

***J. curcas* L.**

- ✓ Alternativa não-alimentícia para produção de biodiesel
- ✓ Pouco conhecimento sobre a espécie (toxicidade)
- ✓ Biologia molecular restrita (50 seqüências no GenBank)
- ✓ $2n=22$ cromossomos mas genoma de tamanho desconhecido

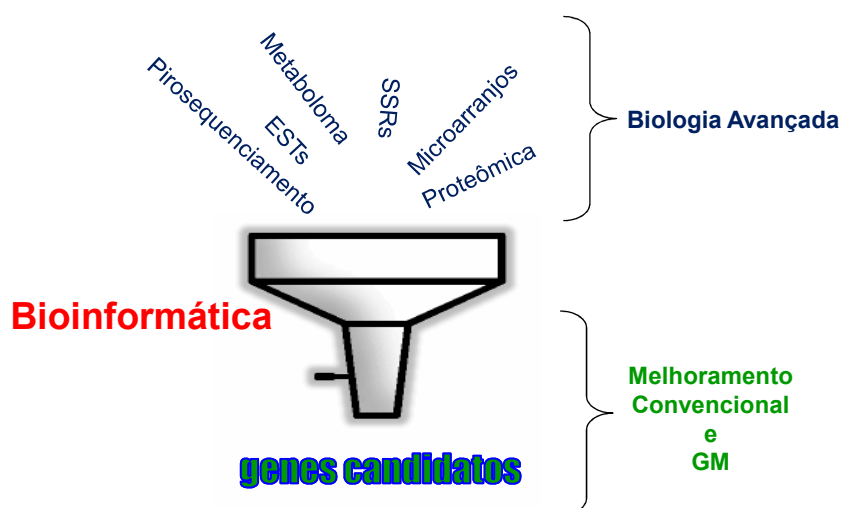
Tamanhos de genomas

Espécie	Genoma
<i>Arabidopsis thaliana</i>	125 Mb
<i>Populus trichocarpa</i>	480 Mb
<i>Manihot esculenta</i>	809 Mb
<i>Jatropha curcas</i>	???
<i>Hevea brasiliensis</i>	2107 Mb
<i>Homo sapiens</i>	3200 Mb



Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Genômica x Melhoramento



Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Identificação e caracterização de genes associados a características de interesse agrônômico

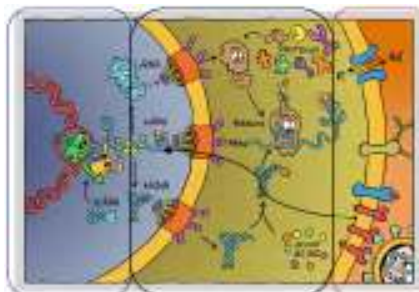
- ✓ Produtividade
- ✓ Uniformidade de maturação de fruto
- ✓ Toxidez
- ✓ Látex



Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Estratégias

- ✓ Banco de ESTs
- ✓ "Sample sequencing"
- ✓ Biblioteca de SSRs



Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Estratégia ESTs

Diferentes tecidos em diferentes estádios de desenvolvimento serão utilizados:

