

# Caracterização Molecular de Acessos de Jenipapeiro

**Marina Ferreira da Vitória<sup>1</sup>, Karla Cristina Santos Freire<sup>2</sup>, Valter Ferreira Rocha Júnior<sup>3</sup>, Ana Letícia Sirqueira Nascimento<sup>4</sup>, Jéssica Monalisa Santos Pereira Oliveira<sup>5</sup>, Sílvio Gomes dos Santos<sup>6</sup>, Ana Veruska Cruz da Silva<sup>7</sup>**

## Resumo

O Banco Ativo de Germoplasma de Jenipapo pertencente a Embrapa Tabuleiros Costeiros foi implantado em 2009, no Campo Experimento Jorge Sobral em Nossa Senhora das Dores, visando a conservação do material genético. O objetivo desse trabalho foi realizar a caracterização molecular e avaliar a diversidade genética de 160 indivíduos de 18 acessos de jenipapo por meio de marcadores moleculares ISSR. Os resultados mostraram através da análise de agrupamento ACoP a formação de quatro grupos. Há um grande número de indivíduos agrupados no grupo I da ACoP, indicando pouca divergência entre eles. Os grupos I, II e III, se agruparam em posições diferentes no dendrograma, porém na ACoP estão relacionados. O grupo IV é o mais diferente dos demais grupos. A análise comparativa dos agrupamentos revelou que os marcadores ISSR foram eficientes para a caracterização molecular e existe variabilidade genética entre os acessos.

**Palavras-chave:** *Genipa americana* L., germoplasma, diversidade genética, ISSR.

<sup>1</sup> Graduanda em Engenharia Agrônômica, bolsista PIBIC/CNPq/ Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, marina\_fv@hotmail.com.

<sup>2</sup> Graduanda em Agronomia, bolsista PIBIC/FAPITEC/Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, kktina@hotmail.com.

<sup>3</sup> Graduando em Engenharia Florestal, bolsista PIBIC/FAPITEC/Embrapa Tabuleiros Costeiros, valterjunior.91@hotmail.com

<sup>4</sup> Graduanda em Engenharia Florestal, bolsista PIBIC/FAPITEC/Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, analeticia\_16@hotmail.com.

<sup>5</sup> Graduanda em Engenharia Florestal, bolsista PIBIC/FAPITEC/Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, jessica\_mona@hotmail.com

<sup>6</sup> Técnico de Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, SE, silvio.santos@embrapa.br.

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

## Introdução

O jenipapeiro (*Genipa americana* L.) pertence à família Rubiaceae, e ocorre espontaneamente no Brasil. Além do amplo uso de seus frutos, que são consumidos *in natura* e usados para fabricação de doces, licores, vinho, polpa e sorvete, a espécie tem sido recomendada para recuperação de matas ciliares.

Apesar de sua ocorrência natural em diversos estados brasileiros, sua exploração quase que totalmente extrativista, e há preocupação na diminuição dessas populações naturais, principalmente devido à construção civil.

Visando a conservação desses recursos genéticos, a Embrapa Tabuleiros Costeiros implantou, em 2009, o Banco Ativo de Germoplasma de Jenipapo.

O objetivo foi realizar a caracterização molecular e avaliar a diversidade genética de acessos de jenipapeiro.

