



SIMILARIDADE GENÉTICA ENTRE GENÓTIPOS DE MANGA COM BASE EM MARCADORES RAPD

Isis Gomes de Brito Souza¹; Fábio Mendonça Diniz²; Valdomiro Aurélio Barbosa de Souza²; Sérgio Emílio dos Santos Valente³; Fábio Britto Barros⁴; Paulo Sarmanho da Costa Lima²

¹Bolsista de graduação CNPq/Departamento de Biologia (UFPI) isisgomesmd@hotmail.com;

²Pesquisadores da Embrapa Meio-Norte, E-mail: fmd1@cpamn.embrapa.br, valdo@cpamn.embrapa.br, sarmanho@cpamn.embrapa.br; ³Professor Adjunto (UFPI) svalente2@yahoo.com.br, ⁴Bolsista DCR (Embrapa) fbbritto@yahoo.com

INTRODUÇÃO

A mangueira (*Mangifera Indica* L.) é uma espécie frutífera, dicotiledônea, da família Anacardiaceae. É uma das mais importantes frutas tropicais consumida no mundo. O Brasil vem ampliando sua participação nas exportações mundiais e gerando emprego e renda em todo o território nacional. Em 2007 o Brasil exportou 116.047.528 kg de manga e de janeiro a maio de 2008 já exportou mundialmente 32.189.363 Kg de manga frescas ou secas (MDIC - SECEX, 2008). Para ampliar cada vez mais essa participação é necessária a obtenção de cultivares superiores, de alta produtividade e resistentes às principais doenças da cultura e, para isso, a utilização de marcadores moleculares como ferramenta de auxílio no melhoramento genético da manga é importante.

Os marcadores moleculares permitem fazer distinção entre indivíduos diretamente ao nível de DNA e têm permitido acessar a variabilidade genética dentro de um pool gênico de espécies perenes, assim como identificar a diversidade disponível em bancos de germoplasma. Dentre estes marcadores, os de RAPD (Polimorfismo de DNA amplificado ao acaso) (WILLIAMS et al., 1990; WELSH; MCCLELLAND, 1990) têm sido usados no melhoramento de plantas. Os RAPDs são marcadores de natureza dominante, contudo, em função de seu baixo custo e de permitirem a detecção rápida de grande número de polimorfismo genético, têm sido bastante utilizados em estudos de diversidade genética em um número significativo de espécies tais como, maracujá (JUNQUEIRA; FALEIRO; JUNQUEIRA, 2008) e pau-rosa (SANTOS et al., 2007).

O objetivo deste trabalho foi avaliar, por meio de marcadores RAPD, a similaridade genética entre acessos de mangas regionais que compõem o Banco Ativo de Germoplasma de Manga da Embrapa Meio-Norte.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisados DNA de seis acessos de manga provenientes das seguintes localidades: Teresina, Inhuma, Bom Jesus e Parnaíba, no Piauí; Pacajus, no Ceará, e Cruz das Almas, na Bahia (Tabela 1).

TABELA 1 - Variedades de manga usadas na análise de RAPD e seu local de coleta.

VARIEDADE	LOCAL DE COLETA
Favo de Mel	Cruz das Almas-BA
Piqui	Inhuma-PI
Fafá	Pacajus-CE
Xexéu	Bom Jesus-PI
D'Água	Parnaíba-PI
Jarbas	Teresina-PI

A extração do DNA foi realizada obedecendo ao protocolo PUREGENE® DNA Purification Kit (Gentra Systems, USA). Foram testados 23 *primers* (iniciadores), sintetizados pela Gibco BRL, dos quais seis (A01, A09, M16, G03, G09 e N05) foram selecionados para as análises de similaridade genética. As reações de amplificação foram realizadas de acordo com o protocolo de Williams et al. (1990). O volume final utilizado nas reações foi de 20 µl, contendo os seguintes componentes: tampão 1,0x [20 Mm Tris HCl, Ph 8,0; 0,1 Mm EDTA; 1 Mm DTT; 50% (v/v) glicerol], 1,0 Mm MgCl₂, 800 Mm Dntp, 0,4 pMol de “*primer*”, 1U de Taq DNA polimerase e 1 µl de DNA genômico (~15 ng).

As reações foram preparadas em tubos de 0,2 mL, sendo realizadas em termociclador GeneAmp 2400 Thermal Cycler PCR (Perkin-Elmer), com uma fase inicial de desnaturação a 92°C por 1 minuto, seguida de 40 ciclos nas seguintes condições: 1 minuto para desnaturação a 92°C; 1 minuto para anelamento (*t_a*) a 35°C; 2 minutos para extensão a 72°C. A extensão final foi realizada a 72°C por cinco minutos.

Os produtos de amplificação foram separados por eletroforese horizontal em gel de agarose 1,4% com tampão TBE 1X (89 Mm Tris, 89 Mm Ácido Bórico e 2 Mm EDTA,

pH 8.0), conduzida em voltagem de 80 V por 3 horas e 30 minutos. Ao final, os géis foram tratados com brometo de etídio, por 40 minutos, visualizados em transluminador de luz ultravioleta, fotografados e as fotos arquivadas em computador para posterior avaliação dos padrões de bandas.

