

## **Variabilidade genética do Juá (*Ziziphus cotinifolia* Reissek, Rhamnaceae) como ferramenta para o reflorestamento de áreas degradadas da Caatinga**

Alanna Barreto Santos, Edna Lobo Machado, Josival Santos Souza, Ricardo Cunha Franco  
Moreira, Elaine Costa Pereira Cerqueira

Universidade Federal, Centro de Ciência Agrárias Ambientais e Biológica, Rua Rui Barbosa 1, 0,66 km, CEP 44380-000 Cruz das Almas, BA, Brasil. E-mails: alannab.santos@gmail.com, ednalobo@ufrb.edu.br, jsouza@ufrb.edu.br, ricardofcm@ufrb.edu.br, elainecostacerqueirapereira@gmail.com

**Resumo:** A variabilidade genética de espécies florestais, a exemplo de *Ziziphus cotinifolia*, pode ser acessada por meio de marcadores moleculares ISSR. Assim, o presente estudo teve por objetivo avaliar a variabilidade genética, por meio de marcadores moleculares ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*), de uma população de *Z. cotinifolia*, pertencente a área de proteção ambiental do lago da barragem da Pedra do Cavalo (Feira de Santana, BA). Um total de 46 genótipos foram amplificados por meio de 6 iniciadores ISSR com a obtenção de 36 loci polimórficos. A amplitude dos loci variou entre 100 pb, número de loci variou entre 4 a 9, com média de 6, por iniciador. Os valores de dissimilaridade genética entre as matrizes variaram entre 0,79 e 0,05. Foram formados 4 grupos divergentes, sendo os ZC 38 x ZC 14 as matrizes mais divergentes, com distância genética de 0,79. As matrizes ZC 6 x ZC 34 foram as mais próximas, com distância genética de 0,05. Também, apresentaram alto valor de distância genética as matrizes ZC 38 x ZC 23 e ZC 47 x ZC 14 com 0,77. As matrizes mais divergentes poderão ser utilizadas para obtenção de sementes e mudas para atender à programas de restauração de áreas degradadas da Caatinga e de conservação genética.

**Palavras chave:** Polimorfismo genético, Marcadores ISSR, Reflorestamento.

### **The genetic variability of Juá (*Ziziphus cotinifolia* Reissek, Rhamnaceae) as a tool for the reforestation of degraded areas of the Caatinga**

**Abstract:** The genetic variability of forest species, such as *Ziziphus cotinifolia*, can be accessed through ISSR molecular markers. Thus, the present study aimed to evaluate genetic variability, using ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*) molecular markers, of a population of *Z. cotinifolia*, belonging to the environmental protection area of the Pedra do Cavalo dam lake (Feira de Santana, BA). A total of 46 genotypes were amplified by means of 6 ISSR primers, obtaining 36 polymorphic loci. The amplitude of the loci varied between 100 bp. Number of loci varied between 4 to 9, with an average of 6, per primer. The values of genetic dissimilarity between the matrices ranged between 0.79 and 0.05. Four divergent groups were formed, with ZC 38 x ZC 14 being the most divergent matrices, with a genetic distance of 0.79. The ZC 6 x ZC 34 matrices were the closest, with a genetic distance of 0.05. Also, the matrices ZC 38 x ZC 23 and ZC 47 x ZC 14 with 0.77 had a high genetic distance. The most divergent matrices can be used to obtain seeds and seedlings to attend programs for the restoration of degraded areas in the Caatinga and for genetic conservation.

**Keyword:** Genetic polymorphism, ISSR markers, Reforestation.

## Introdução

A Caatinga é caracterizada como único bioma exclusivamente brasileiro (Prado 2003) e equivale à 11% do território nacional e engloba os estados Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte, Piauí, Sergipe e o norte de Minas Gerais, ocupando uma área de cerca de 844.453 quilômetros quadrados (Brasil, 2020).

O bioma Caatinga é apontado como promissor para conservação de serviços ambientais, uso sustentável e bioprospecção que, se bem explorado, será decisivo para o desenvolvimento da região e do país (Brasil, 2020). No entanto, a Caatinga tem sido apontada como o bioma brasileiro mais crítico no que se refere à conservação, sendo um dos mais ameaçados e alterados pela ação antrópica (Brasil, 2020)

Diante do exposto, fazem-se necessários estudos sobre a variabilidade genética das populações da Caatinga que possam ser aplicados na conservação das espécies, uma vez que o desmatamento desse bioma leva a fragmentação de populações naturais. A fragmentação é uma barreira para a conservação das espécies, pois as tornam restritas a áreas menores, o que pode inviabilizar ou dificultar a interação entre populações, influenciar no fluxo gênico, induzir a deriva genética e a endogamia (Galetti et al., 2008). O isolamento e redução da vegetação nativa podem causar, ainda, extinções locais, alteração da composição da vegetação e da abundância de espécies (Brasil, 2003).