## Material e Métodos

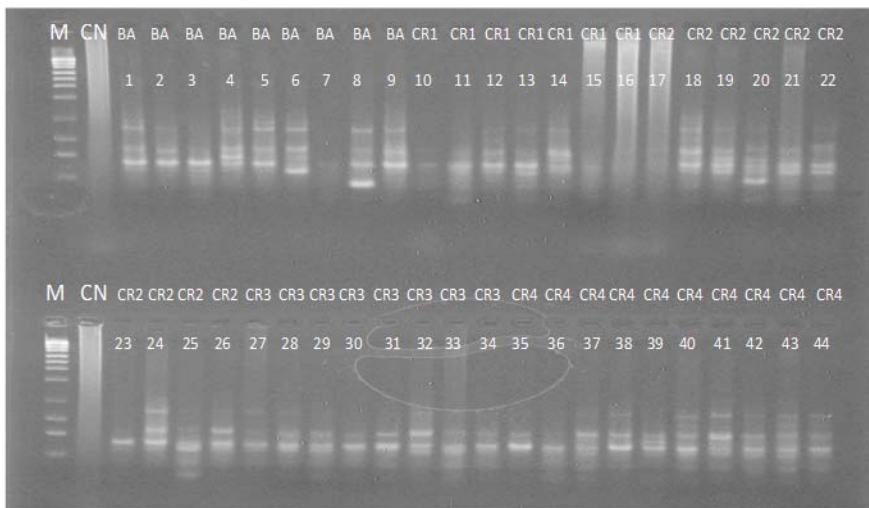
Para as avaliações morfo-agronômicas e moleculares foram utilizados 160 indivíduos de 18 acessos do BAG jenipapo localizado no Campo Experimental Jorge Sobral, no município de Nossa Senhora das Dores, Sergipe.

Folhas jovens foram coletadas para extração de DNA (Doyle e Doyle, 1990). A reação de PCR-ISSR constou de 40 ng de DNA, juntamente com um mix composto de: 14,4  $\mu\text{L}$  de água ultrapura esterilizada; 2  $\mu\text{L}$  de tampão 10X (3 mM  $\text{MgCl}_2$ , 100 mM  $\text{MgSO}_4$ , 100 mM KCl, 80 mM  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 100 mM Tris-HCl) (NeoTaq); 0,4  $\mu\text{L}$  de dNTP (10 mM); 0,2  $\mu\text{L}$  de Taq polimerase (5 U/ $\mu\text{L}$ ). Os DNAs foram amplificados utilizando termociclador 5 minutos 95°C, 45X (94°C 1 minuto, anelamento a diferentes temperaturas por 45 segundos e 72 °C por 2 minutos), seguidos de uma extensão final a 72 °C por 10 minutos.

Foi preparado um gel de agarose a 2% para a eletroforese horizontal, em tensão de 100 V. Os géis foram corados em solução com brometo de etídeo (0,02  $\mu\text{L}/\text{mL}$  de água) para possível visualização sob luz ultravioleta. Para a mensuração do padrão de bandejamento foi utilizado o marcador de peso molecular (Promega) de 1 Kb. A fotodocumentação dos géis será realizada em equipamento Loccus L-pix HE (Loccus Biotecnologia, Brasil).

## Resultados e Discussão

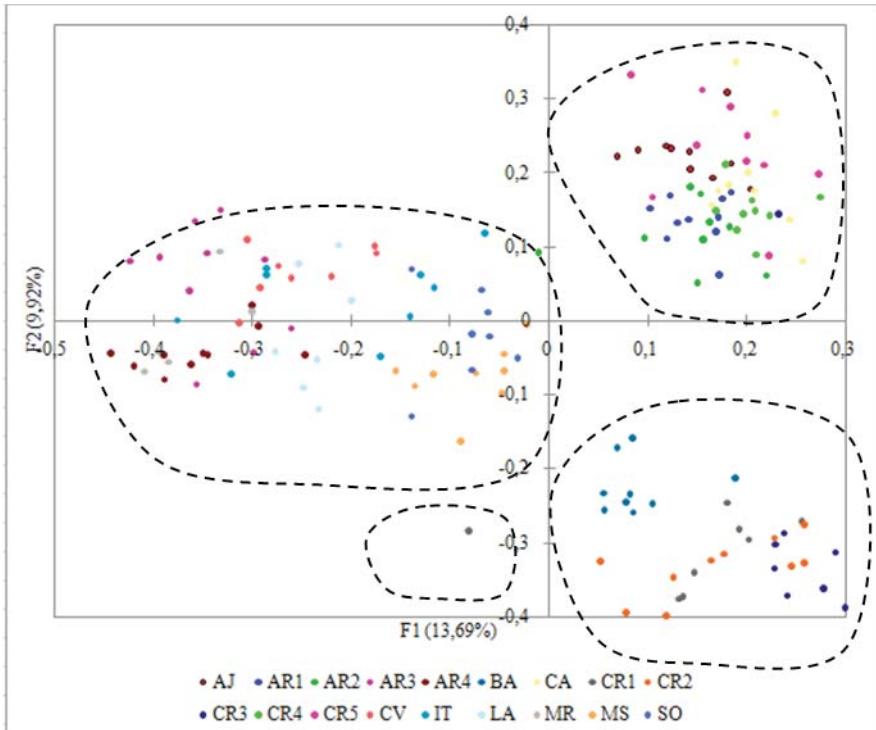
Foram testados 28 iniciadores ISSR, sendo selecionados apenas os que amplificaram todas as amostras (Figura 1).



