

DIVERSIDADE GENÉTICA EM *Cereus jamacaru* DC ATRAVÉS DE MARCADORES MICROSSATÉLITES

GENETIC DIVERSITY IN *Cereus jamacaru* DC USING MICROSATELLITES MARKERS

Gleice Ribeiro Orasmo

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4342-3287>

Departamento de Biologia CCN

Universidade Federal do Piauí, UFPI

E-mail para correspondência: gleice@ufpi.edu.br

Sílvia Braz Rodrigues de Oliveira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8572-5830>

Engenheira Agrônoma

Universidade Federal do Piauí, UFPI

Jéssica Missilany da Costa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1535-7128>

Graduação em Ciências Biológicas

Universidade Federal do Piauí, UFPI

Submetido: 03/12/2021; Aceito: 10/02/2022

Resumo

A diversidade genética em cinco acessos de mandacaru (*Cereus jamacaru* DC), cultivadas em diferentes municípios no semiárido e pertencentes ao Banco de Germoplasma de Mandacaru (BGM-UFPI), foi analisada utilizando quatro *primers* SSR (MCER03, MCER05, MCER06 e PaSSR184). Dez *loci* SSR revelaram alta variabilidade genética, sendo 90% polimórficos. A diferenciação genética entre os cinco acessos foi alta (0,75) e todos os *loci* SSR revelaram altíssima variabilidade genética (0,33). Entre os acessos analisados, a maior similaridade genética (87%) foi observada entre os acessos BGM13 (São Félix do Piauí) e BGM18 (Pimenteiras) e a maior distância (1,05%) entre BGM10 (Parnaíba) e BGM18, apontando certa correlação geográfica. O dendrograma mostrou a formação de três grupos, sendo o 1º formado pelos acessos BGM13 e BGM18, o 2º pelos acessos BGM14 (Itaueira) e BGM28 (Teresina) e o 3º pelo BGM10, o qual ficou isolado dos demais por ser o genótipo mais divergente. Assim, o BGM10, de Parnaíba, pode ser indicado para compor programas de melhoramento genético de mandacaru. Embora seja necessária a otimização dos *primers*, os marcadores SSR foram capazes de amplificar o genoma de *C. jamacaru* DC, sendo os *loci* SSR úteis na análise da diversidade genética em acessos de mandacaru.

Palavras-chave: Mandacaru, Polimorfismos, SSR.

Abstract

Genetic diversity in five accessions of mandacaru (*Cereus jamacaru* DC), cultivated in different cities in the semiarid region and belonging to the Mandacaru Germplasm Bank (BGM-UFPI), was analyzed using four SSR primers (MCER03, MCER05, MCER06 and PaSSR184). Ten SSR loci revealed high genetic variability, being 90% polymorphic. The genetic differentiation among the five accessions was high (0.75) and all SSR loci revealed very high genetic variability (0.33). Among the analyzed accessions, the greatest genetic similarity (87%) was observed between the accessions BGM13 (São Félix do Piauí) and BGM18 (Pimenteiras) and the greatest distance (1.05%) between BGM10 (Parnaíba) and BGM18, pointing out a certain geographic correlation. The dendrogram showed the formation of three groups, the 1st formed by accessions BGM13 and BGM18, the 2nd by accessions BGM14 (Itaueira) and BGM28 (Teresina) and the 3rd by BGM10, which was isolated from the others because it is the most divergent genotype. Thus, the BGM10, from Parnaíba, can be indicated to compose programs for the genetic improvement of mandacaru. Although the optimization of the primers is necessary, the SSR markers were able to amplify the genome of *C. jamacaru* DC, being the SSR loci useful in the analysis of genetic diversity in mandacaru accessions.

Keywords: Mandacaru, Polymorphisms, SSR.

INTRODUÇÃO

O mandacaru é uma cactácea colunar característica do bioma Caatinga. Na região árida no nordeste brasileiro, em vários estados, incluindo o Piauí, as plantas de mandacaru são classificadas como *Cereus jamacaru* D.C. subsp. *jamacaru* (ZAPPI *et al.*, 2010). Além de ornamentais, por possuírem flores bonitas e perfumadas, as plantas de mandacaru têm grande importância ecológica em regiões xerófitas, por armazenarem grandes quantidades de água, sendo utilizado como um dos principais suportes forrageiros dos ruminantes em períodos de seca no nordeste brasileiro (SILVA *et al.*, 2011). No entanto, poucos agricultores realizam o plantio do mandacaru, assim, esta espécie de cactácea está diminuindo sua ocorrência no sertão nordestino, o que indica a necessidade de um manejo conservacionista e sustentável dessa espécie (CAVALCANTI; RESENDE, 2007).

