Caracterização molecular de mangabeira (hancornia speciosa) dos tabuleiros costeiros de Pernambuco e Rio Grande do Norte no Nordeste do Brasil

Molecular characterization of mangabeira (Hancornia speciosa) of the coastal plains of Pernambuco and Rio Grande do Norte in northeastern Brazil

Edivaldo Galdino Ferreira¹, Ioná Santos Araújo², Emanuela de Oliveira Alves³, Genilsa Duarte da Costa³, Hailton Barboza da Silva³

Resumo: A fruticultura desempenha um papel importante no cenário socioeconômico do Brasil, onde detemos um dos principais centros de diversidade genética de espécies frutíferas nativas do mundo. Tendo como objetivo caracterizar a similaridade genética de acessos de mangabeira, visando identificar plantas de alto potencial genético, que, poderão contribuir no melhoramento e preservação dessa frutífera. Seis genótipos de mangaba, sendo três originados do Rio Grande do Norte e três de Pernambuco, coletados na Estação Experimental da EMEPA-PB, no município de João Pessoa - PB, foram utilizados na análise de estudo de diversidade genética com o marcador RAPD (Random Amplified Polimorphic DNA), e, foram feitas análises físico-químicas em cada um dos genótipos. A extração do DNA dos genótipos de mangaba foi feita de acordo com CAPINAN. Em seguida, foi realizada uma triagem com 20 primers RAPD para identificação daqueles que ofereceram um padrão consistente de amplificação. Todos os 20 primers foram selecionados os quais apresentaram padrões de amplificação satisfatórios para os nove genótipos de mangaba. Foram obtidas 186 marcas, sendo que destas, 106 (56,98%) foram monomórficas e 80 foram polimórficas (43,01%). No dendograma houve a formação de dois grupos, o grupo I foi formado pelos indivíduos RN1, RN2, RN3, PE1 e PE3, e, o grupo II foi formado apenas pelo indivíduo PE2. No qual se observou que o indivíduo PE2 apresentou 99,92% de dissimilaridade genética com os demais genótipos, essa amostra mostrou-se também a mais variável, de acordo com as análises físico-químicas vistos na Tabela 1. Dessa forma, Observou-se que os grupos de espécies coletadas nos Estados do Rio Grande do Norte e Pernambuco apresentaram baixa diversidade genética entre si.

Palavras-chave: Diversidade genética: Mangabeira (Hancornia speciosa); Tabuleiros Costeiros

Abstract: The fruit plays an important role in the socio-economic scenario in Brazil, where we have one of the main centers of genetic diversity of fruit species in the world. Aiming to characterize the genetic similarity of accessions mangabeira, to identify plants with high genetic potential, which may contribute to the improvement and preservation of this fruitful. Six genotypes mangaba, three originated from Rio Grande do Norte and Pernambuco three collected at the Experimental Station of EMEPA-PB, in João Pessoa - PB, were used in the analysis of study of genetic diversity with RAPD (Random amplified polymorphic DNA), and were made physicochemical analyzes in each of the genotypes. DNA extraction genotypes mangaba was made according Capinan. Then, we performed a screening of 20 RAPD primers to identify those who have offered a consistent pattern of amplification. All 20 primers were selected which showed satisfactory amplification patterns for the nine genotypes mangaba. We obtained 186 marks, and of these, 106 (56.98%) were monomorphic and 80 were polymorphic (43.01%). In the dendrogram was the formation of two groups: group I was formed by individuals RN1, RN2, RN3, PE1 and PE3, and group II was formed only by the individual PE2. Where it was observed that the individual PE2 showed 99.92% of genetic dissimilarity with the other genotypes, this sample also proved to be the most variable, according to the physico-chemical analyzes shown in Table 1. Thus, observed that groups of species collected in the states of Rio Grande do Norte and Pernambuco showed low genetic diversity among themselves.

