

ANÁLISE DE DIVERSIDADE GENÉTICA ENTRE ESPÉCIES DO GÊNERO MORINGA UTILIZANDO MARCADOR MOLECULAR SCoT

Maria Eduarda Alcântara Magnago (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Amanda Isabelle Eggers Silva, Adriana Gonela (Orientadora), Bruna Sisti Michelin de Polli (Co-Orientadora)
e-mail: ra131460@uem.br; agonela@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Ciências Agrárias/Agronomia/Fitotecnia/Melhoramento Vegetal

Palavras-chave: *Moringa oleifera*; *Moringa stenopetala*; Start Codon Targeted.

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a diversidade genética existente entre genótipos do gênero *Moringa* pertencentes às espécies *M. oleifera* e *M. stenopetala*. Para tanto, foram selecionados cinco genótipos de *M. oleifera* (M1, M2, M3, M4 e M6) e dois de *M. stenopetala* (M5 e M7) localizados na Fazenda Experimental de Iguatemi, UEM, para serem analisados com o marcador molecular SCoT. As análises estatísticas foram realizadas mediante utilização do programa PAST 4.03. De acordo com os resultados obtidos foi possível identificar a existência de diversidade genética, com os genótipos sendo alocados em dois grandes grupos, um exclusivo da espécie *M. stenopetala* e o outro de *M. oleifera*. Os genótipos de *M. stenopetala* apresentaram uma alta similaridade genética (0,75). Por outro lado, em *M. oleifera* foi identificada uma alta diversidade genética, com os genótipos M1 e M2 sendo os mais similares entre si e os mais dissimilares dos demais, estando em um grupo totalmente separado. Dessa forma, conclui-se que há uma alta diversidade genética entre os genótipos de moringa analisados, a qual poderá ser explorada na conservação das espécies, mediante elaboração de um banco de germoplasma, assim como em programas de melhoramento genético.

INTRODUÇÃO

As espécies *Moringa oleifera* Lam e *M. stenopetala* originárias, respectivamente do nordeste indiano e a da África Oriental, se destacam por serem amplamente utilizadas na alimentação humana e animal, como planta medicinal ou ornamental, como biofertilizante ou biocombustível, entre outros usos em diversas áreas (HASSANEIN; AL-SOQEER, 2018). *M. oleifera* é a espécie mais conhecida, mais bem distribuída e naturalizada do gênero e, conseqüentemente, é alvo de maior número de pesquisas. No Brasil, a *M. oleifera* foi introduzida na década de 1950 e seu cultivo vem sem expandindo no país, por ser uma espécie perene, de fácil cultivo (LISITA et al., 2018). Por sua vez, não há informações na literatura sobre a introdução da *M. stenopetala* no país, entretanto, há plantas dessa espécie no

interior da Bahia, em Monte Santo (comunicação pessoal). Portanto, há uma desconfiança de que a base genética das plantas disseminadas no país seja estreita, uma vez que essas duas espécies são exóticas. Neste contexto, os marcadores moleculares de DNA se destacam como ferramentas úteis na avaliação da diversidade genética. Dentre eles, o marcador SCoT (*Start Codon Targeted*) que é baseado em uma curta região conservada que flanqueia o códon de iniciação ATG nos genes de espécies vegetais (COLLARD; MACKILL, 2009), fornece resultados relevantes de diversidade genética a nível de genes e, conseqüentemente, pode contribuir com a identificação de novos alelos. Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a diversidade genética existente entre genótipos do gênero *Moringa* pertencentes às espécies *M. oleifera* e *M. stenopetala* mediante utilização de marcadores moleculares SCoT.

MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi realizado com sete genótipos do gênero *moringa*, identificados previamente como pertencentes às espécies *M. oleifera* (M1, M2, M3, M4 e M6) e *M. stenopetala* (M5), localizados na Fazenda Experimental de Iguatemi, Universidade Estadual de Maringá e M7 (*M. stenopetala*) localizado no município de Cianorte, Paraná. Para tanto, amostras foliares de cada planta foram coletadas separadamente, as quais foram acondicionadas em frascos de vidro contendo sílica gel, sendo armazenadas em geladeira para que ocorresse a desidratação. Posteriormente, o DNA genômico foi extraído conforme metodologia de Edwards et al. (1991). A análise com o marcador molecular SCoT foi conduzida mediante utilização de 10 primers. Os produtos da PCR foram analisados em gel de agarose 1,7% e visualizados em fotodocumentador Loccus L-PIX, sob luz 6 UV. No gel, foi utilizado como padrão de tamanho o DNA ladder de 100pb (Invitrogen). A diversidade genética entre os genótipos de *moringa* foi avaliada a partir da construção de uma matriz de dados binários, a qual foi submetida ao programa PAST 4.03, algoritmo UPGMA, índice de similaridade Jaccard, sendo obtido ao final um dendrograma de similaridade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Considerando os resultados obtidos a partir da análise dos sete genótipos de *Moringa* sp. com os 10 marcadores SCoT foi possível identificar 85 *amplicons* altamente informativos, com 100% de polimorfismo em 90% dos marcadores analisados, exceção somente para SCoT 12 (87,5%) (Tabela 1).

Na análise separada das duas espécies de *moringa* (Tabela 1) pode-se observar que o número de *amplicons* obtidos em *M. oleifera* foi muito maior do que para *M. stenopetala*, ou seja, 68 e 35, respectivamente. A explicação para tal fato é que há mais plantas de *M. oleifera* do que de *M. stenopetala*, cinco e duas, respectivamente, e a M7 é filha da M5, o que diminui a diversidade genética entre elas. Merece destaque que este é o primeiro relato da utilização do marcador SCoT

na análise de diversidade genética em *M. stenopetala*, demonstrando ser um muito promissor para essa abordagem.

Tabela 1 – Número de *amplicons*, porcentagem de polimorfismo e região de amplificação dos marcadores SCoT obtidos na análise dos sete genótipos de moringa

Marcador	Número de <i>amplicons</i>	Polimorfismo	Região de amplificação (pb)	Número de amplicons por espécie	
				<i>M. oleifera</i>	<i>M. stenopetala</i>
SCoT 1	10	100%	250-1250	8	2
SCoT 2	10	100%	350-1600	10	6
SCoT 5	8	100%	650-2072	8	2
SCoT 6	12	100%	250-2072	10	4
SCoT 7	6	100%	500-1500	5	2
SCoT 8	6	100%	500-2072	5	3
SCoT 10	8	100%	850-1800	7	3
SCoT 11	13	100%	300-1600	7	7
SCoT 12	8	87,5%	250-1000	6	4
SCoT 14	4	100%	300-1200	2	2
Total	85	-	-	68	35

No tocante à espécie *M. oleifera*, Hassan et al. (2020) analisaram utilizaram os mesmos marcadores para analisar 10 genótipos localizados no Middle Delta, Egito. Na comparação entre os resultados obtidos nos dois trabalhos foi possível constatar que os cinco genótipos localizados na FEI/UEM apresentaram maior diversidade genética quando comparadas aos 10 genótipos do Egito, sendo identificados 56 *amplicons* polimórficos contra oito, respectivamente.

A análise de diversidade genética dos sete genótipos de moringa com os dez marcadores SCoT propiciou a obtenção de dois grupos distintos (Figura 1).

