

# Similaridade genética entre acessos de angico de bezerro (*Piptadenia moniliformis* Benth.) por meio de marcadores RAPD

Francisca Mairana Silva de Sousa<sup>1</sup>, Renata Ferreira de Miranda Mendes<sup>2</sup>, Raul Ferreira de Miranda Mendes<sup>3</sup>, Raimundo Bezerra de Araujo Neto<sup>4</sup>, Maria Perpetuo Socorro Bona Cortez do Nascimento<sup>4</sup>, Paulo Sarmanho da Costa Lima<sup>4</sup>

## Introdução

O angico de bezerro (*Piptadenia moniliformis* Benth.) é uma leguminosa que ocorre com frequência em áreas de caatinga nos estados do Maranhão, Piauí, Ceará e Bahia. É uma espécie arbórea, melífera, pioneira, rústica e de rápido crescimento. Seus ramos finos, junto com as folhas, servem como alimento para animais. É adaptada a terrenos secos constituindo importante suporte forrageiro, permanecendo verde durante a época de seca (LORENZI, 2002).

Informações sobre variabilidade dentro da espécie inexistem o que impedem o uso do seu potencial como forrageira. A caracterização genética é um processo que pode auxiliar em futuras escolhas de espécies de angico a serem utilizadas na conservação através da estimativa de índices de similaridade entre os indivíduos analisados.

Marcadores moleculares têm sido bastante utilizados para auxiliar o melhoramento genético, pois fornecem um número ilimitado de polimorfismos com base do DNA e são independentes dos efeitos ambientais e do estadió fisiológico da planta, permitindo a identificação precoce e precisa de indivíduos com um melhor rendimento (LANZA *et al.*, 2000).

Segundo BUENO *et al.* (2001) atualmente marcadores moleculares baseados em PCR (Polymerase Chain Reaction) destacam-se pela facilidade de uso, rapidez, versatilidade e sensibilidade. Dentre esses marcadores a técnica RAPD (Polymerase Chain Reaction) destacam-se pela facilidade de uso, rapidez, versatilidade e sensibilidade. Dentre esses marcadores a técnica RAPD (Polymerase Chain Reaction) possui maior utilização, por ser de baixo custo e de fácil implementação. Nessa técnica os *primers* utilizados podem encontrar, aleatoriamente, regiões de homologia no DNA, gerando polimorfismo.

A Embrapa Meio-Norte possui um banco ativo de germoplasma de Forrageiras Nativas com acessos de angico de bezerro que necessitam ser caracterizados para melhor uso da sua diversidade. Dessa forma este trabalho teve como objetivo avaliar a similaridade genética de nove acessos de angico de bezerro por

meio de marcadores RAPD (Polimorfismo de DNA amplificado ao acaso).

## Material e métodos

Previamente, foram coletadas folhas jovens de nove acessos de angico de bezerro, oriundos do banco de germoplasma da Embrapa Meio-Norte, Teresina-PI.

Para análise de marcadores RAPD foram usados cinco primers dos 29 selecionados por DANTAS *et al.*, 2010. As reações de amplificação foram preparadas em volume final de 20µl com 15ng de DNA molde; 2,4µl de Tampão 1, 2X; 3,0mM de MgCl<sub>2</sub>; 0,75mM de dNTPs; 0,2µM de *Primer*; 1U de *Taq* Polimerase (SIGMA) e água miliQ. As reações foram realizadas com uma etapa inicial de desnaturação de 1min a 92°C, seguida de 45 ciclos de 40seg a 92°C para desnaturação, 1min a 34°C para anelamento, 2min a 72°C e uma extensão final de 5min a 72°C, em um Termociclador (Verite).

Os produtos amplificados foram separados eletroforéticamente em gel de agarose (1,5%) com tampão TBE (Tris-Borato-EDTA) 0,5x em voltagem constante de 110V, por aproximadamente 3 horas. Utilizaram-se como marcadores de massa molecular os *ladders* de 1Kb e 50bp (INVITROGEN). A coloração do gel foi realizada com GelRed™ e os produtos, posteriormente, fotodocumentados sob luz ultravioleta.

Foi construída uma matriz para os fragmentos polimórficos amplificados codificados em sistema binário, atribuindo-se (1) para presença e (0) para ausência de banda. Somente foram consideradas as bandas que não deram margens a dúvidas. Bandas muito fracas, de difícil resolução, não foram incluídas. Para análise dos dados, utilizou-se o programa Past v.1.34 (HAMMER *et al.*, 2001). A similaridade entre as amostras foi estimada pelo coeficiente de Jaccard, que gerou a matriz de similaridade. Esta análise viabilizou a construção de um dendrograma que mostrou graficamente a similaridade entre as amostras.

## Resultados e Discussão

Foram usados cinco *primers*: A04, B04, B18, K15, M11.