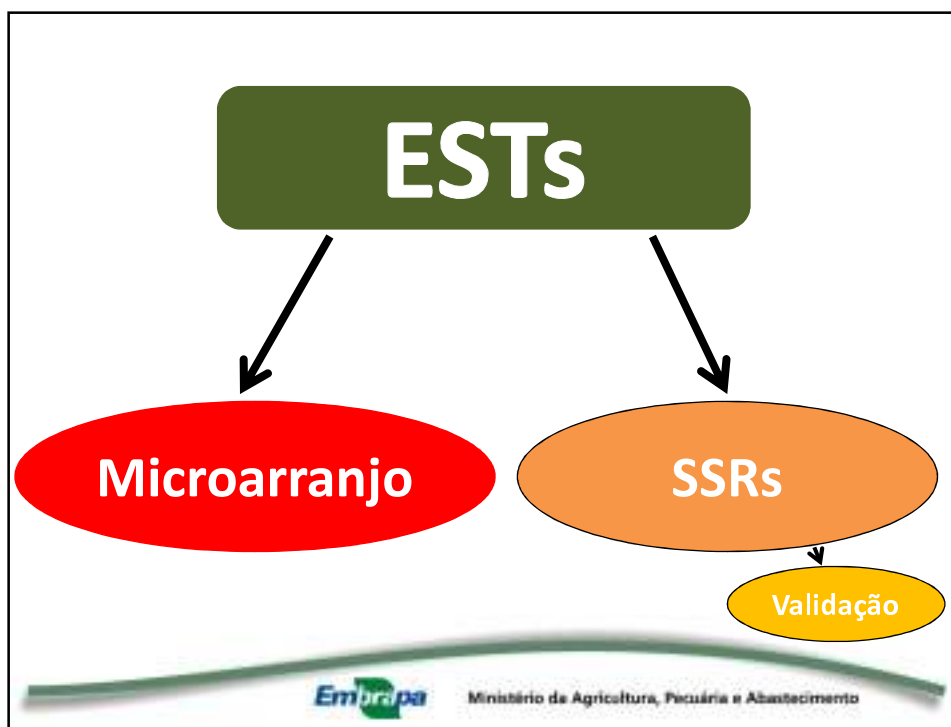
- ✓ Meristema floral;
- ✓ Embrião;
- ✓ Cotilédone;
- ✓ e outros tecidos.



Meta: ~150.000 ESTs



Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento



Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Microarranjo (Nimblegen)

- ✓ Total de sondas: 385.000 de 60 bases
- ✓ Cada gene pesquisado é interrogado por 10 sondas
- ✓ Cada gene é interrogado 2 vezes e há inúmeros controles
- ✓ Um total de 20.000 ESTs podem ser interrogados



