



Revista Árvore

ISSN: 0100-6762

r.arvore@ufv.br

Universidade Federal de Viçosa
Brasil

Carregosa Rabbani, Allívia Rouse; Silva-Mann, Renata; Ferreira, Robério Anastácio
Variabilidade genética de *Genipa americana* L. pertencente ao baixo curso do rio São Francisco
Revista Árvore, vol. 36, núm. 3, mayo-junio, 2012, pp. 401-409
Universidade Federal de Viçosa
Viçosa, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=48822958002>

- Como citar este artigo
- Número completo
- Mais artigos
- Home da revista no Redalyc

redalyc.org

Sistema de Informação Científica
Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe, Espanha e Portugal
Projeto acadêmico sem fins lucrativos desenvolvido no âmbito da iniciativa Acesso Aberto

VARIABILIDADE GENÉTICA DE *Genipa americana* L. PERTENCENTE AO BAIXO CURSO DO RIO SÃO FRANCISCO¹

Allívia Rouse Carregosa Rabbani², Renata Silva-Mann³ e Robério Anastácio Ferreira³

RESUMO – A utilização de marcadores genéticos em estudos de caracterização de ecossistemas florestais permite avanços no entendimento genético das populações naturais, bem como auxilia na definição de estratégias de recuperação ou restauração florestal. Este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar a diversidade genética entre 18 indivíduos de Jenipapo (*Genipa americana* L.) procedentes da região do Baixo São Francisco sergipano por meio de marcadores RAPD. Para a amplificação do material genético foram utilizados 12 oligonucleotídeos para análise da diversidade. Pelo índice de Jaccard, a similaridade genética média (Sgm) entre os indivíduos foi de 60,4% sendo que, a maior obtida foi identificada entre os indivíduos G11 e G12 ($83,6\% \pm 0,03$) e a menor entre os indivíduos G4 e G18 ($36,5\% \pm 0,02$). Com base na Sgm (78,4%), sete pares indivíduos foram considerados geneticamente semelhantes. A partir destas análises, os indivíduos podem ser utilizados como matrizes fornecedoras de sementes em combinação com outros indivíduos em programas de restauração de áreas degradadas, porém devem compor áreas distantes.

Palavras-chave: Estrutura Genética, RAPD e Ecossistemas fragmentados.

GENETIC VARIABILITY OF *Genipa americana* L. BELONGING TO THE LOWER COURSE OF SÃO FRANCISCO RIVER

ABSTRACT – The use of genetic markers in forest ecosystems enables advances in the genetic understanding of the natural populations, as well as assists on strategies to recover or restore forests. The objective of this work was to evaluate the genetic diversity among 18 individuals of *Genipa americana* L. by RAPD markers using 12 primers, from Sergipe in the lower course of São Francisco River. For the Jaccard index, the average genetic similarity (Ags) among individuals was 60.4%, while the highest similarity distance obtained is between individuals G11 and G12 ($83.6\% \pm 0.03$) and the lowest genetic similarity between individuals G4 and G18 ($36.5\% \pm 0.02$). Based on the Ags (78.4%), seven pairs were considered genetically similar. this evaluation permits to infer that the individuals can be used to provide seeds in combination with other individuals in restoration programs for degraded areas, but only in remote areas.

Keywords: Genetic structure, RAPD and Fragmentary ecosystems.

1. INTRODUÇÃO

A pressão agrícola e a urbanização são as principais causas da redução das matas ciliares no Estado de Sergipe. Dessa forma, cresce a necessidade de intervenções para promover a conservação de espécies, pois algumas espécies arbóreas se encontram em número

reduzido ou já não apresentam ocorrência em determinados lugares.

A região do Baixo Curso do Rio São Francisco sergipano, em especial, apresenta alto grau de devastação ao longo do seu curso, o que promove a perda e, consequentemente, a erosão genética de importantes

¹ Recebido em 09.09.2009 e aceito para publicação em 19.04.2012.

² Universidade Federal do Vale do São Francisco. E-mail: <alliviarouse@hotmail.com>.

³ Universidade Federal de Sergipe, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Departamento de Engenharia Agrônoma. E-mail: <renatamann@hotmail.com> e <raf@ufs.br>.

espécies florestais nativas. Nessa área, os estudos científicos de mensuração da diversidade genética são limitados a poucas espécies (SANTANA et al., 2008; GOIS et al., 2009).

O jenipapeiro (*Genipa americana* L. – Rubiaceae) é uma espécie potencialmente usada pelas populações ribeirinhas em Sergipe e que nem sempre dispõe de frutos para a formação de bancos de sementes para a produção e colheita de sementes e produção de mudas. Na literatura, trabalhos com o jenipapo são generalizados e envolvem a fenologia e frutificação (CRESTANA et al., 1992; NASCIMENTO; DAMIÃO-FILHO, 1998; SOUZA et al., 1999), efeito de priming e armazenamento em sementes (SANTOS et al., 2011; SILVA, et al., 2008) e marcadores isoenzimáticos (SEBBENN, 2004).

