

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
CAMPUS SENADOR HELVÍDIO NUNES DE BARROS
LICENCIATURA PLENA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

CRISTIANE JOSEFA DOS SANTOS VELOSO

**UTILIZAÇÃO DE MARCADORES MOLECULARES EM PLANTAS DE
FAMÍLIAS ENDÊMICAS DA CAATINGA**

PICOS-PI

2013

CRISTIANE JOSEFA DOS SANTOS VELOSO

**UTILIZAÇÃO DE MARCADORES MOLECULARES EM PLANTAS DE
FAMÍLIAS ENDÊMICAS DA CAATINGA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação de Curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Piauí, como requisito parcial para a obtenção do Grau de Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof^a. Me. Maria do Socorro Meireles de Deus

PICOS-PI

2013

Eu, **Cristiane Josefa dos Santos Veloso**, abaixo identificado(a) como autor(a), autorizo a biblioteca da Universidade Federal do Piauí a divulgar, gratuitamente, sem ressarcimento de direitos autorais, o texto integral da publicação abaixo discriminada, de minha autoria, em seu site, em formato PDF, para fins de leitura e/ou impressão, a partir da data de hoje.

Picos-PI, 13 de março de 2014.



Assinatura

FICHA CATALOGRÁFICA

Serviço de Processamento Técnico da Universidade Federal do Piauí
Biblioteca José Albano de Macêdo

V437u Veloso, Cristiane Josefa dos Santos.
Utilização de marcadores moleculares em plantas de famílias endêmicas da caatinga / Cristiane Josefa dos Santos Veloso. – 2013.
CD-ROM : il; 4 ¼ pol. (32 p.)

Monografia(Licenciatura em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Piauí. Picos-PI, 2013.
Orientador(A): Profa. MSc. M^a do Socorro Meireles de Deus

1.Marcadores Moleculares. 2.Plantas da Caatinga. 3. Revisão Bibliográfica. I. Título.

581.4

CRISTIANE JOSEFA DOS SANTOS VELOSO

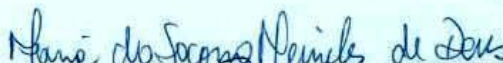
**UTILIZAÇÃO DE MARCADORES MOLECULARES EM PLANTAS DE
FAMÍLIAS ENDÊMICAS DA CAATINGA**

Trabalho de conclusão de curso
apresentado à Coordenação do Curso de
Ciências Biológicas da Universidade
Federal do Piauí, Campus Senador
Helvídio Nunes de Barros, como
requisito para a obtenção do grau de
Licenciatura em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof.^ª Me. Maria do
Socorro Meireles de Deus

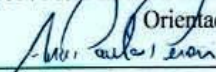
Data de aprovação: 19 / 09 / 2013

BANCA EXAMINADORA:



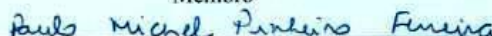
Prof.^ª Me. Maria do Socorro Meireles de Deus

Orientadora:



Prof.^ª Dra. Ana Paula Peron
Membro

Prof.^ª Dra. Ana Carolina Landim Pacheco
Membro



Prof. Dr. Paulo Michel Pinheiro Ferreira
Suplente

PICOS-PI

2013

AGRADECIMENTOS

Usar o que você sabe, o dom que Deus lhe deu, é a melhor forma de agradecê-lo por tanto nos amar. Todos nós recebemos algo da parte de Deus para usarmos aqui na terra, Deus tem sonhos para a vida de cada um de nós, não deixe que as circunstâncias te convençam o contrário Obrigado Senhor, por sempre segurar na minha mão e me dar coragem para seguir firme.

A os meus Pais **Venâncio e Josefa**, vocês que me deram a vida e me ensinaram a vivê-la com dignidade, não bastaria um obrigado. A vocês, que se doaram inteiros e renunciaram aos seus sonhos, para que, muitas vezes, eu pudesse realizar os meus. Pela longa espera e compreensão durante minha longa jornada, não bastaria um muitíssimo obrigado. Amo vocês, muito obrigado por tudo!

Ao meu esposo, **Erivelton**, que representa minha segurança em todos os aspectos, meu companheiro incondicional, o abraço espontâneo e tão necessário. Agradeço pela paciência de me ouvir, me compreender. Obrigada por me fazer sentir tão amada, também nos momentos mais difíceis da nossa vida. Amo-te muito!

A minha irmã **Cleidiane**, o que dizer de uma pessoa tão especial falta palavras, grande é a emoção. Agradeço a Deus constantemente por ter me dado a dádiva de ser sua irmã. Obrigado pelas inúmeras vezes que pude contar com seu apoio e carinho. Adoro-te maninha.

A minha orientadora Prof^a. Me. Maria do Socorro Meireles de Deus, pelo apoio e incentivo, disponibilidade e dedicação. Por ter aceitado a difícil tarefa de me orientar.

Agradecimento aos amigos

O destino nos apresenta muitos amigos aos quais nem imaginávamos que iam cruzar os nossos caminhos, muitos desses denominados amigos do peito, do coração, são sinceros e verdadeiros. Por este motivo só tenho a agradecer a Deus pelos amigos que ele colocou em meu caminho em especial as amigas da UFPI Michele e Karloane, e todos os demais amigos que estiveram ao meu lado me apoiando e me dando o abraço apertado de companheirismo, o meu muito obrigado!

A Deus,
Áquele que nunca vemos ou ouvimos, mas
Podemos senti-lo ao nosso lado,
Sempre nos guiando, nos mostrando a luz,
Dando-nos força para seguir em frente
Enchendo-nos de esperança
Dando-nos o dom da sabedoria
Mostrando-nos que Obstáculos existem
Por mais difícil que seja, mas que podemos vencê-los.
Obrigado por mais esta etapa vencida!

