

**Application of molecular markers for biodiversity and taxonomy studies in legume tree species from the miombo woodlands, Niassa National Reserve, Mozambique**

Maquia, I.<sup>1</sup>, Goulão, L.F.<sup>2</sup>, Ribeiro, N.S.<sup>3</sup> & Ribeiro de Barros, A.I.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Biotechnology Center, Eduardo Mondlane University, Mozambique

<sup>2</sup>Tropical Research Institute, Biotrop, Portugal

<sup>3</sup>Faculty of Agronomy and Forest Engineering,

**Corresponding author:** ivetemaquia@gmail.com

---

### Abstract

Miombo is one of the most important types of vegetation of southern Africa covering about 70% of the region. This ecosystem has an immeasurable socio-economic and environmental value. However, its stability is increasingly being threatened by climate variability, herbivory, fire and human activities. This study demonstrates the importance of using molecular markers, Inter Simple Sequence Repeats (ISSRs) and barcodes respectively for biodiversity and taxonomy studies of miombo species in one of the most valuable conservation areas of the globe, the Mozambican Niassa National Reserve (RNN). Comparative ISSR analysis of two legume tree species: *Brachystegia boehmii* Taub. and *Burkea africana* Hook. F. was performed along a fire gradient (East-West). The results indicated a strong relationship between tolerance to fire and genetic diversity that was considerably higher in *B. africana* (tolerant to fire). Nevertheless, while in the case of *B. africana* the western population showed higher variability than that from the east ( $0.2977$  versus  $0.2184$  genetic heterozygosity), the opposite was observed for the fire-sensitive *B. boehmii* ( $0.1482$  versus  $0.2059$ ). The contrasting percentage of ISSR polymorphic bands in the east region when compared to the west sector ( $60.0\%$  versus  $90.0\%$  for *B. africana* and, oppositely,  $68.1\%$  versus  $48.9\%$  for *B. boehmii*) supports this observation. This opposite trends may be related to fire tolerance and adaptation. In any case, the high levels of genetic diversity in both species does not appear to be compromised. This observation is in agreement with the fact that the RNN is one of the least disturbed areas of deciduous miombo. Regarding genetic barcodes, the study focused on the isolation and sequencing of two taxonomic markers: *matK* and *rbcL* genes, encoding two chloroplast proteins, maturase K and ribulose - 1,5 bisphosphate, respectively, of three legumes: *B. boehmii*, *B. africana* and *Pterocarpus angolensis* DC. Both genes showed an adequate potential for discrimination of species, confirming their usefulness for taxonomic, phylogenetic and evolutionary studies.

**Key words:** Barcodes, fire, ISSR

## Résumé

Le miombo est l'un des plus importants types de végétation de l'Afrique australe, couvrant environ 70% de la région. Cet écosystème a une valeur socio-économique et environnementale incommensurable. Cependant, sa stabilité est de plus en plus menacée par la variabilité climatique, les herbivores, le feu et les activités humaines. Cette étude démontre l'importance de l'utilisation des marqueurs moléculaires, des Répétitions des Inter Séquences Simples (ISSR) et des codes-barres, respectivement, les études pour la biodiversité et la taxonomie d'espèces miombos dans l'une des zones de conservation les plus précieuses de la planète, la Réserve Nationale de Niassa de Mozambicaine (RNN). L'analyse ISSR comparative de deux espèces d'arbres légumineuses: *Brachystegia boehmii* Taub. et *Burkea africana* Hook. F. a été réalisée le long d'une pente de feu (Est-Ouest). Les résultats indiquent une forte relation entre la tolérance au feu et la diversité génétique qui était considérablement plus élevé dans *B. africana* (tolérant au feu). Néamoins, tandis que dans le cas de *B. africana* la population de l'Ouest a révélé une variabilité plus élevée que celle de l'Est (0,2977 contre 0,2184 hétérozygotie génétique), le contraire a été observé pour la *B. bohemii* sensible au feu (0,1482 contre 0,2059). Le pourcentage contrasté des bandes polymorphes des ISSR dans la région à l'est par rapport au secteur de l'ouest (60,0% contre 90,0% pour *B. africana* et, à l'opposé, 68,1% contre 48,9% pour *B. bohemii*) appuie cette observation. Ces tendances opposées peuvent être liés à la tolérance et à l'adaptation au feu. Dans tous les cas, les niveaux élevés de diversité génétique chez les deux espèces ne semblent pas être compromise. Cette observation est en accord avec le fait que le RNN est l'une des zones les moins perturbées de miombo à feuilles caduques. En ce qui concerne les codes-barres génétiques, l'étude a porté sur l'isolement et le séquençage de deux marqueurs taxonomiques: gènes *matK* et *rbcL*, l'encodage de deux protéines de chloroplaste, la maturase K et le ribulose - 1,5 bisphosphate, respectivement, de trois légumineuses: *B. boehmii*, *B. africana* et *Pterocarpus angolensis* DC. Les deux gènes ont montré un potentiel suffisant pour la discrimination des espèces, confirmant leur intérêt pour les études taxonomiques, phylogénétiques et évolutives.

Mots clés: codes barres, le feu, ISSR

---