



Fundação Universidade Federal do ABC

Pró reitoria de pesquisa

Av. dos Estados, 5001, Santa Terezinha, Santo André/SP, CEP 09210-580

Bloco L, 3º Andar, Fone (11) 3356-7617

iniciacao@ufabc.edu.br

Projeto de Iniciação Científica
submetido para avaliação ao Edital
04/2022 (PIC/PIBIC/PIBITI/PIBIC-
AF)

Título do projeto: Implementação do banco de DNA de macroalgas do Herbário
Sinningia da Universidade Federal do ABC (HUFABC)

Palavras-chave do projeto: coleções, conservação, Ficologia, genética

Área do conhecimento do projeto: Ciências Biológicas - Botânica

Sumário

1 Resumo	2
2 Introdução e Justificativa	2
3 Objetivos	2
4 Metodologia	3
5 Viabilidade	3
6 Cronograma de atividades	4
Referências	4

1 Resumo

Os herbários e bancos de DNA, possuem uma enorme importância científica, histórica e cultural, por meio destas ferramentas diversos estudos podem ser beneficiados. No mais, estas coleções além de possuírem também grande significado no tocante aos estudos taxonômicos e evolutivos de espécies vegetais, apresentam conjuntamente um meio muito propício para o desenvolvimento biotecnológico relacionado a este táxon. Nosso país possui uma das maiores biodiversidades do mundo, onde estima-se que 19% das espécies vegetais existentes encontram-se aqui. Contudo, no Brasil, os herbários existentes enfrentam muitas dificuldades estruturais e muitos não dispõem de coleções de algas, haja vista que há uma grande diferenciação entre o número estimado de algas existentes e o número de espécies catalogadas. Os bancos de DNA também caminham em seus primeiros passos no país e, tampouco, apresentam coleções de DNAs abrangentes de algas. Considerando este contexto e a necessidade de ações que mudem este cenário para benefício da ciência no país, este projeto visa propor a criação de um Banco de DNA de macroalgas, vinculado ao Herbário Sinningia da Universidade Federal do ABC (HUFABC). O banco de DNA servirá como ponto de partida para estudos em genética da conservação, genômica comparativa, filogenia, evolução ou bioprospecção para uso biotecnológico.

2 Introdução e Justificativa

O Brasil é considerado o país que possui a maior biodiversidade do mundo. Habitam no país mais 116.000 espécies animais e mais de 46.000 espécies vegetais, equivalentes a cerca de 20% da quantidade total de espécies que habitam o mundo todo.

Ademais, nosso país possui seis biomas terrestres e três ecossistemas marinhos distintos, o que viabiliza ainda mais a diversificação das espécies existentes, haja vista que cada um desses locais dispõe de estruturas únicas, servindo de lar para estas espécies. (MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, 2022). No que diz respeito às algas, há grande imprecisão quando o assunto é a estimativa da quantidade total de espécies que existam, contudo, acredita-se que existam cerca de 40.878 espécies diferentes de algas, das quais 16.743 são de ambiente marinho e 24.100 são de ambiente terrestre ou de água doce. (MENEZES, 2005). As algas são de grande importância para o ecossistema global do planeta, sendo as produtoras primárias que alimentam grande parte dos níveis tróficos subsequentes, além de serem consideradas biorremediadores com grande potencial e serem responsáveis pela produção de grande parte do oxigênio disponível na biosfera (REVIERS, 2006).

Os bancos de DNA possuem como objetivo principal a conservação do material genético de seres vivos, preservando-os e permitindo seu uso futuro para diversas finalidades científicas, com aplicação nos mais diversos campos da ciência (SANTOS, 2002). Além disso, a conservação deste material permite estudos de filogenia molecular mais avançados acerca da biodiversidade geral, bem como de espécies, permitindo a análise de sua variabilidade genética e, portanto, a compreensão de fenômenos evolutivos como a deriva genética e endogamia. Assim, é possível a detecção dos sintomas de perda da diversidade genética de uma espécie e, assim, prevenção de sua extinção (SANTOS, 2002). No Brasil, os bancos de DNA vegetal ainda caminham em seus primeiros passos, havendo, de acordo com o CGEN (Conselho de Gestão do Patrimônio Genético), somente duas coleções exclusivamente vegetais de DNAs, presentes na UENF (Universidade Estadual do Norte Fluminense). E algumas outras poucas coleções vinculadas aos herbários de outras instituições. Em todos os casos, ainda é difícil o estabelecimento de informações quantitativas acerca das amostras (BERG, 2005).

