

Avaliação da diversidade genética em *Ximenia americana* L. acessada por marcadores RAPD

Laerty Garcia de Sousa de Cabral¹; Mailson Monteiro do Rego²; Fabiane Costa Batista³; Elizaniida Ramalho do Rego⁴; Angela Maria dos Santos Pessoa⁵; Gláucia Diojânia Azevêdo Medeiros⁶.

¹Graduando pela Universidade Federal da Paraíba, Areia - PB, Brasil, laerty.gsc@gmail.com; ²Departamento de Biologia, Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Agrárias, Laboratório de Biotecnologia Vegetal, Areia - PB, Brasil; ³Doutora em Genética e Melhoramento Vegetal, INSA, Campina Grande - PB ⁴Departamento de Ciências Fundamentais e Sociais, Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Agrárias, Laboratório de Biotecnologia Vegetal, Areia - PB, Brasil; ⁵Doutoranda, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Areia - PB, Brasil; ⁶Doutoranda, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Areia - PB, Brasil.

Palavras chave: ameixeira silvestre, marcador molecular, variabilidade genética.

Introdução

Dentre os biomas brasileiros, a Caatinga é, provavelmente, o mais desvalorizado e pouco estudado botanicamente a se comparar com outros biomas brasileiros, apesar de estar realmente bastante alterada, especialmente nas terras mais baixas, a Caatinga contém uma grande variedade de tipos vegetacionais, com elevado número de espécies e também remanescentes de vegetação ainda bem preservada (GIULIETTI et al., 2003). Dentre as espécies, encontra-se a ameixeira silvestre (*Ximenia americana* L.), pertencente à família Olacaceae. Popularmente é conhecida por ameixa-do-mato ou ameixa-brava e outros nomes, conforme o local em que esta é encontrada. A sua casca, avermelhada e lisa, vem sendo usada para diversos fins tais como: tratamento da lepra, malária, dor-de-cabeça, moluscicida, infecções da pele, cicatrização, hemorroidas e inflamações das mucosas. A ação cicatrizante relatada na literatura pode ser justificada pela presença de algumas substâncias, como os taninos (VERAS e MORAIS, 2004). Marcadores moleculares do tipo RAPD são ferramentas úteis para detectar variações no genoma, aumentando o poder da análise genética nas plantas.

As vantagens dessa técnica são: a simplicidade, pois pode ser executado facilmente e com rapidez na obtenção dos dados, baixo custo em relação a outras técnicas e a aplicabilidade imediata em qualquer tipo de organismo (BORÉM e CAIXETA, 2006). O mesmo se mostra em eficiência quando aplicados a outras espécies de plantas nativas deste bioma como relatado por Santos et al. (2007). Diante do exposto, o objetivo desse trabalho foi avaliar a diversidade genética entre genótipos de ameixeira silvestre (*X. americana* L.) usando marcadores moleculares RAPD.

Materiais e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia Vegetal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba (CCA - UFPB), Areia - PB. Foram analisados 26 genótipos de ameixeira silvestre (*X. americana* L.), coletados aleatoriamente no município de Caturité, PB.

Para extração do DNA genômico foram coletadas folhas jovens dos genótipos. O protocolo usado foi CTAB adaptado (DOYLE & DOYLE, 1987). Para avaliar a diversidade genética, as amostras foram submetidas à reação em cadeia da polimerase. Para a reação de amplificação do DNA, foi conduzido com um volume final de 25µL, sendo 23 µL de Master Mix (Tampão 10x + MgCl₂ + dNTP + primer + Taq DNA polimerase + H₂O deionizada e autoclavada e DNA genômico da amostra), utilizando dezoito *primers* RAPD.

Resultados e Discussão

Os 18 *primers* utilizados para a amplificação do DNA dos 26 genótipos de *X. americana* L., avaliados apresentaram 70 bandas polimórficas, com uma média de 3,88 bandas por primer. O número de bandas amplificadas variou de acordo com os primers utilizados (0 a 9 bandas). Nenhum destes primers mostrou-se monomórfico. Alguns primers não amplificaram alguns indivíduos. A diversidade genética entre genótipos de *X. americana* L., variou de 20,59 a 79,30%. (Tabela 1). A matriz de similaridade foi obtida utilizando o coeficiente de similaridade de Jaccard, que utiliza a informação molecular como sendo variáveis binárias, codificadas como 0 (zero) a ausência da banda e 1(um), sua presença.

A análise de agrupamento UPGMA, permitiu classificar os genótipos em doze grupos (Figura 1). Os dados da análise de componentes principais (ACP) agrupou os genótipos de acordo com suas relações de parentesco, indicando claramente suas relações filogenéticas (dados não mostrados).

Tabela 1. Matriz de distância obtida com base no complemento aritmético do coeficiente de similaridade de Jaccard, partir dos dados de RAPD entre genótipos de *X. americana* L CCA – UFPB, 2015.