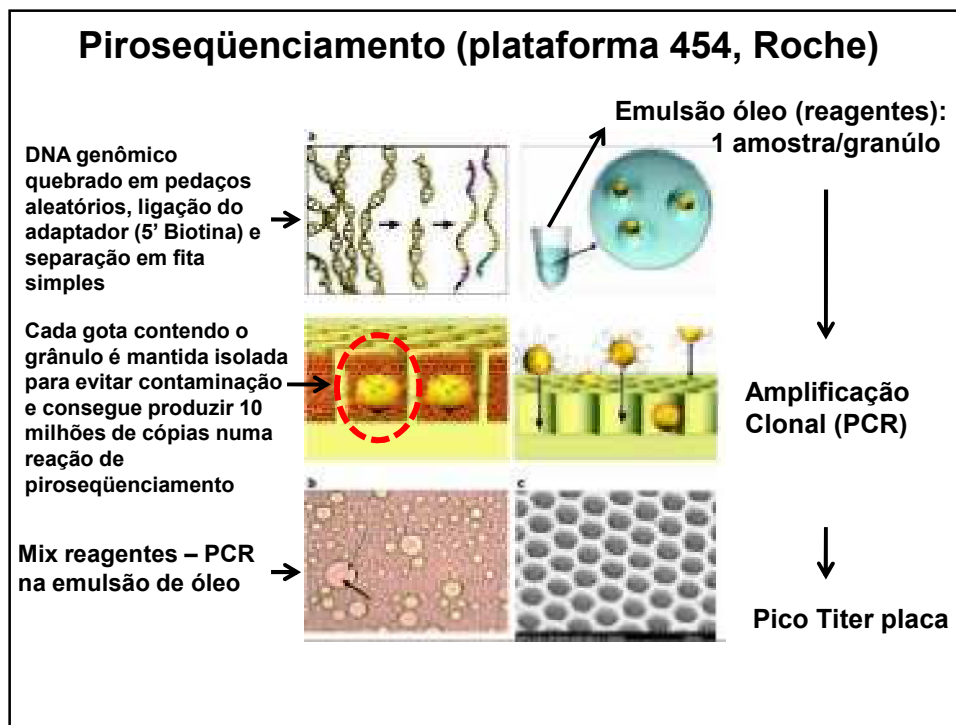
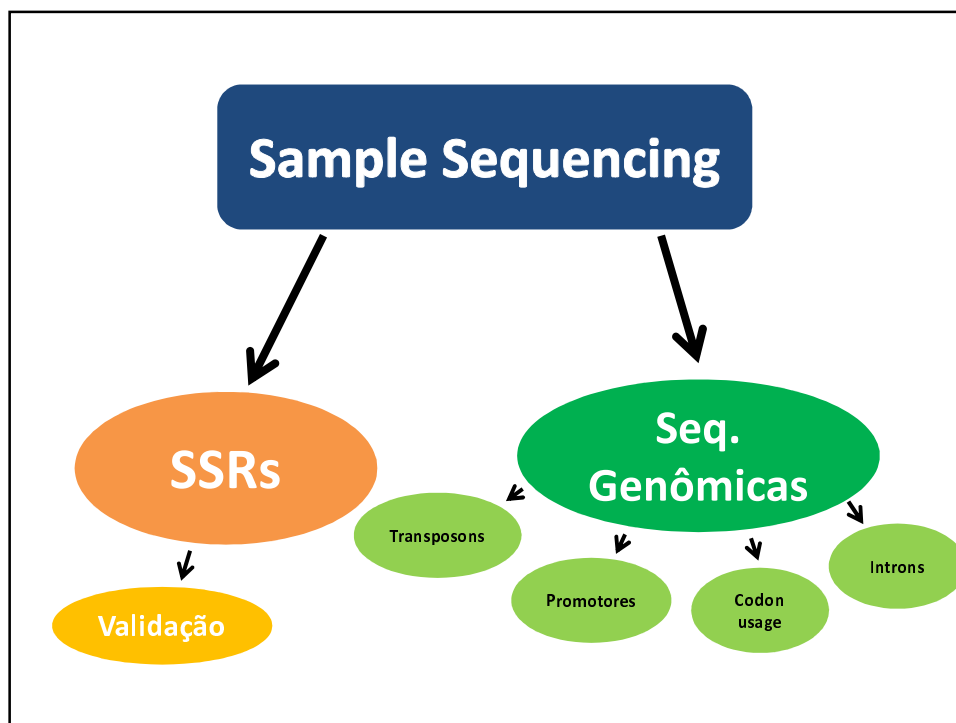
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

