

## Diversidade Genética de Indivíduos de Mangabeira Oriundos do povoado Abaís, em Sergipe

Julie Anne Espíndola Amorim<sup>1</sup>, Ana Veruska Cruz da Silva<sup>2</sup>, Marina Ferreira da Vitória<sup>3</sup>, Semíramis Rabelo Ramalho Ramos<sup>4</sup>

### Resumo

Este estudo teve como objetivo avaliar a diversidade genética de indivíduos de mangabeira, provenientes do povoado de Abaís, no Município de Estância, Estado de Sergipe, por meio da técnica de marcadores de Interseqüências Simples Repetidas (ISSR). Foram utilizados 14 iniciadores, que geraram 51 fragmentos, dos quais 44 (86%) eram polimórficos. A partir da análise do dendrograma gerado pelo software NTSYS-PC, foi possível constatar que o par de indivíduos AB8/ AB9 são os mais similares (91%), e a amostra AB6 a mais divergente (46%). Com base nos resultados obtidos, depreende-se que a os indivíduos avaliados apresentam alto polimorfismo e divergência genética. Esses resultados reforçam a ideia que a caracterização de populações nativas de mangabeira é importante e necessária; pois, além de assegurar informações sobre fontes de genes para utilização futuras no melhoramento da mangabeira, são fundamentais para se estabelecer estratégias de conservação do germoplasma e de preservação da espécie.

### Introdução

A mangabeira (*Hancornia speciosa* Gomes) é uma árvore frutífera, nativa do Brasil e de ampla distribuição geográfica que apresenta importância econômica, social e cultural nas principais áreas onde ocorre (Silva et al., 2012). Atualmente, a espécie se encontra ameaçada de extinção (Slow Food, 2011), devido à fragmentação florestal, expansão imobiliária, turismo e aumento das áreas cultivadas, contribuindo para a rápida redução das áreas de ocorrência natural e exercendo forte pressão sobre as populações de mangabeiras nativas.

Por isso, estudos sobre diversidade genética das populações remanescentes de mangabeiras são fundamentais para se estabelecer estratégias de conservação do germoplasma e de preservação da espécie, diante da crescente redução das áreas de ocorrência natural. Uma das formas de se avaliar essa diversidade genética consiste na caracterização molecular que permite inferir sobre o grau de polimorfismo entre indivíduos e populações (Costa et al., 2011), por meio de técnicas de marcadores moleculares ou de DNA que não são influenciadas por condições ambientais e não apresentam efeito pleiotrópico (Tanksley et al., 1989).

Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar a diversidade genética de indivíduos de mangabeira, provenientes do povoado de Abaís, Município de Estância, em Sergipe, por meio da técnica de marcadores de Interseqüências Simples Repetidas (ISSR).

### Material e Métodos

Para as análises de diversidade, amostras de folhas jovens e sadias de 20 indivíduos foram coletadas em população natural localizada no povoado de Abaís, Município de Estância, em Sergipe, acondicionadas em envelopes de sacos plásticos, identificadas e transportadas para o Laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Tabuleiros Costeiros em caixas isotérmicas contendo bolsas gelo, a fim de evitar a degradação do material coletado. As amostras foliares foram mantidas refrigeradas em freezer a -80 °C até o momento da extração do DNA genômico.

O processo de extração de DNA seguiu o protocolo de Doyle & Doyle (1990), com modificações (Costa et al., 2011). A concentração do DNA extraído foi determinada em espectrofotômetro NanoDrop 2000c (Thermo Scientific). Após a quantificação, as amostras foram diluídas em solução TE para a concentração de 25 ng/μL e armazenadas a -20 °C para subseqüente uso nas reações de ISSR.

<sup>1</sup> Mestranda do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia em Recursos Naturais – UFS/Sergipe. Bolsista do CNPq. e-mail: julie\_\_anne@hotmail.com.

<sup>2</sup> Pesquisadora da Embrapa Tabuleiros Costeiros – CPATC - EMBRAPA/Sergipe. e-mail: ana.veruska@embraoa.br.

