



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

KARLOANE DE SOUSA COSTA

**UTILIZAÇÃO DE MARCADORES MOLECULARES EM ESPÉCIES DE
PLANTAS CARACTERÍSTICAS DO BIOMA CERRADO**

PICOS-PI

2013

KARLOANE DE SOUSA COSTA

**UTILIZAÇÃO DE MARCADORES MOLECULARES EM ESPÉCIES DE
PLANTAS CARACTERÍSTICAS DO BIOMA CERRADO**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Piauí, Campus de Picos, como requisito para a obtenção do grau de Licenciatura em Ciências Biológicas.

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

PICOS-PI

2013

Eu, **Karloane de Sousa Costa**, 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, 12 de março de 2014.

Karloane de Sousa Costa.

Assinatura

FICHA CATALOGRÁFICA

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

C837u Costa, Karloane de Sousa.
Utilização de marcadores moleculares em espécies de plantas características do bioma cerrado / Karloane de Sousa Costa. – 2013.
CD-ROM : il; 4 ¾ pol. (30 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 do Cerrado. 3. Revisão de Literatura. I. Título.

581.4

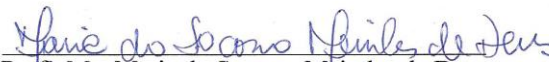
KARLOANE DE SOUSA COSTA

**UTILIZAÇÃO DE MARCADORES MOLECULARES EM ESPÉCIES DE
PLANTAS CARACTERÍSTICAS DO BIOMA CERRADO**

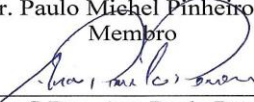
Trabalho de conclusão de curso apresentado à Coordenação do Curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Piauí, Campus Senador Helvídio Nunes de Barros, como requisito para a obtenção do grau de Licenciatura em Ciências Biológicas.

Data de aprovação: 19/09/2013

Banca Examinadora:


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


Prof. Dr. Paulo Michel Pinheiro Ferreira
Membro


Prof.^a Dra. Ana Paula Peron
Membro

Prof.^a Dra. Ana Carolina Landim Pacheco
Suplente

PICOS – PI

2013

Dedico este trabalho primeiramente a Deus e depois a minha amada família que sempre me deram forças para continuar a minha jornada não só profissional, mas em todos os setores da minha vida e aos docentes que me prepararam durante todo o curso dividindo comigo os seus conhecimentos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço de modo especial a **Deus**, por estar sempre acompanhando meus passos e por ter sempre a sua presença ao meu lado, algo que me faz conseguir superar os obstáculos no meu caminho e que me consola e alivia diante das dificuldades.

Aos **meus pais**, pelo seu amor incondicional, por estarem sempre presente em todos os momentos da minha vida dando apoio e compreensão como também por tornar possível esta conquista. Obrigada por serem aquelas pessoas as quais sempre pude contar e por jamais terem me abandonado independentemente das aprovações da vida pelas quais tivemos que passar, o meu amor por vocês é incalculável.

Ao **meu irmão Karpegiany**, que embora sua presença fosse por vez inconstante em alguns momentos da minha vida, nem por isso deixou de ser fundamental na minha busca em alcançar os objetivos que tracei. Obrigada por ter compartilhado comigo os sucessos e os tropeços, te amo de mais.

A **minha amiga de toda a vida Lucilene**, que sempre me acompanhou nas dificuldades bem como também nas alegrias que a vida me impôs até hoje, sempre me ajudando a alcançar os meus objetivos de vida e me presenteando com uma linda afilhada Iara Sofia.

A **minha orientadora Socorro Meireles**, pela compreensão e auxílio constante diante das minhas inúmeras dificuldades, por ter me orientado no momento crucial da minha vida profissional.

As **minhas amigas inseparáveis de curso Cristiane e Michele** que me proporcionaram não só valiosas trocas de conhecimento e experiências, mas também momentos de prazer e descontração mesmo diante das responsabilidades exigidas pelo curso.

Agradeço as minhas amigas (os), minhas (meus) colegas e a todos que de maneira direta ou indireta contribuíram para o meu sucesso profissional e pessoal.

“Agradeço todas as dificuldades que enfrentei não fosse por elas, eu não teria saído do lugar. As facilidades nos impedem de caminhar. Mesmo as críticas nos auxiliam muito.”

Chico Xavier

RESUMO

Marcadores moleculares são amplamente utilizados para estudos de genética populacional, mapeamento e análises de similaridade e ainda, distância genética. Além disso, é possível, com estes, identificar acessos de plantas, isolados de um microrganismo ou até completar estudos de sistemática. Para este estudo os dados foram coletados a partir de levantamento bibliográfico realizado em trabalhos relacionados ao tema. 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 disponível na internet. Objetivando averiguar a utilização de marcadores moleculares em plantas características do cerrado. Com esta revisão foi possível observar que dentre os marcadores utilizados em plantas os AFLP, RAPD e MICROSSATELITES são os mais usados na vegetação característica do cerrado. Sendo assim, concluímos que os marcadores moleculares são importantes para a conservação genética das famílias pertencentes tanto ao bioma cerrado como nos demais biomas, sendo fundamental estimular pesquisas sobre o tema para que se possa ter um conhecimento mais profundo sobre essas famílias como tantas outras espécies no intuito conhecê-las para preservar o cerrado.

