

# Transferência de primers SSRs da mangueira (*Mangifera indica*) para o umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arr.)

Transfer of SSRs primers from mango (*Mangifera indica*) to umbu tree (*Spondias tuberosa* Arr.)

---

**Hugo Leonardo Coelho Ribeiro<sup>1</sup>; Carlos Antônio Fernandes Santos<sup>2</sup>; Marciene Amorim Rodrigues<sup>1</sup>; Jucilene S. Araújo<sup>3</sup>; Tuany Priscila P. Costa<sup>1</sup>; Maria Maiany de Oliveira<sup>3</sup>; Viseldo Ribeiro de Oliveira<sup>2</sup>**

## Resumo

O objetivo desse trabalho foi testar *primers* desenvolvidos para mangueira em indivíduos de umbuzeiro, considerando que as duas espécies pertencem à família Anacardiaceae, de forma a facilitar análises genéticas no umbuzeiro. Foram testados 30 pares de *primers* SSRs de manga utilizando-se duas temperaturas de anelamento (48°C e 52°C) e duas concentrações de cloreto de Magnésio (1,5 mM e 2,0 mM) no protocolo PCR. Na concentração de 1,5 mM MgCl<sub>2</sub> e temperatura de anelamento de 52°C observou-se a amplificação de bandas monomórficas apenas do *primer* mMiCIR002, nos quatro indivíduos de umbuzeiro. Na concentração de 2,0 mM MgCl<sub>2</sub> e temperatura de anelamento de 48°C ou 52°C observou-se a amplificação de bandas monomórficas nos *primers* mMiCIR002, mMiCIR005, mMiCIR003 e mMiCIR010 para os indivíduos de umbuzeiro, sendo que na temperatura de anelamento de 48°C observou-se a amplificação de bandas mais definidas. Quando dois *primers*

---

<sup>1</sup>Estudante de Ciências Biológicas da UPE, Estagiário da Embrapa Semi-Árido, C. P. 23, CEP 56302-970; Petrolina-PE. <sup>2</sup>Pesquisador da Embrapa Semi-Árido; <sup>3</sup>Estudante de Ciências Biológicas da UPE, Bolsista da Embrapa Semi-Árido/ CNPq. casantos@cpatsa.embrapa.br

foram usados numa população de 80 indivíduos de umbuzeiro observou-se completa ausência de polimorfismo para mMiCIR005 e de polimorfismo em seis dos 80 indivíduos para o *primer* mMiCIR001. Estes resultados indicam a necessidade de ajustes no protocolo de PCR para transferência SSRs da mangueira para o umbuzeiro e que a utilização destes *primers* no umbuzeiro para estudos genéticos é limitada.

Palavras-chave: SSR, PCR, Anacardiaceae.

## Introdução

O umbuzeiro (*Spondias Tuberosa* Arr.), também conhecido como a árvore sagrada do Sertão, é uma das principais fruteiras nativas do Trópico Semi-árido (TSA) brasileiro. Essa Anacardiácea, pela sua adaptação e aproveitamento secular, tem desempenhado importante papel agrossocioeconômico para as populações da região. Não existem relatos da ocorrência do umbuzeiro em outras regiões do planeta e sua área de maior ocorrência no TSA é na Depressão Sertaneja (Santos et al., 2005).

*Primers* microssatélites (SSR) constituem uma classe de marcadores moleculares que detectam polimorfismo em regiões hipervariáveis do DNA e são ideais para diversos estudos, pela riqueza de informação genética que oferecem, bem como pela facilidade de obtenção de dados genéticos via reação de polimerase em cadeia (PCR), após o desenvolvimento dos *primers*. A ocorrência de amplificação destes fragmentos mostra ser possível aproveitar *primers* que foram desenvolvidos para uma espécie e empregá-los nas demais espécies do mesmo gênero (Ferreira & Grattapaglia, 1996). Considerando o alto custo para o desenvolvimento destes marcadores, a estratégia de análise de transferibilidade de microssatélites de uma espécie (*Mangifera indica*) para outra (*Spondias tuberosa*) é bastante oportuna. Um efeito significativo seria uma drástica redução no custo de desenvolvimento da tecnologia.

O objetivo desse trabalho foi testar 30 *primers* desenvolvidos para manga (*Mangifera indica*) em quatro amostras de DNA genômico de umbuzeiro (*Spondias tuberosa*), considerando que as duas espécies pertencem à família Anacardiaceae, de forma a facilitar análises genéticas no umbuzeiro.

## Material e Métodos

Para a verificação de transferência de *primers* SSRs desenvolvidos para manga em umbuzeiro, utilizaram-se quatro indivíduos desta última. Foram testados 30 pares de *primers* SSRs de manga utilizando-se duas temperaturas de anelamento (48°C e 52°C), e duas concentrações de cloreto de magnésio (1,5mM e 2,0mM). As reações de amplificação de genoma do umbuzeiro foram realizadas via PCR ("Polymerase Chain Reaction").

