

Caracterização Molecular de Acessos de Coqueiro-Gigante via Marcadores SSR

Alinne Oliveira Nunes¹; Semíramis Ramalho Rabelo Ramos²; Carina Mendes Loiola³; Leandro Eugênio Diniz⁴; Messias Gonzaga Pereira⁵; Carlos Diego de Oliveira Azevedo⁶; Pedro Henrique Araújo Diniz Santos⁷; Rejane do Couto Silva⁸; Elian Suelen de Jesus Santos⁹

Resumo

O O Brasil sedia o Banco Internacional de Germoplasma de Coco para a América Latina e Caribe (ICG-LAC), o qual é vinculado a Rede Internacional de Recursos Genéticos de Coco (COGENT). Diante da necessidade de inferir sobre a estrutura genética de alguns acessos de coqueiro, esse trabalho objetivou caracterizar acessos de coqueiro-gigante via marcadores moleculares microssatélites. Para tanto, os acessos foram submetidos a reações de polimerase em cadeia para cinco *primers* de SSR. Quatro *primers* foram analisados gerando 37 marcas polimórficas. Com base na análise preliminar das marcas obtidas, constatou-se que há variabilidade genética nos diferentes acessos analisados.

Palavras-chave: bancos de germoplasma, caracterização de germoplasma, *Cocos nucifera* L., marcadores moleculares, recursos genéticos.

¹ Mestrando em Ciências Biológicas Bacharelado, bolsista do CNPQ/PIBIC, Aracaju, SE, alinnenunes@live.com.

² Engenheira-agrônoma, doutora em Genética e Melhoramento de Plantas, pesquisadora da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, semiramis.ramos@embrapa.br.

³ Doutoranda, bolsista da CAPES, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, RN, carina_loiola@yahoo.com.br.

⁴ Biólogo, doutor em Genética e Melhoramento de Plantas, pesquisador Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, leandro.diniz@embrapa.br.

⁵ Engenheiro-agrônomo, doutor em Doutor em Genética e Melhoramento de Plantas, professor da Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, RJ, messias@uenf.br.

⁶ Mestrando em Genética e Melhoramento de Plantas na Universidade Estadual do Norte Fluminense/Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal, Campos dos Goytacazes, RJ, carlosdiego_oliveira@yahoo.com.br.

⁷ Doutorando em Genética e Melhoramento de Plantas na Universidade Estadual do Norte Fluminense/Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal, Campos dos Goytacazes, RJ, phsantos2004@yahoo.com.br.

⁸ Graduanda em Ciências Biológicas, estagiária da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, rejane_imk@hotmail.com.

⁹ Graduanda em Ciências Biológicas, estagiária da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, deliansuelen@yahoo.com.

Introdução

Na Embrapa Tabuleiros Costeiros, os acessos de coqueiro-gigante foram introduzidos e coletados, respectivamente, do Banco Internacional de Coco da Costa do Marfim (ICG-AIO) e da costa nordestina do Brasil. As coletas foram realizadas em diversas épocas e seguindo diferentes estratégias amostrais. Diante dessa situação existe a necessidade de melhor entender e inferir sobre a estrutura genética de alguns acessos. Esse trabalho objetivou caracterizar e avaliar, por meio de marcadores moleculares microssatélites (SSR), acessos de coqueiro-gigante do Banco Ativo de Germoplasma de Coco, a fim de detectar o nível de polimorfismo existente dentro deles.

Material e Métodos

Foram avaliados sete acessos de coqueiro-gigante-do-Brasil, sendo três deles provenientes do Campo Experimental de Betume (CEB) (GBrBF-CEB - Gigante-do-Brasil-Baía-Formosa, GBrPC-CEB-Gigante-do-Brasil-de-Pacatuba e GBrSR-CEB-Gigante-do-Brasil-Santa-Rita) e os outros quatro implantados no Campo Experimental de Itaporanga (GBrBF-CEI - Gigante-do-Brasil-Baía-Formosa, GBrOC-CEI -Gigante-do-Brasil-Olho-de-Cravo, GBrSR - Gigante-do-Brasil-Santa-Rita e GBrTR-CEI- Gigante-do-Brasil-Terra-do-Rei. A caracterização molecular foi constituída de quatro etapas as quais foram desenvolvidas em parceria entre a Embrapa Tabuleiros Costeiros e a Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF). Para a extração do DNA foram coletados folíolos da folha número um, de todas as plantas de cada acesso, totalizando 264 amostras. O protocolo de extração de DNA foi o de Doyle e Doyle (1987), com algumas modificações. As reações de amplificação de DNA foram efetuadas conforme Baudouin (2009). Os produtos de PCR foram submetidos ao sistema de eletroforese capilar e para análise dos dados moleculares foi utilizado o programa POPGENE que proporcionou a estimação de parâmetros como polimorfismo do loco, número de alelos, número de alelos efetivos, distância genética e Índice de Shannon (IS) e de Nei.