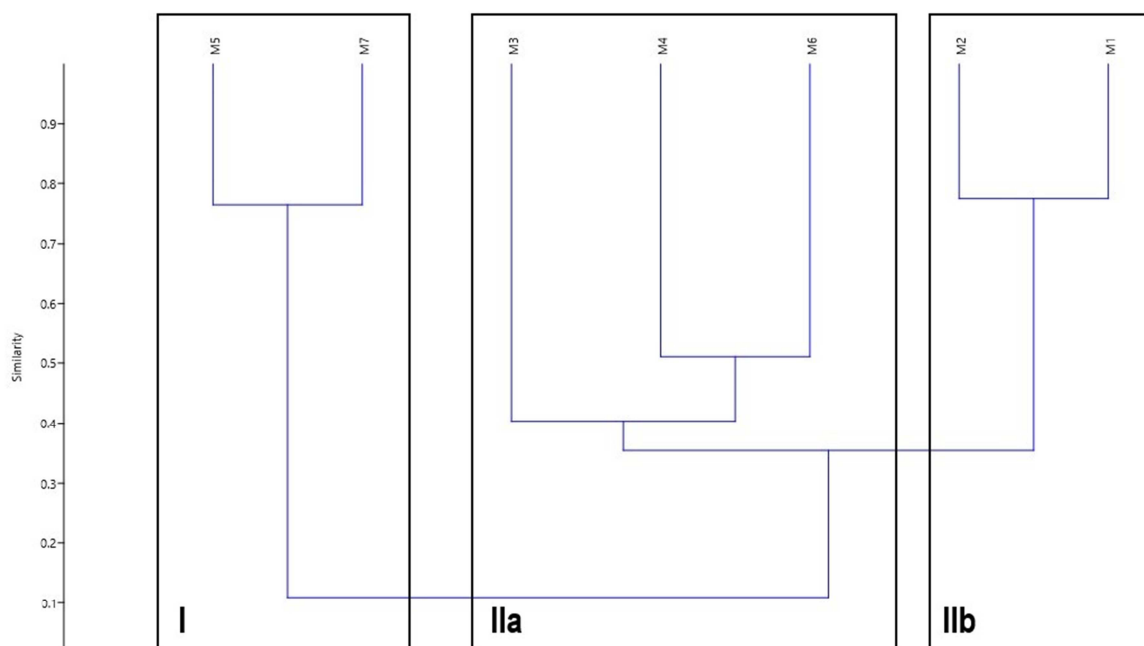


Figura 1 – Diversidade genética entre os sete genótipos de moringa.

No Grupo I foram alocados os dois genótipos de *M. stenopetala*, os quais apresentaram um coeficiente de similaridade de 0,75. No Grupo II, por sua vez, foram alocados os cinco genótipos de *M. oleifera*, M1, M2, M3, M4 e M6, os quais foram divididos em dois subgrupos. No subgrupo IIa foram alocados os genótipos M3, M4 e M6 e no subgrupo IIb, ficaram totalmente separados os genótipos M1 e M2, demonstrando ser totalmente dissimilares dos genótipos do subgrupo IIa. Dessa forma, foi demonstrando que os genótipos analisados, localizados na FEI/UEM e Cianorte, apresentam diversidade genética devendo ser conservadas e mais bem estudadas.

CONCLUSÕES

Os sete genótipos analisados apresentam uma grande diversidade genética, a qual poderá ser explorada na conservação das espécies, mediante elaboração de um banco de germoplasma, assim como em programas de melhoramento genético.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) por meio da Universidade Estadual de Maringá - UEM.

REFERÊNCIAS

COLLARD, B. C.; MACKILL, D. J. Start codon targeted (SCoT) polymorphism: a simple, novel DNA marker technique for generating gene-targeted markers in plants. **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 27, n. 1, p. 86-93, 2009.

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

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, n. 2, p. 251-261, 2018.

HASSAN, F. A. S. *et al.* Applicability of inter-simple sequence repeat (ISSR), start codon targeted (SCoT) markers and ITS2 gene sequencing for genetic diversity assessment in *Moringa oleifera* Lam. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v. 18, 100256, set., 2020.

LISITA, F. O.; JULIANO, R. S.; MOREIRA, J. S. **Moringa: uma árvore de usos múltiplos**. Circular Técnica 119. Corumbá:Embrapa. 2018. 6p.