RESUMO

Os marcadores moleculares constituem-se como uma excelente alternativa para a caracterização genética, pois estes acessam sequências de DNA de uma espécie e vão à busca da característica desejada. O presente estudo teve por objetivo fazer um levantamento bibliográfico para averiguar a utilização de marcadores moleculares em plantas de famílias endêmicas do bioma Caatinga. Os dados foram coletados a partir da análise de artigos obtidos da biblioteca pública da UFPI (Universidade Federal do Piauí), dissertações de mestrado, teses de doutorado e artigos científicos de periódicos da base de dados do Scielo e de outros sites disponíveis na internet. No material analisado foi identificado o uso de marcadores moleculares do tipo RAPD, AFLP e microssatélites para diversas espécies dessas famílias, as quais foram submetidas a diferentes análises genéticas.

Palavras Chave: Marcadores moleculares. Plantas da caatinga. Revisão bibliográfica.

ABSTRACT

Molecular markers constitute itself as an excellent alternative for genetic characterization, because they directly access the genotype of a kind and go in search of the desired characteristic. This study aimed to review the literature to investigate the use of molecular markers in plants household characteristics Caatinga. Data were collected from the analysis of 33 articles obtained from the public library UFPI (Federal University of Piauí), master's theses, doctoral dissertations and scientific articles in journals database Scielo and other sites available on the internet. In the analyzed material was identified using molecular markers RAPD, AFLP and microsatellites for several species of these families, which were subjected to different genetic analyzes.

Keywords: Molecular markers. Caatinga. Plants. Literature review.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Planta <i>Passiflora edulis</i> (maracujazeiro amarelo).....	16
Figura 2 - Planta <i>Passiflora alata</i> (maracujá-doce).....	17
Figura 3 – Planta <i>Passiflora nítida</i> (maracujá-suspiro).....	18
Figura 4 – Planta <i>Passiflora cincinata</i> (maracujá-da-caatinga).....	19
Figura 5 – Planta <i>Stryphnodendron adstringes</i> (barbatimão).....	20
Figura 6 – Planta <i>Enterolobium contortisiliquum</i> (tamboril).....	21
Figura 7- Planta <i>Inga</i> (gênero).....	22
Figura 8 – Planta <i>Piptadenia moniliformis</i> (angico de bezerro).....	22
Figura 9 – Planta <i>Cassia grandis</i> (cafístula).....	24
Figura 10 – Planta <i>Schzolobium parahyba</i>	24

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	9
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	11
2.1 Marcadores moleculares em diferentes tipos de vegetais.....	11
2.2 Marcadores moleculares em plantas das famílias características do bioma Caatinga.....	14
2.2.1 Família Passifloraceae.....	15
2.2.2 Família Leguminosea Subfamília Mimosoidea.....	19
3. METÓDOS.....	25
4. CONCLUSÃO.....	26
REFERENCIAS.....	27

1 INTRODUÇÃO

A grande biodiversidade vegetal existente em nosso planeta tem despertado a atenção de muitos pesquisadores que se preocupam em organizar, caracterizar e diferenciar geneticamente as espécies. Entre as técnicas utilizadas primariamente para o estudo da variabilidade genética está a de marcadores moleculares que surgiram no início da década de 80. Desde então, os estudos voltados para a identificação, caracterização e mapeamento genético ganharam espaço na ciência, pois estes estão sendo desenvolvidos de forma mais rápida, segura e eficiente (BERED et al. 1997; QUEIROZ, 2001).

Uma forma muito eficaz para a caracterização genética de plantas é através dos marcadores moleculares que se baseiam na análise do DNA. Estes se diferenciam pela habilidade em detectar diferenças entre indivíduos, custo, agilidade, facilidade de uso, consistência e repetitividade. A utilização de marcadores moleculares possibilita o estudo da variabilidade genética dentro e entre espécies diferentes. Em plantas o uso de marcadores moleculares em programas de melhoramento genético permite o acesso direto ao genótipo fazendo com que as novas características desejadas para o melhoramento não passem por influências fenotípicas do meio ambiente (CUNHA, 2006).

Entre as técnicas empregadas para tais estudos estão as que se baseiam em PCR que são elas: *RAPD (Polimorfismo de DNA Amplificado ao Acaso)*, *AFLP (Polimorfismo no Comprimento de Fragmentos Amplificados)*, *SCAR (Sequência Caracterizada de Regiões Amplificadas)* e *microsatélites (Sequência Simples Repetida)* e as que são desenvolvidas pelo processo de hibridização: *RFLP (Fragmento de DNA de Comprimento Polimórfico)* e *minissatélites (Sequências Adjacentes que se Repetem em Número Variado)*. Esses marcadores moleculares possibilitam a estimativa de vários índices genéticos e o conhecimento sobre a variabilidade genética entre e dentro de populações (FIGEUIREDO, 2006).

Diversos são os fatores que tornam os marcadores moleculares como ferramentas importantíssimas para detectar polimorfismo direto no DNA, pois eles abrangem um campo enorme de utilizações, dentre essas podemos citar estudos de genética populacional, mapeamento e análises de similaridade, distância genética, identificação de acessos de plantas, variabilidade e estudos de sistemática. É muito importante o uso de marcadores moleculares para estudos de genética, pois já

existem diferentes bancos de dados para diversos tipos de marcadores moleculares, com especialidades específicas, para aquilo que se busca responder e com isso pesquisas em todo mundo podem ser desenvolvidas (SEIXAS, 2011).

As famílias Passifloraceae e Leguminosae pertencem ao bioma Caatinga entre outros, sendo esse bioma brasileiro um dos menos conhecidos cientificamente, e estando ameaçado, devido ao uso inadequado e insustentável dos seus solos e recursos naturais, e por ter cerca de um 1% desses recursos protegidos por unidades de conservação (SANTOS, 2011).