O programa de PCR consistiu de: denaturação a 94°C por 4 min; 30 ciclos a 94°C por 45 s, 51°C por 60 s e 72°C por 60 s e uma etapa de extensão final a 72°C, por 8 min. A reação de amplificação foi realizada para um volume final de 20 µL, contendo 30 ng de DNA genômico, 1x de Tampão para *Taq* DNA Polimerase, 1,5 ou 2,0 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,2 mM de dNTP's, 0,2 µM de cada *primer* 0,15 Unidades da enzima *Taq* DNA Polimerase. Após a amplificação os fragmentos foram visualizados por meio de eletroforese em gel de poliacrilamida corado com nitrato de prata, conforme descrito por Creste *et al.* (2001).

De 30 amostras de *primers* de *Mangifera indica* publicados por Duval *et al.* (2005), foram testados 30 *primers*, quais sejam: mMiCIR001, mMiCIR002, mMiCIR003, mMiCIR004, mMiCIR005, mMiCIR006, mMiCIR008, mMiCIR009, mMiCIR010 mMiCIR011, mMiCIR012, mMiCIR013, mMiCIR014, mMiCIR016, mMiCIR018, mMiCIR020, mMiCIR021, mMiCIR022, mMiCIR024, mMiCIR025, mMiCIR027, mMiCIR028, mMiCIR029, mMiCIR030, mMiCIR032, mMiCIR033, mMiCIR034, mMiCIR036, mMiCIR037 e mMiCIR038.

## Resultados e Discussão

Na concentração de 1,5 mM MgCl<sub>2</sub> e temperatura de anelamento de 52°C observou-se a amplificação de bandas monomórficas apenas para o *primer* mMiCIR002, para os quatro indivíduos de umbuzeiro (Fig. 1A). Na concentração de 2,0 mM MgCl<sub>2</sub> e temperatura de anelamento de 52°C observou-se a amplificação de bandas monomórficas para os *primers* mMiCIR002, mMiCIR005, mMiCIR003 e mMiCIR010, para os quatro indivíduos de umbuzeiro (Fig. 1B). Na concentração de 2,0 mM MgCl<sub>2</sub> e temperatura de anelamento de 48°C também observou-se a amplificação de bandas monomórficas para os *primers* mMiCIR002 e mMiCIR005, para os quatro

indivíduos de umbuzeiro, com bandas bem definidas, quando comparadas com as bandas dos outros testes (Fig. 1C). Quando dois *primers* foram usados numa população de 80 indivíduos de umbuzeiro observou-se completa ausência de polimorfismo para mMiCIR005 e de polimorfismo em cinco dos 80 indivíduos para o *primer* mMiCIR001 (Fig.2).

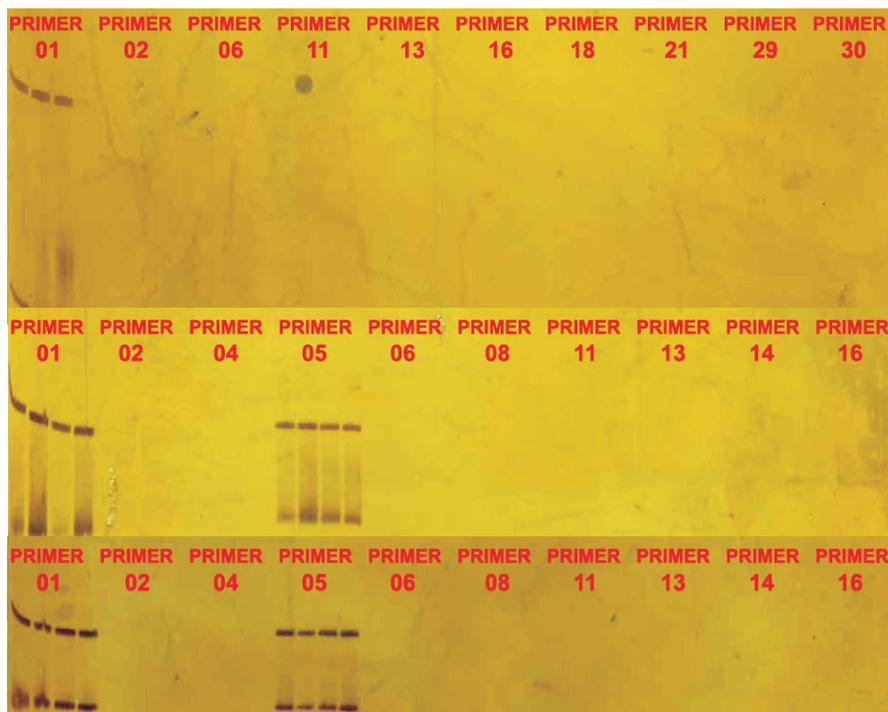


Fig. 1. Géis de poliacrilamida (6%) com *primers* de mangueira avaliados em indivíduos de umbuzeiro: painel A: 1,5 mM MgCl<sub>2</sub> e temperatura de anelamento de 52°C; painel B: 2,0 mM MgCl<sub>2</sub> e temperatura de anelamento de 52°C; painel C: 2,0 mM MgCl<sub>2</sub> e temperatura de anelamento de 48°C.