O mantimento de coleções vegetais em herbários é uma ferramenta científica de ensino e aprendizagem muito importante, que além de seu valor para as bases de dados científicas, também possui grande importância histórica e cultural (PEIXOTO et al., 2003). Existem, porém, muitos desafios relacionados aos herbários no Brasil, como por exemplo, a falta de taxonomistas especializados em grupos vegetais específicos (sobretudo algas e briófitas), a falta de estrutura e investimento adequados e a inexistência de um sistema que unifique as informações presentes nos herbários de todo o país. Além

disso, grande parte dos dados coletados não são devidamente publicados (MENEZES, 2005).

Segundo o Catálogo da Rede Brasileira de Herbários, existem 277 herbários registrados no país, dos quais, apenas 143 encontram-se ativos. Destes, 22 estão no estado de São Paulo, incluindo o Herbário Sinningia da Universidade Federal do ABC (HUFABC). Segundo o site do HUFABC, o herbário foi criado em 2014 pela Profa. Dra. Andrea Onofre Araújo, possui cerca de 2.500 exemplares diferentes e tem grande importância para as pesquisas realizadas envolvendo espécies vegetais da região (<https://herbario.propes.ufabc.edu.br>). Apesar disso, vale ressaltar que o referido herbário ainda não apresenta uma coleção de algas. Neste cenário, é válido ressaltar que, de acordo com as informações apresentadas, apenas 34 destes herbários fazem menção a algas, seja por possuírem amostras deste grupo na coleção ou por possuírem em sua equipe responsável profissionais especialistas em algas (SOCIEDADE BOTÂNICA DO BRASIL, 2022). A maioria dos herbários brasileiros é composta principalmente por espécies da flora terrestre, com ênfase nas angiospermas (MAIA, 2003). Além disso, a amostragem total de dos grupos de algas se apresenta em número muito inferior ao que se estima existirem no Brasil. (MENEZES, 2005)

Assim, considerando a necessidade de coleções (tanto em herbários quanto em bancos de DNA) que englobem grupos de macroalgas, bem como os diversos benefícios e avanços científicos que estes podem acarretar, este projeto visa estabelecer os primórdios de um banco de DNA vegetal vinculado à coleção de macroalgas, também em implementação, do herbário Sinningia da Universidade Federal do ABC (HUFABC).

3 Objetivos

- Implementar um banco de DNA de macroalgas marinhas, vinculado ao Herbário Sinningia da Universidade Federal do ABC (HUFABC), com foco em espécimes coletados no litoral do estado de São Paulo;
- Possibilitar o compartilhamento de amostras entre instituições nacionais;
- Aumentar o conhecimento genômico a respeito de diversos grupos de macroalgas marinhas;
- Auxiliar na consolidação do HUFABC como ferramenta para estudos ficológicos.

4 Metodologia

As coletas serão realizadas em praias do litoral do estado de São Paulo, nos municípios de Ubatuba e São Sebastião. As tábuas de maré publicadas pela Diretoria de Hidrografia e Navegação do Ministério da Marinha no sítio www.dhn.mar.mil.br serão consultadas para identificar as marés baixas de sizígia e determinar as datas de coleta. As estações de coleta serão georeferenciadas com o auxílio do GPS de campo. Os exemplares serão coletados seletivamente, com auxílio de tesoura e espátula metálica, na região entremarés durante as marés baixas de sizígia. A amostragem será realizada aleatoriamente buscando-se coletar o maior número de indivíduos de espécies diferentes.

Os exemplares coletados serão limpos em água do mar e separados de possíveis impurezas e de algas epífitas no próprio local de coleta ou, quando possível, no laboratório, sob microscópio estereoscópico. Ainda em campo, pequenos fragmentos do talo (preferencialmente os ápices) serão retirados e secos em papel toalha. Em seguida serão acondicionados em sacos de papel contendo sílica gel e mantidos em temperatura ambiente para posterior extração do DNA. O restante dos talos dos espécimes será herborizado de acordo com Nunes (2010) e registrado no acervo do Herbário Sinningia da Universidade Federal do ABC (HUFABC).

