
Recursos Genéticos Vegetais

■ Caracterização x Avaliação

□ Caracterização

- Alta herdabilidade
- Pouca influência ambiental

□ Avaliação

- Baixa herdabilidade
 - Muita influência ambiental
-

Caracterização

■ Caracterização:

- **Consiste no registro de características altamente herdáveis, de fácil visualização e que se expressam em todos os ambientes.**

■ Tipos

- ❑ Morfológica
 - ❑ Citológica
 - ❑ Bioquímica
 - ❑ Molecular
-

Marcadores ou Descritores

- **Marcador Genético**
 - Qualquer característica que permita a distinção entre dois indivíduos ou organismos.
 - Deve ser capaz de diferenciar progenitores;
 - Deve ser reproduzido na progênie.
 - **Do ponto de vista molecular:** um marcador genético ou loco marcador serve para identificar uma região do cromossomo
 - Deve ter alto nível de polimorfismo;
 - Deve ter estabilidade ambiental;
 - Deve detectar grande número de locos não ligados;
 - Ser de herança simples.
 - **Marcador molecular:** Todo e qualquer fenótipo molecular proveniente de um gene expresso
 - Marcadores enzimáticos.
-

Caracterização Morfológica

Caracteres Qualitativos

■ Vantagens

- ❑ Herança simples
- ❑ Fácil e rápido de mensurar

■ Desvantagens

- ❑ São identificados só a nível de planta inteira ou adulta;
 - ❑ Pequeno número de caracteres morfológicos
 - ❑ Pouca variação
 - ❑ Heterozigotos não são frequentemente detectados
-

Descritores Morfológicos

■ Descritores

- Planta
- Folha
- Flor
- Fruto
- Semente



Caracterização Bioquímica

■ **Vantagens**

- ❑ Alelos individuais são detectados
- ❑ Herança simples
- ❑ Fácil de serem caracterizados
- ❑ Efeitos ambientais não são comuns

■ **Desvantagens**

- ❑ Somente proteínas codificam os genes
- ❑ Somente variantes que causam mobilidade podem ser detectados
- ❑ Número limitado de locos disponíveis

■ **Exemplo:** Isoenzimas, marcador de proteínas de sementes..

Caracterização Citológica

■ Vantagens

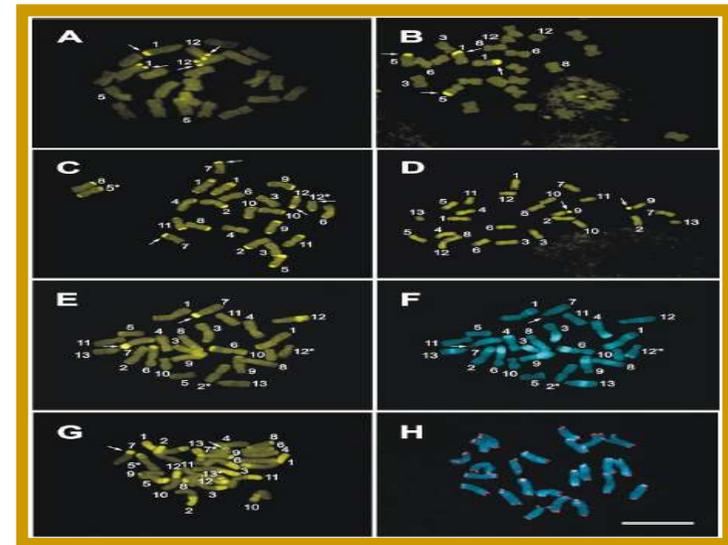
- São encontrados em todas as espécies;
- Não sofrem efeito ambiental de imediato
- Para algumas espécies são os cromossomos são fáceis de serem observados
- Técnicas simples

■ Desvantagens

- Não é possível para todas as espécies
 - Tamanho do cromossomo
 - Cariótipo simétrico

■ Marcadores Citológicos:

- Knobs
- RON



Caracterização Molecular

■ Vantagens

- Alelos individuais são detectados
- Herança simples
- Nenhum ou **pouco efeito** ambiental
- Pode detectar mudanças através de todo o genoma

■ Desvantagens

- Caro
- Complexo
- Somente pequeno número pode ser analisado

■ Uso

- Identificação
- Similaridade
- Estrutura da população
- Detecção de um alelo particular

■ Exemplos

- RFLP, RAPD, AFLP, etc...
-

Marcadores moleculares – *ex situ*

■ **Identidade**

- Determinação se um acesso ou indivíduo foi catalogado corretamente, mantido propriamente, e se mudança genética ou erosão ocorreu no acesso durante a sua conservação.