A matriz de similaridade demonstrou a existência de variabilidade entre as amostras, com coeficientes de similaridade variando de 0,22 a 0,75 (Tabela 1). Houve

1. Graduada em Ciências Biológicas, Universidade Estadual do Piauí, Teresina, PI. Email: [mairanassousa@hotmail.com](mailto:mairanassousa@hotmail.com)

2. Graduada em Ciências Biológicas, Universidade Estadual do Piauí, Teresina, PI. Email: [rennatinha\\_mendes@hotmail.com](mailto:rennatinha_mendes@hotmail.com)

3. Biólogo, Universidade Estadual do Piauí, Teresina, PI. Email: [raul-mendes@hotmail.com](mailto:raul-mendes@hotmail.com)

4. Pesquisador Embrapa Meio Norte, Teresina,

PI. Email: [rbezerra@cpamn.embrapa.br](mailto:rbezerra@cpamn.embrapa.br); [sbona@cpamn.embrapa.com.br](mailto:sbona@cpamn.embrapa.com.br); [sarmanho@cpamn.embrapa.com.br](mailto:sarmanho@cpamn.embrapa.com.br)



uma média de similaridade de 0,42. A maior similaridade está entre os acessos 07 e 08 e a menor entre os acessos 01 e 03.

A correlação cofenética de 0,90% indicou boa concordância entre a matriz de similaridade e o dendrograma obtido e maior precisão nas informações.

O dendrograma gerado permite a separação dos acessos de angico de bezerro em três grupos (Fig.1). Tendo o acesso 03 se mostrado um genitor em potencial para futuros programas de melhoramento genético.

A utilização de marcadores RAPD para estabelecer a relação genética de germoplasmas de angico de bezerro mostrou-se satisfatória, pois foi possível observar grande diversidade genética entre os acessos analisados.

#### Referências

BUENO, L.C de S; MENDES, A.N.G.; CARVALHO, S.P de. **Melhoramento de plantas: princípios e procedimentos**. Lavra: UFLA, 2001. 282p.

DANTAS, I. M. S.; MENDES, R. F. de M.; NASCIMENTO, M. do P. S. C. B. do.; LIMA, P. S. da C. **Otimização e seleção de primers RAPD para caracterização molecular de acessos de Angico de bezerro (Piptadenia moniliformis Benth.)**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE RECURSOS GENÉTICOS, 2010, Salvador. Bancos de germoplasma: descobrir a riqueza, garantir o futuro: anais. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2010.

HAMMER, O.; HARPER, D.A.T., P.D.R. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. **Palaeontologia Electronica**, v.4, n.1, 2001. 9pp.

LANZA, M.A.; SCHUSTER, I.; GUIMARÃES, C.T.

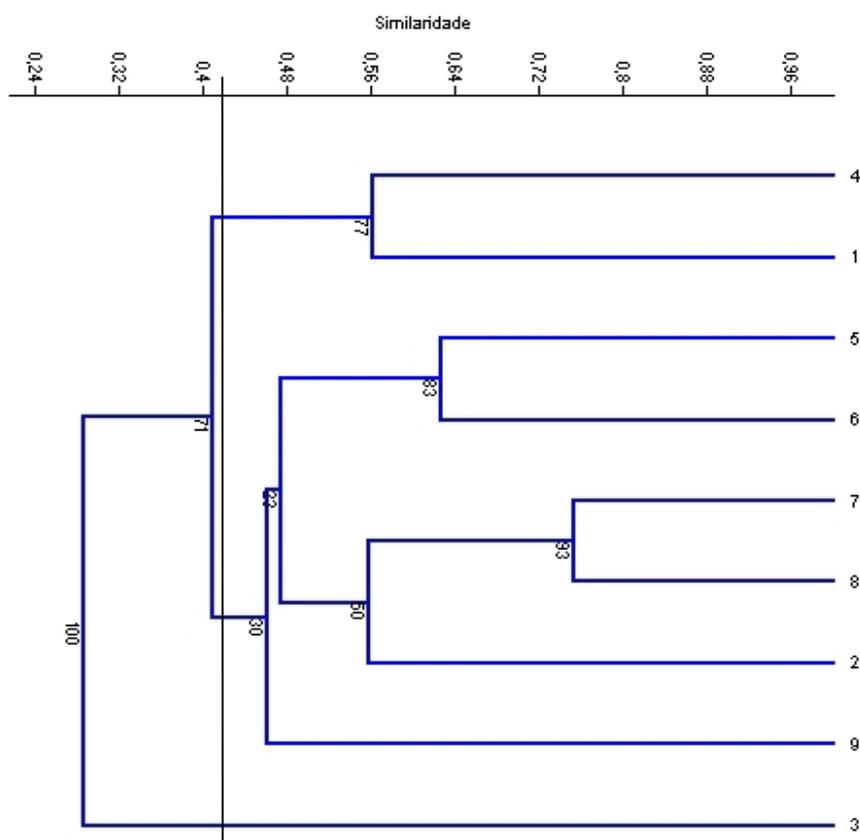
**Aplicação de marcadores moleculares no melhoramento genético**. Informe agropecuário, v.21, n.204, p. 97-108. 2000

LORENZI, H. **Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Plantarum, 2002. 197p.



**Tabela 1.** Matriz de similaridade genética entre nove acessos de angico de bezerro gerada pelo coeficiente de Jaccard, baseado em marcadores RAPD.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	1								
2	0,44	1							
3	0,22	0,44	1						
4	0,56	0,48	0,33	1					
5	0,38	0,41	0,26	0,33	1				
6	0,39	0,47	0,25	0,38	0,63	1			
7	0,51	0,58	0,23	0,39	0,48	0,46	1		
8	0,40	0,54	0,23	0,36	0,55	0,46	0,75	1	
9	0,41	0,44	0,31	0,40	0,46	0,44	0,44	0,51	1



**Figure 1.** Agrupamento de nove acessos de angico de bezerro.