Entre as espécies arbóreas presentes no bioma caatinga, que ainda pouco se conhece, *Ziziphus cotinifolia* Reissek, apresenta importância relevante para o homem e para natureza, pois apresenta potencial medicinal explorado pela medicina popular (Brasil, 2020) e produz recursos florais explorados por uma variedade de espécies de polinizadores (Santos et al., 2010). *Ziziphus cotinifolia* é popularmente conhecida como Juá e pertencente à família Rhamnaceae (Brasil, 2020). Esta família é constituída de 58 gêneros distribuídos entre 900 espécies que se estendem por todo o trópico, com exceção de alguns gêneros que são de regiões temperadas (Lima, 2006).

Dentro do contexto de mudanças no ambiente e desmatamento, garantir às populações uma alta diversidade genética é de grande importância, pois aumenta a probabilidade

de evolução e adaptação delas ao meio. Por outro lado, uma baixa diversidade genética pode levar a uma baixa capacidade adaptativa, que está intrinsecamente associada à endogamia e redução na capacidade de sobreviver e reproduzir (Frankham et al., 2008) e ao surgimento de genes deletérios em homozigose.

Em programas de recuperação de áreas degradadas, a representatividade genética das sementes coletadas demanda o conhecimento da base genética que está sendo amostrada. Se esses programas forem iniciados com uso de sementes com base genética estreita, os problemas decorrentes da endogamia podem ocorrer (Boshier et al., 1995). Assim, faz-se necessária a avaliação da variabilidade genética das plantas matrizes para coleta de sementes e produção de mudas.

Para conhecer a variabilidade genética de um indivíduo, excluindo os efeitos do ambiente, é necessário acessá-la diretamente no genoma, identificar as variações no DNA (Ferreira & Grattapaglia, 2008). Em 1980, isso se tornou possível por meio da utilização de marcadores moleculares de DNA, que conseguem identificar e analisar o polimorfismo presente nos genomas, além de contribuir para estudos de genética nas áreas de melhoramento de plantas, estudos populacionais, evolução, estruturação e análise de conservação de genes entre espécies relacionadas (Cançado et al., 2012).

Dentre os marcadores moleculares para estudos de variabilidade genética em espécies florestais, destacam-se os marcadores *Inter Simple Sequence Repeat* (ISSR) (Zietkiewicz et al., 1994), que podem revelar o polimorfismo genético entre indivíduos de uma mesma espécie, a exemplo de *Z. cotinifolia*. Estes marcadores dispensam o conhecimento prévio do genoma da espécie a ser estudada, como em *Z. cotinifolia* cujo genoma ainda não foi sequenciado, e amplificam sequências aleatórias no DNA (Ferreira & Grattapaglia, 2008). Ainda, os marcadores ISSR se anelam entre regiões idênticas do genoma conhecidas como microssatélites (SSR). Essas sequências possuem de 1-6 nucleotídeos repetidos e são muito comuns no genoma de eucariotos (Guimarães et al., 2009).

Avaliar a variabilidade genética em *Z. cotinifolia* é importante para subsidiar marcação de plantas matrizes divergentes para coleta de sementes e produção de mudas auxiliando às estratégias de conservação de recursos genéticos

e aumentando a chance de recuperação de áreas degradadas. Assim, o presente trabalho objetivou avaliar a variabilidade genética dentro de uma população nativa de *Ziziphus cotinifolia* visando contribuir com o conhecimento da diversidade genética da espécie e auxiliar em programas de conservação e reflorestamento da caatinga através de seleção de matrizes geneticamente divergentes para produção de mudas.

