

# Análise de similaridade entre acessos de Catingueira (*Caesalpinia spp.*) com base nos marcadores RAPD

Raul Ferreira de Miranda Mendes<sup>1</sup>, Michelli Ferreira dos Santos<sup>2</sup>, Raimundo Bezerra de Araujo Neto<sup>3</sup>,  
Maria Perpetuo Socorro Bona Cortez do Nascimento<sup>3</sup>, Paulo Sarmanho da Costa Lima<sup>3</sup>,

## Introdução

A vegetação de caatinga é constituída, especialmente, de espécies lenhosas e herbáceas de pequeno porte. As espécies lenhosas são fundamentais no contexto de produção e disponibilidade de forragem no semi-árido nordestino. Entre as espécies nativas da caatinga, a Catingueira-verdadeira (*Caesalpinia pyramidalis* Tul.) apresenta grande potencial forrageiro, pois é uma das plantas sertanejas cujas gemas brotam nas primeiras manifestações de umidade. Dessa forma, no início do período das chuvas o gado procura as folhas jovens extremamente palatáveis, sendo, entre outras, preferidas por bovinos, caprinos e ovinos (HARDESTY et al., 1988).

Segundo Kadama (2006), uma etapa fundamental, no melhoramento genético, é a obtenção de variabilidade genética entre indivíduos de uma espécie ou entre grupos de cruzamentos interespecíficos. Portanto, uma das etapas indispensáveis é o conhecimento da diversidade genética, principalmente em espécies que ainda não foram domesticadas, como a Catingueira. Os marcadores moleculares são ferramentas eficazes para estudos de genética, especialmente para o melhoramento genético das espécies de interesse econômico. Existem diversos tipos de marcadores moleculares e cada marcador apresenta características específicas.

Entre os marcadores moleculares baseados em PCR (*Polymerase Chain Reaction*), a técnica RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) tem sido amplamente utilizada, pois apresenta vantagens, quando comparado com outros marcadores. Apresenta um custo inferior e é mais fácil a execução. Também não é necessário o conhecimento prévio dos organismos de interesse, como por exemplo, desenvolvimento prévio de uma biblioteca

de sondas específicas. Outra vantagem é que um conjunto único de *primers* arbitrários pode ser utilizado para qualquer organismo.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a diversidade genética de Catingueira por meio de marcadores RAPD.

## Material e métodos

Foram coletadas folhas jovens de 10 acessos de plantas de catingueira oriundos do Banco de Germoplasma de Forrageiras da Embrapa Meio-Norte localizado em Teresina-PI. As folhas foram colocadas no isopor com gelo até serem armazenadas no freezer para posterior extração.

A extração de DNA foi realizada com material fresco e macerada em homogeneizador Precellys. Utilizou-se o Kit de extração da Quiagen. A quantificação do DNA extraído foi feito em gel de agarose a 0,8% com TBE (Tris-Borato-EDTA) 1x e corado com GelRed™, foi feita a quantificação comparando o DNA das amostras com o DNA  $\lambda$  na concentração de 100 ng.

Para a análise de marcadores RAPD foram testados 100 *primers* dos quais 8 foram selecionados. As reações de amplificação foram preparadas em volume final de 20  $\mu$ l contendo 15 ng de DNA, 0,25 mM de dNTP, 1U de *Taq*Polimerase (Invitrogen), 0,2  $\mu$ M de *primer*, 3,0 mM de  $MgCl_2$ , 2,0  $\mu$ l l de tampão 1X e  $H_2O$  ultrapura.

As reações de amplificação foram realizadas em termociclador Veriti seguindo um programa com uma etapa inicial de desnaturação de 1 min a 92°C, seguida de 45 ciclos de 1 min a 92°C para desnaturação, 1 min a 35°C para anelamento, 2 min a 72°C e uma extensão final de 5 min a 72°C. Os produtos das reações foram visualizados em gel de agarose a 1,5%, corado com GelRed™ e fotodocumentados sob luz ultravioleta.