<sup>3</sup> Graduanda em Engenharia Florestal – UFS/Sergipe. e-mail: marina\_fv@hotmail.com.

<sup>4</sup> pesquisadora da Embrapa Tabuleiros Costeiros – CPATC - EMBRAPA/Sergipe. e-mail: semiramis.ramos@embrapa.br.

A análise do polimorfismo foi realizada por meio de marcadores moleculares ISSR, utilizando-se 14 primers de ISSR (814, 844 A, 844 B, 17898 A, 17898 B, 17899 B, HB 10, HB 13, HB 15, 807, 810, 823, 843 e 855). As reações de PCR foram preparadas para volume final de 20 µL, constituído por: água ultrapura, dNTPs (10mM), tampão (10x), primers (10mM), MgCl<sub>2</sub> (50mM), Taq DNA polimerase Invitrogen (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<sub>ij</sub>) entre cada par de indivíduos foi realizada por intermédio do programa NTSYSpc21, empregando-se os coeficientes de Jaccard. A partir da matriz de similaridade de Jaccard, foi gerado um dendrograma por UPGMA (SNEATH & SOKAL, 1973), utilizando-se o programa NTSYSpc21.

### Resultados e Discussão

Com a utilização dos 14 iniciadores foi possível amplificar 51 fragmentos, dos quais 44 (86%) eram polimórficos (Tabela 1), o que indica a existência de alta diversidade genética entre os indivíduos, que pode ser explicada pelo fato de a mangabeira ser uma planta alógama e apresentar autoincompatibilidade, o que torna as plantas derivadas de sementes altamente divergentes entre si e em relação à planta-mãe (Vieira Neto, 2002; Darrault & Schlindwein, 2006).

Os resultados de polimorfismo obtidos neste estudo foram altos e estão de acordo com outros trabalhos relatados na literatura para o uso de marcadores moleculares RAPD na estimação da variabilidade de mangabeira, como Silva et al. (2012) e Costa et al. (2011). Costa et al. (2011), utilizando 13 iniciadores, amplificaram 82 fragmentos, dos quais 78 (95%) eram polimórficos.

Tabela 1. Número e porcentagem de bandas polimórficas por iniciador obtidos com 14 marcadores ISSR em 20 indivíduos provenientes do povoado de Abaís, Município de Estância, no Estado de Sergipe.

Iniciador	Sequencia 5'-3'	Total de bandas amplificadas	Número de bandas polimórficas	Polimorfismos %
814	CTCTCTCTCTCTCTTG	1	1	100
844 A	CTCTCTCTCTCTCTAC	5	5	100
844 B	CTCTCTCTCTCTCTGC	6	5	83
17898 A	CACACACACACAAC	5	5	100
17898 B	CACACACACACAGT	3	3	100
17899 B	CACACACACACAGG	4	4	100
HB 10	GAGAGAGAGAGACC	5	5	100
HB 13	GAGGAGGAGGC	2	2	100
HB 15	GTGGTGGTGGC	5	4	80
807	AGAGAGAGAGAGAGAGT	3	2	66
810	GAGAGAGAGAGAGAGAT	2	1	50
823	TCTCTCTCTCTCTCC	2	1	50
843	CTCTCTCTCTCTCTRA	5	5	100
855	CTCTCTCTCTCTCTRG	3	1	33
Total		51	44	86

A partir da análise do dendrograma gerado pelo software NTSYS-PC para a população Abaís (Figura 1), foi possível constatar que os indivíduos AB8 e AB9 são os mais similares (91%), uma vez que essas amostras estão próximas no gráfico de agrupamento, indicando que existe alta similaridade genética entre eles.

Entretanto o indivíduo AB6 é o que apresentar menor similaridade com as demais amostras (46%), revelando que esse indivíduo é o mais geneticamente divergente.