PALAVRAS-CHAVE: Marcadores moleculares. Plantas do cerrado. Revisão de literatura.

ABSTRACT

Molecular markers are widely used for studies of population genetics, mapping and analysis of similarity and also genetic distance. Furthermore, it is possible with them, to identify accesses plants, isolated from a microorganism or until complete systematic studies. For this study data were collected from literature on related work on the topic. The material examined was found in the public library of the Federal University of Piauí (UFPI), master's theses, doctoral dissertations and scientific articles in journals database scielo and other sites available on the internet. Evaluated to assess the use of molecular markers in plant characteristics of the cerrado. With this revision was possible to observe that among the markers used in the plants AFLP, RAPD and microsatellites are the most used in the characteristic vegetation of the cerrado. Thus, we conclude that the molecular markers are important for the conservation genetics of families belonging to both the Cerrado and in other biomes, being essential to stimulate research on the topic so you can have a deeper understanding of these families as many other species in order to preserve them know the savannah.

KEYWORDS: Molecular markers. Cerrado plants. Literature review.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Planta Anacardiaceae <i>Mangifera indica</i>	17
Figura 2 - Planta Anacardiaceae <i>Schinopsis brasiliensis</i>	18
Figura 3 – Planta Anacardiaceae <i>Myracrodruon urundeuva</i>	18
Figura 4 - Planta Anacardiaceae <i>Anacardium occidentale</i>	19
Figura 5 – Planta Myrtaceae <i>Psidium guajava</i>	20
Figura 6 – Planta Myrtaceae <i>Psidium cattleyanum</i>	20
Figura 7 – Planta Myrtaceae <i>Eugenia uniflora</i>	20
Figura 8 – Planta Myrtaceae <i>Eucalyptus ssp</i>	21
Figura 9- Planta Myrtaceae <i>Myrciaria cauliflora</i>	22
Figura 10 – Planta Myrtaceae <i>Myrciaria jaboticaba</i>	22
Figura 11- Planta Myrtaceae <i>Myrciaria coronata</i>	22
Figura 12– Planta Myrtaceae <i>Myrciaria trunciflora</i>	22
Figura 13– Planta Myrtaceae <i>Eugenia dysenterica</i>	23
Figura 14 – Planta Myrtaceae - <i>Campomanesia adamantium</i>	23
Figura 15–Planta Myrtaceae <i>Eugenia klotzschiana</i>	24

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2.1 Marcadores moleculares.....	14
2.1.1 RAPD.....	14
2.1.2 AFLP.....	15
2.1.3 Microssatelites.....	15
2.2 Marcadores utilizados em plantas de famílias características do cerrado.....	16
2.2.1 A família anacardiaceae.....	17
2.2.2 A família myrtaceae	20
3 METODOLOGIA.....	26
4 CONCLUSÃO.....	27
REFERÊNCIAS.....	28

1- INTRODUÇÃO

Os marcadores moleculares surgiram devido à necessidade da detecção de polimorfismo genético diretamente no DNA e representam o terceiro grupo de marcadores moleculares, sendo o primeiro os descritores morfológicos e em segundo os descritores de proteína e enzimas e em terceiro os descritores de DNA a qual os marcadores fazem parte, onde os morfológicos são usados predominantemente por melhoristas, mais apresentam limitações. Os descritores de enzimas e proteínas passaram a ser utilizados efetivamente em identificação de cultivares na década de 70, o seu uso passou a ser um avanço para o melhoramento de plantas por possibilitar a estimativa de distancia genética entre genótipos. Dez anos após os primeiros trabalhos com descritores de enzimas e proteínas surgiram os de DNA capazes de detectar variações genéticas adicionais. O principal avanço desta técnica é a possibilidade de acessar diretamente o genoma de um individuo evitando assim a expressão do fenótipo e a influencia do meio sobre este enquanto os de enzimas e proteínas mostram apenas as regiões ativas na expressão gênica. Existem diversas razões para que os marcadores moleculares apresentem vantagens sobre os marcadores morfológicos convencionais. Em comparação com caracteres morfológicos, os marcadores moleculares exibem neutralidade fenotípica, raramente exibem interações epistáticas (um gene inibi a ação de outro que não é seu alelo) ou pleiotrópicas (um mesmo par de alelos sendo responsável pela determinação de dois ou mais caracteres), podendo ser detectados tanto em tecidos jovens como em adultos (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998).

Os marcadores moleculares de DNA têm sido usados para sinalização de genes de resistência a doenças, insetos e pragas; avaliação e caracterização de germoplasma; melhoramento dos pais de híbridos; introgressão gênica (fluxo de genes) de uma espécie para o acervo genético de outra através de repetidos retrocruzamentos entre um híbrido e sua original geração progenitora e seleção auxiliada por marcadores; desenvolvimento de mapas genéticos; determinação de grupos heteróticos e associação com regiões genômicas que afetam heterose; reconstituição de pedigrees; testes de pureza genética; seleção de resistência a patógenos exóticos ainda inexistentes em determinada região; associação com caracteres quantitativos; estudos de interação genótipo-ambiente; processos legais, entre outros (RAFALSKI; TINGEY, 1993).