A busca pela existência de marcadores moleculares em diferentes famílias de plantas faz-se necessária porque garante um melhor conhecimento, caracterização do germoplasma e maximização dos ganhos genéticos. Portanto, o presente trabalho teve como objetivo averiguar por meio de uma revisão bibliográfica a utilização de marcadores moleculares em plantas de famílias características do bioma Caatinga.

2 MÉTODO

Para este estudo os dados foram coletados a partir de um levantamento bibliográfico. O material examinado foi encontrado na biblioteca pública da Universidade Federal do Piauí (UFPI), dissertações de mestrado, teses de doutorado e artigos científicos de periódicos da base de dados do Scielo e de outros sites disponíveis na internet.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Marcadores moleculares

Marcador molecular é todo e qualquer fenótipo oriundo de um gene expresso (como em isoenzimas) ou de um segmento específico de DNA (expresso ou não). Atualmente os marcadores moleculares têm representado uma boa alternativa para estudos com caracterização genética de plantas e com programas de melhoramento genético. Um grande número de técnicas moleculares está disponível para a realização de pesquisas que envolvam aplicações no melhoramento genético de plantas (MILLACH et al., 2006).

Segundo Goes (2008) os marcadores moleculares são originados das variações no código do material genético (genoma) e estes segregam pelas gerações segundo um padrão de herança Mendeliana, servindo para identificar um local ou uma região de um cromossomo.

3.2 Marcadores moleculares utilizados

3.2.1 RAPD

O RAPD (*Randon Amplified Polymorphic DNA*) tem se tornado uma das técnicas mais utilizadas em meio às demais técnicas de PCR para detectar a variabilidade genética do DNA, é uma técnica baseada na detecção de diferenças em nível de DNA através da amplificação por PCR (*Polimerase Chain Reaction*) que revela diversos *loci* dispersos pelo genoma, possui um baixo custo, leva pouco tempo para obter resultados e é fácil de implementar (MELO et al, 2008) .

Uma característica interessante dos marcadores RAPD é o fato deles se comportarem como marcadores dominantes. O grande avanço na técnica de RAPD está baseado no uso de oligonucleotídeos de sequência arbitrária para dirigir a reação de amplificação, eliminando assim a necessidade do conhecimento prévio de sequência. Para que aja amplificação de um fragmento RAPD no genoma duas sequências de DNA complementares ao oligonucleotídeo arbitrário devem estar suficientemente próximas (4.000 pb) e em orientação oposta, de maneira a permitir a

amplificação de um segmento de DNA pela DNA polimerase. Em função da grande quantidade de DNA produzido, este segmento pode ser visualizado na forma de banda num gel de agarose ou poliacrilamida, cada oligonucleotídeo arbitrário dirige a síntese de vários segmentos de DNA simultaneamente em diversos pontos do genoma, resultando em várias bandas no gel (CUNHA, 2006).

3.2.2 AFLP

O AFLP é uma combinação de RFLP e RAPD incorporando ainda mais alguns passos experimentais. A AFLP apresenta um elevado grau de polimorfismo e o mais alto número de marcadores obtidos por gel analisado. Sendo também uma técnica muito segura devido à capacidade de analisar um grande número de bandas simultaneamente com ampla cobertura do genoma. Uma grande vantagem da AFLP é que ela não exige conhecimento genético prévio do organismo em estudo. Possuem sequencias curtas que variam de 2 a 4 bases que podem se repetir até dezessete vezes e são comumente amplificados por PCR. (BUTTOW et al, 2010; BARBIERI, 2009).

A técnica de AFLP se divide em quatro etapas: 1-digestão do DNA; 2-ligação dos adaptadores; 3-pré-amplificação; 4-amplificação (DANTAS & NODARI, 2003).

3.2.3 Microssatélite

Segundo Dantas & Nodari (2005) os microssatélites já estão sendo utilizados em larga escala para as principais espécies de importância agrícola e nas espécies modelos. O sucesso dessa técnica deve-se ao alto grau de polimorfismo encontrado em plantas comparando esta técnica com os RFLPs os microssatélites proporcionam de três a quatro vezes mais informação (GONSALEZ, 2009).

Em relação ao custo da técnica os marcadores microssatélites se assemelham a os marcadores de RAPD, a diferença é que os microssatélites precisam de *primers* específicos para a amplificação do DNA, e o gel de poliacrilamida utilizado para a visualização do DNA também possui um custo bem elevado o que acaba deixando a técnica um pouco mais cara de início, pois ao se tornar uma técnica adotada pelo laboratório o seu custo diminui devido à existência dos *primers* e do gel tornando-a de custo bem menor e simplicidade maior (DANTAS & NODARI, 2005).

Os microssatélites possuem sequencias curtas que variam de 2 a 4 bases que podem se repetir até dezessete vezes e são comumente amplificados por PCR. Esses marcadores são classificados de acordo com o tipo de sequencia que se repete: 1-perfeito: a sequencia das bases se repete e não ocorre interrupção; 2-imperfeito: há presença de nucleotídeo diferente da estrutura repetitiva; 3-interrompido: pelo menos uma das repetições apresenta nucleotídeos intercalados; 4- apresenta mais de um tipo de repetição em série adjacente (SOUSA et al., 2011).

3.3 Marcadores moleculares em plantas das famílias características do bioma Caatinga

O bioma Caatinga, incluindo diversas formações vegetais, ocupa a maior parte do Nordeste brasileiro. O termo “Caatinga” é de origem Tupi e significa “mata branca”, referindo-se ao aspecto da vegetação durante a estação seca, quando a maioria das árvores perde as folhas e os troncos esbranquiçados e brilhantes dominam a paisagem. Cobre a maior parte dos estados do Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe, Bahia e a parte Nordeste de Minas Gerais, no vale do Jequitinhonha (SANTOS, 2011).

