

XVIII SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFJF

Grande área:

Ciências Biológicas

Projeto:

DESENVOLVIMENTO DE TECNOLOGIA DE CITOMETRIA DE FLUXO EM PLANTAS

Autores:

JÚLIO CÉSAR GOMES GRAÇA (XIX BIC 2011/2012)

SHAIANY SABRINA LOPES GOMES

CAMILA SIQUEIRA NEVES

JOSE MARCELLO SALABERT DE CAMPOS (ORIENTADOR)

Resumo:

A citometria de fluxo tem sido uma tecnologia extensivamente utilizada na pesquisa em plantas, entretanto apresenta algumas limitações, como a necessidade de se trabalhar com tecidos vegetais frescos e a produção de metabólitos secundários que formam uma barreira física para o acesso dos corantes aos núcleos, conduzindo a erros de estimativa da quantidade de DNA. O objetivo do presente projeto foi abordar essas limitações utilizando como modelo espécies do gênero *Lippia* (*L. alba* e *L. rubella*) e *Pfaffia* (*P. glomerata*). Estes materiais foram analisados por citometria de fluxo em 5 momentos: in vitro (representando o ponto de partida dos experimentos) e em 4 estações ao longo do ano. Para estimativa das quantidades de DNA, aproximadamente de 20-30mg de tecido foliar jovem das espécies de *Pfaffia* e *Lippia* e o mesmo peso de tecido foliar de um padrão interno de referência foram macerados com auxílio de uma lâmina cortante em uma placa de Petri contendo 1mL de tampão para liberação dos núcleos em suspensão. Diferentes tampões foram testados. A suspensão de núcleos foi corada com iodeto de propídeo. Foram utilizadas folhas secas das espécies para a qualificação e semiquantificação dos seguintes metabólitos secundários: taninos, flavonóides, cumarinas, heterosídeos, antraquinonas, leucoantocianidinas, saponinas e alcalóides. Alguns protocolos de preservação de folhas foram testados para análise por citometria de fluxo envolvendo a preservação a frio. Para todos os tratamentos as estimativas de citometria de quantidade de DNA foram obtidas e comparadas com as estimativas obtidas a partir da utilização de material fresco. De um modo geral, a época de coleta influencia na qualidade dos resultados obtidos por citometria de fluxo. Esta observação é particularmente importante para as espécies de *Lippia*. Do mesmo modo, a escolha do tampão também influencia na obtenção de bons resultados. Em *Lippia rubella*, a espécie onde a obtenção de bons resultados foi mais complicada, a presença de uma grande quantidade de taninos parece ser o principal fator limitante. Para todas as espécies investigadas, a preservação dos tecidos vegetais em algodão umedecido permitiu a obtenção de bons resultados por mais tempo.