A análise dos dados foi realizada utilizando o software PAST v1.34 (HAMMER; HARPER; RYAN, 2001). A similaridade genética foi estimada pelo coeficiente de Jaccard, sendo construído, a partir da matriz de similaridade gerada, o dendrograma que gerou a matriz de similaridade (Tabela 2). A partir dessa matriz, foi gerado o *cluster*, pelo método UPGMA.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram amplificados um total de 55 marcadores RAPD, dos quais 34 mostraram polimorfismo (61,8%). O número de bandas amplificadas variou de 6 (A01) a 14 (N05). Na Tabela 2 são apresentados dados da matriz de similaridade genética entre os seis acessos de manga analisados. Observa-se que os acessos mais divergentes foram Fafá e Favo de Mel (74%) e os mais similares, Jarbas e D'Água (60%).

TABELA 2 - Matriz de similaridade genética entre 6 acessos de manga gerada pelo coeficiente de Jaccard, utilizando marcadores RAPD

	Xexéu	D'Água	Jarbas	Fafá	Favo de Mel	Piqui
Xexéu	1					
D'Água	0,5	1				
Jarbas	0,44444	0,6087	1			
Fafá	0,28571	0,47059	0,36	1		
Favo de Mel	0,5	0,37037	0,48387	0,25926	1	
Piqui	0,30769	0,28	0,36667	0,26087	0,46429	1

Na Figura 1 é mostrado o dendrograma, obtido pelo método UPGMA com base na matriz de similaridade genética de Jaccard. Pode-se observar a formação de três grupos distintos: grupo I, com similaridade em torno de 33%, é o mais dissimilar em relação ao conjunto e está constituído pela variedade Fafá; grupo II, com similaridade de 35% está constituído pela variedade Piqui, e o grupo III constituído pelas

variedades Favo de Mel, Xexéu, Jarbas e D'Água, é o mais similar, com aproximadamente 44% de similaridade.

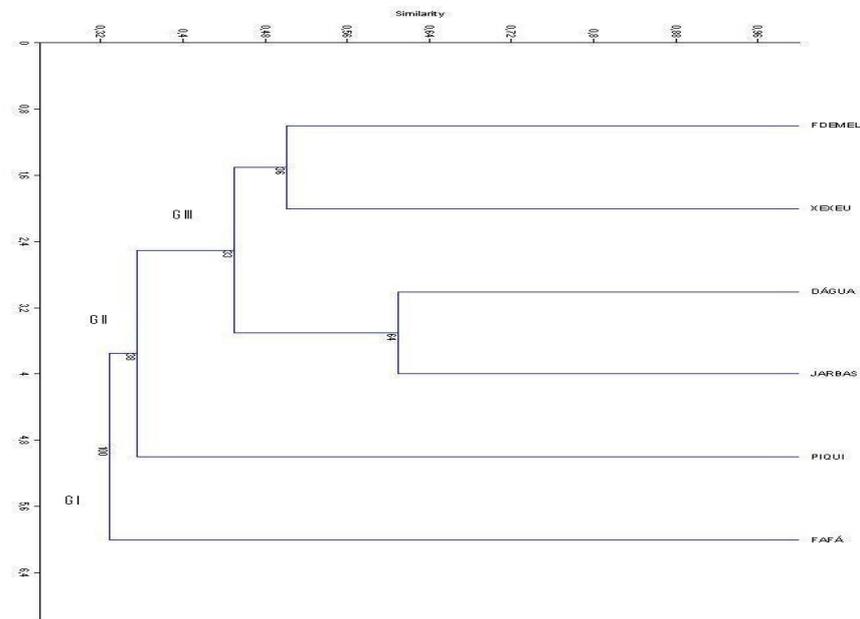


FIGURA 1 - Dendrograma obtido pelo método UPGMA, de acordo com a matriz de similaridade genética entre seis acessos de mangas regionais.

CONCLUSÃO

A técnica RAPD mostrou-se eficiente em discriminar os acessos de manga analisados. A variedade Fafá mostrou-se mais distante em relação as demais. Novos primers serão testados com objetivo de identificar maior polimorfismo entre os acessos que compõem a coleção de manga da Embrapa Meio-Norte

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao CNPq pela concessão da bolsa da primeira autora e pelo financiamento das pesquisas conduzidas no Laboratório de Biologia Molecular da Embrapa meio-Norte.

REFERÊNCIAS

HAMMER, O.; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. Past: paleontological statistics software package for education and data analysis. **Paleontologia Electronica**, v.4, p.1-9, 2001.



JUNQUEIRA, K. P.; FALEIRO, F. G.; JUNQUEIRA, N.; Tadeu V. Confirmação de híbridos interespecíficos artificiais no gênero *Passiflora* por meio de marcadores RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 1, p. 191-196, 2008.

MINISTÉRIO DO DESENVOLVIMENTO INDÚSTRIA E COMÉRCIO EXTERIOR – MDIC/SECRETARIA DE COMÉRCIO - SECEX. Disponível em:
<<http://alicesweb.desenvolvimento.gov.br/default.asp>>. Acesso em: 23 jun. 2008.

SANTOS, R. P.; ANGELO, P. C. DA S.; QUISEN, R. C.; OLIVEIRA, C. L.; SAMPAIO, P. DE B. S. RAPD em Pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke): adaptação do método para coleta de amostras in situ, ajuste das condições de PCR e apresentação de um processo para selecionar bandas reprodutíveis. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 37, n. 2, 2007.

WELSH, L.; McCLELLAND, M. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v.18, n.24, p.7213-7218, 1990.

WILLIAMS, J. G. K.; KUBELIK, A. R.; LIVAK, K. J.; RAFALSKI, J. A.; TINGEY, S. V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Res.**, v. 18, p. 6531-6535, 1990.

20080725_085756