A extração de DNA total será realizada através do método CTAB, modificado de DOYLE; DOYLE (1987), excluindo a incubação final com RNase. Entre 10-20 mg de material desidratado em sílica serão macerados em nitrogênio líquido até a formação de um pó fino utilizando-se almofariz e pistilo de porcelana. Alternativamente, para espécies de pequenas dimensões e com pouco material desidratado, a maceração será realizada diretamente em microtubos de 1,5 µL. Após maceração, o pó será transferido para tubos de 1,5 µl (tipo Eppendorf) e a amostra será incubada com 700 µL de tampão CTAB (CTAB 1%, NaCl a 5% de EDTA, PVP a 1% e Tris-HCl 1M pH 8) e 14 µL de proteinase K a 60°C por aproximadamente 40 min. Após incubação, 250 µL de acetato de potássio 5 M serão adicionados à mistura, seguido de um período de incubação de 30min a -20°C. Em seguida, a mistura será centrifugada a 12.000 rpm por 30 min, sendo a fase líquida recuperada.

Para a purificação serão realizadas duas etapas com adição de igual volume de clorofórmio-álcool isoamílico (24:1), seguidas de centrifugação a 13.000 rpm. A precipitação se realiza pela adição de isopropanol em volume igual ao volume recuperado da purificação, seguido de uma incubação por 24h a -20°C. Após incubação o material

Após a extração, o DNA total será submetido à eletroforese em gel de agarose 1% em tampão TAE (Tris-Acetato-EDTA) e corado com SYBER Green para averiguação da qualidade e quantidade de DNA extraído. O DNA no gel será visualizado através de um transluminador UV, acoplado a um sistema de fotografia digital. Todas as amostras serão incorporadas no Banco de DNAs do HUFABC, com o mesmo número de registro do voucher (exsicata) associado.

O Laboratório de Evolução e Diversidade III já está equipado com equipamentos necessários para a extração e avaliação da qualidade do DNA. Recursos adicionais para manutenção do estoque de reagentes e outros materiais de consumo já foram solicitados a agências de fomento para subsidiar coletas, reagentes, dentre outros. Há ainda possibilidade de uso do veículo institucional para as viagens de campo.

1. Revisão Bibliográfica e Treinamento
2. Coleta
3. Triagem do material
4. Extração de DNA
5. Averiguação da quantidade e qualidade do DNA
6. Incorporação no Banco de DNA da HUFABC
7. Relatórios Parcial e Final
8. Apresentação no Simpósio de Iniciação Científica da UFABC

[illegible]

Incorporação no Banco de DNA da HUFABC						X	X	X	X	X	X	
Relatórios Parcial e Final						X						X
Apresentação no Simpósio de Iniciação Científica da UFABC	Data a ser definida!											

Referências

BERG, Cássio van den. Bancos de DNA de Plantas, 2005.

DOYLE, J.J. & DOYLE, J.L. 1987. A rapid DNA isolation method for small quantities of fresh tissues. *Phytochem. Bull. Soc. Amer.* 19: 11-15.

GIULIETTI, Ana Maria. et al. Biodiversidade e conservação das plantas no Brasil. MEGADIVERSIDADE, Volume 1, Nº 1, p. 52-61, 2005.

MENEZES, M., et al. 2005. Coleções de fungos nos herbários brasileiros: estudo preliminar. Pp.21-40. In: PEIXOTO, A.L. (Org.). Coleções biológicas de apoio ao inventário, uso sustentável e conservação da biodiversidade. Rio de Janeiro, Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE, Brasil. Biodiversidade. Disponível em: <https://www.gov.br/mma/pt-br/assuntos/biodiversidade#:~:text=O%20Brasil%20ocupa%20quase%20metade,e%20tr%C3%AAs%20grandes%20ecossistemas%20marinhos>. Acesso em 01 de julho de 2022.

NUNES, J.M.C. Taxonomia morfológica: Metodologia de Trabalho. In: (Pedrini, A.G., ed.) Macroalgas, uma introdução à taxonomia. Technical Books, Rio de Janeiro, pp. 54-70, 2010.

PEIXOTO, A. L.; MORIM, M. P. Coleções botânicas: documentação da biodiversidade brasileira. v. 55, n. 3, p. 21–24, 2003.

PEIXOTO, A. L.; BARBOSA, M. R. de V.; CANHOS, D. A. L.; MAIA, L. C. Coleções botânicas: objetos e dados para a ciência. p. 315–326, 2009.

REVIERS, Bruno de. Biologia e filogenia das algas. Artmed Editora, 2006.

SANTOS, Fabrício R.; GUIMARÃES, Pedro E. M.; REDONDO, Rodrigo A. F. Bancos de DNA: coleções estratégicas para estudos da biodiversidade. *Lundiana*, 3(2):93-98, 2002.

SOCIEDADE BOTÂNICA DO BRASIL. Disponível em:
<https://www.botanica.org.br/>Acesso em: 16 jun. 2022.