

Variabilidade genética de acessos de mangabeira oriundos da Barra dos Coqueiros, Sergipe

Marina Ferreira Vitória,¹Julie Anne Espíndola Amorim²,Ana Veruska Cruz da Silva³, Josué Francisco da Silva Júnior, Ana da Silva Ledo e Semiramis Rabelo Ramalho Ramos

Resumo

O Banco Ativo de Germoplasma de mangabeira foi implantado em 2006, no Campo Experimental de Itaporanga d'Ajuda, Sergipe, pertencente a Embrapa Tabuleiros Costeiros. Uma das coletas realizadas no município Barra dos Coqueiros resultou na introdução de 18 acessos, os quais foram avaliados no presente trabalho, com o objetivo de estimar a variabilidade genética entre eles. Foram utilizados oito primers ISSR, que resultaram em 47 fragmentos com 89% de polimorfismo. A partir da análise do dendrograma gerado pelo software NTSYS-PC, foi possível constatar que os de indivíduos M2 e M6 são os mais similares (90%), e a amostra M10, a mais divergente (33%). Os resultados demonstraram a existência de polimorfismo e divergência genética, reforçam a importância da caracterização constante de um germoplasma, a qual permite assegurar informações sobre fontes de genes para utilização futura, obtenção de informações sobre potenciais genitores a serem utilizados em programas de melhoramento e identificação de duplicatas.

Introdução

A mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) é uma árvore frutífera da família Apocynaceae que apresenta grande importância sócio-econômica e cultural em Sergipe e em toda a região de restinga e baixada litorânea (Silva et al., 2011). A espécie ainda não passou por processo de domesticação e, por isso, os caracteres a serem levados em consideração no melhoramento genético, não estão bem estabelecidos, além disso, a espécie se encontra ameaçada de extinção devido a fatores como expansão imobiliária e aumento das áreas cultivadas.

Os Bancos Ativos de Germoplasma (BAGs) são uma alternativa para a conservação dos recursos genéticos vegetais. A avaliação da diversidade genética entre os acessos de um BAG resulta em informações sobre potenciais genitores a serem utilizados em programas de melhoramento; possibilita a identificação de duplicatas e o intercâmbio de germoplasma entre pesquisadores. (Costa et al., 2011).

O presente estudo foi realizado com o objetivo de avaliar a diversidade genética dos acessos oriundos da Barra dos Coqueiros, Sergipe, utilizando marcadores Interseqüências Simples Repetidas (ISSR).

Material e Métodos

Para extração de DNA (Doyle e Doyle, 1991, com modificações foram utilizadas folhas jovens de 18 acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Mangabeira (BGMangaba) da Embrapa Tabuleiros Costeiros (CPATC), provenientes do município da Barra dos Coqueiros, Sergipe). A concentração do DNA extraído foi determinada por meio de espectrofotômetro. Todas as amostras seguiram um padrão de diluição de 25 ng/μL. A análise do polimorfismo foi feita por meio de marcadores moleculares ISSR, utilizando-se oito primers ISSR (844 A, 17898 A, 17898 B, HB 11, HB 12, HB 13, 807 e 826). As reações de PCR foram preparadas para volume final de 20 μL, constituído por: água ultrapura, dNTPs (10mM), tampão (10x), MgCl₂ (50mM), primers (5mM), Taq DNA polimerase Promega® (5u/μL) e DNA (25ng/μL).

Os produtos da reação foram aplicados em gel de agarose a 2,0%, corado com brometo de etídeo e corridos em eletroforese horizontal a 90 V por 1h e 15 min. Os géis foram visualizados em transiluminador de luz ultravioleta e as imagens foram armazenadas digitalmente. Foram geradas matrizes binárias, em que os indivíduos foram genotipados quanto à presença (1) e ausência de bandas (0). O cálculo da similaridade genética (S_{ij}) entre cada par de indivíduos foi realizada por meio do programa NTSYSpc2, empregando-se

² ¹Graduanda em Engenharia Florestal – UFS; estagiária da Embrapa Tabuleiros Costeiros. e-mail: marina_fv@hotmail.com
Mestrando Programa de Pós-graduação em Biotecnologia em Recursos Naturais – UFS/Sergipe. Bolsista do CNPq. e-mail: julie_anne@hotmail.com.