O jenipapeiro apresenta importância econômica para produção de alimentos, e a expansão de fronteiras agrícolas ocasiona diminuição no número de indivíduos, o que gera perda da variabilidade genética valiosa e, ainda, não mensurada.

Nas últimas décadas, têm-se intensificado os estudos genéticos em populações de espécies arbóreas em florestas tropicais, tanto entre quanto dentro de populações. Esse acúmulo de dados vem apontando algumas direções importantes para ações de minimização dos impactos ambientais nos ecossistemas (KAGEYAMA et al., 1998).

Desse modo, visando à caracterização da diversidade genética do jenipapeiro, um dos métodos relativamente simples, rápidos e baratos que têm sido sugeridos é o de amplificação aleatória de DNA polimórfico (RAPD) (Silva et al., 2012). A técnica consiste na amplificação ao acaso de fragmentos de DNA em um único oligonucleotídeo de sequência arbitrária, que irá se traduzir na síntese final de vários segmentos de DNA de diferentes tamanhos, em que é possível detectar polimorfismos na sequência do DNA que podem ser usados como marcadores genéticos, quantificando a similaridade entre indivíduos dentro de populações (WELHS; MCCLELLAND, 1990; WILLIAMS et al., 1990; JARAMILLO et al., 2001).

A amostragem de espécies-modelo de diferentes grupos sucessionais em ecossistemas semelhantes utilizando os marcadores genéticos como o RAPD pode permitir avanços no entendimento genético das populações naturais de espécies arbóreas incipientes na literatura (KAGEYAMA et al., 2003), já que não é necessário conhecimento prévio do genoma. Portanto,

com a finalidade de auxiliar planos de recuperação de áreas degradadas envolvendo um trecho de mata ciliar, o objetivo deste trabalho foi avaliar a diversidade genética entre possíveis matrizes fornecedoras de sementes de jenipapeiro de uma população natural em uma área no Baixo Curso do Rio São Francisco sergipano.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. População de estudo

A população estudada encontrava-se em uma área de 100 ha (10 km de extensão e 100 m de largura a partir da margem do rio) entre os Municípios de Neópolis (10°18'39"S e 36°34'36"W) e Santana do São Francisco (10°15'55"S e 36°38'15"W), no baixo curso do rio São Francisco sergipano. Em um universo de 57 indivíduos existentes na região, foram selecionados 18 com os maiores valores de altura e Diâmetro à Altura do Peito (DAP). Foram verificadas as posições geográficas de cada um, por meio do *Global Position System* (GPS) Garmim n. 12, e em cada árvore foi fixada uma placa de alumínio com a identificação correspondente, visando manter a sua localização e identidade para a produção e colheita de sementes, produção de mudas e uso em trabalhos futuros de recuperação de matas ciliares na região. Amostras de folhas dos indivíduos selecionados foram mantidas em gelo e encaminhadas ao Laboratório de Cultura de Tecidos e Melhoramento de Vegetal do Departamento de Engenharia Agrônômica da Universidade Federal de Sergipe, onde foram mantidas em "freezer" (-20 °C) até o momento da extração do DNA.

2.2. Extração de DNA

Folhas jovens dos indivíduos foram submetidas à extração de DNA, segundo o protocolo de Doyle e Doyle (1991) adaptado por Ferreira e Grattapaglia (1998). O material vegetal foi macerado em almofariz com 10 mL de CTAB (Brometo de Cetiltrimetilamônio) 2% e 20 µL de β-mercaptoetanol. Posteriormente, o macerado foi colocado em microtubos de 2 mL, sendo em seguida incubado por 60 min em banho-maria a 65 °C. Logo após foram retirados 750 µL de cada amostra e transferidos para um novo microtubo, onde se adicionou-se 750 µL de clorofórmio: álcool isoamílico (24:1). As amostras foram agitadas lentamente por 50x e centrifugadas a 7.000 rpm por 30 min a 4 °C. O sobrenadante foi coletado e colocado em um novo tubo contendo 750 µL de acetato de amônio-álcool etílico, que foi mantido em "freezer"

(-20 °C) por 24 h, para a precipitação do DNA. Em seguida, os microtubos foram centrifugados por 10 min a 13.200 rpm. O acetato de amônio-álcool etílico foi eliminado, e adicionou-se álcool etílico 70%. As amostras permaneceram por 10 min à temperatura ambiente e, logo após, foram centrifugadas por 10 min a 4.000 rpm. O álcool etílico foi retirado e o precipitado formado, seco ao ar, sendo posteriormente solubilizado em TE (Tris-HCl 10mM, pH 8,0; EDTA 1 mM) (100 µL). O material foi armazenado em “freezer” (-20 °C), para posterior amplificação.

