

Estudo da Variabilidade Genética em um complexo de espécies de *Calliandra* Benth (Leguminosae – Mimosoideae) na Chapada Diamantina, Bahia, Brasil

Adelina Vitoria Ferreira Lima¹ e Élvia Rodrigues de Souza²

1. Bolsista PIBIC/Fapesb, Graduando em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: adelina.bio@gmail.com
2. Orientadora, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: elviasouza@yahoo.com.br

PALAVRAS-CHAVE: *Calliandra*, variabilidade genética, ISSR, Chapada Diamantina.

INTRODUÇÃO

O gênero *Calliandra* Benth. pertence à família Leguminosae, subfamília Mimosoideae. É atualmente composto por 137 espécies (Souza 2007) inteiramente neotropicais com área de distribuição estendendo-se do sul dos Estados Unidos ao norte da Argentina. Apresenta como maior centro de diversidade à Chapada Diamantina com 35 das suas 45 espécies endêmicas. Durante os estudos taxonômicos, biogeográficos e filogenéticos realizados por Souza (2001, 2007) houve grande dificuldade na identificação de táxons a níveis inter e infra-específicos devido à grande variação morfológica existente ou a superposição de caracteres diagnósticos para as espécies. Sendo assim, nenhuma decisão taxonômica foi tomada por falta de subsídios que corroborassem com a determinação, ou não, de novos táxons. Por isso, o atual projeto tem como objetivos investigar o número de status taxonômicos existentes no complexo de espécies de *C. bahiana*, assim como, determinar a natureza, magnitude e a distribuição da variabilidade genética inter e intrapopulacionais através das técnicas de marcadores moleculares (ISSR). Contribuindo dessa maneira com dados para futuras hipóteses de diversificação em plantas de campo rupestre usando *Calliandra*, táxon com grande concentração de espécies neste ecossistema, como modelo, permitindo assim, uma melhor compreensão de características biogeográficas da biota destas áreas.

MATERIAS E MÉTODOS

Foram coletados em sílica tecidos foliares de quinze a vinte indivíduos de cada população de *C. bahiana*, totalizando seis populações das localidades de Catolés (Abaíra), Delfino (Umburanas), Érico Cardoso, Mucugê e Rio de Contas. Os materiais coletados foram identificados baseados em literatura especializada (Barneby 1998; Souza, 2001). De cada população coletada para estudo foram feitos materiais-testemunho (vouchers) que foram depositados no Herbário da Universidade Estadual de Feira de Santana (HUEFS). O DNA de cada amostra foi extraído utilizando o protocolo CTAB de Doyle & Doyle (1987). Para estimar as relações genéticas, foram utilizados marcadores moleculares de ISSR (“intersimple sequence repeat”, Zietkiewicz *et al.*, 1994) os quais foram amplificados por reação de PCR (reação em cadeia da DNA polimerase) para detectar o polimorfismo existente entre os diferentes fragmentos amplificados entre as SSR. As reações de PCR com as ISSR foram baseadas nos protocolos de Wolfe *et al.* (1998) para otimização de 15 primers selecionados para o

grupo de estudo: UBC 814, UBC 843, UBC 844, UBC 898, UBC 899, UBC 901, UBC 902, MAO, MANNY, GOOFY, TERRY, JOHN, M1, M2 E DAT. O programa para amplificação de ISSR que apresentou melhores resultados com TOP TAQ Master Mix (Qiagen) consta de um ciclo de desnaturação inicial de quatro minutos a 95°C, seguidos de 37 ciclos de 94°C de desnaturação por um minuto, 45-50°C de anelamento por dois minutos, 72°C de extensão por dois minutos e um ciclo de extensão final por sete minutos a 72°C. Os produtos da PCR foram separados através da eletroforese em gel de agarose 1,5%. O gel foi corado com brometo de etídio e visualizado em um transiluminador de luz UV e as bandas comparadas através do marcador Mass Ladder 100 pares de base. A partir do padrão de bandas (fragmentos amplificados) foi construída uma matriz binária com (1) para a presença da banda e (0) para a ausência.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram amplificados, até o momento, os primers de ISSR: MANNY, DAT e JOHN para quatro das seis populações coletadas e extraídas: Delfino, Catolés, Rio de Contas e Érico Cardoso, as quais foram nomeadas de População I, População II, População III e População IV, respectivamente. As quatro populações apresentam os indivíduos codificados, presença (1) e ausência (0) de bandas, para os primers acima citados e os resultados estão apresentados no Anexo I. O presente projeto não pode ser concluído no período de um ano devido ao atraso na execução das viagens ao campo para aquisição de material e problemas laboratoriais, sendo assim necessária a prorrogação da proposta de estudo para finalização dos procedimentos laboratoriais e análises populacionais sem os quais não é possível discutir os resultados alcançados.