Com base nos resultados obtidos, depreende-se que a os indivíduos provenientes da população Abaís apresentam alto polimorfismo e alta divergência genética. Esses resultados reforçam a ideia que a caracterização de populações nativas de mangabeira é importante e necessária; pois, além assegura informações sobre fontes de genes para utilização futuras no melhoramento da mangabeira, são fundamentais para se estabelecer estratégias de conservação do germoplasma e de preservação da espécie.

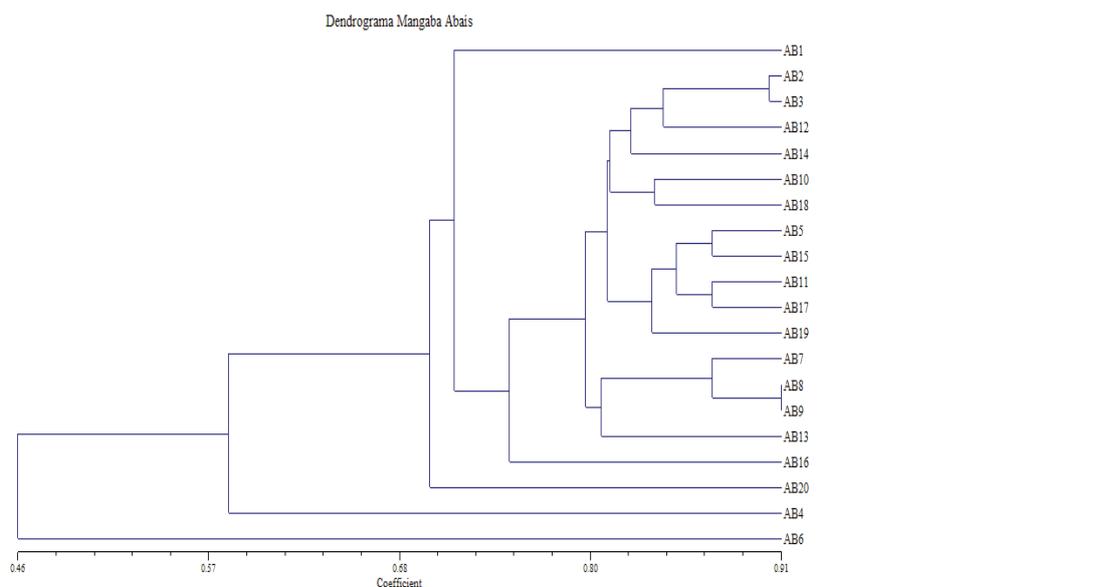


Figura 1. Dendrograma gerado a partir do coeficiente de similaridade de Jaccard, obtido pelo método de Ward, utilizando 14 primers pela técnica ISSR entre os 20 indivíduos de mangaba pertencentes à população Abaís.

### 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.

### Referências

- Costa TS et al. (2011) Diversidade genética de acessos do Banco de Germoplasma de mangaba em Sergipe. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 6:499-508.
- Darrault RO e Schlindwein C (2006) Polinização. In: Silva Junior, J.F.; Ledo, A.S. (Org.). **A cultura da mangabeira**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, p.43-56.
- Doyle JJ and Doyle JL (1990) Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, 12: 6 13-15.
- Silva AVC et al. (2012) Genetic diversity analysis of mangaba (*Hancornia speciosa* Gomes), an exotic Brazilian tropical species. **Tropical and subtropical Agroecosystems**, 15: 217-225.
- Slow Food. (2011). Produtos do Brasil na Arca. Arca do Gosto. Slow Food International Association. Disponível em: <<http://www.slowfoodbrasil.com/content/view/326/59/>>. Acesso em: 18 mai. 2013.
- Tanksley SD et al. (1989) Mapping in plant breeding: new tools for an old science. **Nature Biotechnology**, 3: 257-264.
- Vieira Neto RD (2002). Mangaba. In: Vieira Neto, R.D. (Org.). **Fruteiras potenciais para os tabuleiros costeiros e baixadas litorâneas**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros/Emdagro, p. 115-140.