

## CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DE GENÓTIPOS DE MORINGA (*Moringa spp*)

Natalia da Silva Volpato (PIC/UEM), Adriana Gonela (Orientadora), e-mail: ra105306@uem.br

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Agrárias-Fitotecnia Maringá, PR.

**Palavras-chave:** Acácia-branca, marcadores moleculares, ISSR

### Resumo

O presente estudo teve como objetivo caracterizar molecular e morfológicamente genótipos de moringa localizados na Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI), Universidade Estadual de Maringá, identificados previamente como pertencentes às espécies *Moringa oleifera* e *Moringa stenopetala*. Para o trabalho em questão, foram avaliados 12 caracteres morfológicos e dez marcadores moleculares ISSR. As análises estatísticas foram feitas mediante utilização dos programas Sisvar e PAST. De acordo com os resultados obtidos, pode-se constatar que houve diferença significativa a 5% de probabilidade, tanto morfológica quanto molecularmente, entre os indivíduos analisados, demonstrando, dessa forma, que os dois genótipos analisados são diferentes. A divergência observada entre os dois genótipos indicou que ambos pertencem a espécies diferentes, e que provavelmente sejam a *M. oleifera* e *M. stenopetala*, como indicado previamente. Entretanto, sugere-se que sejam realizadas novas análises com outros marcadores moleculares utilizados especificamente para diferenciar espécies.

### Introdução

A família Moringaceae é formada por um único gênero, o Moringa (Verdcourt, 1985), composto por 13 espécies. Dentre todas as espécies, a que mais se destaca economicamente é a *Moringa oleifera*, que foi introduzida no Brasil na década de 1960 como planta ornamental e apícola, por produzir flores durante boa parte do ano (Jesus et al., 2013). Posteriormente, foi disseminada para as regiões áridas e semiáridas do Nordeste, adaptando-se bem em decorrência de sua rusticidade. A espécie *M. stenopetala*, domesticada no leste das planícies africanas da Etiópia, também é amplamente cultivada nos trópicos e subtropicais, embora menos que a *M. oleifera*. Esta espécie, é amplamente adaptada a climas áridos e úmidos. As pesquisas com moringa, tanto no âmbito internacional quanto nacional, em geral, estão direcionadas a análises das características medicinais, composição de aminoácidos, fabricação de ração e tratamento de água, entre outras (Jesus et al., 2013). Quanto à análise de diversidade genética, as pesquisas se concentram principalmente na espécie *M. oleifera*,

utilizando diferentes marcadores moleculares de DNA como por exemplo, SSR (Ganesan et al., 2014), que se mostraram valiosos na identificação e caracterização da variabilidade existente dentro dessa espécie. Portanto, o objetivo do presente trabalho foi analisar molecular e morfológicamente genótipos de moringa localizados na Fazenda Experimental de Iguatemi (FEI), Universidade Estadual de Maringá, para verificar se pertencem às espécies *M. oleifera* ou *M. stenopetala*.

## Materiais e métodos

O estudo foi realizado com genótipos de moringa, identificados previamente como pertencentes às espécies *M. oleifera* e *M. stenopetala*, que estão sendo cultivadas na Fazenda Experimental de Iguatemi, Universidade Estadual de Maringá. Um indivíduo de cada genótipo foi selecionado para conduzir as análises. Para tanto, foram coletadas três folhas para conduzir as análises morfológicas e cinco folhas para as análises moleculares. A caracterização morfológica foi realizada considerando 12 descritores, conforme Hassanein e Al-Soqeer (2018), quais sejam: altura da planta, diâmetro do caule, extensão da planta de norte a sul (N-S), extensão da planta de oeste para leste (OL), área de propagação, comprimento das folhas, número de folíolos por folha, número de pinados (sub-folíolos) por folha, comprimento da folha, comprimento e largura de cada pinado e área foliar. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA). A comparação de médias foi realizada usando teste de Tukey à 5% de probabilidade, para tal análise foi usado o programa Sisvar.

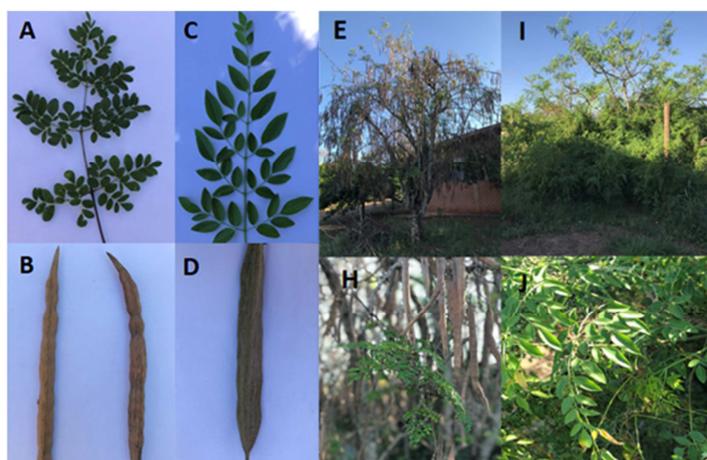
Para a análise molecular, o DNA genômico foi extraído conforme metodologia de Edwards et al. (1991). A análise com o marcador molecular ISSR foi conduzida mediante utilização de 10 primers. Os produtos da PCR foram analisados em gel de agarose 1,5% e visualizados em fotodocumentador, sob luz 6 UV. A divergência genética entre os genótipos de moringa foi avaliada mediante construção de uma matriz de dados binários. Todas as análises foram realizadas mediante utilização do programa PAST 4.03.