Dentre as variações da técnica de análise de polimorfismos no DNA, as mais utilizadas, tanto por motivos de maior confiabilidade quanto por um menor custo, tempo

reduzido, dentre outras particularidades, estão: *Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP)*, *Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)*, *Sequence-Characterized Amplified Regions (SCAR)*, *Restriction Fragment Length Polymorphism DNA (RFLP)*, *Microssatélites ou short tandem repeats (STRs)* (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1995).

As tecnologias de marcadores moleculares estão evoluindo rapidamente e modificações já existem para algumas das técnicas acima mencionadas. Todavia, os tipos de marcadores aqui mencionados são os que ainda estão sendo utilizados para caracterização de cultivares. Tãmanha é a importância dos inúmeros estudos desenvolvidos a respeito desses marcadores, que existem diversos bancos de dados específicos para diferentes tipos de marcador (MILACH, 1998).

Os marcadores moleculares vêm sendo utilizados em plantas de diferentes taxas, na busca de solucionar problemas de classificação taxonômica para identificar componentes moleculares dessas plantas. Isso é importante, pois garante um melhor conhecimento dessas plantas, bem como uma caracterização mais eficiente do germoplasma e maximização dos ganhos genéticos. Dessa forma, a utilização de marcadores moleculares em plantas traz como resultado a preservação de genes e a manutenção das espécies existentes. Portanto, este trabalho teve como objetivo averiguar, a partir de revisão bibliográfica, a utilização de marcadores moleculares em plantas de famílias características do bioma do Cerrado.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 MARCADORES MOLECULARES

Existem vários tipos de Marcadores Moleculares, entretanto os mais usados são os *RAPD* (*Random Amplified Polymorphic DNA*), *AFLP* (*Amplified Fragment Length Polymorphism*), *SSR* (“Simple Sequence Repeats” ou “Microsatélites”), (Hamada et al., 1982; Litt & Luty, 1989).

2.1.1 RAPD

O *RAPD* (*Random Amplified Polymorphic DNA*) é um dos mais utilizados. Esta técnica baseia-se na amplificação do fragmento de DNA, que é flanqueado por um par de oligonucleotídeos que hibridizam em direções opostas à sequência-alvo, por meio de ciclos de desnaturação, anelamento do primer e extensão pela enzima Taq polimerase (Ferreira & Grattapaglia, 1998).

A técnica que envolve a detecção de Polimorfismo do DNA Amplificado ao acaso (*RAPD*) tem sido eficiente na caracterização de genótipos em várias espécies, antes que as características fenotípicas sejam expressas. Essa técnica é considerada um método rápido em relação ao *RFLP* e produz maior número de marcadores em relação às isoenzimas (Zimback et al., 2003).

Embora algumas técnicas mais recentes, como *AFLP* e *SSR*, sejam preferidas por serem mais informativas, muitas vezes os *RAPDs*, devido à sua simplicidade, baixo custo e menor infraestrutura requerida, ainda são os escolhidos, principalmente por laboratórios que não possuem equipamentos para técnicas mais elaboradas (Upadhyay et al., 2004).

Entretanto, esses marcadores são usualmente dominantes e sensíveis a pequenas alterações das condições de amplificação, tendo, assim, baixa reprodutibilidade, além de outras desvantagens, como ambigüidade na interpretação das bandas e co-migração de fragmentos de igual tamanho (Ferreira & Grattapaglia, 1998). Para aumentar a confiabilidade desses marcadores e convertê-los em marcadores co-dominantes, Paran & Michelmore (1993) desenvolveram os marcadores *SCAR* (Região amplificada de sequência caracterizada). Marcadores *SCAR* são derivados de marcas *RAPD* pelo desenvolvimento de oligonucleotídeos maiores. Após a seleção da marca *RAPD*, o

fragmento é clonado e sequenciado, e é sintetizado um par de oligonucleotídeos de aproximadamente 24 pares de bases. Esses oligonucleotídeos SCAR são utilizados para amplificar as regiões específicas do DNA genômico.

2.1.2 AFLP

Dentre os marcadores mais utilizados atualmente para estudos de genética populacional, o *AFLP* (*amplified fragment length polymorphism*) é uma técnica multilocus (Vos et al., 1995) com alto índice de eficiência devido à possibilidade de analisar um grande número de bandas simultaneamente com ampla cobertura do genoma. O perfil de bandas de *AFLP* é o resultado de variações nos sítios de restrição das enzimas utilizadas (Spooner et al., 2005). Uma de suas vantagens é que pode ser usada em organismos para os quais não existem informações genéticas prévias (Bonin et al., 2007; Vuylsteke et al., 2007), como é o caso de *Butia*.

A técnica de AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) (Vós et al. 1995) foi utilizada para análises moleculares em diversos microrganismos fitopatogênicos (O'Neill et al. 1997; Talhinhos et al. 2002; Peres et al. 2003; Dini-Andreote et al. 2009) permitindo a análise de um grande número de locos por reação com reprodutibilidade dos resultados (Ferreira e Grattapaglia 1996) e pode ser aplicada também a estudos de segregação de genes, visando determinar as bases genéticas e moleculares de fenômenos biológicos em fungos fitopatogênicos, virulência e em estudos taxonômicos (O'Neill et al. 1997; Silva-Mann et al. 2005; Rodrigues 2010).