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

2. Mestranda em Genética e Melhoramento, Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI. Email: [michelly\\_m\\_santos@yahoo.com.br](mailto:michelly_m_santos@yahoo.com.br)

3. Pesquisador Embrapa Meio Norte, Teresina, PI. Email: [sarmanho@cpamn.embrapa.com.br](mailto:sarmanho@cpamn.embrapa.com.br); [sbona@cpamn.embrapa.com.br](mailto:sbona@cpamn.embrapa.com.br); [rbezerra@cpamn.embrapa.br](mailto:rbezerra@cpamn.embrapa.br)



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

### Resultados

Foram selecionados oito *primers*: A08, A09, M01, M04, M15, M20, N06 e P06.

A matriz de similaridade obtida demonstrou haver variabilidade entre as amostras, com coeficientes de similaridade variando de 0,45 a 0,74 (Tabela 1). Apresentou uma média de similaridade de 0,59. A maior similaridades está entre os genótipos 8 e 9 e a menor entre os genótipos 2 e FG 2.

O Dendrograma gerado permitiu a separação em três grupos ( $dg_m = 0,59$ ) (Figura 1). Demonstra também a diversidade genética das duas espécies analisadas, a *Caesalpinia pyramidalis* Tul. (acessos 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9 e 10) e a *Caesalpinia bracteosa* Tul. (acessos Fg1 e Fg2), ficando separadas no dendrograma.

### Discussão

A aplicabilidade de marcadores RAPD em estabelecer a relação genética de germoplasmas de Catingueira mostrou-se satisfatório, pois se observou grande diversidade genética entre os genótipos analisados. Os resultados obtidos aqui evidenciaram uma menor diversidade genética entre os genótipos 8 e 9 que são da mesma espécie. A maior diversidade genética observada foi entre os genótipos 2 e Fg2, que está de acordo com o esperado, pois o genótipo 2 é classificado como *Caesalpinia pyramidalis* Tul. e o Fg2 pertence a espécie *Caesalpinia bracteosa* Tul.

A identificação dos genótipos de Catingueira com maior e menor divergência genética possibilitará a execução de melhoramento com a forrageira que vise a obtenção de maior segregação e a recuperação das características do parental recorrente (Franco et al, 2001).

A alta concentração de genótipos (4, 8, 9, 6, 3 e 2) reunidos no terceiro grupo permitiu inferir que esses materiais genéticos apresentam a mesma procedência.

### Referências

HARDESTY, L. H.; BOX, T. W.; MALECHEK, J. C. Season of cutting affects bio mass production by coppicing browse species of the Brazilian caatinga. *Journal of Range Management*, v.41, n.6, p.447-80, 1988.

KAMADA, Takesi. Avaliação da diversidade genética de populações de fáfia (*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen) por RAPD, caracteres morfológicos e teor de beta-ecdisona. Viçosa:UFV,2006.