■ **Similaridade**

- O grau de similaridade entre indivíduos em um acesso ou entre acessos dentro da coleção.

■ **Estrutura**

- A partição da variação entre indivíduos, acessos, populações e espécies. Fatores que influenciam: tamanho da população, modo de reprodução, e migração.

■ **Detecção**

- Detecta a presença de um alelo particular ou sequência de nucleotídeo em um *taxon*, acesso, população *in situ*, indivíduo, etc..
-

Marcadores moleculares – *in situ*

■ **Localização**

- A identificação de populações as quais precisam ser conservadas com base na diversidade genética presente bem como no valor do Rg e as ameaças a que está submetido..

■ **Manejo**

- O planejamento do manejo para monitorar as mudanças da população alvo no tempo e a certeza da sua sobrevivência na natureza.

■ **Acessibilidade**

- A conservação *in situ* é mais interessante para a conservação dos recursos genéticos florestais com ênfase nas espécies silvestres relacionadas as cultivadas.
-

Caracterização Molecular

Técnicas

- ❑ Baseadas em enzimas de restrição
 - RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)
 - VNTRs (Variable Number of Tandem Repeats)
 - ❑ Microssatélites ou SSR (Simple Sequence Repeat)
 - Unidade básica de repetição: 2-8 pares de base
 - ❑ Minissatélites: 16 – 100 pb
- ❑ Baseadas em PCR
 - RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)
 - AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)
 - Etc...

Tipos de Marcadores Moleculares

■ RFLP

- Polimorfismo no comprimento de fragmentos de restrição
 - Variação à nível de DNA
 - Enzimas de restrição
 - Ambas as fitas de DNA
 - Seqüência única e específica
 - Fragmentos
 - Pequenos
 - Grandes
 - Peso molecular
 - Sítio de restrição
 - EcoRI:
5' CAATTC 3'
3' CTTAAG 5'
 - Sondas de DNA
 - Hibridização dos fragmentos
-

Fonte: IPGRI, 1997

Vantagens e Desvantagens do RFLP

■ Vantagens

- ❑ Expressão é codominante
- ❑ Pode identificar genótipos homozigotos e heterozigotos.
- ❑ Cobrem, potencialmente todo o genoma do organismo estudado
- ❑ O número de marcadores RFLP são ilimitados.
- ❑ O nível de polimorfismo alélico em cada loco é muito maior
- ❑ Alta estabilidade do DNA
- ❑ Alta repetibilidade dos resultados
- ❑ Muito usado na construção de mapas genéticos

■ Desvantagens

- ❑ Técnica muito laboriosa
- ❑ Inexistência de uma biblioteca de sondas
- ❑ Pessoal técnico treinado
- ❑ Uso de fósforo radioativo