## Material e métodos

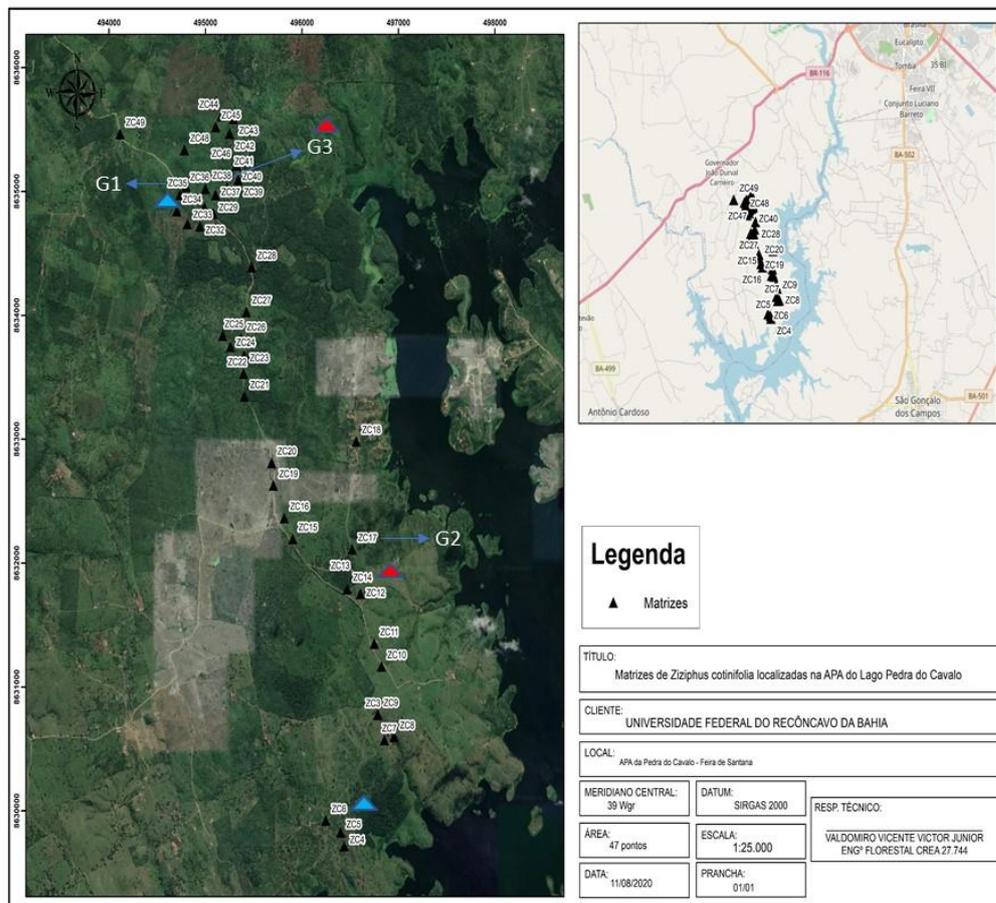
### Área de Estudo

A população estudada está localizada na Área de Proteção Ambiental (APA) do Lago da Barragem de Pedra do Cavallo, situada no município de Feira de Santana, Bahia, 12° 16' 24" S, 38° 57' 20" W, com altitude média de 232 m (Figura 1). A região possui clima tropical com

verão seco. As temperaturas médias anuais variam de 24 a 26 °C, a precipitação pluviométrica média anual de 700 a 1000 mm (Alvares et al., 2013).

A maior parte da extensão da APA possui característica de Caatinga, com vegetação pouco densa. Nas proximidades do Lago de Pedra do Cavallo, a vegetação possui fitofisionomia de floresta estacional. Alguns fragmentos possuem matas ciliares e de galerias ou solo exposto (Teixeira et al., 2009). A Área de Proteção Ambiental foi criada com objetivo de proteger os recursos hídricos presentes na região sendo instituída em 18 de Julho 1997 através do decreto de número 6.548 que em 19 de Setembro de 1999 foi alterado pelo Decreto Estadual nº 7.575 segundo o Conselho Nacional do Meio Ambiente [CONAMA] (1997, 1999).

**Figura 1** - Distribuição espacial das matrizes de *Z. colinifolia* na Área de Proteção Ambiental (APA) do Lago Pedra do Cavallo, Bahia. Matrizes mais divergentes. Matrizes menos divergentes.



**Amostragem**

Para estudo da variabilidade genética, a população foi amostrada por meio da seleção de 47 genótipos (plantas matrizes) de *Z. cotinifolia* (Figura 1) com distância mínima de 50 m entre

eles com objetivo de diminuir a sobreposição de gerações. Essas matrizes foram georreferenciadas com o auxílio de GPS e marcadas com etiquetas de alumínio contendo sua descrição (Tabela 1).

**Tabela 1** - Matrizes de *Ziziphus cotinifolia* localizadas na APA do lago da barragem da Pedra do Cavallo.

<b>Matriz</b>	<b>X mínimo (utm)</b>	<b>Y mínimo (utm)</b>	<b>Elevação(m)</b>
ZC 3	496785,362	8630775,96	145,3994
ZC 4	496437,537	8629714,008	131,0872
ZC 5	496401,218	8629825,801	135,4972
ZC 6	496248,05	8629922,983	126,0946
ZC 7	496856,257	8630573,494	144,4726
ZC 8	496955,064	8630598,164	141,1651
ZC 9	496787,426	8630780,162	147,2274
ZC 10	496825,104	8631165,763	154,3941
ZC 11	496750,839	8631350,757	156,5031
ZC 12	496605,998	8631752,924	147,3409
ZC 13	496546,955	8631887,604	155,8329
ZC 14	496469,568	8631790,726	154,5966
ZC 15	495904,894	8632196,374	158,7004
ZC 16	495817,687	8632364,887	156,537
ZC 17	496521,926	8632111,86	169,7732
ZC 18	496562,588	8632982,69	182,2068
ZC 19	495704,374	8632627,611	148,65
ZC 20	495686,519	8632810,288	153,1709
ZC 21	495403,246	8633345,899	134,1951
ZC 22	495394,52	8633530,9	141,6735
ZC 23	495401,129	8633673,44	134,7565
ZC 24	495258,486	8633746,179	142,796
ZC 25	495179,219	8633836,511	140,1965
ZC 26	495368,819	8633811,661	138,9511
ZC 27	495424,338	8634027,966	138,4895
ZC 28	495477,225	8634389,905	147,0415
ZC 29	495079,363	8634823,65	138,736
ZC 30	494801,443	8635041,003	156,1965
ZC 31	494990,859	8634871,627	144,2855
ZC 32	494942,506	8634720,122	155,0976
ZC 33	494812,586	8634739,23	158,9487
ZC 34	494702,655	8634843,599	154,9162
ZC 35	494736,116	8634974,422	154,4106