Esse ecossistema é muito importante do ponto de vista biológico por ser um dos poucos que tem distribuição restrita ao Brasil. Apresenta fauna e flora únicas, formada por uma vasta biodiversidade, rica em recursos genéticos e de vegetação constituída por espécies, lenhosas, herbáceas, cactáceas e bromeliáceas (SANTOS, 2011).

No entanto, a caatinga é considerada como um dos ecossistemas mais explorado e degradado do mundo, pelo uso intensivo da terra. Caracterizada como floresta arbórea ou arbustiva, a Caatinga é composta de árvores e arbustos baixos com algumas características xerofíticas. Assim como as diversas matas secas tropicais, a vegetação da Caatinga também é alvo de grande exploração humana, pela atividade agrícola desenvolvida, pelo extrativismo na extração de madeira e lenha e pelo uso da pecuária extensiva (MOREIRA et al., 2006).

Segundo Moreira et al (2006) não só pela ação humana esse ecossistema é degradado mas também pelos fatores abióticos que atuam nele, como o clima que tem bastante influencia sobre a vegetação.

3.4. Família Passifloraceae

A família Passifloraceae é formada por 20 gêneros e cerca de 630 espécies com distribuição marcadamente tropical, principalmente nas Américas e na África, sendo o gênero *Passiflora* o mais importante economicamente. Estima-se que esse gênero seja composto por 465 espécies, das quais 150 a 200 são originárias do Brasil (LOSS et al., 2006).

São plantas herbáceas ou lenhosas, em geral trepadeiras, com gavinhas e nectários extraflorais, folhas de disposição alterna, inteiras ou variadamente lobadas, às vezes com formas inusitadas, com estípulas. Flores muito vistosas, grandes, brancas ou amareladas, hermafroditas, hipanto pateliforme ou campanulado dividido em 10 lobos, corona com uma ou duas séries de filamentos, opérculo plicado e filetes unidos na base e encurvados para o interior da flor, em direção ao ápice do ovário, são cíclicas, diclamídeas, de simetria radial e com um androginóforo bem desenvolvido. Fruto baciforme, indeiscente com muitas sementes em volta em arilo carnosos (JOLY, 1998).

Segundo Loss et al (2006) as principais espécies do gênero são diploides e alógamas (que realizam preferencialmente fecundação cruzada), o seu pólen é bastante denso o que dificulta a ação dos ventos para que ocorra a sua disseminação sendo a vespa mamangava (*Xylocopa ssp.*) o seu maior polinizador. O gênero também apresenta um sistema de reprodução auto incompatível e dessa forma mesmo que uma flor seja hermafrodita ela não é capaz de realizar autopolinização, neste caso a fertilização só ocorre pela fecundação cruzada, fator importante, pois assim aumenta o seu grau de variabilidade genética dessas espécies.

No Brasil, as espécies com maior expressão comercial são a *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* (maracujá-amarelo ou azedo), a *Passiflora edulis* (maracujá-roxo) e a *Passiflora alata* (maracujá-doce). O maracujá-azedo é o mais conhecido, cultivado e comercializado devido à qualidade de seus frutos e ao seu maior rendimento industrial. O maracujá-roxo é muito apreciado na Austrália e na África do Sul, sendo usado para fazer suco ou consumido como fruta fresca. O maracujá azedo é consumido exclusivamente para fazer suco (DÂMASO, 2011).

Marcadores RAPD foram utilizados em acessos silvestres e comerciais de *Passiflora edulis* (maracujazeiro azedo) com o objetivo de analisar a variabilidade genética. Os resultados foram positivos para a espécie de *P. edulis* e demonstram a

presença de uma enorme variedade genética, abrindo caminhos para futuros programas de melhoramento genético (BELLON et al., 2007).

Com marcadores AFLP foi desenvolvido um trabalho no Laboratório de Bioquímica de Microrganismos e Plantas do Departamento de Tecnologia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV/UNESP), Campus de Jaboticabal, São Paulo, com o objetivo de conhecer a variabilidade genética da *Passiflora edulis* (maracujazeiro-amarelo). Os resultados obtidos mostraram que os marcadores AFLP são uma ótima ferramenta para detectar variabilidade genética na espécie em questão (GANGA et al, 2004).

Viana et al. (2003) utilizaram marcadores RAPD para estudar a diversidade genética entre genótipos de *Passiflora edulis* (maracujazeiro amarelo) (Figura 1) e entre a espécie cultivada e algumas espécies silvestres, como forma de verificar as suas potencialidades para fins de melhoramento genético. Os autores observaram que há grande variação genética, e dessa forma programas de melhoramento genético podem ser realizados visando à conservação da espécie.



Figura 1-
Passiflora

edulis (maracujazeiro amarelo)

(<http://www.google.com.br>)

Em *Passiflora alata* (maracujá-doce) (Figura 2) foram utilizados marcadores RAPD e microssatélites para estimar a taxa de cruzamento da espécie usando 5

progênies de meios-irmãos oriundas da Embrapa Cerrados. Os dados gerados tornaram evidentes que *P. alata* se reproduz através de cruzamentos com alta tendência a alogamia (FERREIRA, 2005).



Figura 2 - *Passiflora alata* (maracujá-doce)
(<http://www.google.com.br>)

Os marcadores RAPD foram utilizados para analisar a origem da variabilidade fenotípica de *Passiflora nitida* (maracujá-suspiro) (Figura 3) de 17 acessos pertencentes ao banco de germoplasma da Embrapa Cerrados, esses marcadores foram utilizados também para comprovar a fecundação cruzada de supostos híbridos interespecíficos do gênero *Passiflora*. Os resultados foram positivos para *P. nitida* evidenciando a existência de uma elevada variação genética, o mesmo ocorreu com o gênero *Passiflora* os marcadores RAPD foram eficazes na verificação da fecundação cruzada (JUNQUEIRA et al, 2007; JUNQUEIRA et al., 2008).