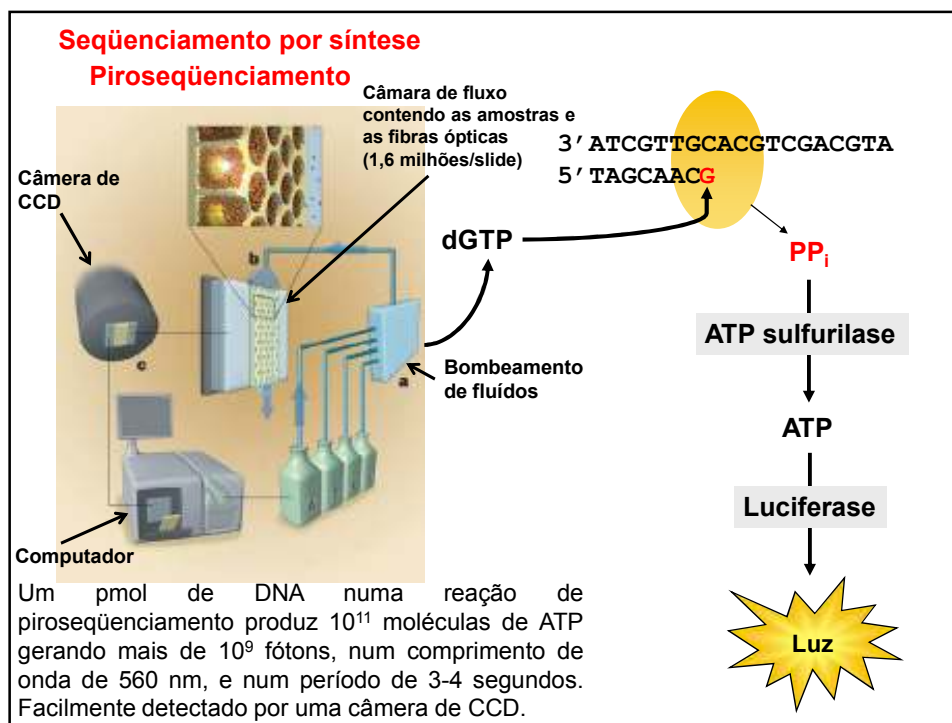
Caracterização da expressão gênica em acessos contrastantes de *J. curcas* para caracteres de interesse agrônômico