**CONTINUAÇÃO**

ZC 36	495000,074	8635021,134	139,9809
ZC 37	495104,451	8634973,049	139,8471
ZC 38	495225,77	8635034,552	136,8767
ZC 39	495338,392	8635095,279	133,6597
ZC 40	495323,913	8635211,276	130,5449
ZC 41	495241,595	8635325,935	134,5804
ZC 42	495249,943	8635468,032	137,298
ZC 43	495288,954	8635587,134	138,509
ZC 44	495163,488	8635609,562	145,0222
ZC 45	495106,098	8635522,414	145,3828
ZC 46	495005,657	8635433,38	147,4257
ZC 47	494901,61	8635448,954	156,1624
ZC 48	494783,234	8635336,472	165,6534
ZC 49	494114,913	8635464,729	192,0697

**Extração de DNA genômico**

Folhas jovens e saudáveis foram coletadas de 47 plantas matrizes e acondicionadas em sacos de papel, identificados, contendo sílica gel e armazenadas em ultrafreezer (-80 °C) até o momento da extração de DNA.

A extração de DNA foi realizada segundo o protocolo descrito por Doyle e Doyle (1990), com modificações: Foram macerados aproximadamente 300 mg de tecido vegetal em presença de nitrogênio líquido. Ao macerado foram adicionados 1000 µL do tampão de extração (2% CTAB, 1,4 NaCl, 0,1 M Tris-HCl pH8, 20mM EDTA, 0,4% 2-mercaptoetanol, 1% PVP e água ultrapura q.s.p.) a 65°C. As amostras foram homogeneizadas e incubadas em banho-maria a 65°C por 45 minutos. Decorrido o tempo, foram adicionados 700 µL da mistura de clorofórmio: álcool isoamílico (24:1) às amostras. Estas foram homogeneizadas, em seguida, centrifugadas por 10 minutos a 3.000 g. Logo após, coletou-se o sobrenadante. As etapas de extração com clorofórmio: álcool/isoamílico foram repetidas. O sobrenadante foi recuperado e a ele foram adicionados 400 µL de álcool isopropílico gelado (2/3 do volume coletado). As amostras foram homogeneizadas, incubadas a -20 °C por 20 minutos e centrifugadas por 10 minutos a 4.000 g. Então, o DNA foi ressuscitado em 600 µL de tampão TE (10 mM Tris-HCl pH 8,0, 1 mM EDTA), adicionando-lhe 200 µL de 7,5 M de acetato de amônio. As amostras foram

misturadas, incubadas no gelo por 15 minutos e centrifugadas a 4.000 g por 15 minutos. Transferiu-se, então, o sobrenadante adicionando-lhe 800 µL de etanol absoluto. Em seguida, as amostras foram incubadas por uma hora a -20 °C e centrifugadas por 10 minutos a 4.000g. O precipitado foi lavado com 500 µL de etanol de 70% (v/v), centrifugado, seco, ressuscitado em 100 µL de tampão TE contendo 1 µL de RNase (10 mg/mL) e colocado em banho-maria a 37 °C durante uma hora. Após, as amostras foram armazenadas em freezer a -20 °C.

A quantidade e a qualidade de DNA foram avaliadas por análise comparativa com concentrações conhecidas de DNA lambda (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA) em gel de agarose a 0,8%, corado com brometo de etídeo (0,5 mg mL<sup>-1</sup>). As amostras foram diluídas em tampão Tris - EDTA, para ajuste de sua concentração (5 ng µL<sup>-1</sup>).

**Seleção de primers ISSR**

Para a seleção de primers com bom padrão de amplificação, realizou-se uma triagem com DNA genômico das matrizes, 12, 20, 24 e 27, selecionadas aleatoriamente. Um total de 24 primers ISSRs (sintetizados pela empresa Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA, na escala de 25 nmol) foi utilizado nessa triagem inicial (Tabela 2). Apenas os primers que produziram padrões consistentes foram selecionados para a etapa de genotipagem de toda a população.

**Tabela 2** - Primers utilizados nos testes e amplificação do DNA genômico de *Ziziphus cotinifolia*.

Primer	Sequência (5'-3')	Primer	Sequência (5'-3')
TRITTG 3 RC	TTG TTG TTG TTG TTG RC	UBC815	CTC TCT CTC TCT CTC TG
TRITCA 3 RC	TCA TCA TCA TCA TCA RC	UBC816	CAC ACA CAC ACA CAC AT
TRITCC 3 RC	TCC TCC TCC TCC TCC RC	UBC817	CAC ACA CAC ACA CAC AA
TRITGC 3 RC	TGC TGC TGC TGC TGC RC	UBC818	CAC ACA CAC ACA CAC AG
TRICGG 3 RC	CGG CGG CGG CGG CGG RC	UBC823	TCT CTC TCT CTC TCT CC
UBC810	GAG AGA GAG AGA GAG AT	UBC825	ACA CAC ACA CAC ACA CT
UBC815	CTC TCT CTC TCT CTC TG	UBC826	ACA CAC ACA CAC ACA CC
UBC834	AGA GAG AGA GAG AGA GYT	UBC827	ACA CAC ACA CAC ACA CG
UBC835	AGA GAG AGA GAG AGA GYC	UBC828	TGT GTG TGT GTG TGT GA
UBC836	AGA GAG AGA GAG AGA GYA	UBC842	GAG AGA GAG AGA GAG AYG
UBC841	GAG AGA GAG AGA GAG AYC	UBC887	DVD TCT CTC TCT CTC CT
UBC812	GAG AGA GAG AGA GAG AA		

