



SELEÇÃO DE PRIMERS MICROSSATÉLITES PARA ESTUDOS DE DIVERSIDADE GENÉTICA EM PROGÊNIES DE MANGABEIRA

ANA VERUSKA CRUZ DA SILVA¹; ADRIELLE NAIANA RIBEIRO SOARES²; ANA
LETÍCIA SIRQUEIRA NASCIMENTO¹; MARÍLIA FREITAS DE VASCONCELOS MELO³ E
MARINA FERREIRA DA VITÓRIA²

INTRODUÇÃO

O Banco Ativo de Germoplasma de Mangaba da Embrapa Tabuleiros Costeiros foi implantado em 2006. No ano de 2013 houve a primeira frutificação (SILVA et al., 2015), e desde então iniciaram-se os estudos sobre caracterização dos frutos e de propagação, produção de porta-enxertos e progênies, além da diversidade genética.

A caracterização molecular destaca-se como forma de avaliar essa diversidade, e para a constituição de variedades cultivadas, é indispensável que haja diversidade genética suficiente para permitir a seleção de indivíduos que possam ser utilizados em programas de melhoramento. Portanto, o estudo dos componentes da variabilidade da espécie é fundamental, especialmente para espécies nativas pouco estudadas, cuja magnitude da diversidade ainda não é totalmente conhecida (COSTA et al., 2011).

Uma forma de estudar a diversidade genética é através de marcadores moleculares, dentre eles os marcadores microssatélites (SSR) são importantes na verificação das mudanças nos parâmetros genéticos das populações ao longo dos ciclos de seleção, já que identificam alterações e perdas alélicas em cada loco individualmente (OLIVEIRA et al., 2005). Estes marcadores apresentam alguns aspectos positivos, como a herança codominante, alto grau de polimorfismo mesmo entre linhagens próximas, cobertura genômica extensa e bem distribuída (KALIA et al., 2011).

O objetivo do trabalho foi selecionar primers microssatélites para estimar a diversidade genética entre progênies de mangabeira.

MATERIAL E MÉTODOS

Frutos de nove matrizes foram utilizados para a produção das progênies utilizadas neste

¹ Eng^a. Agrônoma, DSc. Embrapa Tabuleiros Costeiros – ana.veruska@embrapa.br

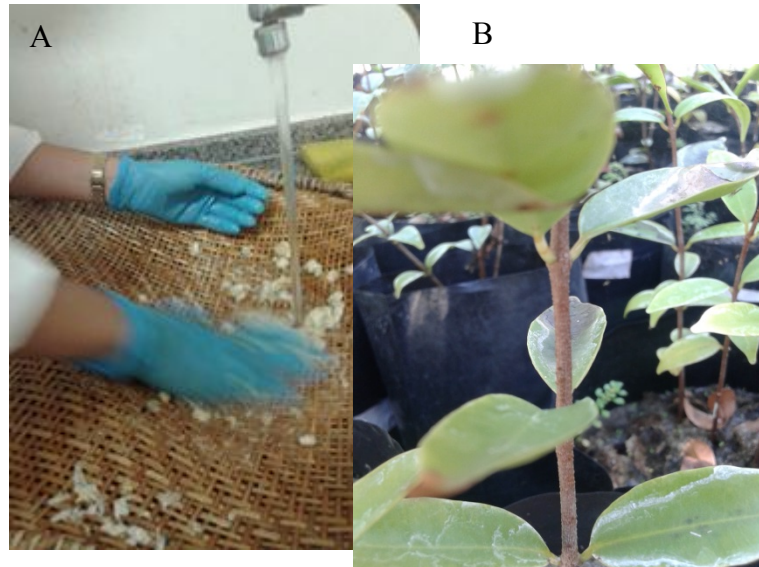
² Pós-graduandas em Agricultura e Biodiversidade. Universidade Federal de Sergipe – adrielle.naiana@hotmail.com ; marina_fv@hotmail.com²

³ Eng^a. Florestal, bolsista DTI/CNPq. Embrapa Tabuleiros Costeiros - analeticia_16@hotmail.com

⁴ Eng^a. Florestal, Doutoranda em Ciência Florestal, Unesp Botucatu – mariliafvm@yahoo.com.br

31 estudo. Após o beneficiamento das sementes (Figura 1-A) e secagem, a semeadura foi realizada em
 32 sacos de polietileno (Figura 1-B). Após nove meses, folhas jovens foram coletadas para a extração
 33 de DNA (ALZATE-MARIN et al., 2005).

34



Fotos: Adrielle N.R. Soares

35

36 Figura 1. Beneficiamento de sementes de matrizes de mangaba (A) e produção de progênies (B).

37

38 Foram testados 16 primers (RODRIGUES et al., 2015) marcados com corantes fluorescentes
 39 6-FAM (6-carboxyfluorescein), de coloração azul ou HEX (Hexachloro-6-carboxyfluorescein), de
 40 coloração verde. A detecção dos picos de inflorescência nos eletroferogramas resultantes da
 41 genotipagem foi realizada por meio do GeneMarker 1.6 (SoftGenetix, State College, Pensilvânia,
 42 EUA). As heterozigosidades - observada (*Ho*) e esperada (*He*) - foram calculadas de acordo com o
 43 modelo de equilíbrio de Hardy-Weinberg.