³ Pesquisadora da Embrapa Tabuleiros Costeiros – CPATC - EMBRAPA/Sergipe. e-mail: ana.veruska@embrapa.br

os coeficientes de Jaccard. A partir da matriz de similaridade de Jaccard, foi gerado um dendrograma por UPGMA, utilizando-se o programa NTSYSpc2.

Resultados e Discussão

O uso de oito primers ISSR (844 A, 17898 A, 17898 B, HB 11, HB 12, HB 13, 807 e 826) resultou em 47 fragmentos, sendo 89% polimórficos (Tabela 1). O primer 807 apresentou o menor número de bandas polimórficas, enquanto o primer HB 12 foi o que revelou-se mais polimórfico (10).

Tabela 1. Número e porcentagem de bandas polimórficas por iniciador obtidos com oito marcadores ISSR em 18 acessos de mangabeira BGMangaba 12- Capoa (CP).

Iniciador	Sequencia 5'–3'	Total de bandas amplificadas	Número de bandas polimórficas	Polimorfismos %
844 A	CTCTCTCTCTCTCTAC	7	6	85
17898 A	CACACACACAAC	3	3	100
17898 B	CACACACACAGT	7	7	100
HB 11	GTGTGTGTGTGTCC	4	2	50
HB 12	CACCACCACGC	10	10	100
HB 13	GAGGAGGAGGC	7	7	100
807	AGAGAGAGAGAGAGT	2	1	50
826	ACACACACACACACC	7	6	85
Total		47	42	89

Esse resultado sugere a existência de variação genética entre os acessos avaliados, de acordo com Silva et al (2011) e Costa et al (2011), em estudos de divergência com outros acessos de mangabeira, e Silva et al. (2012), em população natural da espécie, ambos utilizando marcadores RAPD (Polimorfismo de DNA amplificado ao acaso) Com base na análise do dendrograma gerado pelo software programa NTSYSpc2 (Figura 1), para os 18 acessos, constatou-se que os acessos M2 e M6 são os mais similares (90%), e que o acesso M10 é o mais distante geneticamente (33%), e que não há duplicatas entre eles.

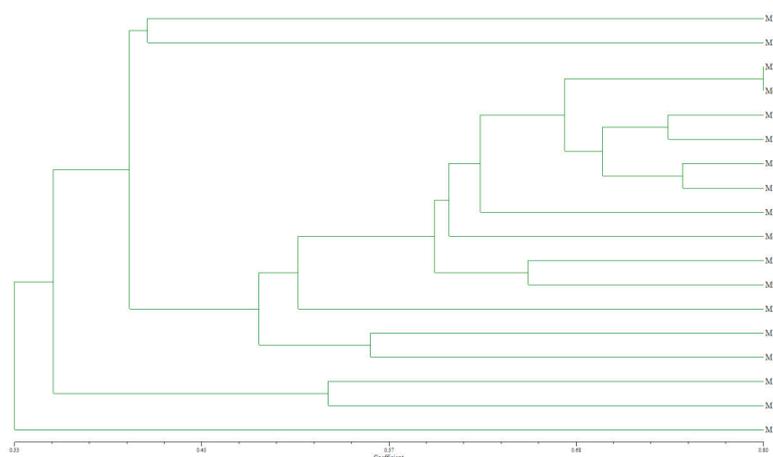


Figura 1. Dendrograma gerado a partir do coeficiente de similaridade de Jaccard, obtido pelo método de Ward, utilizando oito primers pela técnica ISSR entre os 18 acessos de mangabeira BGMangaba 12.

Os resultados reforçam a importância da caracterização constante num Banco de Germoplasma, pois permite assegurar informações sobre fontes de genes para utilização futura, obtenção de informações sobre potenciais genitores a serem utilizados em programas de melhoramento e identificação de duplicatas.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Embrapa Tabuleiros Costeiros, pela oportunidade de realizar este estudo, e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela concessão da bolsa de estudo de mestrado ao segundo autor.

Referências

- Costa TS et al. (2011) Diversidade genética de acessos do Banco de Germoplasma de mangaba em Sergipe. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **6**: 499-508.
- Doyle JJ and Doyle JL (1990) Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus** **12**: 613-15.
- Silva AVC et al. (2011) Divergência genética entre acessos de mangabeira. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias** **4**: 572-578.
- Silva AVC et al. (2012) Genetic diversity analysis of mangaba (*Hancornias speciosa* Gomes), an exotic Brazilian tropical species. **Tropical and subtropical agroecosystems** **2**: 217-225.