### Condições de amplificação e eletroforese

As amplificações foram preparadas de acordo com Williams et al. (1990). Cada reação de amplificação foi preparada em um volume final de 20 µL, que continha: 2,0 µL de tampão da enzima 10 X (50 mmol·L<sup>-1</sup> de Tris-HCl, 20 mmol·L<sup>-1</sup> de KCl); 2,0 µL de dNTP mix (2,5 mM de cada); 2,5 µL de MgCl<sub>2</sub> (50 mM); 5 µL de cada iniciador (25 µM; Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA); 0,2 µL de Taq DNA polimerase (1 U/ 2 µL Life Technologies do Brasil Ltda., São Paulo, SP), 5 µL de DNA (5 ng/µL) e água ultrapura q.s.p.

As amplificações foram conduzidas em termociclador Simpliamp Thermal Cycler (Applied Biosystems do Brasil Ltda., São Paulo, SP) com temperatura de desnaturação inicial de 94 °C por 1 min, seguidas de 40 ciclos de amplificação [94 °C por 30 seg., temperatura de anelamento de 35 °C por 40 seg. e 72 °C por 1 min] e extensão final de 72 °C por 7 min.

Os produtos da amplificação foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 2%, corado com brometo de etídeo (0,5 mg/mL<sup>-1</sup>). Esses produtos foram visualizados por meio de luz UV e fotografados em sistema de fotodocumentação (sistema Kodak Digital Science, ID KODAK, USA). Para a confirmação do tamanho esperado dos fragmentos, utilizou-se o padrão de peso molecular de 1 kb (Invitrogen, São Paulo, SP).

### Análises dos dados

Pelo fato de o ISSR ser um marcador dominante, os dados foram computados como ausência (0) e presença (1) de bandas. A variabilidade genética da espécie foi determinada por meio da matriz de dissimilaridade genética usando o índice de Jaccard (1908) gerada pelo programa Darwin 6.0 (Perrier & Jacquemoud-Collet, 2017).

O dendrograma foi construído com o

método da média aritmética não ponderada (UPGMA) (Sneath & Sokal, 1973), por meio do programa Darwin 6.0. A correlação cofenética entre a matriz de distância e a matriz de agrupamento foi calculada por meio do programa Genes (Cruz et al. 2004) e o ponto de fusão foi definido de acordo com os critérios propostos por Mingoti (2005).

## Resultados e discussão

Na genotipagem das 46 matrizes de *Z. cotinifolia*, seis primers ISSR geraram fragmentos com bom padrão de amplificação (Tabela 3). A Figura 2 mostra o perfil eletroforético do DNA genômico de *Z. cotinifolia* amplificado por meio do primer UBC887.

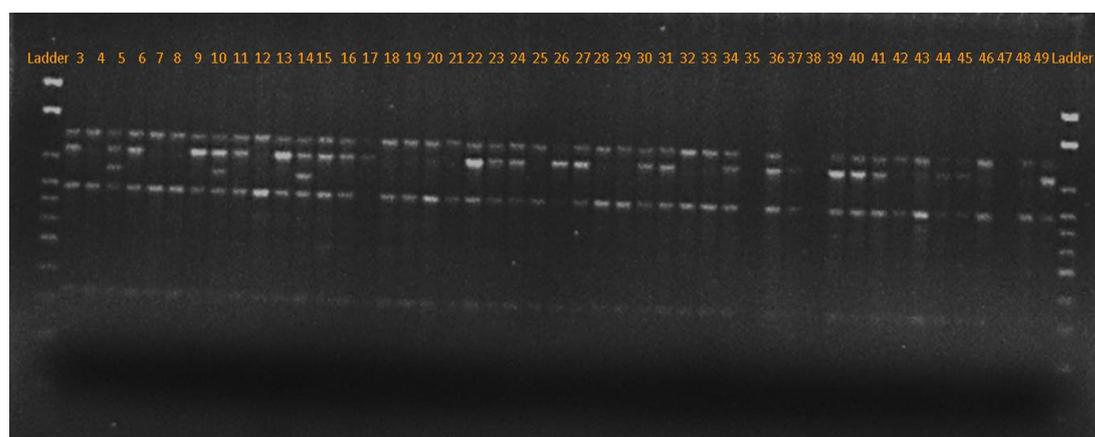
Assim como neste trabalho, outras populações naturais foram genotipadas com um número reduzido de primers para identificação de polimorfismo, a exemplo de *Zabrotes subfasciatus* (Souza et al., 2008).