2.3. Amplificação do DNA

As reações de amplificação apresentaram um volume de 13 µL, sendo constituído por 2,92 µL de água destilada autoclavada; 1,3 µL de tampão de amplificação 10x; 1,04 µL de DNTPs (desoxirribonucleotídeos: dATP, dCTP, dGTP e dTTP) (2,5 mM); 1 µL de MgCl₂ (50 mM); 0,2 µL de *Taq* polimerase (2U); e 2,5 µL de oligonucleotídeos, 3 µL de DNA e 1,04 µL de BSA (Soro Albumina Bovina) a 10 mM. Foram testados 12 oligonucleotídeos decâmeros de sequência arbitrária da marca IDT (“Integrated DNA Technologies”) em cada indivíduo. As condições de amplificação foram realizadas de acordo com Williams et al. (1990), em termociclador (Biometra/Uniscience) programado para 45 ciclos, sendo o primeiro ciclo a 94 °C, por 2 min, para a desnaturação inicial; 15 seg para desnaturação a 94 °C; 30 seg para anelamento do oligonucleotídeo a 42 °C; 30 seg para extensão a 72 °C; e, por fim, 2 min a 72 °C para a extensão final. Os produtos de amplificação do DNA foram separados em gel de agarose 1%, submetidos à eletroforese em tampão TBE 0,5x (90 mM Tris-borato, 1 mM EDTA, pH 8,0), corados em solução de brometo de etídio (0,5 µg/mL) e visualizados sob luz UV. Os fragmentos obtidos foram classificados visualmente, conforme sua resolução e grau de amplificação, sendo cada fragmento considerado de caráter único.

2.4. Análise de dados moleculares e obtenção da similaridade genética

Na avaliação dos géis, a presença (1) e ausência (0) de bandas foram usadas para a construção de uma matriz binária. As estimativas das similaridades genéticas entre cada par de indivíduos foram efetuadas, empregando-se o coeficiente de Jaccard (JACCARD, 1908). Com posse das distâncias genéticas e geográficas dos indivíduos, foi realizado o teste de Mantel, empregando-se o programa Genalex v. 6.4 (PEAKALL; SMOUSE, 2006) com 10.000

permutações aleatórias, a 0,01% de probabilidade, para avaliar a correlação entre esses indivíduos. O método Unweigh Pair-Group Method Arithmetic Average (UPGMA) foi utilizado para agrupação dos genótipos de acordo com a similaridade genética, enquanto a consistência dos agrupamentos, analisada por reamostragem *bootstrap*, tomadas com o mesmo tamanho da amostra original. Em cada nível de reamostragem, foram obtidas 250 amostras *bootstrap*, como recomendado por Pavlicek et al. (1999). Para tais análises, foi utilizado o programa FreeTree (PAVLICEK et al., 1999) e para a geração do dendrograma, o TreeView (PAGE, 1996). Também foi realizado o agrupamento das amostras, considerando-se o método de análise de coordenadas principais (ACoP), com o auxílio do software XLSTAT (ADDINSOLFT, 2009). Com a matriz binária, também foi calculada a porcentagem de polimorfismo obtida com cada oligonucleotídeo utilizado, por meio da fórmula:

$$P = \frac{nbp}{nbt} \times 100$$

em que:

P = porcentagem de polimorfismo (ou taxa de polimorfismo);

nbp = número de bandas polimórficas; e

nbt = número de bandas total.

Os erros associados às similaridades foram estimados, segundo Skroch et al. (1992), pelas seguintes expressões:

Variância da similaridade genética (V):

$$V = ns \frac{(1-s)}{(n-1)}$$

em que s = similaridade genética entre cada par de genótipos; e n = número total de bandas utilizadas na estimativa das similaridades.

Erro-padrão estimado (E):

$$E = \left(\frac{V}{n} \right)^{1/2}$$

em que V = variância da similaridade genética entre cada par de genótipos; e n = número total de bandas utilizadas na estimativa das similaridades.

Os indivíduos geneticamente diferentes foram identificados no dendrograma a partir da estimativa do valor mínimo de similaridade, acima do qual os indivíduos são semelhantes. O valor máximo de similaridade significativo foi estimado pela similaridade genética média (Sgm), em que se teve por base o teste de t a 0,01% de probabilidade:

$$Sgm = 1 - \left(\frac{t}{(t)(SSij)} \right)$$

em que = o valor tabelado de t com n-2 graus de liberdade; e $SSij$ = erro médio das comparações consideradas no dendrograma.

