



Instituto Politécnico
de Castelo Branco

Instituto Politécnico de Castelo Branco

Carmona, Clarisse Pires

**Caracterização molecular de árvores PLUS de
Pinus pinea L. seleccionadas para produção de
fruto**

<https://minerva.ipcb.pt/handle/123456789/2431>

Metadados

Data de Publicação	2006
Resumo	A <i>Pinus pinea</i> L. é economicamente importante, em particular, para a região de Alcácer do Sal, devido à produção de pinhão. Para genotipar 49 árvores “plus” seleccionadas pela produção de fruto nessa região de produção, recolheram-se as agulhas, extraiu-se o DNA, e utilizou-se três microssatélites nucleares desenhados para <i>P. pinaster</i> (FRPP9), FRPP94 e A6F03). Em vinte dessas amostras, juntamente com três de <i>P. pinaster</i> , uma de <i>P. halepensis</i> e uma de <i>P. canariensis</i> , foram sequenciados dois genes ...
Palavras Chave	Pinheiro manso, Microssatélites, Sequenciação, Diferenciação molecular
Tipo	report
Revisão de Pares	Não
Coleções	ESACB - Engenharia Florestal

Esta página foi gerada automaticamente em 2024-05-06T22:23:46Z com informação proveniente do Repositório



ESCOLA SUPERIOR AGRÁRIA
INSTITUTO POLITÉCNICO DE CASTELO BRANCO

**CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE ÁRVORES
“PLUS” DE *Pinus pinea* L. SELECIONADAS
PARA PRODUÇÃO DE FRUTO**

Engenharia Florestal

Relatório do Trabalho de Fim de Curso

Clarisse Pires Carmona



CASTELO BRANCO

2006

Índice

Agradecimentos.....	i
Abreviaturas.....	iii
Resumo.....	v
Abstract.....	vi
Índice.....	vii
Índice de figuras.....	viii
Índice de tabelas.....	xi
1 – Introdução	1
2 – Revisão Bibliográfica	3
2.1– Enquadramento sistemático e caracterização botânica.....	3
2.2 – Origem e regiões de difusão	6
2.3 – Área de distribuição actual	7
2.4 – Importância económica.....	9
2.5 – Marcadores genéticos e moleculares	10
2.5.1 – Isoenzimas (Marcadores bioquímicos).....	11
2.5.2 – RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism)	12
2.5.3 – Técnica PCR (<i>Polymerase Chain Reaction</i>).....	13
2.5.4 – RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA).....	14
2.5.5 – Microssatélites	15
2.5.6 – AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)	16
2.5.7 – Outras Técnicas.....	18
2.5.7.1 – Sequenciação propriamente dita.....	18
2.5.7.2 – SNPs (Single-Nucleotide Polymorphisms).....	19
2.5.7.3 – Tecnologia de <i>Microarray</i> ou <i>DNA chip array</i>	20
2.5.8 – Estudos de diversidade genética em <i>P. pinea</i> L.....	20
3 – Material e Métodos	22
3.1 – Material Vegetal	22
3.2 – Isolamento de DNA	23
3.2.1 – Separação do DNA total por electroforese	23
3.3 – Microssatélites nucleares (nuSSR)	24

3.3.1 – Amplificação dos microssatélites	24
3.3.2 – Separação dos fragmentos por electroforese	27
3.3.3 – Análise dos fragmentos.....	27
3.4 – Genes e sequências de cpDNA	27
3.4.1 – Amplificação e purificação dos genes do cpDNA.....	28
3.4.2 – Sequenciação de genes e de sequências de cpDNA	29
3.4.3 – Alinhamento de sequências	30
4 – Resultados.....	31
4.1 – Visualização da quantificação do DNA total.....	31
4.2 – Microssatélites	31
4.3 – Genes e sequências de cpDNA	33
4.3.1 – Visualização da amplificação dos genes e sequências de cpDNA	33
4.3.2 - Alinhamento de sequências.....	33
5 – Discussão.....	36
5.1 – Microssatélites	36
5.2 – Genes e sequências de cpDNA	37
5.3 – Evidências sobre a ausência de polimorfismo em <i>P. pinea</i>	37
6 – Considerações finais	40
7 – Bibliografia	41
Anexos	

Resumo

A *Pinus pinea* L. é economicamente importante, em particular, para a região de Alcácer do Sal, devido à produção de pinhão. Para genotipar 49 árvores “plus” seleccionadas pela produção de fruto nessa região de produção, recolheram-se as agulhas, extraiu-se o DNA, e utilizou-se três microssatélites nucleares desenhados para *P. pinaster* (FRPP91, FRPP94 e A6F03). Em vinte dessas amostras, juntamente com três de *P. pinaster*, uma de *P. halepensis* e uma de *P. canariensis*, foram sequenciados dois genes (*matK*, *rbcL*), um intrão (*trnV*) e a região entre dois genes (*rpl20-rps18*), do DNA do cloroplasto. A transferência dos SSR FRPP91 e FRPP94 de *P. pinaster* para *P. pinea* não foi conseguida e só obtivemos um dos alelos referidos por Guevara *et al.* (2005) para o SSR A6F03. Verificou-se a existência de um único haplótipo nas amostras de *P. pinea*, para as diferentes regiões sequenciadas. Quando comparadas com as outras espécies utilizadas, o gene *matK* distinguiu em 6 pb a amostra de *P. canariensis* das restantes. O gene *rbcL* e o intrão *trnV* tinham o mesmo comprimento e sequência de nucleótidos nas amostras das várias espécies. A região *rpl20-rps18* discriminou as amostras de *P. pinea* das de *P. pinaster* e de *P. halepensis* em 15 pb e das de *P. canariensis* em 4 pb.

Palavras chave: Pinheiro manso, microssatélites, sequenciação, diferenciação molecular.