Figura 3 – *Passiflora nitida* (maracujá-suspiro)
(<http://www.google.com.br>)

Loss et al. (2006) desenvolveram um trabalho no qual o objetivo foi avaliar a estrutura genética dentro e entre populações de *Passiflora alata* (maracujá-doce) de diferentes regiões do Espírito Santo, com o uso de marcadores moleculares RAPD. Os resultados mostraram a presença de diversidade genética.



Figura 4 – Exemplar da *Passiflora cincinata* (maracujá-da-caatinga)
(<http://www.flickr.com>)

3.5 Família Leguminosea Subfamília Mimosoidea

Mimosoidea é uma subfamília pertencente à família Leguminosea, sendo compreendida por cerca de 40 gêneros. São as leguminosas que tem flor de simetria radial, podendo a flor ser pentâmera ou tetrâmera, diclamídea e hermafrodita. São plantas subarbustivas, arbustivas ou arbóreas, de folhas frequentemente duplamente pinadas. Fruto seco tipo legume (*Calliandra*) ou indeiscente, com sementes mergulhadas em polpa doce (*Inga*), ou do tipo lomento como encontramos em *Mimosa*. Certas espécies deste último gênero são latexcentes (que segrega leite ou substância ou líquido semelhante), como por exemplo, o conhecido sabiá da caatinga (JOLY, 1998).

Representantes desta subfamília são especialmente abundantes nas regiões tropicais. Dentre os gêneros cultivados destacam-se várias espécies de *Acacia* (acácia-negra, acácia-mimosa e outras) e *Albizia* (albízia). A primeira delas com casca contendo substâncias tânicas utilizadas nos curtumes. A casca de espécies de *Stryphnodendron* (barbatimão) é também utilizada para o mesmo fim (JOLY, 1998).

Dentre os gêneros brasileiros de maior utilidade destacam-se *Piptadenia* (angico, jacaré) com madeira destinada a vários fins, bem como *Enterolobium* (tamboril) com seus típicos frutos e *Inga* (ingá), utilizado no sombreamento de certas culturas como o café e com frutos comestíveis. Na região nordestina foram introduzidas, recentemente, espécies arbóreas do gênero *Prosopis* (algaroba), utilizadas na arborização (JOLY, 1998).

Marcadores moleculares foram utilizados em espécies de vários gêneros da subfamília Mimosoidea. Com marcadores AFLP foi desenvolvido um trabalho com o objetivo de caracterizar geneticamente acessos de populações nativas de *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão) (Figura 5) e testar a transferência de 7 iniciadores SSR de outras espécies para fornecer informações relevantes a programas de conservação do barbatimão, possibilitando seu uso sustentável. Segundo Mendonça (2011) os resultados gerados demonstraram grande diversidade genética

no que se refere à análise por marcadores AFLP, já os microssatélites não geraram polimorfismo suficiente que pudesse dar continuidade a pesquisa.



Figura 5- *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão)

(<http://www.google.com.br>)

Marcadores RAPD foram utilizados para verificar a variabilidade genética de *Enterolobium contortisiliquum* (tamboril) (Figura 6) com o propósito de conservar a espécie da mata ciliar do Baixo Rio São Francisco. Os resultados demonstraram a formação de dois grupos sendo que um deles apresenta proximidade genética dentro da espécie de *Enterolobium contortisiliquum* não sendo aconselhável o plantio das suas sementes próximas, e o outro apresentou uma maior diversidade genética, podendo este ser utilizado como ponto de partida para a conservação da espécie (SANTANA et al., 2008).



Figura 6 - *Enterolobium contortisiliquum* (tamboril)
(<http://sementescaicara.ambienteseguro.net>)

Em populações do gênero *Inga* (Figura 7) ocorrente na floresta ripária do rio Paraná tem sido feita uma avaliação da variabilidade genética utilizando-se marcadores moleculares do tipo RAPD. Segundo os autores as comparações das populações de *Inga* não amostraram variabilidade genética indicando que não há formação de mais de uma espécie nesse ambiente (PANARARI et al., 2002).



Figura 7- *Inga* (<http://www.inpa.gov.br>)

Por meio de marcadores RAPD foi analisado a similaridade genética de 9 acessos de *Piptadenia moniliformis* (angico de bezerro) (Figura 8). A análise detectou uma elevada variedade genética entre os acessos em estudo (SOUSA et al, 2011).



Figura 8 – *Piptadenia moniliformis* (angico de bezerro)
(<http://sementescaiçara.ambienteseguro.net>)

Na espécie *Cassia grandis* (canafístula) (Figura 9) situada em diferentes municípios do Baixo São Francisco, no Estado do Sergipe, foi avaliado com marcadores RAPD a diversidade genética entre e dentro de populações e foi realizada a caracterização genética da espécie com o objetivo de conserva-la através da produção de mudas e os resultados apresentam-se favoráveis a conservação de *C. grandis* (GOIS, 2010).



Figura 9 – *Cassia grandis* (canafístula)
(<http://sementescaiçara.ambienteseguro.net>)

Com marcadores RAPD foi estimado o padrão de distribuição da variedade genética entre e dentro de populações 5 populações de *Schizolobium parahyba* (Figura 10) e foi observado que a espécie é favorável a conservação, devido a presença de uma distribuição de variação genética elevada (GOIS et al, 2010, p.16 apud FREIRE et al).