3. RESULTADOS

3.1. Reação de RAPD

Os 12 oligonucleotídeos utilizados geraram um total de 86 bandas (74 polimórficas), com média de sete fragmentos. O oligonucleotídeo que apresentou o maior número de bandas polimórficas foi o IDT6, com 10 bandas, enquanto o IDT9, IDT12 e IDT16 exibiram apenas quatro bandas polimórficas (Tabela 1).

3.2. Avaliação da diversidade genética

De acordo com a matriz de similaridade obtida pelo coeficiente de Jaccard (1908) (Tabela 2), a distância genética média identificada foi de 60,4%. A maior similaridade identificada foi entre o par G11 e G12 (83,6%±0,03) e a menor, entre G4 e G13 (36,5%±0,02).

O teste de Mantel permitiu relacionar a distância genética com o aumento das distâncias geográficas (Figura 1). O teste revelou que há correlações positiva (0,45) e significativa ($P = 0,01$, com 10.000 permutações).

Com posse do agrupamento hierárquico (UPGMA) dos valores de similaridade, análise de *bootstrap* e cálculo do Sgm (78,4%), foi possível identificar 12 grupos, sendo sete indivíduos (G16, G15, G14, G4, G13, G18 e G17) posicionados em um grupo distinto e considerados mais divergentes geneticamente, contudo sete pares de indivíduos [G11 e G12 (83,6%±0,03); G1 e G2 (83%±0,03); G8 e G5 (81,60%±0,03); G7 e G5 (78,8%±0,03); G7 e G8 (80%±0,03); G9 e G8 (82,1%±0,03); G11 e G10 (79,6%±0,03)] foram considerados aparentados (Figura 2).

Para o método de agrupamento ACoP, um gráfico bidimensional foi realizado (Figura 3). Para tal foram empregados os dois primeiros componentes fornecidos pela análise, pois explicaram 50,16% de variação entre as amostras, com 33,49 (F1) e 16,67% (F2), respectivamente. Para a explicação de mais de 81% da variação entre os genótipos, seriam necessários seis autovalores, sendo a contribuição de cada componente restante menor que 5%. O agrupamento ACoP reforçou o posicionamento dos genótipos próximos e também os mais distintos anteriormente identificados pelo método UPGMA.

Tabela 1 – Sequência de bases, número de produtos amplificados e porcentagens de polimorfismo para 18 indivíduos de *Genipa americana* L. localizados em trecho de mata ciliar no Baixo Curso do Rio São Francisco Sergipano.

Table 1 – Sequence of bases, number of amplified products and the percentage of polymorphism for 18 *Genipa Americana* L. individuals located in stretch of riparian forest in the lower Course of São Francisco River.

| Oligonucleotídeos | Seqüência 5' – 3' | Nº de Produtos Amplificados | Nº de Fragmentos polimórficos | Porcentagem de Polimorfismo |
|-------------------|-------------------|-----------------------------|-------------------------------|-----------------------------|
| IDT03 | GTT TCG CTC C | 6 | 6 | 100 |
| IDT06 | GTG AGG CGT C | 10 | 10 | 100 |
| IDT08 | GGA CCC AAC C | 6 | 6 | 100 |
| IDT09 | CCC AAG GTC C | 7 | 4 | 57,1 |
| IDT10 | GGT GCG GGA A | 8 | 6 | 75 |
| IDT11 | ACG GAT CCT G | 9 | 8 | 88,8 |
| IDT12 | GAG GAT CCC T | 5 | 4 | 80 |
| IDT14 | GGC ACT GAG G | 7 | 7 | 100 |
| IDT15 | GGT CGG AGA A | 7 | 7 | 100 |
| IDT16 | TCG GAC GTG A | 5 | 4 | 80 |
| IDT17 | ACC TGG ACA C | 8 | 8 | 100 |
| IDT18 | GGG GGA GAG G | 8 | 8 | 100 |
| Total | 12 | 86 | 74 | - |

Tabela 2 – Similaridade genética (%) (abaixo da diagonal) e erro estimado (acima da diagonal) entre 18 indivíduos de *Genipa americana* L. pertencentes a um trecho de mata ciliar no Baixo Curso do Rio São Francisco Sergipano.