2.1.3 MICROSSATELITES

Os marcadores moleculares podem ser utilizados para caracterizar o DNA de um indivíduo em um padrão ou perfil de fragmentos que lhe é particular. Neste caso são utilizados marcadores polimórficos, ou seja, regiões que apresentam mais de um alelo por locus; em locis forenses o alelo mais comum tem a frequência menor que 0,6 (DUARTE et al.,2001).

O método de STR (*Short Tandem Repeats*) é mais usado hoje em dia e estuda regiões repetitivas de DNA chamadas de minissatélites (VNTRs) e microsatélites (STRs).

Os microssatélites são os mais polimórficos e consistem em pequenas seqüências com um a cinco pares de base que se repetem em série em número variável (geralmente de uma dezena a uma centena de vezes). Geralmente, os microssatélites identificam um único loco no genoma e, por sua alta taxa de mutação, são frequentemente multialélicos, além de segregarem de modo co-dominante.

Os marcadores microssatélites têm eliminado a necessidade de cruzamentos distantes para maximizar o polimorfismo molecular, ou seja, qualquer cruzamento é potencialmente informativo para o mapeamento molecular. Isto é particularmente importante para espécies autógamas, como é o caso de trigo (Ferreira & Grattapaglia, 1998).

Contudo, esses marcadores requerem a construção de biblioteca genômica enriquecida para seqüências microssatélites, sequenciamento desses clones e desenho dos *primers*. Microssatélites estão sendo desenvolvidos em alguns laboratórios do mundo para diversas culturas, como milho, arroz e trigo (Roder et al., 1995; Rongwen et al., 1995; Devos et al., 1995).

2.2 Marcadores utilizados em plantas de famílias características do cerrado

O Bioma Cerrado brasileiro, com grande diversidade de formas fitofisionômicas, ocorre em 15 estados e no Distrito Federal, ocupando uma área de aproximadamente dois milhões de km², a qual corresponde a um quarto da superfície do país.

O Cerrado possui uma vegetação florestal que ocorre tanto em solos distróficos enquanto mesotróficos, sendo sua composição florística variável conforme a fertilidade do solo, a distribuição e manutenção das diferentes fitofisionomias do Bioma Cerrado estão relacionadas com fatores edáficos e topográficos, além da ocorrência de fogos e perturbações antrópicas. (JUNIOR & HARIDASAN, 2005).

O Cerrado é cortado por três das maiores bacias hidrográficas da América do Sul, tem índices pluviométricos regulares que lhe propiciam sua grande biodiversidade. Tendo como ecossistemas do bioma Cerrado do Brasil o: cerrado, cerradão, campestre, floresta de galeria, cerrado rupestre. Há também os ecossistemas de transição com os outros biomas que fazem limite com o Cerrado.

A paisagem do Cerrado possui alta biodiversidade, embora menor que a mata atlântica e a floresta amazônica. Pouco afetado até a década de 1960, está desde então crescentemente ameaçado, principalmente os cerradões, seja pela instalação de cidades

com incêndios e rodovias, seja pelo crescimento das monoculturas, como soja e o arroz, a pecuária intensiva, a carvoaria e o desmatamento causado pela atividade madeireira e por frequentes queimadas, devido às altas temperaturas e baixa umidade, quanto ao infortúnio do descuido humano.

Nas regiões onde o cerrado predomina, o clima é quente e há períodos de chuva e de seca, com incêndios espontâneos esporádicos, com alguns anos de intervalo entre eles, ocorrendo no período da seca.

A vegetação, em sua maior parte, é semelhante à de savana, com gramíneas, arbustos e árvores esparsas. As árvores têm caules retorcidos e raízes longas, que permitem a absorção da água - disponível nos solos do cerrado abaixo de 2 metros de profundidade, mesmo durante a estação seca do inverno.

2.2.1 A família Anacardiaceae

A família Anacardiaceae compreende uma das maiores da ordem Sapindales, com aproximadamente 79 gêneros e cerca de 700 espécies com distribuição predominantemente nas regiões tropicais e subtropicais de todo o mundo, ocorrendo também nas regiões temperadas. É conhecida por suas espécies frutíferas. Entre elas: manga *Mangifera indica*, originária da Ásia e caju, *Anacardium occidentale*, nativo do Brasil. São geralmente, árvores ou arbustos com canais resinosos que, quando expostos por injúrias, têm um cheiro característico. Sua madeira é de boa qualidade e muitas substâncias são extraídas para uso na indústria e na medicina (JOLY., 1998).

As relações genéticas dos acessos do banco de germoplasma de mangueira, *Mangifera indica* (Figura 1), da Embrapa do Semi-Árido, tem sido determinada com base no marcador AFLP, de forma a orientar trabalhos de melhoramento genético e de manejo de recursos genéticos da espécie. Foram observados quatro grupos entre os 105 acessos de mangueira estudados, sendo que dois acessos do gênero *Mangifera* formaram grupo adicional externo no fenograma. Das 53 cultivares brasileiras estudadas, oriundas de recombinações genéticas espontâneas, 43 cultivares constituíram um grupo. Os acessos Carabão e Manilla, da raça filipínica, apresentaram a maior similaridade, 97%. Os acessos estudados, de diferentes origens e tipo de reprodução, apresentaram similaridade superior a 51%, evidenciando a alta variabilidade genética da coleção de germoplasma de mangueira estudada (SANTOS., 2008).