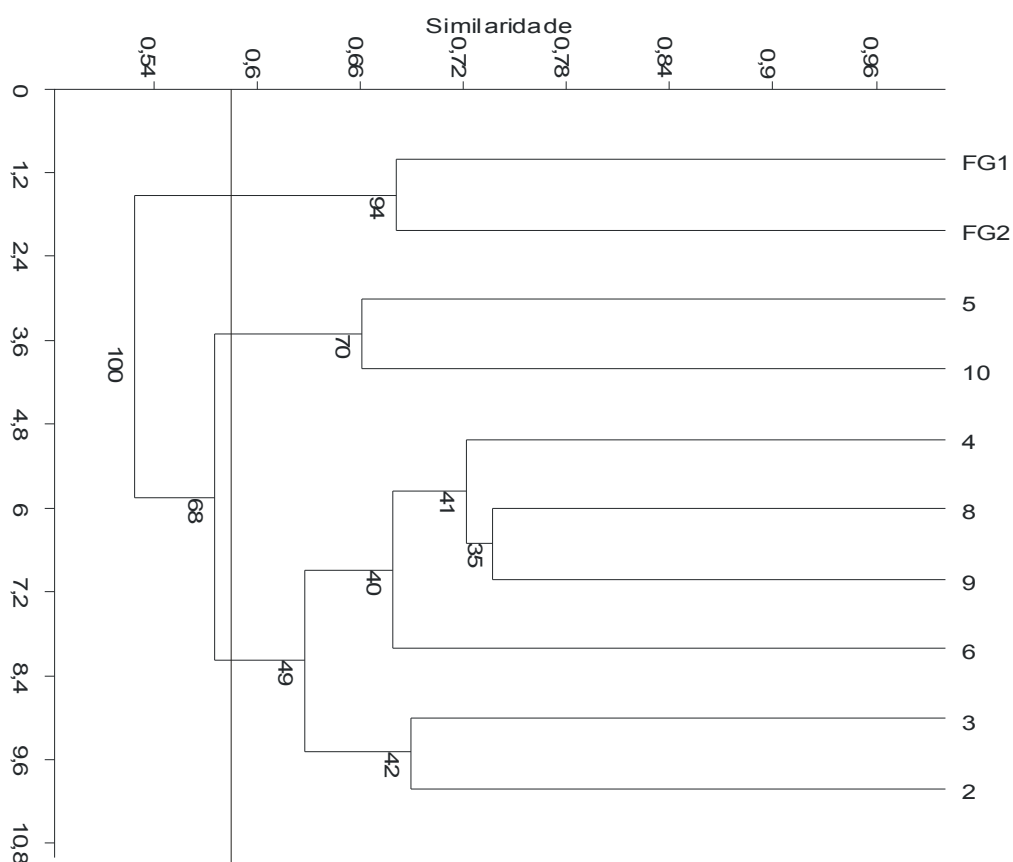
HAYMER, D. S., McINNIS, D. O. Resolution of populations of the Mediterranean fruit fly at the DNA level using random primers for the polymerase chain reaction. *Genome*, v. 37, p. 244-8, 1994.

FRANCO, Marília Caixeta; CASSINI, Sérgio Túlio Alves; OLIVEIRA, Valter Rodrigues; TSAI, Siu Mui. Caracterização da diversidade genética em feijão por meio de marcadores RAPD. *Brasília:Pesq. agropec. bras.* vol.36 no.2. 2001



**Tabela 1.** Matriz de similaridade genética entre 10 genótipos de Catingueira gerada pelo coeficiente de Dice de locus de RAPD.

|     | 2       | 3       | 4       | 5       | 6       | 8       | 9       | 10      | FG1  | FG2 |
|-----|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|------|-----|
| 2   |         |         |         |         |         |         |         |         |      |     |
| 3   | 0,68889 |         |         |         |         |         |         |         |      |     |
| 4   | 0,68085 | 0,66667 |         |         |         |         |         |         |      |     |
| 5   | 0,55102 | 0,61702 | 0,61224 |         |         |         |         |         |      |     |
| 6   | 0,50505 | 0,67368 | 0,64646 | 0,58252 |         |         |         |         |      |     |
| 8   | 0,59794 | 0,64516 | 0,72165 | 0,51485 | 0,68627 |         |         |         |      |     |
| 9   | 0,58252 | 0,66667 | 0,71845 | 0,65421 | 0,7037  | 0,73585 |         |         |      |     |
| 10  | 0,54167 | 0,63043 | 0,52083 | 0,66    | 0,49505 | 0,54545 | 0,62857 |         |      |     |
| FG1 | 0,54945 | 0,5977  | 0,57143 | 0,48421 | 0,58333 | 0,53191 | 0,54    | 0,49462 |      |     |
| FG2 | 0,4466  | 0,58586 | 0,50485 | 0,50467 | 0,55556 | 0,50943 | 0,51786 | 0,47619 | 0,68 |     |



**Figura 1.** Agrupamento de 10 genótipos de Catingueira.