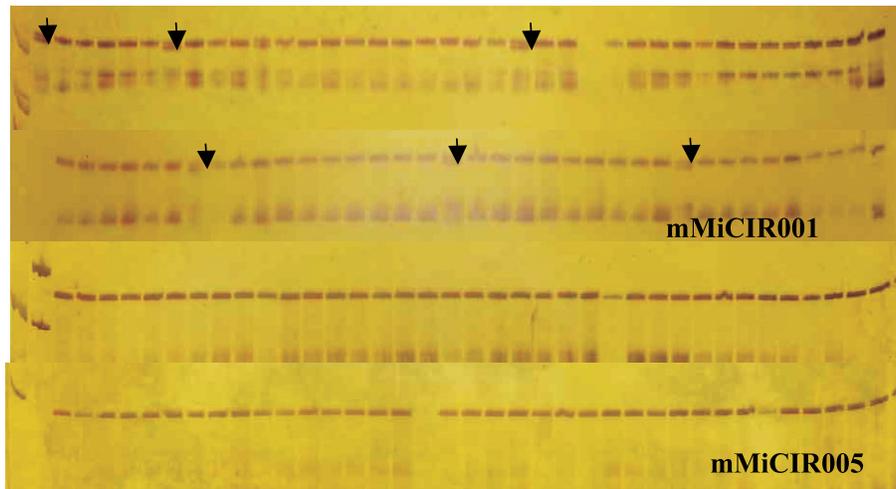


Fig. 2. Géis de poliacrilamida (6%) com *primers* de mangueira mMiCIR001 e mMiCIR005 avaliados em 79 em indivíduos de umbuzeiro.

Lamas et al. (2007) observaram amplificação de bandas em melancia em 60 *primers* de um total de 133 *primers* de melão, sugerindo que os resultados decorrem da sintenia entre as regiões que flanqueiam os microssatélites entre espécies aparentadas. Ainda segundo os autores apenas 12 *primers* de melão foram polimórficos em melancia. Wang et al. (2005) observaram 50% de transferência de *primers* de trigo, arroz, sorgo e milho em outras gramíneas, como milheto, sendo que dentro das espécies o número de *primers* polimórficos foi reduzido para 34%.

Os resultados obtidos neste trabalho indicam a necessidade de ajustes no protocolo de PCR para transferência de SSRs da mangueira para o umbuzeiro e que a utilização destes *primers* no umbuzeiro para estudos genéticos é limitada. Testes com um maior número de *primers* publicados de mangueira, bem como de outras Anacardiáceas, devem ser realizados, pois a obtenção de alguns será suficiente para estudos genéticos no umbuzeiro, como a determinação da taxa de polinização cruzada.

## Agradecimentos

Ao Banco do Nordeste do Brasil pelo apoio financeiro.

## Referências Bibliográficas

CRESTE, S.; TULMANN NETO, A.; FIGUEIRA, A. Detection of single sequence repeat polymorphisms in denaturing polyacrylamide sequencing gels by silver staining. **Plant Molecular Biology Reporter**, Athens, v. 9, p. 299-306, 2001.

DUVAL, M.F.; BUNEL, J.; SITBON, C.; RISTERUCCI, A. M. Development of microsatellite markers for mango (*Mangifera indica* L.). **Molecular Ecology Notes**, Oxford, v. 5, p. 824–826, 2005

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética**. Brasília, DF: EMBRAPA-CENARGEN, 1995. 220p. (EMBRAPA-CENARGEN. Documentos, 20)

LAMAS, N. da S. e; FERREIRA, M. A.; AMARAL, Z. P. de S.; VIEIRA, J. V.; FERREIRA, M. A. J. da F.; BUSO, G. S. C. Detecção de polimorfismo em melancia com primers microssatélites de melão. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 25, n. 1, p. s94, ago. 2007 Suplemento 2.

SANTOS, C. A. F.; CAVALCANTI, N. B.; NASCIMENTO, C. E. S.; F. P. A.; LIMA FILHO, J. M. P.; ANJOS, J. B.; OLIVEIRA, V. R. Umbuzeiro: Pesquisas, potenciais e desafios. In: ROMÃO, R. L.; RAMOS, S. R. R. (Ed.). **Recursos genéticos vegetais no Estado da Bahia**. Feira de Santana: UEFS, 2005. p. 69-81.

WANG, M. L.; N.A. BARKLEY, N. A.; YU, J. K.; DEAN, R.E.; NEWMAN, M.L.; SORRELLS, M.E.; PEDERSON, G.A. Transfer of simple sequence repeat (SSR) markers from major cereal crops to minor grass species for germplasm characterization and evaluation. **Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization**, Cambridge, v. 3, p. 45-57, 2005.