O mandacaru tem sido explorado, ainda que pouco, comercialmente, uma vez que as espécies apresentam uma série de características que são de interesse econômico, industrial e fitoterápico. A importância comercial das espécies de mandacaru, tem motivado estudos comparativos para avaliar as características fisiológicas de frutos maduros e de sementes (LUZ *et al.*, 2020), bem como avaliar a viabilidade, composição química e potencial de germinação de sementes (BEVILAQUA *et al.*, 2015), em duas espécies de mandacaru cultivadas em regiões contrastantes, Sul (*C. peruvianus* Mill.) e Nordeste (*C. jamacaru* DC) do Brasil.

O mandacaru também possui grande importância medicinal, sendo muito utilizado na medicina tradicional do Nordeste brasileiro. Compostos fenólicos e alcalóides extraídos dos cladódios de *C. jamacaru* DC. foram relacionados à atividade antioxidante e podem atuar no ciclo celular das células tumorais, tanto *in vitro* quanto *in vivo*, com efeitos anticancerígenos e tumorais (DUTRA *et al.*, 2018). Estudos utilizando a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) revelaram a presença de flavonoides em amostras de mandacaru cultivadas no semiárido piauiense, os quais apresentaram bandas relevantes destes compostos em *C. jamacaru* DC (NASCIMENTO; ORASMO, 2017; OLIVEIRA; ORASMO, 2018).

A espécie *Cereus jamacaru* DC apresenta grande diversidade de compostos biológicos, tais como: alcalóides, esteroides, triterpenos, glicosídeos, óleos e ceras que são aproveitados pela indústria farmacêutica (DAVET, 2005). Esta diversidade de moléculas de interesse comercial, pode ser o reflexo da variabilidade genética existente nestas plantas. O conhecimento desta variação pode corroborar com informações importantes para o monitoramento destas plantas cultivadas no semiárido, a fim de explorar racionalmente estes recursos genéticos.

Diante da importância desta espécie na conservação do bioma caatinga, estima-se que marcadores moleculares, capazes de detectar o polimorfismo genético em nível de DNA, possam ser ferramentas importantes, as quais permitam a análise da diversidade genética e da estrutura de populações nativas. Os microssatélites representam uma importante classe de marcadores por serem altamente polimórficos, além disso são eficientes para a análise de genomas de plantas (ZALAPA *et al.*, 2012), sendo os mais utilizados para estimar a diversidade genética (ZHU *et al.*, 2016). Os *loci* SSR têm sido usados também em estudos filogenéticos (MEHMOOD *et al.*, 2016), de mapeamento (TAN *et al.*, 2016), conservação (GÓMEZ-FERNÁNDEZ *et al.*, 2016), entre outros.

Os microssatélites ou SSR (*Simple Sequence Repeats*) são amplamente utilizados na análise da variabilidade genética, pois geralmente possuem uma profusão de alelos diferentes dentro de uma mesma população, sendo, por isso, preferencialmente selecionados para uso. Caracterizam-se por serem codominantes e, portanto, é possível identificar os heterozigotos num *locus* gênico. São baseados em PCR (*Polimerase Chain Reaction*), abundantes e aparentemente distribuídos por todo o genoma (BUSO *et al.*, 2003).

O empenho em utilizar microssatélites no estudo de diversidade de *Cereus* spp. deve-se ao fato de que este marcador, devido à suas principais características de codominância, multialelismo e alto polimorfismo, constitui-se em uma ferramenta ideal para auxiliar no desenvolvimento de estratégias de manejo e conservação, na qual é indispensável o conhecimento da variação genética e do grau de diferenciação das populações naturais (WHITE; POWELL, 1997). Entretanto, a grande limitação do uso dos marcadores SSR é a obtenção dos *primers* que serão usados na PCR para amplificar o genoma, pois trata-se de uma técnica de elevado custo e mão de obra, a qual inclui a construção de biblioteca genômica, seleção de clones positivos, desenho e teste de *primers* (BUSO *et al.*, 2003).