Figura 10 – *Schzolobium parahyba* (<http://ibflorestas.org.br>)

3.6 Marcadores moleculares em diferentes tipos de vegetais

Marcadores RAPD foram utilizados para verificar a possibilidade de identificação e caracterização, além do relacionamento genético entre 36 acessos de pereiras pertencentes a diversas espécies do gênero *Pyrus* (Rosaceae) da coleção de trabalho do Centro de Genética, Biologia Molecular e Fitoquímica do Instituto Agrônomo IAC, São Paulo. Nos resultados foi possível observar que a metodologia RAPD é prática para se identificar genótipo e correlacionar o parentesco entre os acessos de pereiras cuja origem era desconhecida, sendo também muito eficaz na demonstração do grau de variabilidade genética das espécies que segundo os autores foi evidente o polimorfismo entre os acessos de pereiras (SAWAZAKI et al., 2002).

Essa técnica também tem sido utilizada com diversos outros objetivos, tais como, na análise de “fingerprinting” ou “impressão digital” (este termo tem sido utilizado para descrever o padrão molecular de um genótipo), na estimativa da variabilidade genética em 17 cultivares da ameixeira de 3 diferentes espécies, sendo elas a *Prunus salicina* (ameixeira japonesa), cultivares de *Prunus domestica* (ameixeira europeia) e a *Prunus cerasifera* (cultivar Mirabolano 29C), família Rosaceae, e na caracterização genética de *Eucalyptus ssp*, família Myrtaceae. Os marcadores produziram suficiente polimorfismo demonstrando a alta variabilidade genética entre as três espécies de ameixeira, e mostraram uma elevada amplitude das distâncias de *Eucalyptus ssp*, que de acordo com o autor isso possibilita a manipulação desse material nos programas de melhoramento, inclusive permitindo selecionar genótipos que ampliam a base genética do material (BIANCHI et al., 2002; CAIXETA et al., 2003).

Com marcadores RAPD e microssatélites foram feitas medidas de diversidade molecular estimando-se a variação genética quantitativa de caracteres de crescimento, usando como material de investigação os dados disponíveis obtidos de *Eugenia dysenterica* (cagaiteira), família Myrtaceae. O resultado demonstrou as fracas correlações entre as medidas de divergência, obtidas entre os marcadores moleculares considerados, reduziram a expectativa de uma boa correlação entre essas medidas e a variação genética de caracteres quantitativos (AGUIAR et al., 2010).

Foram feitas análises genéticas de *Lychnophora ericoides* (arnica), família Asteraceae e *Musa spp* (bananeira), família Musaceae, com marcadores RAPD para avaliar o grau de variabilidade genética, e os resultados mostraram que a grande variabilidade genética identificada na arnica e na banana indica boas perspectivas de explorar a diversidade encontrada em tais grupos e um efeito direto no trabalho para a conservação das espécies. Essa tecnologia também foi aplicada na caracterização molecular de 22 genótipos de butiazeiro da espécie *Butia capitata* (Arecaceae) pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma (BAG) da Universidade Federal de Pelotas (UFPel) e para avaliar a variabilidade genética de 21 cultivares de banana (*Musa spp*) da Embrapa Mandioca e Fruticultura e Embrapa Amazônia Ocidental introduzidos na UENF. Os marcadores revelaram uma alta variedade genotípica em ambos os trabalhos, segundo os autores e, com isso, abriram caminhos para um possível programa de melhoramento genético das espécies (SOUSA et al., 2008; NUNES et al., 2008; MELO et al., 2009).

Em matrizes de *Maytenus ilicifolia* e *Maytenus aquifolium* (espinheira-santa), família Celastraceae, pertencentes ao banco ativo de germoplasma da Embrapa Clima Temperado e Universidade Federal de Pelotas (UFPel), RS, tem sido analisado através de marcadores moleculares do tipo RAPD a variabilidade fenotípica para alguns caracteres morfológicos e a distância genética entre as espécies *Maytenus ilicifolia* e *Maytenus aquifolium*. Os resultados mostraram grande variabilidade fenotípica para todos os caracteres avaliados, indicando também proximidade genética entre as espécies de *Maytenus ilicifolia* e *Maytenus aquifolium* (MARIOT et al., 2008).

Com marcadores AFLP foi realizado um estudo em isolados do fungo *Colletotrichum guaranicola*, na busca de estratégias de como lidar com esse fungo que está causando danos ao *Paullinia cupana* (guaraná do Amazonas), família Sapindaceae. Nesse sentido, o objetivo era conhecer a variabilidade genética de isolados de *C. guaranicola* e a partir daí propor alternativas para a conservação do guaraná do Amazonas. De acordo com Bentes et al. (2008) os marcadores AFLP mostraram que o fungo que estava infectando o guaraná pertencia a mesma espécie, no entanto, havia variações genotípicas intraespecíficas.

Santos e Oliveira (2008), construíram um fenograma baseado em marcadores AFLP, para esclarecer as inter-relações entre seis espécies de *Spondias* (Anacardiaceae), e com isso, subsidiar a exploração das espécies como porta-enxerto

e fornecer informações genômicas dessas espécies. O trabalho mostrou que indivíduos de *Spondias cytherea* (cajá-manga), *Spondias tuberosa* (umbuzeiro) e *Spondias purpurea* (ciriguela) posicionaram-se no grupo de cada espécie, enquanto indivíduos de *Spondias mombin* (cajá), *Spondias ssp.* (umbu-caja) e *Spondias ssp.*(umbuguela) não formaram grupos-espécie específicos no fenograma com dados de AFLP.