Table 2 – Genetic similarity (%) (below diagonal) and estimated error (above diagonal) among 18 *Genipa americana* L. individuals belonging to a stretch of riparian forest in the lower Course of São Francisco River

| | G1 | G2 | G3 | G4 | G5 | G6 | G7 | G8 | G9 | G10 | G11 | G12 | G13 | G14 | G15 | G16 | G17 | G18 |
|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| G1 | – | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,02 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,02 | 0,02 |
| G2 | 83,0 | – | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,02 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,02 | 0,03 |
| G3 | 75,0 | 76,0 | – | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,02 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,02 | 0,02 |
| G4 | 77,3 | 74,5 | 77,8 | – | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,02 | 0,02 | 0,03 | 0,03 | 0,02 | 0,02 |
| G5 | 70,6 | 75,0 | 81,6 | 72,9 | – | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,02 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,02 | 0,02 |
| G6 | 68,0 | 72,5 | 75,5 | 66,7 | 74,5 | – | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,02 | 0,03 |
| G7 | 72,5 | 80,4 | 73,1 | 68,0 | 78,8 | 80,0 | – | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,02 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,02 | 0,03 |
| G8 | 70,4 | 68,4 | 80,8 | 72,5 | 79,6 | 70,9 | 75,0 | – | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,02 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,02 | 0,02 |
| G9 | 70,4 | 71,4 | 74,1 | 66,0 | 73,2 | 70,9 | 78,2 | 82,1 | – | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 |
| G10 | 57,1 | 58,6 | 60,7 | 55,6 | 66,1 | 60,7 | 67,9 | 71,9 | 75,0 | – | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,02 | 0,03 |
| G11 | 68,5 | 66,7 | 66,1 | 64,2 | 65,5 | 66,1 | 73,2 | 74,1 | 74,1 | 79,6 | – | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,02 | 0,03 |
| G12 | 61,4 | 62,7 | 62,1 | 60,0 | 64,4 | 64,9 | 71,9 | 75,9 | 78,9 | 81,5 | 83,6 | – | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 | 0,03 |
| G13 | 44,2 | 41,1 | 42,6 | 36,5 | 40,4 | 51,0 | 47,3 | 46,6 | 51,8 | 52,8 | 64,7 | 60,4 | – | 0,03 | 0,02 | 0,03 | 0,02 | 0,02 |
| G14 | 50,9 | 55,4 | 51,8 | 46,3 | 54,4 | 63,5 | 67,9 | 57,6 | 66,1 | 64,8 | 64,3 | 69,1 | 52,0 | – | 0,03 | 0,03 | 0,02 | 0,03 |
| G15 | 50,0 | 60,0 | 56,4 | 48,1 | 56,1 | 59,3 | 63,6 | 56,7 | 67,9 | 66,7 | 63,2 | 70,9 | 45,3 | 63,5 | – | 0,03 | 0,03 | 0,03 |
| G16 | 60,7 | 64,9 | 58,6 | 56,4 | 58,3 | 67,3 | 65,5 | 61,3 | 69,5 | 65,5 | 70,7 | 72,4 | 53,7 | 68,5 | 70,4 | – | 0,03 | 0,03 |
| G17 | 40,0 | 42,1 | 41,1 | 37,7 | 39,0 | 46,3 | 48,2 | 42,6 | 52,6 | 50,9 | 50,9 | 52,6 | 34,6 | 50,0 | 58,0 | 57,4 | – | 0,03 |
| G18 | 39,0 | 48,3 | 42,4 | 34,5 | 45,0 | 52,7 | 51,7 | 41,5 | 48,4 | 49,2 | 51,7 | 55,9 | 44,2 | 53,7 | 52,7 | 57,9 | 54,0 | – |
| IAC* | 40 | 7 | 49 | 36 | 43 | 42 | 35 | 48 | 47 | 55 | 41 | 44 | 8 | 52 | 3 | 4 | 6 | 2 |

* Identificação da árvore em campo.

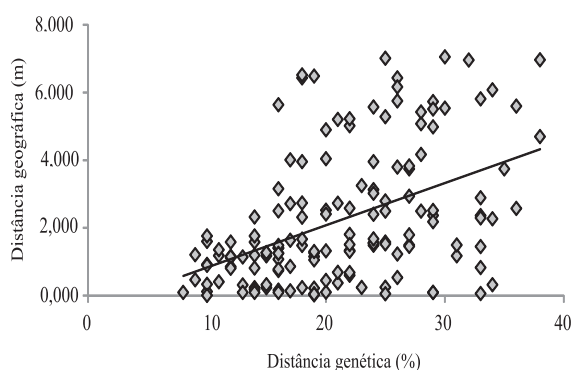


Figura 1 – Relação entre distância genética e distância geográfica ($r = 0,45$; $P = 0,01$) pelo teste de mantel com 10.000 permutações entre 18 indivíduos de *Genipa americana* L. em população natural em trecho do curso do rio São Francisco Sergipano.

Figure 1 – Relationship between genetic and geographic distances ($r = 0,45$, $P = 0,01$) by Mantel test with 10,000 permutations of 18 *Genipa americana* L. individuals in a natural population in a stretch of lower course of São Francisco River.