**Tabela 3** - Primers ISSR selecionados para genotipagem, suas sequências, faixa de variação de tamanho dos loci em pares de bases (TPB), número total de bandas monomórficas e polimórficas geradas pela amplificação do DNA dos 47 indivíduos de *Ziziphus cotinifolia*.

Primer	Sequência (5'-3')	Amplitude em pb	Número de fragmentos	
			Total	Polimórficas
UBC815	CTC TCT CTC TCT CTC TG	980 - 590	4	4
UBC835	AGA GAG AGA GAG AGA GYC	690 - 100	9	8
UBC816	CAC ACA CAC ACA CAC AT	780 - 490	4	4
UBC827	ACA CAC ACA CAC ACA CG	780 - 200	9	8
UBC842	GAG AGA GAG AGA GAG AYG	600 - 180	7	6
UBC887	DVD TCT CTC TCT CTC CT	860 - 700	4	4
<b>Total</b>			<b>39</b>	<b>36</b>

\*pb = pares de bases.

**Figura 2** - Perfil eletroforético do DNA genômico de *Ziziphus cotinifolia* amplificado por meio do primer ISSR UBC887. Ladder: marcador de peso molecular de 1 Kb; 3-49: matrizes da espécie.



Foram obtidos 39 loci na genotipagem das matrizes. Destes, 36 loci foram polimórficos, perfazendo 92% (Tabela 3). A amplitude dos loci variou entre 100 e 980 pb para UBC835 e UBC815, respectivamente (Tabela 3). Em *Ziziphus joazeiro* Mart., foi identificada uma variação na amplitude dos marcadores ISSR de 200 a 1500 pb (Duarte, 2015).

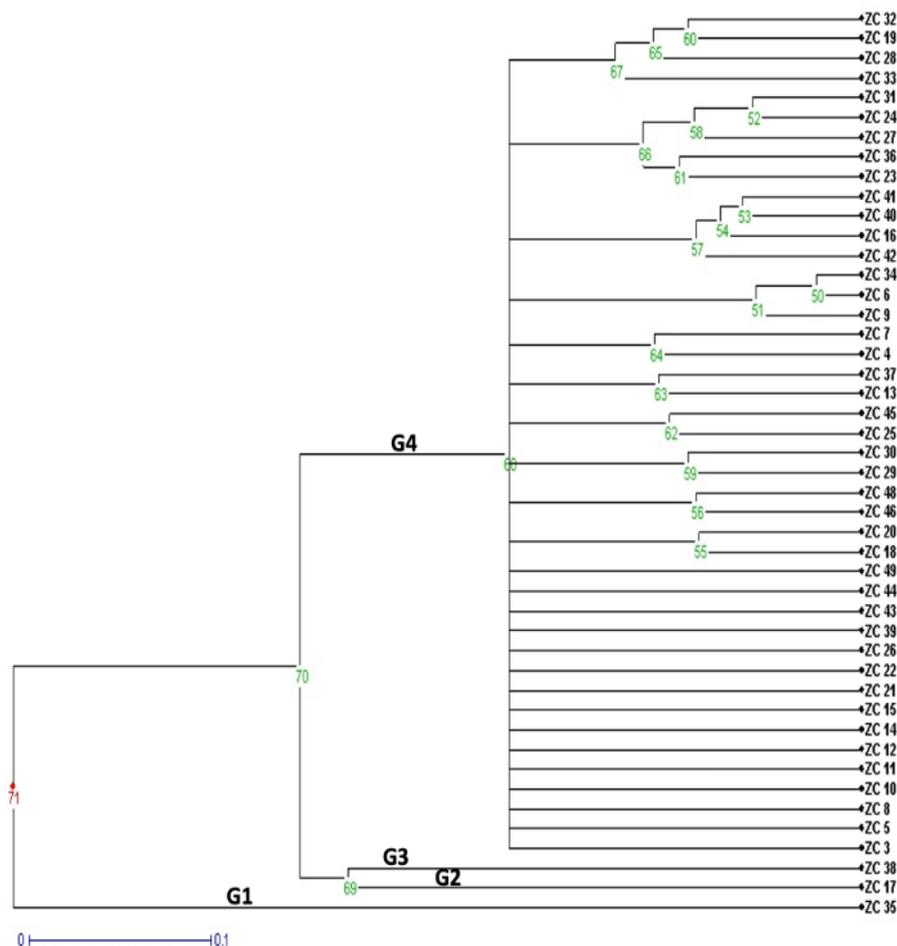
O número de loci variou de 4 a 9 por marcador, com média de 6 loci (Tabela 3). Os primers UBC827 e UBC835 geraram o maior número de loci polimórficos, um total de 8. Os primers UBC815, UBC816 e UBC887 foram os que geraram um menor número de loci

polimórficos, um total de 4 (Tabela 3).