Os marcadores SCARs têm sido usados em plantas da espécie *Mangifera indica* (mangueira), também da família Anacardiaceae, com o intuito de acessar diretamente o DNA e dessa forma eliminar os fungos *Fusarium subglutinans* que estão destruindo o desenvolvimento da espécie. Neste caso, marcadores RAPD foram convertidos em marcadores SCARs para comprovar a segregação mendeliana do caráter resistência a doenças. O resultado foi bem sucedido para a eliminação *Fusarium subglutinans*, no entanto, esses fungos possuem grande variedade genética o que dificulta um programa de melhoramento genético que segundo os autores essa variedade do fungo implica na resistência a doença (ZACARRO et al., 2007).

A *Ilex paraguariensis* (erva-mate), família Aquifoliaceae, está sendo estudada no Brasil, e foi observado que não existe cultivares definidas e, portanto, não há uniformidade de produção e de características qualitativas, isso devido a essa planta não possuir padrões fenotípicos. A caracterização genética, mediante o uso de marcadores moleculares de RAPD, poderá oferecer algumas informações mais estáveis quanto a caracteres fenotípicos. Uma vez que o fenótipo é a expressão do genótipo em condições ambientais específicas, este pode mudar com o ambiente. Neste caso o objetivo era buscar uma marca mais efetiva na caracterização de plantas naturais de erva-mate, que apresentavam distinto sabor na infusão de suas folhas. No entanto foi visto que não é possível afirmar, com este estudo, se já existe um marcador molecular que identifique o caráter sabor de erva-mate, relacionado com o tipo de folha (VIDOR et al., 2002).

A técnica de eletroforese de isoenzimas foi utilizada para diferenciar sementes de *Euterpe espirosantensis* (palmito-vermelho), *Euterpe edulis* (juçara) e *Euterpe oleracea* (açai), pertencentes à família Arecaceae, utilizando nove sistemas enzimáticos. Os resultados produziram um efeito positivo para quatro dos sistemas enzimáticos utilizados demonstrando diferenciação nas sementes das espécies em questão, no entanto, os outros cinco sistemas não foram satisfatórios na diferenciação (MARTINS et al., 2006).

4 CONCLUSÃO

As informações aqui apresentadas mostram que os marcadores moleculares mais utilizados para as famílias em estudo foram o RAPD, o AFLP e os microssatélites.

Na família Passifloraceae a maioria dos trabalhos realizados foi para analisar a variabilidade genética das espécies, sendo que os três tipos de marcadores moleculares utilizados apresentaram grande variabilidade.

Na família Leguminosae algumas espécies apresentaram grande variabilidade genética como o *Stryphnodendron adstringes*, *Piptadenia moniliformis*, *Cassia grandis* e *Schizolobium palyba*. Para as outras espécies mencionadas no texto não foi possível identificar variabilidade genética elevada.

Diante do que foi analisado percebe-se que a variabilidade genética encontrada nas famílias em estudo é muito importante, pois é através dela que muitos estudos voltados para a conservação dessa flora poderão ser realizados.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, A. V. et al. Relação entre a variação genética de caracteres quantitativos e marcadores moleculares em subpopulações de cagaiteira (*Eugenia dysentericad*)1. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal – SP: [s.n.], v. 33, n. 1, p. 157-169, Março, 2011.
- BARBIERE, R. L. Ano Internacional da biodiversidade, 2010.
- BELLON, et al. Variabilidade genética de acessos silvestres e comerciais de *Passiflora edulis* Sims com base em marcadores RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 29, n. 1, p. 124-127, Abril, 2007.
- BENTES, J, L, S; NETO, P, Q, C. Variabilidade genética de *Colletotrichum guaranicola* usando marcadores AFLP. **Acta Amazônica**: [S.l.: s.n.]. vol. 41(2): 251 – 256, 2011.
- BERED, F. et al. **Marcadores moleculares e sua aplicação no melhoramento genético de plantas**. Ciência Rural, Santa Maria: [s.n.] v. 27, n. 3, p. 513-520, 1997.
- BIANCHI, V. J; FACHINELLO, J. C; SCHUCH, M. W. RAPDs na caracterização genético-molecular e no estudo da variabilidade genética de cultivares de ameixeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal – SP: [s.n.], v. 25, n. 2, p. 272-274, Agosto, 2003.
- CAIXETA, R. P. et al. Variações genéticas em populações de *Eucalyptus spp.* detectadas por meio de marcadores moleculares. **Revista Árvore**, Viçosa-MG: [s.n.], v.27, n.3, p.357-363, 2003.
- CUNHA, M. A. S. **Análise molecular da variabilidade genética entre genótipos de *Ricinus communis* L. revelada por marcadores**. 2006. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Alagoas, Alagoas, 2006.

DÂMASO, J. R. M. **Avaliação morfoagronômica e molecular de híbridos e cultivares de maracujá azedo no agreste pernambucano.** 2010. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2010.

FACANALI, R. **Caracterização da diversidade genética e da composição química dos óleos essenciais de populações de *ocimum selloi* benth.** 2004. Dissertação de mestrado, Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2004.

FERREIRA, T. G. T. et al. **Estimativa da taxa de Cruzamento de *Passiflora alata* Curtis utilizando marcadores moleculares.** São Paulo, 2005. Disponível em< <http://www.scielo.org/>>. Acesso em: 21 de set de 2013.

FIGUEIREDO. J. A.G. **Bioprospecção, caracterização morfológica e molecular de endófitos de *Maytenus ilicifolia*, com ênfase em *Pestalotiopsis* spp.** Curitiba: [s.n.], 2006. Tese de doutorado, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

FONSECA, K. G. et al. Análise da recuperação do genitor recorrente em maracujazeiro-azedo por meio de marcadores RAPD1. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP: [s.n.], v. 31, n. 1, p. 145-153, Março, 2009.

GANGA, M. R. D. et al. Diversidade genética em maracujazeiro-amarelo utilizando marcadores moleculares AFLP1. **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal – SP: [s.n.], v. 26, n. 3, p. 494-498, Dezembro, 2004.