Figura 1- planta *Mangifera indica*

Santos et al, (2011) desenvolveu um estudo com o objetivo de estimar taxas de polinização cruzada em *Spondias tuberosa* (umbuzeiro) utilizando-se de marcador AFLP, onde Os resultados indicaram que o umbuzeiro é predominantemente de polinização cruzada e há necessidade de amostras amplas para preservar a variabilidade genética da espécie.

Marcadores RAPD tem sido utilizados para determinar a diversidade genética existente entre os materiais de *Spondias tuberosa* (umbuzeiros) prospectados no jardim clonal da EPAMIG na região Norte do Estado de Minas e para estudar a dispersão da variabilidade genética, para as espécies *Schinopsis brasiliensis* (baraúna) (Figura 2) e *Myracrodruon urundeuva* (aroeira) (Figura 3), com base no marcador de DNA RAPD, para subsidiar estratégias de prospecção e preservação da variabilidade genética destas espécies, seja *in situ* ou *ex situ*. Os estudos mostraram que a variabilidade genética da aroeira e baraúna não está uniformemente dispersa por todo o semi-árido brasileiro, mas sim por ecorregiões. Sendo assim sugerem-se estratégias que resultem no estabelecimento de um maior número de áreas de proteção ambiental para conservação *in situ* ou amostragens de um maior número de indivíduos, em diferentes Unidades de Paisagens para preservação *ex situ* (SANTOS et al., 2007; MOREIRA et al., 2007)



Figura 2- *Schinopsis brasiliensis*



Figura 3- *Myracrodruon urundeuva*

Ainda com este marcador foi realizado um estudo para determinar a variabilidade genética entre os acessos de, *Spondias mombin* (cajá) da Coleção de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte utilizando marcadores RAPD, a fim para selecionar genótipos para uso em cultivo comercial e em projetos de melhoramento. A técnica RAPD mostrou ser confiável e eficiente para revelar a diversidade genética de acessos de cajá que será útil para programas de melhoramento genético (Lima et al., 2011).

Para avaliar a estrutura genética e o padrão espacial da variabilidade genética entre populações naturais de *Anacardium occidentale* (Figura 4) pertencentes ao ecótipo do Cerrado foi utilizado marcador microsatélite a partir do teste de Mantel ($r=0,06/P=0,635$), sendo assim possível verificar que a variabilidade genética existente nas populações não se encontra estruturada espacialmente. Estes resultados permitem sugerir que o tamanho efetivo histórico das populações de *Anacardium occidentale* provavelmente é grande e os efeitos da deriva genética não são suficientes para sobrepor aos efeitos dos outros fatores microevolutivos e do sistema reprodutivo (OLIVEIRA et al., 2012).



Figura 4- (*Anacardium occidentale*)

2.2.2 A família Myrtaceae

Compreende cerca de 100 gêneros com aproximadamente 3.000 espécies, sendo a maior família da ordem Myrtales, com dois grandes grupos de dispersão, nas Américas e na Austrália, embora ocorram em todo o mundo. São plantas lenhosas, arbustiva ou arbórea representada nas Américas principalmente pelas plantas frutíferas. Exemplo: jambo, pitanga e uvalha (*Eugenia* spp.); goiaba e araçá (*Psidium* spp.); jabuti caba e cambuí (*Myrciaria* spp.). Outro gênero de grande importância é o *Eucalyptus* spp nativo da Austrália. Atualmente ele é cultivado em larga escala nas regiões tropicais (principalmente África e Brasil) para obtenção de matéria-prima como: madeira serrada, celulose na fabricação de papel e carvão vegetal (JOLY, 1998).

Marcadores AFLP tem mostrado ser eficiente no estudo da variabilidade genética de acesso de *Psidium guajava* (goiabeira) (Figura 5) e *Psidium cattleianum* (araçazeiro) (Figura 6) do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Semiárido, sendo capaz de fornecer subsídios para programas de melhoramento genético do gênero *Psidium* (CORRÊA et al., 2011).



Figura 5- *Psidium guajava*



Figura 6- *Psidium cattleianum*

A caracterização molecular de acessos de Myrtaceae foi avaliada em trabalhos prévios de reação a *M. enterolobii*, possíveis de serem utilizados como porta-enxertos para cultivares comerciais de goiabeira. Os marcadores AFLP foram eficientes em agrupar os acessos de araçazeiro de acordo com a espécie e aproximam os acessos considerados resistentes ao nematoide *M. enterolobii* (ALMEIDA et al, 2012)

Foram utilizados marcadores AFLP para a avaliação de populações de plantas de *Eugenia uniflora* (pitangueira) (Figura 7) oriundas de autopolinização e de polinização livre, com o objetivo de verificar a variabilidade existente entre e dentro destas populações, visando fornecer mais informações que ajudem no entendimento do

modo de reprodução desta espécie. Mostrando um maior polimorfismo de marcadores AFLP em populações de polinização livre e podendo afirmar que a reprodução da pitangueira é decorrente tanto da autofertilização quanto da polinização cruzada, sendo necessários, no entanto, novos estudos para determinar qual a estratégia de reprodução mais eficiente (FRANZON et al., 2010)



Figura 7- *Eugenia uniflora*

O marcador RAPD tem sido utilizado na caracterização genética de *Eucalyptus ssp* (Figura 8) mostrando uma elevada amplitude das distancias 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 (CAIXETA et al., 2003).