**Figura 1.** Padrões de bandeamento de fragmentos de DNA amplificados por ISSR de acessos do BAGjenipapo, utilizando-se o primer HB11 (GTGTGTGTGTGTC). 1-9: acesso BA; 10-16: acesso CR1; 17-26: acesso CR2; 27-34: acesso CR3; 35-44: acesso CR4. (M) Marcador com padrão molecular 1 Kb; (CN) controle negativo.

As bandas que apresentaram a mesma posição no gel, para todas as amostras, foram consideradas monomórficas. Os primers utilizados geraram alto nível de polimorfismo (100%).

Na análise de agrupamento ACoP (Figura 2), houve a formação de quatro grupos, o primeiro (I) formado por acessos de AR3, AR4, CV, IT, LA, MR, MS e SO; o segundo formado por acessos de BA, CR1, CR2 e CR3, incluindo AR2-2 e AR2-9; o terceiro formado por acessos de AJ, AR1, AR2, CA, CR4 e CR5, incluindo o CR3-10; e o quarto formado apenas por CR1. O grupo (IV) foi isolado como proposto pelo método UPGMA, sugerindo que este grupo é o mais diferente dos demais grupos. No agrupamento, os grupos se posicionaram em quadrantes diferentes, evidenciando um destaque entre os acessos.



**Figura 2.** Análise de Coordenadas Principais (ACoP) entre acessos: AR1 - Arauá (SE) 1; AR2 - Arauá 2; AR3 - Arauá 3; AR4 - Arauá 4; CR1 - Povoado Criolo (SE) 1; CR2 - Criolo 2; CR3 - Criolo 3; CR4 - Criolo 4; CR5 - Criolo 5; AJ - Aracaju (SE); SO - Socorro (SE); BA - Bahia, do Banco Ativo de Germoplasma de jenipapo da Embrapa Tabuleiros Costeiros.

Há um grande número de indivíduos agrupados no grupo I da ACoP, sendo similar ao maior número de indivíduos reunidos no dendrograma (SG2), indicando pouca divergência entre eles. Os indivíduos dos grupos I, II e III, se agruparam em posições diferentes no dendrograma; contudo, na ACoP estão relacionados.

A plataforma Nacional de Recursos Genéticos, através do sistema de curadorias dá pleno poder aos curadores para reorganizar o BAG, à medida que nele são encontrados indivíduos de um mesmo acesso, mas com divergência genética.

Deste resultado, pode-se concluir que não são indivíduos pertencentes a um mesmo acesso e sim, que eles devem constituir-se de novos acessos.

Informações sobre a diversidade genética podem ajudar na criação de programas de melhoramento, evitando duplicatas ou misturas de genótipos em estudos de programas de conservação de germoplasma (PINHEIRO et al., 2003).

## Conclusões

Os marcadores ISSR foram eficientes para caracterização molecular de *Genipa americana* L.

O Banco Ativo de Germoplasma de Jenipapeiro da Embrapa Tabuleiros Costeiros apresenta amplitude e diversidade genética.

## Referências

DOYLE, J. J.; DOYLE, J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v. 12, p. 13-15, 1990.

PINHEIRO, L.R. RABBANI, A.R.C.; SILVA, A.V.C.; LEDO, A.S.; PEREIRA, K.L.G.; DINIZ, L.E.C. Genetic diversity and population structure in the Brazilian *Cattleya labiateae* (Orchidaceae) using RAPD and ISSR markers. **Plant Systematic and Evolution**, v. 298, p. 1815-1825, 2012.