

Uso de Marcadores Moleculares para Seleção e Introdução de Novos Acessos de Moringa

Jéssica Monalisa Santos Pereira Oliveira¹, Marina Ferreira da Vitória², Ana Letícia Sirqueira Nascimento³, Valter Ferreira Rocha Junior⁴, Allivia Rouse Carregosa Rabhani⁵, Silvio Gomes dos Santos⁶, Ana Veruska Cruz da Silva⁷

Resumo

A *Moringa oleifera* Lam., pertence à família Moringaceae e foi introduzida no Brasil como planta ornamental por volta de 1950. Atualmente é amplamente cultivada por sua característica de espécie multiuso. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a diversidade genética de moringa, oriundas de sementes, para introdução de acessos no Banco Ativo de Germoplasma, implantado pela Embrapa Tabuleiros Costeiros. Foram testados sete primers ISSR, que resultaram em 32 fragmentos polimórficos (100%). A distância genética entre os indivíduos será utilizada para seleção dos que serão inseridos no BAGmoringa.

Palavras-chave: *Moringa oleifera* Lam., ISSR, diversidade genética.

¹ Graduanda em Engenharia Florestal, bolsista PIBIC/CNPq/ Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, jessica_mona@hotmail.com

² Graduanda em Engenharia Florestal, bolsista PIBIC/CNPq/ Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, marina_fv@hotmail.com.

³ Graduanda em Engenharia Florestal, bolsista PIBIC/FAPITEC/Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, analeticia_16@hotmail.com.

⁴ Graduando em Engenharia Florestal, bolsista PIBIC/FAPITEC/ Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, valterjunior.91@hotmail.com.

⁵ Professora do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Bahia (IFBA), Campus de Porto Seguro, BA. E-mail: alliviarouse@hotmail.com

⁶ Técnico da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, silvio.santos@embrapa.br

⁷ Engenheira-agrônoma, doutora em Produção Vegetal, pesquisadora da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, ana.veruska@embrapa.br.

Introdução

A *Moringa oleifera* Lam. é uma espécie perene originária da Índia, pertencente à família Moringaceae, é amplamente cultivada em países tropicais e subtropicais, sendo que no Brasil, a moringa foi introduzida como planta ornamental por volta de 1950 e desde então, tem sido amplamente cultivada por ser considerada uma das árvores mais úteis principalmente pelo seu valor alimentar, medicinal, melífero, na indústria de cosmético, fabricação de combustíveis e no tratamento da água (BEZERRA et al., 2004)

As sementes de moringa são oleaginosas e podem ser usadas para a produção de biodiesel, o que já ocorre na Índia. Resultados preliminares de análise laboratoriais realizadas pela Petrobrás evidenciam a potencialidade da planta como uma alternativa importante para a produção de biodiesel. Diante disso, a Embrapa instalou em 2009, o Bancos de Germoplasma dessa espécie em Sergipe, na Unidade Tabuleiros Costeiros, permitindo a formação de uma rede de recursos genéticos dessa espécie no Brasil.

Unidades conservadoras de material genético de uso imediato ou com potencial de uso futuros devem ser mantidos em coleções chamados Bancos de Germoplasma (BAG). A importância principal dos BAGs residem na capacidade de prover variabilidade genética a programas de melhoramento genético. Estudar o nível de variabilidade nestas coleções é de fundamental importância (RITSCHER et al., 1999). Estes estudos permitem a identificação de duplicatas na coleção, a estimativa de relações de vínculo genético entre os acessos, a quantificação da variabilidade genética existente na coleção, a proposição de coleção nuclear com base na variabilidade genética mensurada e a identificação de cruzamentos adequados à formação de populações de melhoramento, entre outros (FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1995).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a diversidade genética de moringa, oriundas de sementes, para introdução de acessos no Banco Ativo de Germoplasma.

Material e Métodos

Foram coletas sementes de moringa oriundas de diferentes municípios de Sergipe. Para a formação de mudas foram usados sacos de polietileno da cor

preta, de tamanho 11 x 19 cm, umedecidos com água não ultrapassando a capacidade de retenção de água e a sementeira realizada a um centímetro de profundidade.

Folhas foram coletadas das 40 mudas jovens para extração do DNA, e a estimativa da variabilidade genética foi realizada utilizando marcadores moleculares ISSR (Sequências simples repetitivas).

Os DNAs foram extraídos pela metodologia de Doyle e Doyle (1991) e quantificados em gel de agarose a 0,8%. A metodologia para PCR e eletroforese foi realizada de acordo com Silva et al. (2012). Foram testados sete primers ISSR desenvolvidos pelo IDT (Integrated DNA Technologies, Alemanha). A presença de fragmentos nos géis será transformada em uma matriz binária (a presença (1) e ausência (0) de bandas), que permitirá o cálculo da similaridade genética pelo coeficiente de Jaccard. Para agrupar os genótipos com base na similaridade, foi empregado o método UPGMA (Unweigh Pair-Group Method Arithmetic Average), e realizado *bootstrap* com 10.000 reamostragens. Utilizou-se o programa TreeView para geração do dendrograma (PAGE, 1996).