Figura 8- *Eucalyptus ssp*

Através de marcadores moleculares do tipo RAPD, foi Investigado o sistema reprodutivo de quatro espécies de *Myrciaria* spp: (*Myrciaria cauliflora* (Figura 9), *M. jaboticaba* (Figura 10), *M. coronata* (Figura 11) e *M. trunciflora* (Figura 12)) e relacionar a distância genética destas espécies e outros 14 táxons conservados *ex situ*. Onde foi encontrada uma clara falta de definição dos grupos taxonômicos. Os agrupamentos de diferentes níveis de similaridade genética entre os táxons estudados, não correspondem as classificações taxonômicas e analisando o dendrograma obtido pelo autor, pode-se notar a grande divergência genética entre os táxons, em torno de 50%. Isto pode ser reflexo da dificuldade de classificação do gênero *Myrciaria*, e indica uma necessidade de definição das características morfológicas efetivamente discriminantes para as espécies. Com base nos resultados obtidos, é possível sugerir que os principais caracteres de valor taxonômico os polimórficos dentro do gênero. (VILELA et al.,2012)

Figura 9- *Myrciaria cauliflora*Figura 10- *M. jaboticaba*Figura 11- *Myrciaria coronata*Figura 12- *Myrciaria trunciflora*

A diversidade genética entre vinte acessos de *Psidium* spp vem sendo estudada via marcadores moleculares RAPD. Os resultados mostraram que os marcadores moleculares RAPD são eficazes em revelar a existência de diversidade genética entre os vinte acessos de *Psidium* spp (PESSANHA et al,2011)

Trindade & Chaves (2005) utilizaram esta técnica com o objetivo de analisar a estrutura genética de treze populações de *Eugenia dysenterica* (Figura 13), localizadas no Estado de Goiás. Os autores observaram que a estrutura genética foi significativa entre as populações, apesar de a maior variabilidade genética ter sido observada dentro das populações. Em outro trabalho esse marcador foi utilizado para caracterizar populações de *Eugenia dysenterica* em estudos de variabilidade genética, estrutura populacional e fluxo gênico. Neste caso o autor verificou que não há um padrão espacial da variabilidade genética existente entre as populações de *Eugenia dysenterica* e foi mostrado um índice de grande divergência entre as populações e fluxo gênico restrito (ZUCCHI et al., 2005)

Aguiar et al., (2011) realizou uma pesquisa para relacionar medidas de diversidade molecular com estimativas de variação genética quantitativa de caracteres de crescimento, usando como material de investigação os dados disponíveis obtidos de *Eugenia dysenterica* (cagaiteira) .A tendência de uma correlação linear positiva entre a divergência genética molecular intrapopulacional e a variação genética de natureza poligênica, verificada com o marcador RAPD, indica ser importante trabalhar com ampla cobertura genômica em estudos dessa natureza.



Figura 13- *Eugenia dysenterica*

Outro marcador que tem sido utilizado é o marcador Microsatélite que foi utilizado para testar no genoma de *Campomanesia adamantium* (Figura 14) o potencial de amplificação cruzada, desenvolvido originalmente para *Eucalyptus* spp. Do total de

marcadores testado 16 (13,3%) foram considerados com um bom padrão de amplificação cruzada, permitindo a visualização dos alelos, sendo este resultado promissor no sentido de disponibilizar marcadores microssatélites com potencial de utilização em estudos genético-populacionais para *C. adamantium* (MIRANDA et al., 2012).



Figura 14- *Campomanesia adamantium*

Herrero et al., (2010) utilizou primers SSR, anteriormente projetados em goiabeira para identificar e estudar a diversidade em Myrtaceae. Os pares de iniciadores utilizados permitiram a identificação de uma grande variedade de alelos raros localizadas, as quais desempenham um papel importante em estratégias de conservação futuras na recolha de Myrtaceae. Primers SSR desenvolvidos para goiaba são potencialmente úteis para estudos de diversidade, que determina análise de parentesco, taxonômica e filogenética da família Myrtaceae.

Ainda com este marcador foi realizado um estudo com finalidade de testar, no genoma *Eugenia klotzschiana* (Figura 15), o potencial de amplificação cruzada de primers oriundos de bibliotecas de regiões microssatélites derivadas de EST (*Expressed Sequence Tags*), desenvolvidos para *Eucalyptus*. Portanto, esse conjunto de marcadores está disponível para ser utilizado na caracterização do polimorfismo em populações naturais, por apresentar potencial de utilização em estudos de estrutura genética, análise de vínculo genético e fluxo gênico em populações de *Eugenia klotzschiana* (BERNARDES et al, 2012).



Figura 15- *Eugenia klotzschiana*

Essa técnica também tem sido utilizada para testar a amplificação heteróloga de pares de *primers* de regiões microssatélites derivados de bibliotecas ESTs (*Expressed Sequence Tags*), desenvolvidos para *Eucalyptus spp.* na espécie *Eugenia dysenterica*. Estes resultados disponibilizam marcadores com potencial de utilização em estudos genético-populacionais para *Eugenia dysenterica* (SIQUEIRA et al., 2012).

3- METODOLOGIA

Para este estudo os dados foram coletados a partir de levantamento bibliográfico realizado em trabalhos relacionados ao tema. 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 disponível na internet.