Keywords: Genetic diversity: Mangabeira (Hancornia speciosa); Coastal Plains

INTRODUÇÃO

A fruticultura desempenha um papel importante no cenário socioeconômico do Brasil, onde detemos um dos principais centros de diversidade genética de espécies frutíferas nativas do mundo. Dentre as frutíferas que apresentam grande potencial de produção, a mangabeira (Hancornia speciosa, Gomes) destaca-se pelas características sensoriais dos seus frutos (FERREIRA, 2008). Esta espécie é uma frutífera tropical característica do Nordeste e Norte do País, atingindo também as regiões dos Cerrados do Brasil Central, assim como, a região Sudeste.

No Nordeste Brasileiro, é uma planta que vegeta abundantemente na faixa litorânea, ambiente de solos pobres, e de textura arenosa e de fácil drenagem. Ainda na região Nordeste é facilmente encontrada no litoral, com grandes pomares nativos em terras devolutas, em reservas indígenas, e em pomares cultivados, mas, corre o risco da extinção por falta de conhecimento do seu valor genético, da sua alta aplicabilidade, e da preservação ambiental (FERREIRA, 2008).

Este desconhecimento torna-se perigoso, no que se refere ao risco de avanço da degradação ambiental nos locais de ocorrência de cada espécie, ocasionando sua erosão genética (FERREIRA, 2008). O presente estudo tem como objetivo caracterizar a similaridade genética de acessos de mangabeira, visando identificar plantas de alto potencial genético, que, poderão contribuir no melhoramento e preservação dessa frutífera.

MATERIAL E MÉTODOS

Coletaram-se amostras de folhas e frutos de Mangabeira (*Hancornia speciosa*), sendo três oriundos do Rio G. do Norte e três de Pernambuco, na Estação Experimental da EMEPA-PB, no município de João Pessoa – PB, onde foram realizadas as análises físico-químicas. Em cada fruto selecionado, fizeram-se avaliações mensurações de diâmetro (mm), comprimento (mm), peso do fruto inteiro (g), nº de sementes/fruto (nº) e Brix (%).

O material vegetal foi transportado para o Laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, Mossoró – RN, onde se realizaram as análises moleculares. O DNA foi extraído de acordo com Capinan (2007).

Em seguida, foi realizada a quantificação em gel de agarose (Sigma) a 1% (p/v), corado com brometo de etídio. As reações de PCR, utilizando-se 20 iniciadores aleatórios RAPD, foram preparadas com volume final de 25 μ L, conforme descrito por Ferreira & Grattapaglia (1995). Para a realização da PCR foi empregado o

seguinte programa: desnaturação a 95 ° C por 5', seguida de 42 ciclos dos seguintes tempos e temperaturas: 1' a 95° C; 1' a 35° C; 2' a 72° C. Em seguida, finalizando o programa com 10' a 72° C com posterior manutenção da temperatura a 4° C. Para verificar a qualidade da amplificação, cada amostra foi corada com 3µl de "blue juice" (TAE 10X, 0,5 mL; EDTA 0,5M, 0,4mL; SDS – 10% 0,2mL; azul de bromofenol 0,2 mL; glicerol 7,0mL; água estéril 1,7 mL), e aplicadas em gel de agarose (Sigma) a 1% em TBE 1X (EDTA 2 mM e Tris-borato 90 mM). Após a eletroforese a os géis foram banhados com brometo de etídio e as bandas de DNA foram fotodocumentadas em sistema de fotodocumentação.

Os dados moleculares obtidos foram avaliados mediante análise estatística em que foi delimitada uma matriz binária baseada na presença (1) ou ausência (0) de marcadores RAPD, sendo essa gerada e utilizada para estimar a dissimilaridade genética entre os genótipos, empregando-se o coeficiente de Jaccard, sendo construído um dendograma pelo critério de agrupamento hierárquico UPGMA (*Unweighted Pair Group Methodwith Arithmetic Average*), utilizando o programa Genes (2006).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 20 primers utilizados no presente estudo, todos foram polimórficos, os quais apresentaram bom padrão de amplificação, permitindo a identificação de bandas reprodutíveis. Os primers que apresentaram o maior e o menor número de bandas polimórficas foram: OPA-03, com 15 bandas, e o primer OPA-13, com cinco bandas, respectivamente. Foram obtidas 186 marcas, sendo que destas, 106 (56,98%) foram monomórficas e 80 foram polimórficas (43,01%).

