



DIVERSIDADE GENÉTICA DE JENIPEIRO PARA A INTRODUÇÃO DE NOVOS ACESSOS.

ANA VERUSKA CRUZ DA SILVA¹; ANA SILVA LÉDO²; EVANDRO NEVES MUNIZ³; CAMILA SANTOS ALMEIDA⁴; 1,2,3. EMBRAPA TABULEIROS COSTEIROS, ARACAJU, SE, BRASIL; 4. UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE, ARACAJU, SE, BRASIL;
ana.veruska@embrapa.br

Resumo: O jenipapeiro (*Genipa americana* L.) é uma espécie nativa da América tropical, explorada de forma extrativista e com potencial importância socioeconômica. Banco Ativo de Germoplasma de Jenipapeiro da Embrapa Tabuleiros Costeiros foi implantado em 2009, no Campo Experimental Jorge Sobral, em Nossa Senhora das Dores, Sergipe. O presente trabalho foi realizado para avaliar a diversidade genética por uso de marcadores RAPD em jenipapeiros oriundos de coleta na região sul do Estado de Sergipe. Os 20 iniciadores de síntese utilizados geraram 85,13% de polimorfismo e foi possível observar a formação de três grupos. Com a análise RAPD é possível analisar a variabilidade genética de jenipapeiro e os indivíduos mais divergentes nesse estudo foram introduzidos ao BAG jenipapo.

Palavras-chave: *Genipa americana* L., marcadores moleculares, germoplasma

Introdução

O jenipapeiro (*Genipa americana* L. - Rubiaceae) apresenta grande valor socioeconômico e cultural para a região Nordeste, e estudos envolvendo a sua caracterização são importantes para promover o aumento de conhecimento sobre a espécie.

A avaliação da diversidade genética de um Banco de Germoplasma possibilita a identificação de potenciais genitores e duplicatas e a realização de intercâmbio entre pesquisadores. Em 2009, foi implantado o Banco Ativo de Germoplasma de jenipapeiro da Embrapa Tabuleiros Costeiros, no Campo Experimental Jorge Sobral, onde constam atualmente 18 acessos.

O uso de marcadores moleculares para estudo da diversidade genética em diversas espécies tem sido amplamente utilizado. Em jenipapeiro, poucos trabalhos foram realizados utilizando marcadores moleculares, como RAPD (Santos, 2008; Freire, 2012).

O presente trabalho foi realizado para avaliar a variabilidade genética por uso de marcadores RAPD em jenipapeiros oriundos de coleta na região sul do Estado de Sergipe.



Material e Métodos

Foram selecionados ao acaso dez indivíduos em uma população natural isolada, localizada no município de Arauá (latitude 11°17'23'' e longitude 37°38'31''), Sergipe.

Folhas jovens e recém-colhidas das plantas originais foram submetidas à extração de DNA (Doyle e Doyle, 1991). Para as reações RAPD foram testados 20 primers de 10 pares de base, sendo 19 da marca Operon (Operon Technologies, EUA) e um da marca IDT (Integrated DNA Technologies, Alemanha) (Tabela 1). Cada reação conteve 50ng de DNA, tampão de PCR com MgCl 1X (Promega), dNTP 10 mM, 1,0 U de Taq DNA polimerase (Promega, EUA) e 3 ng de primer. Os DNAs foram amplificados utilizando termociclador submetidos a um ciclo inicial de desnaturação de 96°C por 05 minutos; seguido de 35 ciclos de 45 segundos a 94°C, 45 segundos a 36°C, 45 segundos a 72°C e um ciclo de extensão final de 10 minutos a 72°C. Os resultados das amplificações foram submetidos à eletroforese horizontal, em gel de agarose 1% e em tensão de 100 V por uma hora. Os géis foram colocados contato a uma solução contendo brometo de etídeo (0,02 µL/mL de água) por 30 minutos e visualizados sob luz ultravioleta. A visualização dos resultados foi realizada em equipamento de fotodocumentação Gel doc L-pix (Loccus Biotecnologia, Brasil).

O padrão de amplificação foi convertido em uma matriz binária, contabilizando a presença (1) e ausência (0) dos fragmentos. As estimativas das similaridades genéticas entre cada par de indivíduos foram efetuadas empregando os coeficientes de Jaccard, e foi empregado o método UPGMA (*Unweigh Pair-Group Method Arithmetic Average*). Os programas utilizados foram FreeTree (Pavlicek et al., 1999) e software XLSTAT (Addinsolft, 2009).