CONCLUSÃO

As etapas laboratoriais e as análises laboratoriais como, análise da matriz de distância genética, análise agrupamento e análises de Coordenadas Principais serão executadas na renovação da bolsa aprovada pela Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação da UEFS (PPPG) – PIBIC/CNPq.

REFERÊNCIAS

- BARNEBY, R.C. 1998. Silk tree, Guanacaste, monkey's earring: a genetic system for the synandrous Mimosaceae of the Americas. *Memoirs of the New York Botanic Garden* 74:1-223.
- DOYLE, J.J.; DOYLE, J.J. 1987. Arapid isolation procedure for small quantities of fresh tissue. *Phytochemical Bulletin*, v. 19, p. 11-15.
- SOUZA, E.R. de 2001. Estudos Taxonômicos e Biogeográficos em *Calliandra* Benth. (Leguminosae: Mimosoideae). Dissertação de Mestrado. UEFS. Feira de Santana, BA.
- SOUZA, E.R. de 2007. Estudos Filogenéticos na tribo Ingeae (Leguminosae: Mimosoideae) com ênfase em *Calliandra* Benth. e gêneros afins. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Feira de Santana – UEFS, Feira de Santana, BA.
- WOLFE, A.D.; XIANG, Q-Y.; KEPHART, S. R. 1998. Assessing hybridization in populations of *Penstemon* (Scrophulariaceae) using hypervariable intersimple sequence repeat (ISSR) bands. *Molecular Ecology*, v. 7, p. 1107-1125.
- ZIETKIEWICZ, E.; RAFALSKI, A.; LABUDA, D. 1994. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR) anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, v. 20, p. 176-183.

Tabela 1. Matriz binária de presença e ausência de bandas

POPULAÇÃO I				POPULAÇÃO II				POPULAÇÃO III				POPULAÇÃO IV			
PRIMERS				PRIMERS				PRIMERS				PRIMERS			
INDIVÍDUO	MANNY	DAT	JOHN	INDIVÍDUO	MANNY	DAT	JOHN	INDIVÍDUO	MANNY	DAT	JOHN	INDIVÍDUO	MANNY	DAT	JOHN
1.1	1	1	1	2.1	1	0	1	3.1	1	1	1	4.1	1	1	1
1.2	1	1	1	2.2	1	1	1	3.2	1	1	1	4.2	1	1	1
1.3	1	1	1	2.3	1	1	1	3.3	1	1	1	4.3	1	1	1
1.4	1	1	1	2.4	1	1	1	3.4	1	1	1	4.4	1	1	1
1.5	1	1	1	2.5	1	1	1	3.5	1	1	1	4.5	1	1	1
1.6	1	1	1	2.6	1	1	1	3.6	1	1	1	4.6	1	1	1
1.7	1	1	1	2.7	1	1	1	3.7	1	1	1	4.7	1	1	1
1.8	1	1	1	2.8	1	1	1	3.8	1	1	1	4.8	1	1	1
1.9	1	1	1	2.9	1	1	1	3.9	1	1	1	4.9	1	1	1
1.10	1	1	1	2.10	1	1	0	3.10	1	1	1	4.10	1	1	1
1.11	1	1	0	2.11	0	1	1	3.11	1	1	1	4.11	1	1	1
1.12	1	1	1	2.12	1	1	1	3.12	1	1	1	4.12	1	1	1
1.13	1	1	1	2.13	1	1	1	3.13	1	1	1	4.13	1	1	1
1.14	1	1	1	2.14	1	1	1	3.14	1	1	1	4.14	1	1	1
1.15	1	1	1	2.15	1	1	1	3.15	1	1	1	4.15	1	1	1
				2.16	1	1	1	3.16	1	1	1	4.16	1	1	1
				2.17	1	1	1	3.17	1	1	1	4.17	1	1	1
				2.18	1	1	1	3.18	1	1	1	4.18	1	1	1