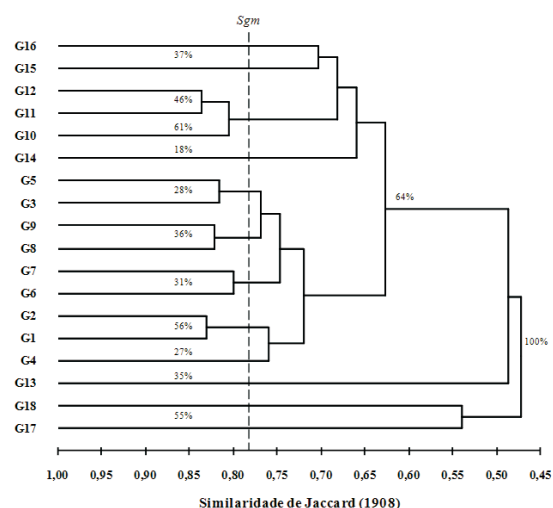


Figura 2 – Dendrograma de similaridade genética entre 18 indivíduos de *Genipa americana* L., em população natural em trecho do curso do rio São Francisco Sergipano, gerado pelo agrupamento UPGMA e análise de bootstrap (%).

Figure 2 – Dendrogram of genetic similarity among 18 *Genipa americana* L. individuals, in a natural population in a stretch of lower Course of São Francisco River, generated by UPGMA clustering and by bootstrap analysis (%).

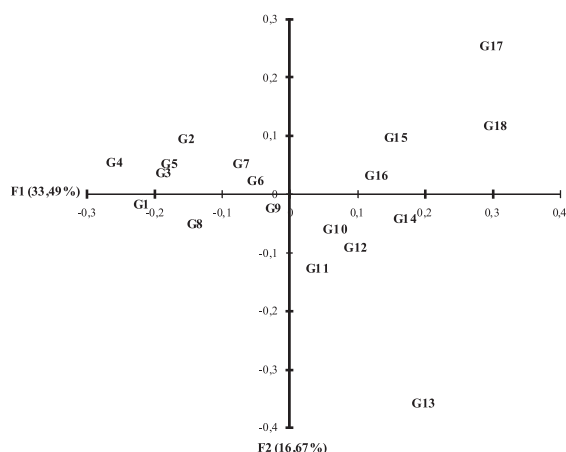


Figura 3 – Análise de coordenadas principais (ACoP) para 18 indivíduos de *Genipa americana* L. em trecho do curso do rio São Francisco Sergipano.

Figure 3 – Principal coordinate analysis (PCoA) for 18 *Genipa americana* L. individuals in a stretch of lower Course of São Francisco River.

4. DISCUSSÃO

O alto grau de polimorfismo identificado entre os indivíduos estudados representa a heterozigose para esse marcador, o que pode contribuir para inferir sobre a possível diversidade encontrada na população. Apesar da variabilidade do número de bandas polimórficas entre espécies, pode-se considerar que o valor obtido (74) está em concordância com aqueles encontrados em outras espécies nativas na literatura. Zimback et al. (2004), analisando a diversidade genética com 10 sequências em *Trichilia pallida* Swartz, encontraram 72 fragmentos polimórficos. Santana et al. (2008), estudando a variabilidade genética de *Enterolobium contortisiliquum* Vell. com 20 oligonucleotídeos, obtiveram 37 bandas polimórficas. Estopa et al. (2006) identificaram na espécie *Eremanthus erythropappus* MacLeish 56 fragmentos, utilizando 10 sequências. Pereira et al. (2004) acharam em *Bowdichia virgiloides* Kunth 43 bandas e em *Hymenaea stignocarpa* Mart., 40 fragmentos polimórficos, utilizando seis e cinco oligonucleotídeos, respectivamente.

Os valores de *bootstrap* dos principais ramos foram abaixo de 50% no filograma, obtido a partir do coeficiente de similaridade de Jaccard (1908) e pelo agrupamento hierárquico UPGMA, demonstrando que

o aumento no número de bandas polimórficas nessa espécie deve ser considerado. O algoritmo *bootstrap* pode revelar a consistência interna dos dados a partir da sua reamostragem, sendo o valor da proporção do *bootstrap* equivalente ao nível de segurança do respectivo resultado.

Tanto por meio do método de agrupamento UPGMA quanto pelo ACoP, foi possível verificar aglomeração natural dos genótipos em razão da similaridade genética, demonstrando a eficiência dos marcadores RAPD, o que ratificou a variabilidade genética encontrada entre os indivíduos deste estudo. O emprego de mais de um método de agrupamento, em razão das diferenças na hierarquização, otimização e ordenação dos grupos, permite que a classificação deles se complemente em função dos critérios que cada técnica utiliza e impede que inferências errôneas sejam adotadas na alocação de material dentro de determinado subgrupo de genótipos (ARRIEL et al., 2006; SILVA et al., 2012).