GONÇALVES, A. C. et al. Conservação de *Dimorphandramollis* benth (fabaceae) baseada na estrutura genética de populações naturais1. **Revista Árvore**, Viçosa-MG: [s.n.], v.34, n.1, p.95-101, 2010.

GOES, P. R. N. et al. **Disponibilidade, usos e limitações dos marcadores moleculares em espécies animais de reprodução.** Paraná, 2008.

GOIS, I. B. **Variabilidade genética entre e dentro de populações naturais de *Zizyphus jazeiro* Mart. E *Cassia grandis* L.f., por meio de marcadores moleculares.** 2010. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Sergipe, Sergipe, 2010. Disponível em: <http://www.scielo.org/>. Acesso em: 21 set, 2013.

JOLY, A. B. **Botânica: Introdução à taxonomia vegetal.** 12. ed. São Paulo: Nacional, 1998.

JUNQUEIRA, K. P. et al. Diversidade genética de pitayas nativas do cerrado com base em marcadores RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal – SP: [s.n.], v. 32, n. 3, p. 819-824, Setembro, 2010.

JUNQUIERA, K. P. et al. Confirmação de híbridos interespecíficos artificiais no gênero *Passiflora* por meio de marcadores rapd1. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP: [s.n.], v. 30, n. 1, p. 191-196, Março, 2008.

JUNQUIERA, K. P. et al. **Variabilidade genética de acessos de maracujá-suspiro (*Passiflora nitida* Kunth.) com base em marcadores moleculares.** Brasília, p.123-127, 2007. Disponível em:< <http://www.scielo.org/>>. Acesso em: 21 de set de 2013.

LOSS, A.C .C. et al. **Diversidade genética de populações de maracujá-doce (*Passiflora alata* Curtis) no estado do Espírito Santo, Brasil.** Espirito Santo, p.56-61, 2006. Disponível em:< <http://www.linkatual.com.br/googleacademico.html>>. Acesso em: 19 de set de 2013.

MARIOT, M. P.; BARBIERIN, R. L.; RIBEIRO, M. V. **Variabilidade em matrizes de acessos de espinheira-santa.** Ciência Rural, Santa Maria, v.38, n.2, p. 351-357, mar-abr, 2008. Disponível em:< <http://www.linkatual.com.br/googleacademico.html>>. Acesso em: 19 de set de 2013.

MARTINS, C. C. Isoenzimas na diferenciação de sementes de três espécies do gênero *euterpe*. **Revista Árvore**, Viçosa-MG: [s.n.], v.31, n.1, p.51-57, 2007. Disponível em: < <http://www.scielo.org/>. Acesso em: 19 de set de 2013.

MELO L. Q; CIAMPI, A. Y & Roberto Fontes Vieira, R. F. A análise da variabilidade genética de arnica (*Lychnophoraericoides* Less.- *Asteraceae*) usando marcadores RAPDs. **Acta Botânica brasílica**. [S.l.: s.n.]. vol. 23(1): 259-266. 2009. Disponível em:< <http://www.linkatual.com.br/googleacademico.html>>. Acesso em: 19 de set de 2013.

MENDONÇA, P. C. **Caracterização da diversidade genética de *Stryphnodendron adstringens* (mart.) coville por marcador molecular AFLP e transferência de microssatélites**. 2011. Tese de doutorado, Universidade Estadual Paulista, São Paulo, 2011.

MILLACH, S. C. K. **Marcadores moleculares nos recursos genéticos e no melhoramento de plantas**. Rio Grande do Sul: [s.n.], 2001.

NUNES, A. M. et al. Caracterização molecular de butiazeiro por marcadores RAPD1. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP: [s.n.], v. 30, n. 3, p.702 –707, Setembro, 2008.

QUEIRÓZ, M, A. **Os recursos genéticos vegetais e os melhoristas de plantas**. Petrolina-PE: [s.n.], 2001.

SANTANA, et al. Diversidade genética de *Enterolobium contortisiliquum*(vell.) morong no baixo rio São Francisco, por meio de marcadores RAPD1. **Revista Árvore**, Viçosa-MG: [s.n.], v.32, n.3, p.427-433, 2008.

SANTOS, F.O. **Atividades biológicas de *Anacardium occidentale* (Linn)**. Patos, PB: UFCG, 2011. 57 p. Dissertação Mestrado em Zootecnia, Paraíba, 2011.

SANTOS, C. A. F; OLIVEIRA, V.R. Inter-relações genéticas entre espécies do gênero *Spondias* com base em marcadores aflp. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP: [s.n.], v. 30, n. 3, p. 731-735, Setembro 2008.

SAWAZAKI. H. E; BARBOS. W. E; COLOMBO. C. A. Caracterização e identificação de cultivares e seleções de pereiras através de marcadores RAPD.

Revista Brasileira de Fruticultura, Jaboticabal – SP: [s.n.], v. 24, n. 2, p. 447-452, Agosto, 2002.

SEIXAS, F. **Marcadores Moleculares**. Pelotas: [s.n.], março, 2011.

SOUSA, C. M. P. et al. Avaliação da dissimilaridade genética em genótipos de bananeira (*musa spp.*) via marcadores RAPD1. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal-SP: [s.n.], v. 30, n. 2, p. 419-424, Junho, 2008.

VIDOR, M.A. et. al. **Marcadores moleculares em estudos de caracterização de erva-mate (*ilexparaguariensis St.Hil.*): o sabor**. Ciência Rural, Santa Maria, v.32, n.3, p.415-420, 2002.

ZACARRO, R. P; et al. Utilização de marcador molecular SCARs na identificação de *fusariumsubglutinans*, agente causal da malformação da mangueira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 29, n. 3, p. 563-570, Dezembro, 2007.