 1, p. 51–64, 2011.

SCOTT, L. J.; SHEPHERD, M.; HENRY, R. J. Characterization of highly conserved microsatellite loci in Araucaria cunninghamii and related species. **Plant Systematics Evolution**, Jena, v. 236, p. 115- 123, 2003.

SOUSA, L. L. et al. Transferibilidade de marcadores microssatélites em espécies de Psidium. **Ciência & Tecnologia Fatec-JB**, v. 10, n. 2, p. 23–28, 2018.

SINGH, O. et al. Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): An overview. **Pharmacognosy Reviews**, v. 5, n. 9, p. 82, 2011.

SOUZA, D. C. L. Técnicas moleculares para caracterização e conservação de plantas medicinais e aromáticas: uma revisão. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 17, n. 3, p. 495–503, set. 2015.

TSIVELIKA, N. et al. Phenotypic variation of wild Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) populations and their evaluation for medicinally important essential oil. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 80, n. April, p. 21–28, 2018.

WANG, X. et al. Development of EST-SSR markers and their application in an analysis of the genetic diversity of the endangered species *Magnolia sinostellata*. **Molecular Genetics and Genomics**, v. 294, n. 1, p. 135–147, 2019.