4- CONCLUSÃO

A utilização de marcadores moleculares na caracterização genética de plantas além de evidenciar a variabilidade genética existente entre espécies pertencentes as mesmas famílias, é uma técnica comumente utilizada em pesquisas de melhoramento genético, por permitir a seleção de genes de interesse e manipulação desse material, para que o produto, seja de acordo com os padrões aceitáveis.

Com isso evidencia-se que os marcadores moleculares são importantes para a conservação genética das famílias pertencentes tanto ao bioma cerrado como nos demais biomas, sendo fundamental estimular pesquisas sobre o tema para que se possa ter um conhecimento mais profundo sobre essas famílias como tantas outras espécies no intuito conhecê-las para preservar o cerrado.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR. A.V et al, relação entre a variação genética de caracteres quantitativos e marcadores moleculares em subpopulações de *Eugenia dysenterica* (cagaiteira). **Revista Brasileira de Fruticultura.**, Jaboticabal – SP: [s.n.], v. 33, n. 1, p. 157-169, Março 2011.
- ALMEIDA E.J,et al, Análise da variabilidade genética de acessos de *psidium* spp. (myrtaceae) avaliados quanto à reação a *meloidogyne enterolobii*. **Revista Brasileira de Fruticultura.**, Jaboticabal – SP: [s.n.], v. 34, n. 2, p. 532-539, Junho 2012
- BENTES J. L. S; NETO P. Q. C Variabilidade genética de *Colletotrichum guaranicola* usando marcadores AFLP. **Acta Amazônica** vol. 41(2): p.251 – 256,2011.
- BERNARDES. V. et al, **Amplificação cruzada de marcadores est-ssr em *Eugenia klotzschiana* (myrtaceae)** ,Goiânia,v.39, n. 3, p. 437-459, jul./set. 2012.
- 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.
- BUTTOW, M. V; et al. Caracterização molecular de populações de *butia capitata* (arecaceae) do sul do brasil através de marcadores AFLP. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP: [s.n.], v. 32, n. 1, p. 230-239, Março 2010.
- 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.
- CORRÊA L.C, et al Similaridade genética entre acessos de goiabeiras e araçazeiros baseada em marcadores moleculares AFLP **Revista Brasileira de Fruticultura.**, Jaboticabal - SP: [s.n.], v. 33, n. 3, p. 859-867, Setembro 2011.
- FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3. ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN,p.220. (EMBRAPA-CENARGEN. Documentos, 20) 1998.
- FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D.. **Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética**. EMBRAPA-CENARGEN, Documento 20,220p. 1995
- FONSECA. K. G, Faleiro. F. G, et al Análise da recuperação do genitor recorrente em maracujazeiro-azedo por meio de marcadores RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 31, n. 1, p. 145-153, Março 2009.
- FRANZON R.C et al. Variabilidade genética em populações de pitangueira oriundas de autopolinização e polinização livre, acessada por AFLP. **Revista Brasileira de Fruticultura.**, Jaboticabal - SP: [s.n.], v. 32, n. 1, p. 240-250, Março 2010

HERRERO. V.I.J. Microssatélites desenvolvidos em goiaba (*Psidium guajava* L.) e sua utilidade para avaliar a diversidade da família Myrtaceae. **Rev. colomb.** vol.12 no. 1 biotecnologia Bogotá janeiro / junho 2010.

JEFFREYS, A.J; WILSON, V; THEIN, S.L. 1985. **Hypervariable ‘minisatelite’ regions in human DNA.** *Nature*, 316:76-79.1985.

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

JUNIOR, BHM; HARIDASAN, M. Comparação da vegetação arbórea e características arbóreas e características edáficas de um cerradão e um cerrado *sensu stricto* em áreas adjacentes sobre solo distróficos no leste de Mato Grosso, Brasil, **Acta Botânica Brasília** 19 (4): 913-926.2005

LIMA. A.T. B Caracterização molecular de cajá, *Spondias mombin* (Anacardiaceae), por meio de marcadores RAPD. **Genetics and Molecular Research** 10 (4): 2893-2904 (2011)

MARCONDES. E. H. K; Santos. J. B; Pereira H. S. **Seleção de linhagens de feijoeiro com tipo de grão carioca E com os alelos *co-4* e *co-5* de resistência à antracnose,** Ciênc. agrotec., Lavras, v. 34, n. 4, p. 975-982, jul./ago., 2010.

MAYER, N. A. et al; Caracterização de três genótipos de umezeiro (*prunus mume* sieb. et zucc.) por marcadores RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP: [s.n.], v. 30, n. 4, p. 1045-1050, Dezembro 2008.

MELO L. Q; CIAMPI, A. Y; VIEIRA, R. F. A análise da variabilidade genética de arnica (*Lychnophora ericoides* Less.- *Asteraceae*) usando marcadores RAPDs. **Acta Botânica Brasília.** 23(1): p.259-266. 2009.

MILACH, S.C.K. **Marcadores moleculares em plantas.** Porto Alegre: UFRGS, 141p. 1998.

MIRANDA. E.A.G. C et al, **Potencial de amplificação cruzada de marcadores microssatélites para *Campomanesia adamantium*** . Estudos, Goiânia,v.39, n. 3, p. 437-459, jul./set.2012.

