

## 13ª JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

### BIOLOGIA

#### DIVERSIDADE GENÉTICA DE DUAS POPULAÇÕES DE RHIZOPHORA MANGLE L. (RHIZOPHORACEAE) EM DIFERENTES ESTADOS DE CONSERVAÇÃO UTILIZANDO MARCADORES ISSR

<sup>1</sup> Vinícius Chiapetta Portella Magalhães (IC-CNPq); <sup>2</sup> Catarina da Fonseca Lira de Medeiros; <sup>1</sup> Fabiano Salgueiro (orientador).

1 - Departamento de Biologia Molecular Vegetal; Instituto de Biociências; Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro.

2 - Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro.

Apoio Financeiro: FAPERJ e UNIRIO.

Palavras Chaves: biodiversidade, mangue vermelho, reflorestamento.

#### INTRODUÇÃO

O manguezal é um ecossistema de transição entre os ambientes terrestres e marinhos. É encontrado em regiões de clima tropical e subtropical. É considerado um grande berço natural, pois serve como habitat a inúmeras espécies: tanto as exclusivas (pertencentes somente ao ecossistema) quanto as não exclusivas (importantes ao meio, mas não restritas a ele). Nos manguezais brasileiros os três gêneros mais representativos são: *Rhizophora*, *Avicennia* e *Laguncularia*. O gênero *Rhizophora* apresenta três espécies ao longo do litoral brasileiro: *R. mangle*, *R. racemosa* e *R. harrisonii*. A espécie *Rhizophora mangle* L. é conhecida como mangue vermelho ou sapateiro, e tem grande importância, pois produz uma boa quantidade de matéria orgânica, detém enxurradas e é associada a cultura de subsistência, proporcionando alimentos como peixes e caranguejos. (SCHAEFFER-NOVELLI, 1995; LACERDA, 2005). Até as primeiras décadas do século XX, os manguezais eram explorados de maneira pouco intensa pela pesca, construção de viveiros para aquicultura extensiva e extração de madeira para construções pesqueiras e construção civil. A partir da década de 50, este ecossistema começou a ser submetido à intensa pressão ambiental oriunda da expansão imobiliária e industrial (LACERDA et al., 2005). O desmatamento foi tão abundante que dos 262km<sup>2</sup> de manguezais que cobriam a Baía de Guanabara, restam apenas 82 km<sup>2</sup> (CIBG, 2010). Aproximadamente, 65km<sup>2</sup> desses manguezais que não foram afetados estão localizados na APA Guapimirim (Guapimirim/RJ), criada em 25 de setembro de 1984, após intensa pressão de pesquisadores e ambientalistas, pelo decreto federal nº90.225. Desde 2001 a Fundação OndAzul, através do projeto Mangue Vivo, está recuperando uma área de manguezal totalmente degradada no entorno da Baía de Guanabara, localizada no distrito de Praia de Mauá, Magé/RJ, a cerca de 5 km da APA Guapimirim. O trabalho vem sendo feito com o replantio das três espécies de mangue que ocorrem na região: *R. mangle*, *A. schaueriana* e *L. racemosa*. Até agora, 12 hectares foram recuperados e 38 mil mudas foram plantadas. Algumas áreas, outrora dizimadas, agora têm características promissoras. O grupo formado pela Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro tem trabalhado em estimar a diversidade genética das populações de mangue da Praia de Mauá (replantada) e compará-la com a diversidade genética da APA Guapimirim (nativa). Inicialmente, a pesquisa foi realizada utilizando marcadores moleculares do tipo microssatélites (SSR - Simple Sequence Repeats). A escolha deste tipo de marcador se deu pois com esta técnica é possível analisar um grande número de locos, estes locos costumam ser bastante polimórficos, necessita-se de uma pequena quantidade de DNA e por serem co-dominantes. No entanto, a análise da diversidade genética destas duas áreas usando marcadores microssatélites revelou um baixíssimo polimorfismo nas duas áreas amostradas. Portanto, nesta etapa do trabalho foi dada continuidade à pesquisa utilizando marcadores ISSR (Inter-Simple Sequence Repeat). Enquanto os marcadores SSR amplificam regiões repetidas (microssatélites) usando dois primers loco-específicos, os marcadores ISSR usam um único primer composto por uma sequência repetitiva usualmente com 16-25 nucleotídeos (Zietkiewicz et al., 1994; Reddy et al., 2002).

#### OBJETIVO

Estimar os níveis de diversidade genética de indivíduos de *R. mangle* presentes na área de Praia de Mauá e da APA Guapimirim.