44

45 RESULTADOS E DISCUSSÃO

46

47 Foram selecionados quatro pares de primers (HS01 - (GCA)₆(TC)₂₀(GCA)₈ ; HS05 -
 48 (GA)₁₅(TGC)₆; HS06 - (GA)₁₄ e HS10 - (CT)₁₄(CT)₈) por permitirem a amplificação de bandas
 49 claras e consistentes.

50 Verificou-se que os valores para os números de alelos foram baixos para todos os acessos
 51 avaliados, assim como as diferenças quanto ao número de alelos entre os acessos.

52 Informações sobre heterozigosidade são importantes, pois se referem à variabilidade
 53 genética e estima o quanto de diversidade existe em uma população e como esta variação está
 54 distribuída em função dos alelos presentes em um determinado loco. No caso, a heterozigosidade
 55 média observada (*Ho*) variou de 0,43 (TCP6) a 0,70 (ABP1) e a heterozigosidade média esperada

56 (He) variou de 0,83 (LGP3) a 0,92 (ABP1), valores superiores aos de Costa et al. (2011). Todos os
 57 acessos apresentaram He maior que Ho (Tabela 1), o que indica excesso de homozigotos, de acordo
 58 com o esperado para uma população que adere ao equilíbrio de Hardy-Weinberg (AMORIM et al.,
 59 2015)

60

61 **Tabela 1.** Heterozigosidade esperada (He) e heterozigosidade observada (Ho) em relação a locos
 62 microssatélites (SSR) em progênies de *H. speciosa* oriundas de diferentes acessos do Banco Ativo
 63 de Germoplasma de mangaba.

Acessos	n	He	Ho
LGP3	10	0,83	0,60
PTP4	10	0,87	0,50
TCP2	10	0,78	0,48
TCP6	07	0,91	0,43
ABP1	10	0,92	0,70
ABP2	10	0,85	0,40
BIP2	10	0,90	0,30
BIP4	10	0,91	0,50
CAP5	10	0,90	0,70
Médias		0,87	0,51

64 n = número de indivíduos analisados.

65

66 Entender a dinâmica de uma espécie ainda não domesticada possibilitará a escolha de
 67 genótipos contrastantes que serão utilizados em programas de melhoramento. Os resultados obtidos
 68 serão úteis na elaboração de estratégias de conservação e manejo desses recursos genéticos, bem
 69 como na produção de mudas e em programas de melhoramento.

70

71

CONCLUSÕES

72 Dos 16 primers microssatélites desenvolvidos para mangaba, foram selecionados quatro, que
 73 são eficientes para estimar a diversidade entre progênies oriundas de acessos do BAG mangaba da
 74 Embrapa Tabuleiros Costeiros, apresentando alta diversidade entre elas.

75

76

AGRADECIMENTOS

77 Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Processos:
 78 461020/2014-9 e 203542/2014-2.

79

REFERÊNCIAS

- 80
- 81 AMORIM, J.A.E.; MATA, L.R.; LÉDO, A.S.; AZEVEDO, V.C.R.; SILVA, A.V.C. Diversity and
82 genetic structure of mangaba remnants in states of northeastern Brazil. **Genetics and Molecular
83 Research**, v.14, p.823-833, 2015.
- 84 ALZATE-MARIN, A. L.; GUIDUGLI, M. C.; SORIANI, H. H.; MARTINEZ, C. A.;
85 MESTRINER, M. A. An Efficient and Rapid DNA Minipreparation Procedure Suitable for
86 PCR/SSR and RAPD Analyses in Tropical Forest Tree Species. **Brazilian Archives of Biology
87 and Technology**, v. 52, n. 5, 1217-1224, (2009).
- 88 COSTA, T. S.; SILVA, A. V. C.; LÉDO, A. S.; SANTOS, A. R. F.; SILVA JÚNIOR, J. F. S.
89 Diversidade genética de acessos do banco de germoplasma de mangaba em Sergipe. **Pesquisa
90 Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 5, 2011.
- 91 KALIA, R. K.; RAI M. K.; KALIA, S.; SINGH, R.; DHAWAN, A. K. Microsatélites markers: an
92 overview of the recent progress in plants. **Euphytica**, v. 177, n. 3, p. 309-334, 2011.
- 93 OLIVEIRA, E. J. de; PÁDUA, J. G.; ZUCCHI, M. I.; CAMARGO, L. E. A.; FUNGARO, M. H. P.;
94 VIEIRA, M. L. C. Development and characterization of microsatellite markers from the yellow
95 passion fruit (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). **Molecular Ecology Notes**, v. 5, n. 2, p.331-333,
96 2005.
- 97 RODRIGUES, A.J.L.; YAMAGUISHI, A.T.; CHAVES, L.J.; COELHO, A.S.G.; LIMA, J.S.;
98 TELLES, M.P.C. Development of microsatellite markers for *Hancornia speciosa* Gomes
99 (Apocynaceae). **Genetics and Molecular Research**, v. 14, n.3, p. 7274-7278, 2015.
- 100 SILVA, A.V.C.; SILVA JÚNIOR, J.F.; MOURA, C.F.H.; LEDO, A.S.; MENEZES, D.N.B.;
101 VITÓRIA, M.F.; AMORIM, J.A.E. **Atributos de qualidade e funcionais de acessos do Banco
102 Ativo de Germoplasma da Embrapa Tabuleiros Costeiros**. Aracaju: Embrapa, 2015, 7p.
103 (Circular técnica). Disponível em:
104 <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/1041714/1/CT71.pdf> Acesso em:
105 01/06/2015.
- 106
- 107