Com base no agrupamento dos indivíduos e Sgm, foi possível encontrar sete pares de indivíduos de jenipapo aparentados, resultado que pode ser possível em consequência do processo de fragmentação que as florestas sofrem ao longo do tempo, principalmente as que estão localizadas ao longo do curso d'água, causando a diminuição do número de indivíduos da população, o que pode ocasionar cruzamentos entre árvores geneticamente próximas.

A correlação encontrada no teste de Mantel (0,45; $P = 0,01$) sugere que esse conjunto de indivíduos de jenipapo pode estar se diferenciando por um processo aleatório ou, ainda, indicar que esse grupo está sofrendo os efeitos da deriva genética, devido à fragmentação e à diminuição do fluxo gênico, como explicado por Moura (2005) e Tele e Bastos (2009).

Santana et al. (2008), avaliando a diversidade genética de oito indivíduos de *Enterolobium contortisiliquum* na mesma área deste estudo, observaram que um par de indivíduos apresentaram maior similaridade genética (67%) e sugeriram que se devem priorizar os indivíduos mais distintos geneticamente como matrizes fornecedoras de sementes para recuperação de área ciliar. Porém, os indivíduos similares poderiam também ser utilizados, mas em regiões diferentes. Do mesmo modo, tal sugestão pode ser empregada na espécie *G. americana* como estratégia de emprego dessas árvores como matrizes fornecedoras de sementes.

Botrel e Carvalho (2004) afirmaram que, para a maximização das atividades de colheita de sementes, é importante ter informações a respeito da representatividade genética das matrizes da população. Essas informações auxiliam na definição de estratégias, já que por consequência dos diversos fatores que modificam o ecossistema, nas áreas de vegetação remanescente, há alterações nos processos ecológicos e genéticos das espécies que ali ocorrem (ESTOPA et al., 2006).

No Estado de Sergipe, estudos genéticos são muito importantes para conhecimento da estrutura da vegetação. Há pouco tempo estão sendo desenvolvidos trabalhos na caracterização da variabilidade genética de indivíduos em populações naturais no Estado, visando a ações ambientais de recuperação de áreas degradadas (SANTANA et al., 2008; GOIS et al., 2009). Kageyama e Gandara (2002) afirmaram que para a constituição de uma nova população em uma área degradada é imprescindível uma fonte de sementes de boa qualidade genética.

O conhecimento da variabilidade genética dessas populações que sofrem pressão antrópica pode contribuir para o desenvolvimento de um manejo adequado da população florestal. Assim, com base no polimorfismo e diversidade genética dos 18 indivíduos de *G. americana*, pode-se inferir que estes podem ser combinados com os outros 35 indivíduos restantes como matrizes fornecedoras de sementes para produção de mudas, em consórcio com um plano estratégico para plantio em regiões diferentes, para não proporcionar encontro entre indivíduos aparentados em uma mesma área.

Essa combinação tem como alicerce o aumento do tamanho da população para composição de indivíduos, visando à recuperação de ambientes degradados e promovendo, assim, boa sustentabilidade da futura população.

Propõe-se, contudo, desenvolver estudos genéticos complementares com essa população, a fim de integrar trabalhos como este e melhor esclarecer os eventos que envolvem o processo de degradação e sua estrutura genética populacional.

5. CONCLUSÕES

- O marcador RAPD é eficiente para a caracterização da diversidade genética entre indivíduos de *Genipa americana*.

- A similaridade média encontrada foi de 61,13%, sendo sete pares de indivíduos (G11 e G12; G1 e G2; G8 e G5; G7 e G5; G7 e G8; G9 e G8; e G11 e G10) considerados geneticamente semelhantes com base no Sgm.

- Os indivíduos avaliados podem ser utilizados como matrizes porta-sementes para a produção de mudas para fins de produção e colheita de sementes, e uso na recuperação de matas ciliares, priorizando-se os mais divergentes geneticamente (G13, G4, G15, G16, G17 e G18).

6. REFERÊNCIAS

- ADDINSOLFT. **XLSTAT for Windows**. Disponível em: <<http://www.xlstat.com/>>. Acesso em: 15 de jan. de 2009.
- ARRIEL, N. H. et al. Técnicas multivariadas na determinação da diversidade genética em gergelim usando marcadores RAPD. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.5, p.801-809. 2006.
- BOTREL, M. C. G.; CARVALHO, D. Variabilidade isoenzimática em populações naturais de jacarandá paulista (*Machaerium villosum* Vog.). **Revista Brasileira de Botânica**, v.27, n.4, p.621-627, 2004.
- CRESTANA, C. S. M. et al. Fenologia da frutificação de *Genipa americana* L. (rubiaceae) em mata ciliar do Rio Moji Guaçu, SP. **IPEF**, n.45, p.31-34, 1992.
- DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v.1, p.13-15, 1991.
- ESTOPA, R. A. et al. Diversidade genética em populações naturais de candeia (*Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish). **Scientia Forestalis**, n.70, p.97-106, 2006.
- FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3.ed. Brasília: Embrapa, 1998. 220p.
- GOIS, I. B.; SILVA-MANN, R.; FERREIRA, R. A. Diversidade genética de indivíduos de *Spondias lutea* L., por meio de isoenzimas. **Scientia Forestalis**, n.37, p.55-60, 2009.