Units	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
2	0.4560																							
3	0.4560	0.3922																						
4	0.4560	0.4402	0.4402																					
5	0.4560	0.4402	0.4402	0.3368																				
6	0.4560	0.4402	0.4402	0.3368	0.2895																			
7	0.4560	0.4402	0.4402	0.4016	0.4016	0.4016																		
8	0.4560	0.4402	0.4402	0.4281	0.4281	0.4281	0.4281																	
9	0.4560	0.4402	0.4402	0.4016	0.4016	0.4016	0.2941	0.4281																
10	0.3467	0.4560	0.4560	0.4560	0.4560	0.4560	0.4560	0.4560	0.4560															
11	0.5166	0.5166	0.5166	0.5166	0.5166	0.5166	0.5166	0.5166	0.5166	0.5166														
12	0.3467	0.4560	0.4560	0.4560	0.4560	0.4560	0.4560	0.4560	0.4560	0.2619	0.5166													
13	0.5166	0.5166	0.5166	0.5166	0.5166	0.5166	0.5166	0.5166	0.5166	0.5166	0.4040	0.5166												
14	0.5166	0.5166	0.5166	0.5166	0.5166	0.5166	0.5166	0.5166	0.5166	0.5166	0.4040	0.5166	0.3673											
15	0.5055	0.5055	0.5055	0.5055	0.5055	0.5055	0.5055	0.5055	0.5055	0.5055	0.5166	0.5055	0.5166	0.5166										
16	0.5055	0.5055	0.5055	0.5055	0.5055	0.5055	0.5055	0.5055	0.5055	0.5055	0.5166	0.5055	0.5166	0.5166	0.2667									
17	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692								
18	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692							
19	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692						
20	0.6398	0.6398	0.6398	0.6398	0.6398	0.6398	0.6398	0.6398	0.6398	0.6398	0.6398	0.6398	0.6398	0.6398	0.6398	0.6398	0.6398	0.6398	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692
21	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.5288	0.5288	0.5288	0.6692	0.6692	0.6692
22	0.6398	0.6398	0.6398	0.6398	0.6398	0.6398	0.6398	0.6398	0.6398	0.6398	0.6398	0.6398	0.6398	0.6398	0.6398	0.6398	0.6398	0.6398	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692	0.6692
23	0.7930	0.7930	0.7930	0.7930	0.7930	0.7930	0.7930	0.7930	0.7930	0.7930	0.7930	0.7930	0.7930	0.7930	0.7930	0.7930	0.7930	0.7930	0.7930	0.7930	0.7930	0.7930	0.7930	0.7930
24	0.5998	0.5998	0.5998	0.5998	0.5998	0.5998	0.5998	0.5998	0.5998	0.5998	0.5998	0.5998	0.5998	0.5998	0.5998	0.5998	0.5998	0.5998	0.6692	0.6692	0.6692	0.6398	0.6692	0.6398
25	0.5998	0.5998	0.5998	0.5998	0.5998	0.5998	0.5998	0.5998	0.5998	0.5998	0.5998	0.5998	0.5998	0.5998	0.5998	0.5998	0.5998	0.5998	0.6692	0.6692	0.6692	0.6398	0.6692	0.6398

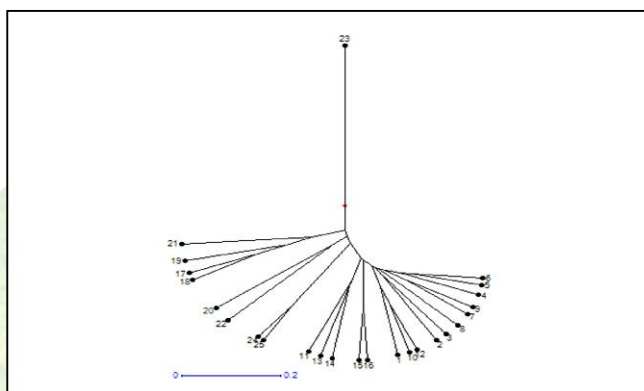


Figura 1. Dendrograma da similaridade genética (coeficiente aritmético de Jaccard), baseado no padrão de bandas RAPD mostrando as relações genéticas entre genótipos de *X. americana* L. CCA – UFPB, 2015.

Mendes et al. (2011) mostra que a aplicabilidade de marcadores RAPD em estabelecer a relação genética em planta nativa da caatinga (Catingueira), mostra-se satisfatório, pois se observou grande diversidade genética entre os genótipos analisados.

Conclusão

O marcador molecular RAPD foi eficiente em estimar a diversidade genética entre genótipos de *X. americana* L., a qual variou de 20,59 a 79,30%. Indica-se para o programa de melhoramento genético vegetal, cruzamento entre os genótipos do primeiro grupo (23), com os genótipos do décimo segundo grupo (5, 6).

Referências

BORÉM, Aluizio; CAIXETA, Eveline Teixeira. **Marcadores moleculares**. Viçosa: UFV, Pág. 22 a 24, 2006.

DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. **Isolation of plant DNA from fresh tissue**. Focus, n.1, v.12, Pág.13 a 15, 1990.

GIULIETTI, Ana Maria, et al. **Diagnóstico da vegetação nativa do bioma Caatinga**. In: http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/18267/1/Biodiversidade_Caatinga_parte2.pdf. 18/07/15, 15:06

MENDES, Raul Ferreira de Miranda, et al. **Análise de similaridade entre acessos de Catingueira (*Caesalpinia spp.*) com base nos marcadores RAPD**. In: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/49076/1/215Papers.pdf>. 23/10/15, 11:01.

SANTOS, Carlos Antônio Fernandes, et al. **Variabilidade genética, com base em marcadores RAPD, de três espécies arbóreas ameaçadas de extinção no semiárido brasileiro**. Petrolina, n. 74, Pág. 37-44. 2007.

VERAS, A.O.M.; Morais, S.M. **Análise dos Constituintes químicos de *Ximenia americana* L.** In: IX Semana Universitária e XIII Encontro de Iniciação Científica da Universidade Estadual do Ceará, 17/07/2015.