RFLP

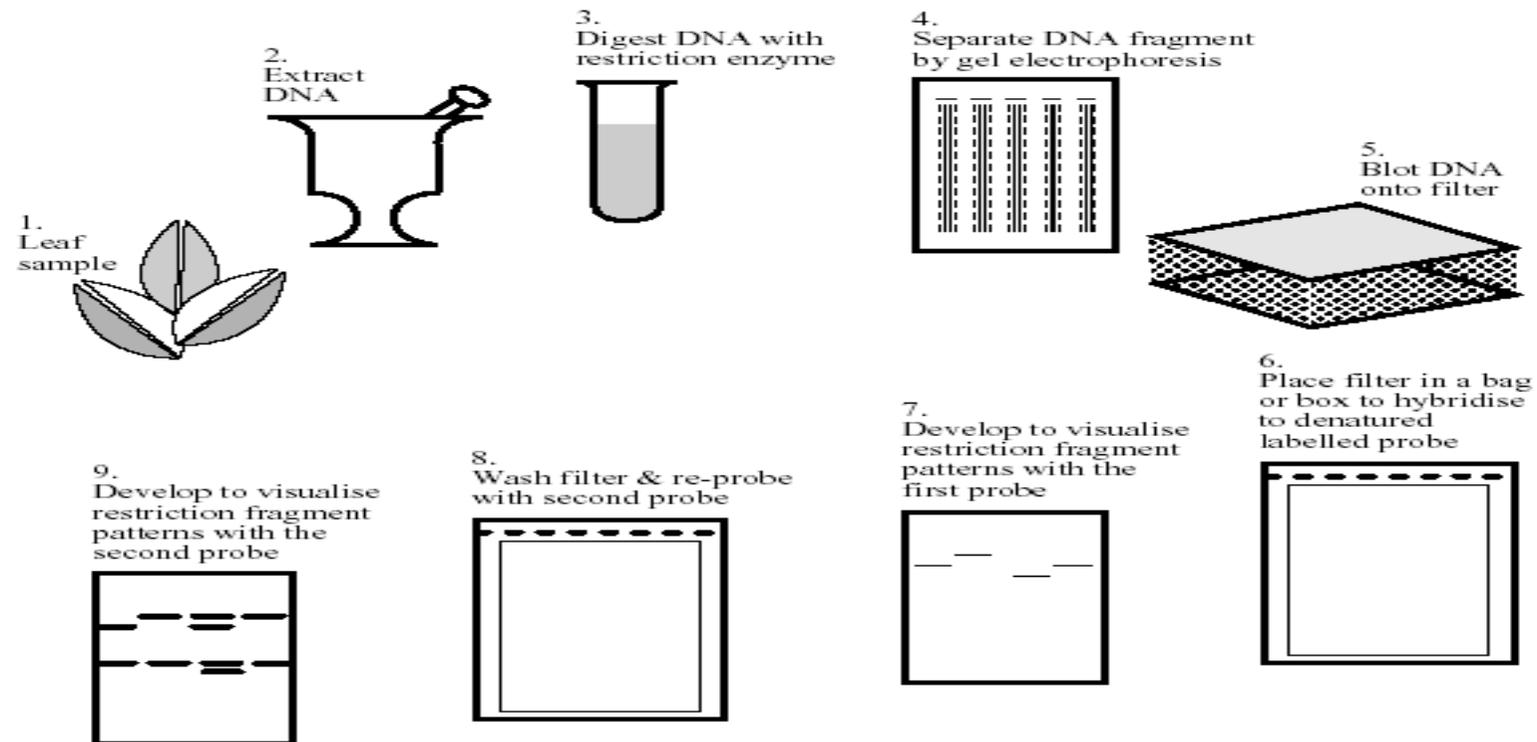


Fig. 5. Restriction fragment length polymorphism

PCR- Reação de Polimerase em Cadeia

- PCR

- Reação de Polimerase em Cadeia
- Amplificação de fragmentos específicos de DNA genômico
- Enzima copiadora - DNA polimerase
- Sintetiza uma molécula dupla de DNA a partir de um modelo de DNA
- Termoestável
 - Taq polimerase
 - *Thermus aquaticus*
 - Processo automatizado

- Etapas

- Desnaturação: 92-95 ° C
 - Anelamento: 35 - 60 ° C
 - Tamanho
 - Seqüência do iniciador
 - Extensão: 72 ° C
-

RAPD

- Marcador dominante
 - **Vantagens**
 - Simplicidade
 - Rapidez na obtenção dos dados
 - Custo reduzido
 - Aplicável a qualquer organismo
 - Não emprega radioatividade
 - **Desvantagens**
 - Baixo conteúdo de informação genética em cada loco
 - Não permite distinguir genótipos homozigotos dominantes de heterozigotos
 - Baixa reprodutibilidade dos resultados
 - Requer otimização cuidadosa das condições experimentais
-