NIZIO D. A. C, Maluf W. R, Caracterização de genótipos de tomateiro resistentes a begomovírus por marcador molecular co-dominante ligado ao gene *Ty-1*, **Pesquisa Agropecuária Brasileira.**, Brasília, v.43, n.12, p.1699-1705, dez. 2008.

NOGUEIRA D. G, et al, Marcador microssatélite associado ao alelo *Ty-1* de resistência a *Begomovirus* em tomateiro, **Pesquisa Agropecuária Brasileira.**, Brasília, v.46, n.4, p.412-419, abr. 2011.

OLIVEIRA, L. K, et al, **Estrutura genética e padrão espacial da variabilidade genética em populações de *Anacardium occidentale* no cerrado.** Goiânia, v.39, n. 3, p. 437-459, jul./set. 2012.

OLIVEIRA M.V. C, et al, caracterização de clones de mandioca utilizando marcadores Microsatélites, **Revista Ciência Agronômica.**, v. 43, n. 1, p. 170-176, jan-mar, 2012 .

Oliveira E.J. , Dantas. J. L., Castellen. M.S, Machado, M.D, identificação de microsatélites para o mamoeiro por meio da exploração do banco de dados de DNA, **Revista Brasileira de Fruticultura.**, Jaboticabal - SP: [s.n.], v. 30, n. 3, p.841-845, setembro 2008

PESSANHA. P. G.O et al, Avaliação da diversidade genética em acessos de *psidium* spp. via marcadores RAPD, **Revista Brasileira de Fruticultura.**, Jaboticabal - SP, v. 33, n. 1, p. 129-136, Março 2011

RAFALSKI, J.A.; TINGEY, S.V. **Genetic diagnostics in plant breeding: RAPDs, microsatellites, and machines.** Trends in Genetics, v.9, p.275-280, 1993.

RIBIRO et al, Diversidade genética entre acessos de espinheira-santa (*Maytenus ilicifolia* Mart. Ex Reis.) coletados no estado do Rio Grande do Sul, Brasil, **Revista Brasileira. Pl. Med.**, Botucatu, v.12, n.4, p.443-451, 2010.

REVERS L.F, LAMPE. V.S, et al Uso prático de marcadores moleculares para seleção assistida no melhoramento de uvas de mesa apirênicas, **Revista Brasileira Fruticultura.**, Jaboticabal - SP: [s.n.], v. 27, n. 3, p. 104-108, Dezembro 2005.

SANTANA. G.C, et al Diversidade genética de *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong. no baixo Rio São Francisco, por meio de marcadores RAPD. **Revista Árvore**, Viçosa-MG: [s.n.], v.32, n.3, p.427-433, 2008.

SANTOS C.A.F. et. al. Estimativas de polinização cruzada em população de *spondias tuberosa* arruda (anacardiaceae) usando marcador AFLP. **Revista Árvore**, Viçosa-MG: [s.n.], v.35, n.3, Edição Especial, p.691-697, 2011.

SANTOS. C. A. F. et al. Similaridade genética de acessos de mangueira de diferentes Origens geográficas avaliadas por marcadores AFLP **Revista Brasileira Fruticultura**, Jaboticabal - S: [s.n.], P, v. 30, n. 3, p. 736-740, Setembro 2008.

SANTOS C. A. F et al, Variabilidade genética, com base em marcadores RAPD, de três espécies arbóreas ameaçadas de extinção no semi-árido brasileiro. **Scientia Forestalis**, n. 74, p. 37-44, junho 2007.

SILVA P. R, Milach. S. C. K, et al Validação de marcadores moleculares associados a genes de resistência à ferrugem-da-folha do trigo, **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.43, n.10, p.1357-1363, out. 2008.

SIQUEIRA M.N. et al, **Amplificação heteróloga de marcadores microsatélites derivados de est para *Eugenia dysenterica***, Goiânia, v.39, n. 3, p. 437-459, jul./set. 2012

SOUZA. C. M. P, et al A, Sousa. E. F. Avaliação da dissimilaridade genética em genótipos de Bananeira (*musa spp.*). Via marcadores RAPD. **Revista Brasileira De Fruticultura**, Jaboticabal - SP: [s.n.], v. 30, n. 2, p. 419-424, Junho 2008.

SOUZA. C.M. P, “DNA fingerprint” via marcadores rapd e avaliação da divergência genética em genótipos de bananeira (*musa spp.*). 2006.83f. Dissertação de Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes – RJ, março 2006.

TRINDADE.M.G et al, Genetic structure of natural *Eugenia dysenterica DC* (Myrtaceae) populations in northeastern Goiás, Brazil, accessed by morphological traits and RAPD markers. **Genetics and Molecular Biology**, 28, 3, 407-413 (2005).

VILELA. R.C. F et al, sistema reprodutivo e diversidade genética de quatro espécies de *myrciaria* (myrtaceae, jaboticabeiras. **Acta botânica brasílica** 26(4):727-734.2012

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

ZEIN .I , J. M. ; Arabi M. I. E. Efficiency of irap and its-rflp marker systems in accessing genetic Variation of *pyrenophora graminea* genetics and molecular biology, 33, 2, 328-332 (2010) copyright © 2010, **Sociedade Brasileira de Genética**. Printed in Brazil, 2010.

ZUCCHI.M.I et al, Genetic structure and gene flow of *Eugenia dysenterica* natural populations. **Pesq. agropec. bras**, Brasília, v.40, n.10, p.975-980, out. 2005.