Resultados e Discussão

Sete primers possibilitaram visualização dos fragmentos, polimorfismo e reprodutibilidade (Tabela 1). Foram produzidos 32 fragmentos, todos polimórficos (100%). O número de fragmentos variou de um (814) a oito (835 e 845). Pela imagem do dendrograma (Figura 1) pode ser observar a formação de dois grandes grupos – G1 (indivíduos 8 ao 40) e G2 (1 ao 7). A análise de agrupamento tem a finalidade de reunir por algum critério de classificação, as unidades amostrais de tal forma que exista homogeneidade dentro do grupo e heterogeneidade entre os grupos (CRUZ e REGAZZI, 1994).

Tabela 1. Iniciadores ISSR utilizados para seleção de novos acessos de moringa. NF: número de fragmentos amplificados; NFP: número de fragmentos polimórficos; %P: porcentagem de polimorfismo.

Primer IDT	NF	NFP	%P
810	2	2	100%
834	7	7	100%
835	8	8	100%
841	1	1	100%
843	3	3	100%
845	8	8	100%
855	3	3	100%
Total	32	32	100%

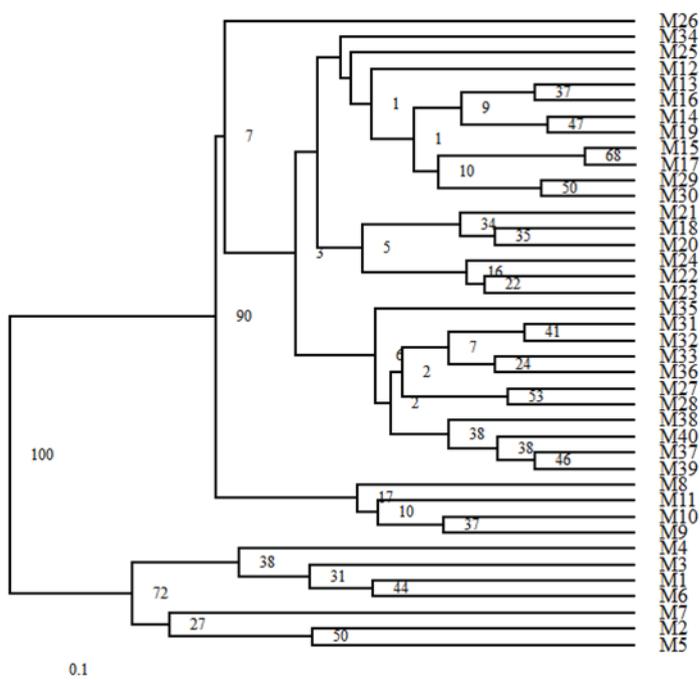


Figura 1. Dendrograma gerado pelo coeficiente de similaridade de Jaccard e agrupamento UPGMA de 40 indivíduos de moringa a serem inseridas no Banco Ativo de Germoplasma.

Houve influência da origem do material, já que os o grupo 2 foi formado exclusivamente de indivíduos oriundos de um mesmo local. Esta formação de grupos demonstra a variabilidade existente entre as mudas de moringa, que será utilizada na introdução de novos acessos no BAG, sendo eliminados os mais similares.

Conclusões

Foi possível estimar a variabilidade genética em indivíduos de moringa utilizando marcadores ISSR.

A distância genética entre os indivíduos será utilizada para a seleção dos 27 materiais a serem inseridos no BAG moringa.

Referências

- BEZERRA A.M.E.; MOMENTÉ, V.G.; MEDEIROS FILHO, S. Germinação de sementes e desenvolvimento de plântulas de moringa (*Moringa oleifera* Lam.) em função do peso da semente e do tipo de substrato. **Horticultura Brasileira**, v. 22, p. 295-299, 2004.
- DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v. 1, p. 13-15, 1991.
- FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 1995. 220 p. (EMBRAPA-CENARGEN. Documentos, 20).
- RITSCHER, P. S.; THOMAZELLI, L. F.; HUAMAN, Z. Caracterização morfológica de germoplasma de batata-doce. **Horticultura Brasileira**, v. 16, n. 1, 1998. Resumo 287.
- SILVA, A.V.C.; SANTOS, A.R.F.; LEDO, A.S.; FEITOSA, R.B.; ALMEIDA, C.S.; SILVA, G.M. RANGEL, M.S.A. Moringa genetic diversity from germplasm bank using rapid markers. **Tropical and Subtropical Agroecosystems**, v. 15, p. 31-39, 2012.