## Resultados e Discussão

Os resultados da análise de variância a partir dos descritores morfológicos demonstrou efeito significativo ( $p < 0,05$ ) pelo teste F para todos os componentes, determinando assim a existência de divergência genética entre os dois genótipos de moringa identificados previamente como pertencentes às espécies *M. oleifera* e *M. stenopetala* (Figura 1).

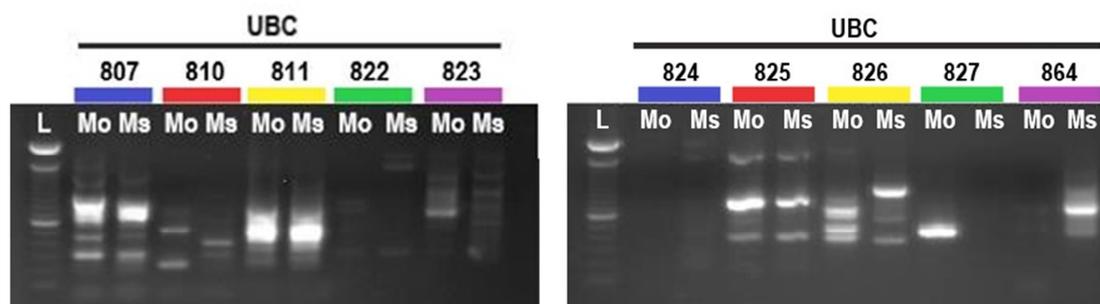
Na análise molecular dos dois genótipos de moringa com os marcadores ISSR constatou-se que houve amplificação dos 10 *loci* analisados, sendo obtidas 54 bandas, das quais 17 (31,48%) foram polimórficas (Figura 2). A repetição (TC)<sub>n</sub>, que compôs três primers (UBC823 UBC824 e UBC825), proporcionou a identificação de mais bandas. Por outro lado, a repetição (GA)<sub>n</sub> (UBC811), proporcionou a obtenção de um maior número de bandas

polimórficas, demonstrando que as regiões microssatélites compostas por este *motif* não são conservadas entre os genótipos analisados, caracterizando-as como promissoras para a caracterização desses genótipos. Outros primers promissores na separação das duas espécies foram UBC807, UBC823, UBC825 e UBC826.



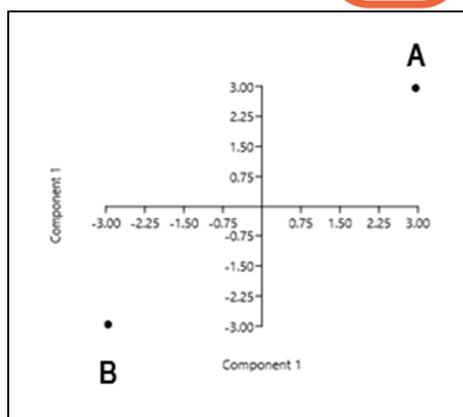
**Figura 1** - Variabilidade na árvore e morfologia das folhas, folíolos e vagens dos genótipos de moringa. Letras A, B, E, e H correspondem à provável espécie *M. oleifera*, e C, D, I e J a provável *M. stenopetala*.

Os *loci* UBC810, UBC824 e UBC827, por sua vez, não apresentaram bandas polimórficas, indicando que as regiões onde os primers anelaram são conservadas.



**Figura 2** – *Loci* ISSR analisados nos dois genótipos de moringa, quais sejam: Mo, *M. oleifera*; Ms, *M. stenopetala*.

Na análise dos componentes principais (PCA) o componente 1 explicou 100% da variabilidade genética existente entre os dois genótipos, os quais foram alocados em dois grupos diferentes, ou seja, no grupo A foram alocadas as amostras 1, 2, 3, 4 e 5, e no grupo B as amostras 6, 7, 8, 9 e 10, demonstrando dessa forma que os dois genótipos pertencem a espécies diferentes (Figura 3), corroborando dessa forma com os resultados obtidos nas análises morfológicas.



**Figura 3** – Resultado da análise de componentes principais (PCA) dos dois genótipos de moringa com base nos dados moleculares, em que: A, *M. oleifera*; B, *M. stenopetala*.

## Conclusões

Conforme os resultados obtidos, conclui-se que os dois genótipos analisados são diferentes, demonstrando que provavelmente representam as espécies *Moringa oleifera* e *Moringa stenopetala*. Entretanto, sugere-se que sejam realizadas novas análises com outros marcadores moleculares utilizados especificamente para diferenciar espécies.

## Agradecimentos

À Universidade Estadual de Maringá.

## Referências

VERDCOURT, B. A synopsis of the Moringaceae. **Kew Bulletin**, v. 40, p. 1-23, 1985.

JESUS, A.R.; MARQUES, N.S.; SALVI, E.J.N.R.; TUYUTY, P.L.M.; PEREIRA, S.A. **Cultivo da *Moringa oleifera***. Instituto Euvaldo Lodi – IEL/BA, 2013. 18p. Dossiê Técnico.

GANESAN, S.K.; SINGH, R.; CHOUDHURY, D.R.; BHARADWAJ, J.; GUPTA, V.; SINGODE, A. Genetic diversity and population structure study of drumstick (*Moringa oleifera* Lam.) using morphological and SSR markers. **Ind. Crop. Prod.**, v. 60, p.316–325, 2014.

HASSANEIN, A.M.A.; AL-SOQEER, A.A. Morphological and genetic diversity of *Moringa oleifera* and *Moringa peregrina* genotypes. **Horticulture, Environment, and Biotechnology**, v. 59, p. 251–261, 2018.

EDWARDS, K.; JOHNSTONE, C.; THOMPSON, C. A simple and rapid method for preparation of plant genomic DNA for PCR analysis. **Nucleic Acids Research**, v.19, p.1349, 1991.