No dendrograma foi possível observar a formação de dois grupos (Figura 1). O grupo I foi formado pelos indivíduos RN1, RN2, RN3, PE1 e PE3, e, o grupo II foi formado apenas pelo indivíduo PE2. No grupo I observamos o grau de similaridade genética mais evidente entre os genótipos RN2 e RN3.

Assim como também a detecção de similaridade alta entre os genótipos do grupo I. Já o indivíduo PE2 apresentou 99,92% de dissimilaridade genética com os demais genótipos, essa amostra mostrou-se também, de acordo com as análises físico-químicas (Tabela 1), a mais variável entre os parâmetros de diâmetro do fruto, comprimento do fruto, número de sementes por fruto e o peso dos frutos. Essa informação é de grande importância para a verificação do nível de similaridade genética das espécies nativas estudadas, podendo dessa forma auxiliar no melhoramento e conservação de genótipos de mangabeira.

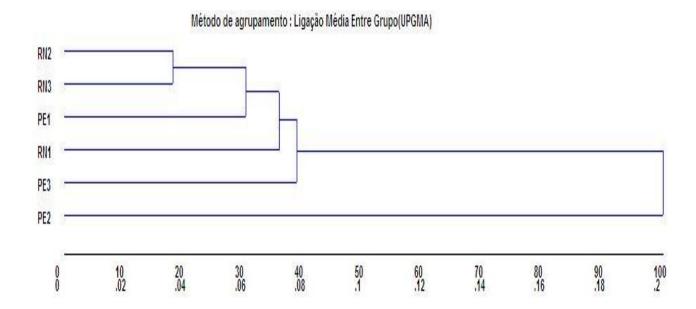


Figura 1: Padrão de dissimilaridade genética obtido entre 06 genótipos de Mangaba (*Hancornia speciosa*) definidos pelo método de UPGMA. Mossoró-RN, UFERSA, 2012.

Tabela 1: Avaliações Físico-Químicas de frutos de mangabeira (*Hancornia speciosa*), nativas do litoral dos Estados do Rio Grande do Norte (RN) e Pernambuco (PE), 2012.

Amostra	D. (mm)	C. (mm)	PF (g)	S/F	Brix (%)
RN1	32,87	37,01	22,45	14,5	15,47
RN2	32,10	37,16	22,95	14,8	16,10
RN3	28,31	32,15	15,66	6,1	15,98
PE1	31,40	36,37	20,00	9,0	14,80
PE2	37,10	39,60	30,56	25,0	13,80
PE3	30,91	33,78	18,78	21,1	13,94

Legenda: D. = Diâmetro (mm); C. = Comprimento (mm); PF = Peso dos Frutos (g); S/F = Sementes/Fruto (N°); ${}^{\circ}B$ = ${}^{\circ}Brix$ (%).

CONCLUSAO

Conclui-se que os marcadores RAPD é uma ferramenta útil para o estudo de diversidade genética de espécies de mangabeira do litoral Nordestino. Observouse que os grupos de espécies coletadas nos Estados do Rio Grande do Norte e Pernambuco apresentaram baixa diversidade genética entre si.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CAPINAN, G. C. S. Seleção de germoplasma de mangabeira (*Hancornia speciosa* gomes) definidos por marcadores morfológicos e moleculares. 2007. 88f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Centro de

Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2007.

CRUZ, C. D.(2006) Programa genes: estatística experimental e matrizes. Viçosa: UFV, 285p. 2006

FERREIRA, E. G.; BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Produção Integrada no Brasil: agropecuária sustentável, alimentos seguros/Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo. Brasília: Mapa/ACS, 2009. Cap. 22, p. 665-683.1008 p. ISBN 978-85-99851-50-0.

FERREIRA, M.E., GRATAPAGLIA, D. (1995) Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética. 1. ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 220p.