- ✓ 20.000 ESTs serão escolhidos e utilizados para confecção de gene microarranjos
 - Produtividade;
 - Toxidez da torta;
 - Uniformidade de maturação dos frutos.
- ✓ Acessos contrastantes (p.ex.; 2 alto óleo x 2 baixo óleo) para cada uma das características de interesse terão a expressão gênica caracterizada.
- ✓ Tecidos utilizados para caracterização da expressão:
 - Semente para quantidade de óleo e toxidez da torta;
 - Meristema floral para maturação de frutos.



Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento





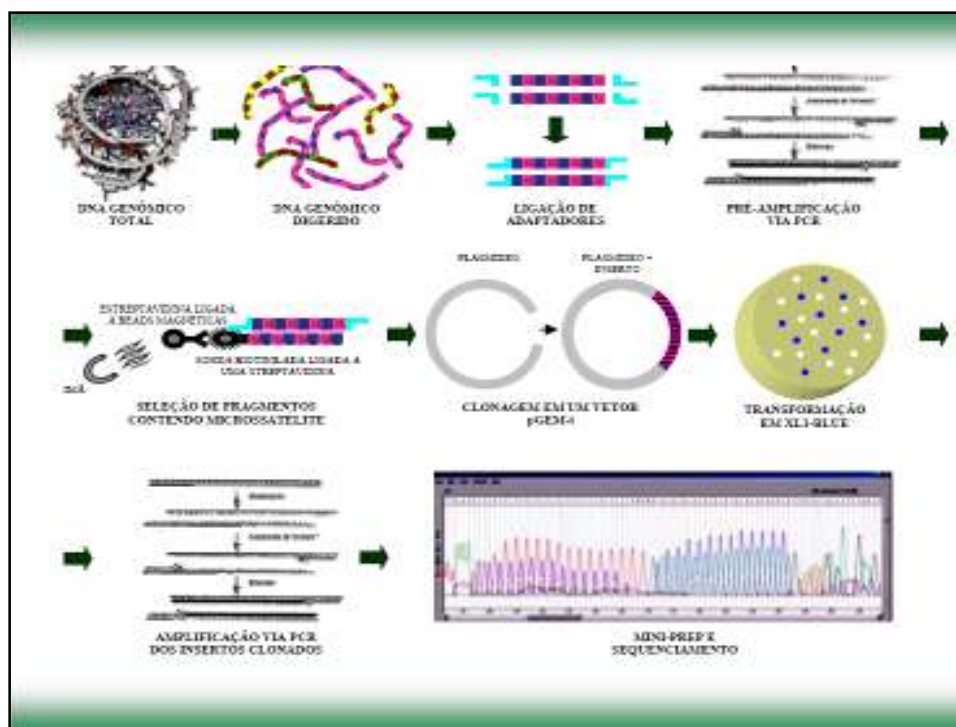
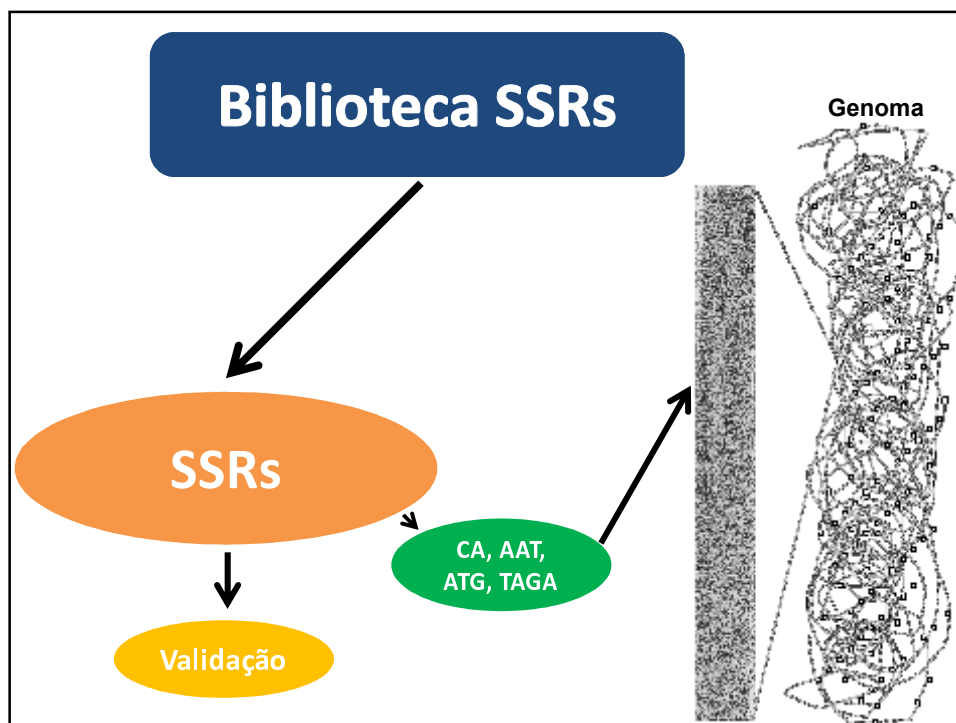
Sanger vs Piroseqüenciamento

SANGER

- ✓ Depende de clonagem em bactéria (2 semanas de trabalho)
- ✓ 1 milhão de pb em 24 horas
- ✓ Reads de ~700 bp
- ✓ Clones de fita dupla permitem seqüenciamento em ambas direções (facilita orientação e montagem)
- ✓ 6 meses de seqüenciamento, 24 horas por dia, para seqüenciar o genoma de um fungo
- ✓ Cada Mb custa U\$ 8.000-10.000 (R\$ 16.000 – 20.000)

Piroseqüenciamento

- ✓ Não há clonagem
- ✓ 25 milhões de bp em 4 horas (100x mais rápido)
- ✓ Reads de ~200-300 bp
- ✓ Fragmentos fita simples não permitem seqüenciamento em ambas direções
- ✓ 24 horas para seqüenciar o genoma de um fungo
- ✓ Redução de custos: uma corrida (50-100Mb) custa U\$15.000,00 (R\$ 30.000,00)



Identificação de microssatélites e validação

- ✓ Para um programa robusto de melhoramento há necessidade de grande quantidade de marcadores (ideal saturação de mapa físico);
- ✓ Microssatélites são repetições de 1-6 nucleotídeos em tandem, altamente polimórficos;
- ✓ São amplificados por PCR: altamente reprodutíveis, técnica simples e baixo custo;
- ✓ Acessos contrastantes para características de interesse agrônômico serão utilizados para validar os microssatélites.



Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