Resultados e Discussão

Quatro dos cinco *primers* testados amplificaram e apresentaram marcas polimórficas para as 264 amostras individuais analisadas. A combinação dos quatro locos SSR gerou um total de 37 alelos, com uma média de 9.25 alelos por locos. Esse número mostrou-se superior ao número médio de alelos por locos encontrado em outros estudos de populações de coqueiro-gigante por meio de marcadores microssatélites, o que indica o alto nível de polimorfismo encontrado dentre os acessos. Ribeiro et al. (2010) obteve uma média de 5.2 alelos por locos num total de 68 alelos para 8 locos SSR e Dasanayaka et al. (2009) obteve uma média de 4.9 alelos por locos num total de 79 alelos gerados por 16 locos SSR.

Verificou-se que a heterozigosidade esperada (H_e) na população variou de 0,49 a 0,86, com média de 0,72, enquanto que a heterozigose observada (H_o) variou de 0,00 a 0,67, com média 0,26 (Tabela 1). Outros estudos com populações de coqueiro-gigante apresentaram valores superiores ao encontrado de heterozigosidade observada (0,26) como aquele realizado por Ribeiro et al. (2010) e Perera et al. (2001) que encontraram média de 0.682. Considerando todos os acessos analisados, verificou-se que os valores do IS variaram de 0,00 a 2,12. O valor médio de 1,57 revelou a existência de alta variabilidade dentro dos acessos avaliados (Tabela 1). O número de alelos encontrados para cada acesso variou de 2.25 (GBrOC-CEI) a 7.5 (GBrTR-CEI) alelos encontrados, com uma média 1.92 alelos efetivos para o GBrOC-CEI e uma média 4.39 alelos efetivos para o GBrTR. O IS apresentou maior valor médio para o acesso GBrTR (1.5) revelando a existência de alta variabilidade dentro desse acesso. O índice de diversidade genética de Nei também apresentou valor mais alto para a população GBrTR (0.71), entretanto todos os valores apresentados para os respectivos índices de diversidade apresentaram-se muito próximos uns dos outros.

Tabela 1. Diversidade Genética representada pelo Índice de Shannon, Heterozigose observada (Ho), esperada (He) e média (Hm) para todos os Locus estudados.

Locus	Índice de Shannon	Ho	He	Hm	Nei ¹
CnCir B6	2.12	0.28	0.86	0.65	0.86
CnCir C3'	1.73	0.67	0.78	0.61	0.77
CNZ44	1.66	0.10	0.76	0.68	0.75
CNZ01	0.00	0.00	0.49	0.49	0.49
Média	1.57	0.26	0.72	0.61	0.72

¹Heterozigose esperada (Nei, 1973).

Conclusão

Detectou-se alto nível de polimorfismo e diversidade genética dentro dos acessos de coqueiro-gigante. Conjunto maior de primers SSR serão utilizados visando ampliar a segurança das conclusões, além de permitir inferências mais precisas quanto à variabilidade genética intra populacional.

Referências

BAUDOUIN L. **Consolidate microsatellite data on coconut diversity:** appendices. Montpellier: CIRAD, 2009.

DASANAYAKA, P. N.; EVERARD, J. M. D. T.; KARUNANAYAKA, E. H.; NANDADASA, G. Analysis of coconut (*Cocos nucifera* L.) diversity using microsatellite markers with emphasis on management and utilisation of genetic resources. **Journal of Natural Science Foundation**, Sri Lanka, v. 37, p. 99–109, 2009.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L.; HORTORIUM, L. H. B. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, Gaithesburg, v. 12, p. 13-15, 1987.

RIBEIRO, F. E.; BAUDOUIN, L.; LEBRUN, P.; CHAVES, L. J.; BRONDANI, C.; ZUCCHI, M. I.; VENCOVSKY, R. Population structures of Brazilian tall coconut (*Cocos nucifera* L.) by microsatellite markers. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 33, p. 696-702, 2010.

PERERA, L.; RUSSEL, J. R.; PROVAN, J.; POWEL, W. Level and distribution of genetic diversity of coconut (*Cocos nucifera* L. var. *Typica* form typical) from Sri Lanka assessed by microsatellite markers. **Euphytica**, Wageningen, v. 122, p. 381-389, 2001.