JACCARD, P. Nouvelles recherches sur la distribution florale. **De la Société Vaudoise des Sciences Natureles**, v.44, p.223-270, 1908.

JARAMILLO, C. et al. Differentiation and genetic analysis of *Rhodnius prolixus* and *Rhodnius colombiensis* by rDNA and RAPD amplification. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.96, p.1043-1048, 2001.

KAGEYAMA, P. Y. et al. Diversidade genética em espécies arbóreas tropicais de diferentes estágios sucessionais por marcadores genéticos. **Scientia Forestalis**, n.64, p.93-107, 2003.

KAGEYAMA, P. Y.; GANDARA, F. B. Biodiversidade e restauração de Florestas Tropicais. In. CONGRESSO DA SOCIEDADE BOTÂNICA DE SÃO PAULO: "Biodiversidade - Os desafios da botânica para o Estado de São Paulo", 16., 2002, Rio Claro. **Anais...** Rio Claro: 2002. 12p.

KAGEYAMA, P.Y.; GANDARA, F.B.; SOUZA, L.M.I.; Consequências genéticas da fragmentação sobre populações de espécies arbóreas. **IPEF**, v.12, n.32, p.65-70, 1998.

MOURA, M. C. O. **Distribuição da variabilidade genética em populações naturais de *Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish por isoenzimas e RAPD**. 2005. 165f. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2005.

NASCIMENTO, W. M. O.; DAMIÃO-FILHO, C. F. Caracterização morfológica de sementes e plântulas de jenipapeiro (*Genipa americana* L. – Rubiaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, v.20, n.1, p.143-147, 1998.

PAGE, R. D. M. Tree view: An application to display phylogenetic trees on personal computers. **Computer Applications in the Biosciences**, v.12, p.357-358, 1996.

PAVLICEK, A.; HRDA, S.; FLEGR, J. Free tree - 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 the genus *Frenkelia*. **Folia Biologica (Praha)**, v.45, p.97-99, 1999.

PEAKALL, R.; SMOUSE, P. E. Genalex 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. **Molecular Ecology Notes**, v.6, p.288-295, 2006.

PEREIRA, M. F. et al. Estrutura genética de populações de espécies arbóreas nativas do cerrado encontradas em terrenos serpentínicos. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.34, n.2, p.75-82, 2004.

SANTANA, G. C. et al. Diversidade genética de indivíduos de *Enterolobium contortisiliquum* Vell. Morong., por meio de marcadores RAPD no Baixo Rio São Francisco. **Revista Árvore**, v.32, p.427-433, 2008.

SANTOS, A. R. F.; SILVA-MANN, R.; FERREIRA, R. A. Restrição hídrica em sementes de Jenipapo (*Genipa americana* L.). **Revista Árvore**, v.35, n.2, p.213-220, 2011.

SEBBENN, A. M. Herança e ligação em locos de isoenzimas em *Genipa americana* L. **Revista Instituto Florestal**, v.16, n.1, p.65-72, 2004.

SILVA, A. V. C. et al. Moringa genetic diversity from germplasm bank using RAPD Markers. **Tropical and Subtropical Agroecosystems**, v.15, n.1, p.31-39, 2012.

SKROCH, P. W. et al. Analysis of genetic relationship using RAPD marker data. In: IUFRO INTERNATIONAL CONFERENCE: "BREEDING TROPICAL TREES", 1992, Cali. **Proceedings...** Cali: 1992. p.26-30.

SOUZA, A. F. et al. Ecophysiology and morphology of seed germination of the neotropical lowland tree *Genipa americana* (Rubiaceae). **Journal of Tropical Ecology**, v.15, p.667-680, 1999.

TELLES, M. P. C.; BARROS, R. P. Estruturação genética na escala de paisagem. **Megadiversidade**, v.5, n.1-2, p.101-110, 2009.

WELSH, J.; MCCLELLAND, M. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. **Nucleic Acids Research**, v.18, p.7213-7218, 1990.

WILLIAMS, J. G. K. et al. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, v.18, p.6531-6535, 1990.

ZIMBACK, L. et al. Estrutura genética de populações de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) por marcadores RAPD. **Scientia Forestalis**, n.65, p.114-119, 2004.