Os valores de dissimilaridade genética entre as matrizes variaram entre 0,79 e 0,05. As matrizes mais divergentes foram as ZC 38 x ZC 14 (0,79) e as menos divergentes foram as ZC 6 x ZC 34 (0,05; Figura 3). Outras matrizes com alto valor de dissimilaridade foram: ZC 38 x ZC 23 e ZC 47 x ZC 14, com o valor de 0,77 (Figura 3).

O agrupamento hierárquico entre as matrizes possibilitou a formação de 4 grupos divergentes: Grupo 1 (matriz Z35); Grupo 2 (matriz Z17); Grupo 3 (matriz Z38); e Grupo 4 (demais matrizes; Figura 3).

**Figura 3** - Dissimilaridade genética entre 46 matrizes de *Ziziphus cotinifolia*. gerados pelo método de agrupamento UPGMA, a partir do coeficiente de dissimilaridade de Jaccard. G1: grupo 1; G2: grupo 2, G3: grupo 3; G4: grupo 4.



As matrizes mais divergentes ZC 38 e ZC 14 ficaram em grupos diferentes, G3 e G4, respectivamente. A Figura 1 mostra a distribuição

espacial dessas duas matrizes. Nota-se que ambas estão distantes espacialmente, o que pode explicar o alto valor de distância genética entre

elas. A distância espacial pode ser a explicação da divergência entre essas matrizes. Segundo Slatkin (1987), o papel do fluxo gênico na distribuição da diversidade genética entre e dentro de populações depende tanto da distribuição geográfica, quanto da importância de outros fatores evolucionários.

Já as matrizes ZC 6 e ZC 34, menos divergentes, também apresentam distância espacial, mostrando que o fluxo gênico pode estar ocorrendo de forma mais intensa entre outros indivíduos da população, seja por polinizadores ou dispersores de sementes. O fluxo gênico atua no sentido de homogeneizar a variação genética espacial entre os indivíduos (Slatkin, 1987).

O resultado da análise de correlação cofenética demonstrou uma associação de 92% entre as distâncias obtidas pelo coeficiente de Jaccard (matriz de dissimilaridade) e as representações no dendrograma (matriz cofenética). O valor cofenético obtido nesse estudo foi alto ( $r = 0,92$ ;  $p < 0,0001$ ; 10.000 permutações) demonstrando baixa distorção entre os padrões de dissimilaridade dos indivíduos estudados, já que, segundo Vaz Patto et al. (2004), valores de  $r \geq 0,56$  são considerados ideais.

Santana (2010), ao avaliar a divergência genética entre acessos de Umbu-cajazeiras obteve um valor cofenético de 0,83 no dendrograma pelo método de UPGMA. Oliveira (2015) ao avaliar a diversidade de uma espécie nativa africana identificou um coeficiente cofenético de 0,72. Para ambos os trabalhos, os autores concluíram que os valores de CCC apresentando uma correlação positiva entre as matrizes de dissimilaridade e os dendrogramas, sendo significativos para o método de agrupamento médio entre grupos (UPGMA).

Os grupos 1, 2 e 3 foram compostos por apenas uma matriz, cada. Estas matrizes são as mais divergentes dentro da população estudada (Figura 3). Apesar do grupo 4 ser composto pelas demais matrizes (44 matrizes), houve formação de subgrupos com número de matrizes variando entre 5 e 1, por subgrupo (Figura 3). A formação de 4 grupos entre as matrizes da população estudada, mostra que há variabilidade genética na população e que as matrizes divergem entre si, importante dentro de um programa de recuperação de áreas degradadas, reflorestamento, conservação e melhoramento genético da espécie. Por meio da Figura 1, pode-

se observar também, que os grupos G1, G2 e G3 tem uma distribuição espacial divergente.

## Conclusão

O uso de marcadores moleculares ISSR foi eficiente para identificação de polimorfismo genético em *Z. cotinifolia*, possibilitando a detecção de variabilidade genética entre as matrizes da população do fragmento da Caatinga da área de proteção ambiental do lago da barragem da Pedra do Cavalo.

As matrizes mais divergentes podem ser utilizadas para coleta de sementes visando o reflorestamento e a conservação (Grupo1 - matriz Z35; Grupo 2 matriz - Z17; Grupo 3 - matriz Z38 e Grupo 4 - demais matrizes).

## Agradecimentos

Ao Instituto do Meio Ambiente e Recursos Hídricos, BA [INEMA] pelo apoio financeiro. À toda equipe da APA lago da barragem da Pedra do Cavalo.

## Referências

- Alvares, C.A., et al. (2013). Climate classification map for Brazil. *Meteorologische Zeitschrift*, 22 (6), 711-728.
- Brasil. Ministério do Meio Ambiente. (2003). *Fragmentação de ecossistemas: causas, efeitos sobre a biodiversidade e recomendações de políticas públicas* (508p). Brasília, DF: MMA.
- Brasil. Ministério do Meio Ambiente (2020). *Lista Oficial das Espécies da Flora Brasileira Ameaçadas de Extinção* (55p). Recuperado em 11 agosto ,2020, de <https://www.mma.gov.br/biomas/caatinga.html>.
- Boshier, D.H, et al. (1995). Population genetics of *Cordia alliodora* (Boraginaceae), a neotropical tree. 2. Mating system. *American Journal of Botany*, 82 (4), 476-483.
- Cançado, G.M.A., et al. (2012). Marcadores moleculares de DNA e suas aplicações na caracterização, identificação e melhoramento genético da oliveira. In: Oliveira, A.F. (Org.).