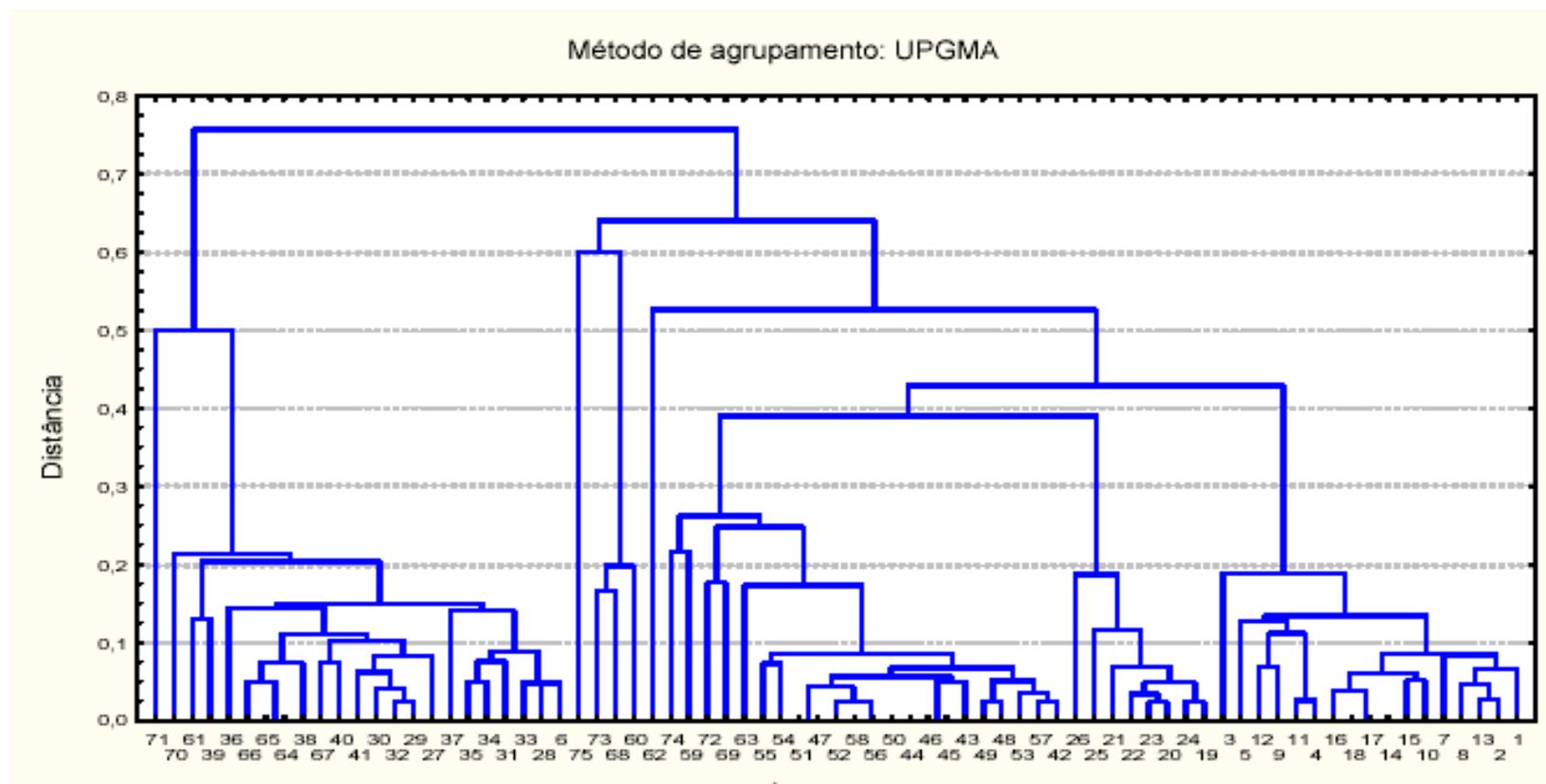
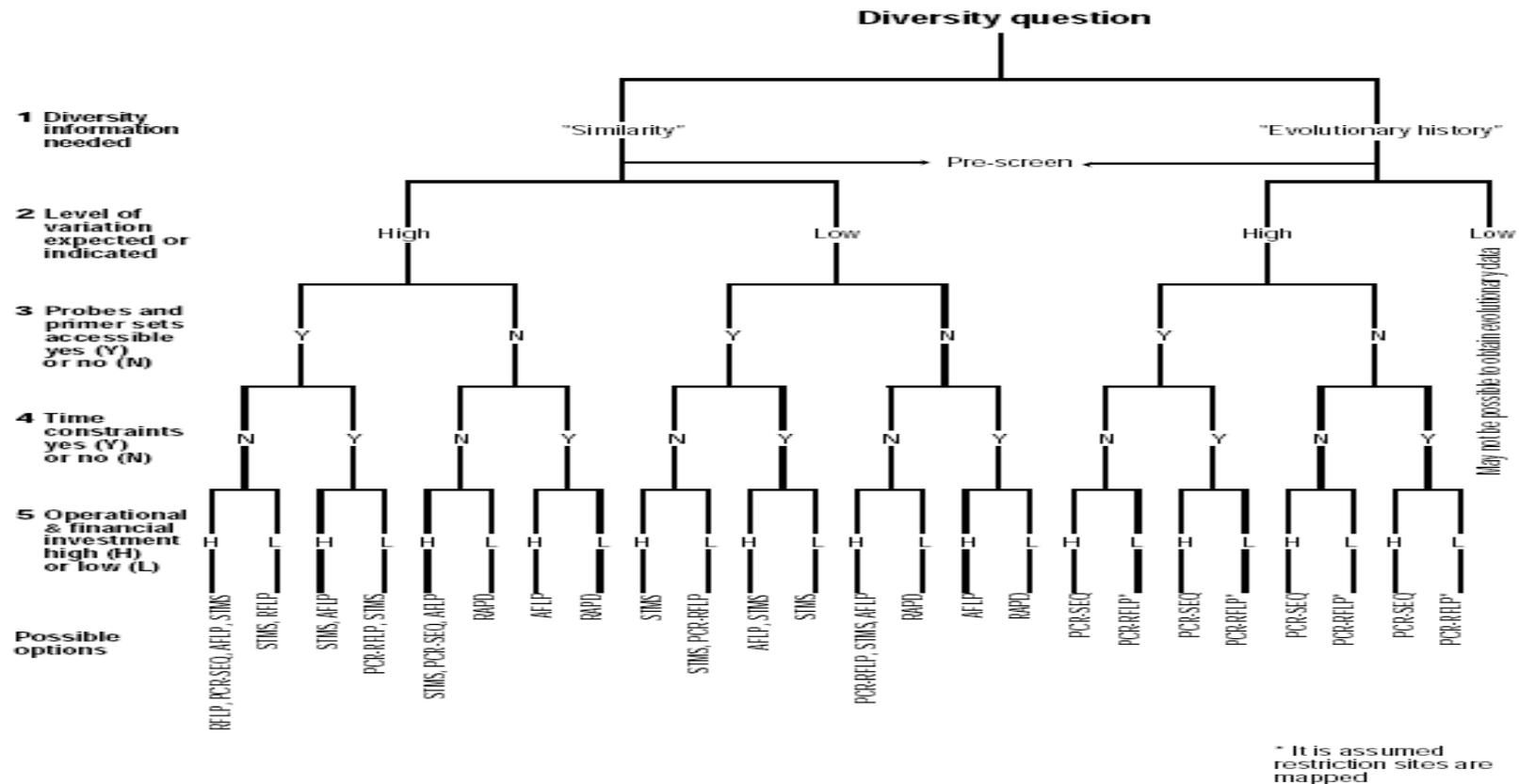


Figura 3 - Dendrograma obtido pelo método UPGMA a partir das medidas de dissimilaridade genética entre 75 acessos de *Capsicum* spp., com base em 100 fragmentos polimórficos e 12 monomórficos, expressa pelo complemento aritmético do índice de Jaccard.

Costa et al. 2006

Tomada de Decisão????



Fonte: IPGRI, 1997

Table 1. Comparative assessment of some of the salient characteristics of different molecular genetic screening techniques

Characteristic	RFLPs	RAPDs	Sequence-tagged SSRs	AFLPs	PCR sequencing
Development costs (\$ per probe)	Medium (100)	Low (none)	High (500)	Low (none)	High (500)
Level of polymorphism	Medium	Medium	High	Medium	Medium
Automation possible	No	Yes/No	Yes/No	Yes/No	Yes
Cost of automation	High	Medium	High	High	High
Repeatability	High	Low	High	Medium	High
Level of training required	Low	Low	Low/Medium	Medium	High
Cost (\$ per assay)	High (2.00)	Low (1.00)	Low (1.00)	Medium (1.50)	High (2.00)
Radioactivity used	Yes/No	No	Yes/No	Yes/No	Yes/No
Samples/day (without automation)	20	50	50	50	20

Fonte: IPGRI, 1997