#### METODOLOGIA

Em 2012 foram amostrados 60 indivíduos adultos da espécie *R. mangle* na APA Guapimirim/RJ e 93 indivíduos adultos na Praia de Mauá, Magé/RJ, sendo 60 de indivíduos plantados e 33 de indivíduos remanescentes. Depois da coleta, o DNA foi extraído utilizando o detergente CTAB conforme o protocolo desenvolvido por Cardoso et al (2000). Para estimar a diversidade genética do *R. mangle*, foi necessário amplificar o DNA via PCR utilizando os primers para ISSR. Num tubo eppendorf foram colocados os ingredientes necessários para que a PCR ocorresse: 2μL de DNA molde (3ng/μL), 0,8μL de dNTPs (5μM), 0,8μL de primer ISSR (10μM), 2μL de tampão da enzima, 1,6μL de MgCl<sub>2</sub> (25mM), 0,2μL de enzima Taq DNA polimerase, 1,0μL de BSA (20mg/ml) e H<sub>2</sub>O MilliQ até completar o volume final de 20μL. Os tubos de PCR foram inseridos num termociclador com os seguintes comandos: 95°C por cinco minutos; seguido de quarenta ciclos a 95°C por dois minutos, 46° por dois minutos e 72°C por dois minutos e meio; e uma etapa final a 72°C por dez minutos. Após a PCR os produtos amplificados foram submetidos a uma eletroforese em gel de agarose 2% em tampão TAE 0,5X. A eletroforese foi realizada por aproximadamente 3h à 80V em um gel de cerca de 20 cm. As amostras foram coradas com GelRed e, ao término da eletroforese, os bandos amplificadas foram visualizadas com o auxílio de um fotodocumentador com luz ultravioleta. O gel foi fotografado com uma câmera digital.

## 13ª JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

### RESULTADOS

As amplificações foram bem sucedidas para todos os 10 primers ISSR testados. Foram observadas de 02 a 08 bandas por primer. Entretanto, não foi possível observar nenhuma variação entre as amostras analisadas, mesmo quando amostras de Praia de Mauá e da APA Guapimirim foram comparadas (Figuras 1 e 2).

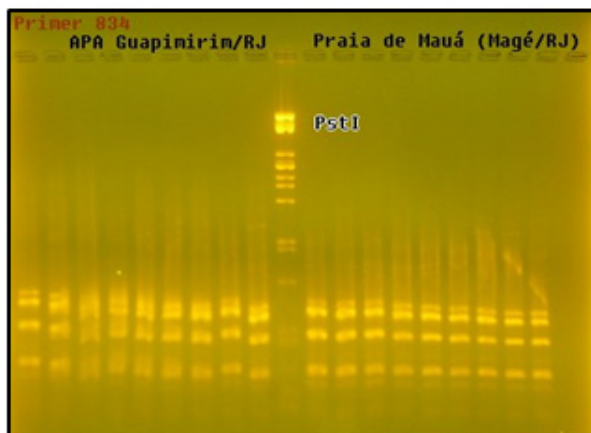


Figura 1. Gel de agarose 2% mostrando o padrão de amplificação obtido com o primer 834 para amostras nativas da APA Guapimirim e da Praia de Mauá.



Figura 2. Gel de agarose 2% mostrando o padrão de amplificação obtido com o primer 836 para amostras nativas da APA Guapimirim e da Praia de Mauá.

### CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no presente trabalho confirmam a baixa diversidade genética observada para os mangues da região sudeste brasileira. Segundo Pil et al (2011) a variabilidade genética de *R. mangle* tende a diminuir do Norte para o Sul do Brasil. Utilizando marcadores microssatélites, a heterozigiosidade estimada para populações de *R. mangle* do Pará e Maranhão foi de 0,24 e 0,26, respectivamente. Enquanto que a heterozigiosidade estimada para populações do Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná e Santa Catarina variou de 0,03 a 0,12 (Pil et al. 2011). A dispersão de propágulos da zona equatorial para a região costeira do sul, depois do aquecimento pós-glacial, era, e ainda é, provavelmente muito limitada devido às correntes predominantes da área litoral do Norte. Isto provavelmente acarreta os baixos níveis de diversidade genética observados para as populações de *R. mangle* do sul e sudeste.

### REFERÊNCIAS

- LACERDA, et al. 2005. Estudo das Áreas de Manguezais do Nordeste do Brasil. In: Avaliação das áreas de manguezais dos Estados do Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba e Pernambuco, UFC. Instituto de Ciências do Mar. 62 p.
- SCHAEFFER-NOVELLI, Y. 1995. Manguezal, Ecossistema entre a terra e o mar. Caribbean Ecological Research. São Paulo. 68 p.
- PIL, M. W.; BOEGER, M. R. T.; MUSCHNER, V. C.; PIE, M. R. 2011. OSTRENSKY, A.; BOEGER, W. A. Postglacial North – South expansion of populations of *Rhizophora mangle* (Rhizophoraceae) along the Brazilian Coast revealed by Microsatellite Analysis. *American Journal of Botany*, 98(6): 1031–1039.



### **13ª JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA**

REDDY, M. P.; SARLA, N.; SIDDIQ, E. A. 2002. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. Euphytica, Kluwer. Academic Publishers Printed in the Netherlands. 128: 9-17. CIBG. 2010. Centro de Informações da Baía de Guanabara - <http://www.cibg.rj.gov.br/>  
ZIETKIEWICZ, E.; RAFALSKI, A.; LABUDA, D. 1994. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. Genomics 20, 176-183.