- Oliveira no Brasil: Tecnologias de Produção (1, pp. 225-250). Belo Horizonte: EPAMIG.
- Conselho Nacional do Meio Ambiente. (1997). *Decreto 6548 de 19 e 20 julho de 1997*. Salvador, BA. Recuperado em 10 junho ,2020, de <https://governo-ba.jusbrasil.com.br/legislacao/79357/decreto-6548-97>.
- Conselho Nacional do Meio Ambiente. (1999). *Decreto 7575 de 19 de setembro de 1999*. Alteram dispositivos do Decreto nº 6.548, de 18 de julho de 1997, que criou a Área de Proteção Ambiental - APA do Lago de Pedra do Cavalo. Salvador, BA: Diário Oficial do Estado. Recuperado em 10 junho ,2020, <https://www.jusbrasil.com.br/topicos/10216106/artigo-1-do-decreto-n-7575-de-19-de-maio-de-1999-da-bahia>
- Cruz, P.J., et al. (2004). Genetic dissimilarity among wheat genotypes for lodging-associated traits. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 4 (4), 427-433.
- Doyle, J.J., & Doyle, J.L. (1990). A rapid total DNA preparation procedure for fresh plant tissue. *Focus*, 12, 13-15.
- Duarte, M.M. (2015). *Diversidade genética de populações naturais de Ziziphus joazeiro Mart. como subsídio para adoção de estratégias de conservação* (63f). Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Agrárias, Curitiba, PR, Brasil.
- Frankham, R., et al. (2008). *Fundamentos de Genética da Conservação* (280p). Rio Preto: Sociedade Brasileira de Genética.
- Ferreira, M.E., & Grattapaglia, D.(2008). *Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética* (3.ed., 220p). Brasília: Embrapa Cenargen.
- Galetti, Jr. P.M., et al. (2008). *Genética da conservação na biodiversidade brasileira*. Ribeirão Preto: Editora SBG.
- Guimarães, C.T., et al. (2009). Marcadores moleculares e suas aplicações no melhoramento genético. *Informe Agropecuário*, 30 (253), 24-33.
- Jaccard, P. (1908). Nouvelles recherches sur la distribution florale. *Revue Bulletin de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles*, 44, 223-270.
- Lima, R.B (2006). Flora da Reserva Ducke, Amazonas, Brasil: Rhamnaceae. *Rodriguésia*, 57 (2), 247-249.
- Mingoti, S.A. (2005). *Análise de dados através de métodos de estatística multivariada: uma abordagem aplicada* (295p). Belo Horizonte: Editora UFMG.
- Oliveira, T.C. (2015). *Divergência genética e correlação entre caracteres de genótipos de sorgo sacarino na região de Cáceres – MT* (89 f). Dissertação de Mestrado, Universidade do Estado de Mato Grosso, Mato Grosso, MT, Brasil.
- Perrier, X., & Jacquemoud-Collet, J.P. (2017). *DaRwin (Dissimilarity Analysis and Representation for Windows)* [Software] (Version 6.0. 014). Recuperado de <http://darwin.cirad.fr/>. 2017.
- Prado, D.E. (2003). As Caatingas da América do Sul. In: Leal, I.R., et al. *Ecologia e Conservação da Caatinga* (pp.4-73). Recife. Ed. Universitária.
- Slatkin, M. (1987). Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science*, 236, 787-792.
- Santana, I.B.B. (2010) *Diversidade genética entre acessos de Umbu-cajazeiras mediante análise multivariada utilizando marcadores morfoagronômicos e moleculares* (85f). Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Cruz das Almas, BA, Brasil.
- Santos, G.M.M., et al. (2010). Flower-visiting guild associated with the Caatinga flora: trophic interaction networks formed by social bees and social wasps with plants: *Apidologie*, 41 (4), 466-475.
- Sneath, P.H.A., & Sokal, R.R. (1973). *Numerical taxonomy* (573p). San Francisco: Freeman.
- Souza, G.A., et al. (2008). Diversidade genética estimada com marcadores ISSR em populações

brasileiras de *Zabrotes subfasciatus*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 43 (7), 843-849.

Teixeira, C.U., et al. (2009). Utilização das imagens CBERS 2 na aplicação de modelos matemáticos para predição de perdas de solo (pp. 2249-2254). In: *Anais do Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto*, Natal, INPE, 15.

Vaz Patto, M.C., et al. (2004). Assessing the genetic diversity of Portuguese maize germplasm using microsatellite markers. *Euphytica*, 137, 63-72.

Williams, J.G.K., et al. (1990). DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*, 18, 6531-6535.

Zietkiewicz, E., Rajalski, A., & Labuda, D (1994). Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR) – anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, San Diego, 20, 176-183.

Recebido em: 10/06/2020

Aceito em: 12/07/2021