Resultados e Discussão

Os iniciadores de síntese utilizados permitiram a caracterização molecular e estudo da variabilidade genética entre indivíduos de jenipapeiros. Os 20 iniciadores utilizados geraram um total de 74 bandas, das quais 63 foram polimórficas (85%) (Tabela 1). O iniciador que apresentou o maior número de bandas polimórficas foi o X01 (6), enquanto o A15 e W2 não apresentaram bandas. O valor do CIP variou entre 0,00 – 0,48 e IM de 0,41 – 2,00. Para os valores de estrutura genética, o índice de Shannon (I) apresentou valor médio de 0,42, e o índice de diversidade genética (G) apresentou o valor médio de 0,28.



Tabela 1 - Relação dos iniciadores de síntese testados em 10 indivíduos de jenipapeiro (*Genipa americana* L.) utilizando marcadores RAPD. N- número de fragmentos, %P – Número de fragmentos polimórficos.

Iniciador	Sequencia	N	%P
A2	TGC CGA GCT G	5	60
A3	AGT CAG CCA C	4	50
A4	AAT CGG GCT G	5	100
A8	GTG ACG TAG G	4	100
A9	GGG TAA CGC C	5	100
A10	GTG ATC GCA G	5	100
A11	CAA TCG CCG T	5	60
A13	CAG CAC CCA C	3	33
A15	TTC CGA ACC C	0	100
A16	AGC CAG CGA A	3	100
A18	AGG TGA CCG T	3	100
A20	GTT GCG ATC C	3	100
IDT18	GGA GGA GAG G	3	33
B18	CCA CAG CAG T	4	100
X01	CTG GGC ACG A	6	100
X03	TGG CGC AGT G	4	100
W2	ACC CCG CCA A	0	100
W4	CAG AAG CGG A	4	100
W13	CAC AGC GAC A	4	100
K20	GTG TCG CGA G	4	100
Média		4	87

O percentual de polimorfismo encontrado foi coerente ao de Santos (2008), que, utilizando 12 iniciadores em uma população natural em área de mata ciliar do Baixo São Francisco (Sergipe) obteve 74 fragmentos polimórficos, de um total de 88 (84%).

O alto grau de polimorfismo identificado entre os indivíduos estudados representa a heterozigose para este marcador, o que pode contribuir para inferir sobre as relações genéticas. Segundo o coeficiente de Jaccard, a menor similaridade genética encontrada entre os indivíduos foi 285 e 279 (0,23) e a maior entre os indivíduos 288 e 287 (0,78).

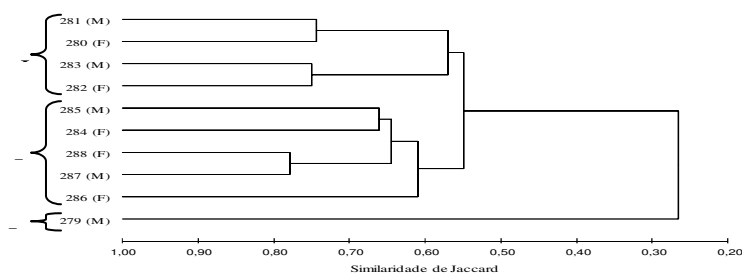




Figura 1 - Representação filogenética do agrupamento UPGMA estimado a partir da similaridade genética do coeficiente de Jaccard, e análise Bootstrap (10.000x) para 10 indivíduos de jenipapeiro (*Genipa americana* L.).

Observa-se na Figura 1, a formação de três grupos. O primeiro, com quatro indivíduos (280 a 283), o segundo com seis (284 a 288) e o último apenas com um indivíduo (279), que foi o mais divergente dentro da população.

Conclusão

Os marcadores RAPD possibilitaram a caracterização de jenipapeiros nativos.

A identificação de indivíduos de jenipapeiro localizados em área natural contribui para a relação de conhecimento genético e estratégias para proteção da espécie.

Os indivíduos mais distantes geneticamente foram introduzidos ao Banco Ativo de Germoplasma de Jenipapeiro da Embrapa Tabuleiros Costeiros.

Referências Bibliográficas

ADDINSOFT. **XLSTAT statistical analysis software, versão 2010**. Disponível em: <www.xlstat.com>. Acesso:17/05/2012.

DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v.12, p.13-15, 1990.

FREIRE, K. C. S. **Caracterização molecular e morfo-agronômica do Banco Ativo de Germoplasma de jenipapeiro**. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia). UFS: São Cristóvão(SE), 2012.

PAVLICEK, A.; HRDA, S.; FLEGR, J. FreeTree – freeware program for construction of phylogenetic trees on the basis of distance data and bootstrap/jackknife analysis of the tree robustness. Application in the RAPD analysis of genus *Frenkelia*. **Folia Biologica**, Praha, v. 45, p. 97-99, 1999.

SANTOS, A. R. F. **Variabilidade genética de jenipapo (*Genipa Americana* L.) em área de mata ciliar do baixo São Francisco visando à produção de sementes**. Monografia (Engenharia Florestal). UFS: São Cristóvão(SE), 2008.