Até o presente momento ainda não estão disponíveis marcadores microssatélites para o gênero *Cereus* spp., as espécies têm sido estudadas fazendo uso de outros marcadores moleculares, como ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*) (DOMINGUES et al., 2017) e AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) (FARIA-TAVARES et al., 2013) e bioquímicos, como isoenzimas (SALA et al., 2011) e proteína total (FERNANDES et al., 2020), marcadores morfofisiológicos (LUZ et al., 2020) e até químicos (BEVILAQUA et al., 2015; SANTOS et al., 2021). No entanto, outra característica bastante interessante dos microssatélites é a sua capacidade de transferibilidade, na qual permite a utilização de *primers* desenvolvidos para espécies relacionadas (mesmo gênero ou família), diminuindo, assim, custos e tempo de execução dos projetos (NEVES, 2013). Deste modo, alguns estudos têm sido realizados utilizando microssatélites transferidos para *Cereus* spp. (BOMBONATO et al., 2019; FERNANDES et al., 2016; NEVES, 2013).

Para o manejo conservacionista das plantas de mandacaru é importante conhecer a variabilidade genética existente nestas plantas em seu ambiente natural. Assim, a proposta do presente estudo foi analisar a diversidade genética em cinco amostras de mandacaru (*Cereus jamacaru* DC) cultivadas no semiárido utilizando pares de *primers* microssatélites desenvolvidos para o mesmo gênero e para outras cactáceas. Estima-se que estes *loci* SSR sejam capazes de amplificar o genoma de *C. jamacaru* DC e detectar o polimorfismo no DNA das plantas de mandacaru do nordeste brasileiro e, assim, as informações geradas poderão auxiliar os programas de melhoramento genético em mandacaru. Estudos genéticos-moleculares em espécies nativas do semiárido são importantes pois o conhecimento da variabilidade genética existente nestas plantas, pode corroborar com programas de melhoramento e conservação, bem como valorizar o bioma caatinga.

MATERIAL E MÉTODOS

A análise com os *loci* microssatélites envolveu um total de quinze amostras, sendo três de cada um dos cinco acessos de mandacaru (*Cereus jamacaru* DC) pertencentes ao Banco de Germoplasma de Mandacaru da Universidade Federal do Piauí (BGM-UFPI), os quais são oriundos de diferentes municípios do Estado do Piauí: BGM10 (Parnaíba), BGM13 (São Félix do Piauí), BGM14 (Itaueira), BGM18 (Pimenteiras) e BGM28 (Teresina), conforme indicado na Figura 01.

Figura 01. Municípios do Piauí dos quais os cinco acessos de mandacaru utilizados neste estudo são oriundos. Fonte: as autoras.



O DNA genômico de *Cereus jamacaru* DC foi isolado utilizando o protocolo descrito por Doyle e Doyle (1987), com modificações. Caules jovens, com cerca de 4 cm, dos cinco acessos de mandacaru, analisados neste estudo, foram macerados individualmente em nitrogênio líquido e cerca de 300 mg do macerado foi transferido para microtubos de 2 mL. Foi adicionado 800 µL de tampão de extração pré-aquecido baseado em CTAB (NaCl 1,4 M; Tris-HCl 110 mM pH 8,0; EDTA 55 mM; CTAB 2,8%) e 0,2% de β-mercaptoetanol à cada amostra. Seguidas as etapas de isolamento do DNA, as amostras foram armazenadas em freezer -20°C.

A quantificação do DNA extraído foi feita por eletroforese em gel de agarose 0,8%, com tampão TAE 1X a 90V com duração de 60min. O gel foi corado em solução de brometo de etídio 0,5 µg/mL⁻¹ e sua imagem foi capturada em fotodocumentador Loccus Biotecnologia. Foi realizada também a quantificação em espectrofotômetro para mensuração da concentração e o grau de pureza do DNA, considerando para isso, a relação DNA/Proteínas (A260/280 nm) e DNA/Compostos secundários (A260/230 nm).

Quatro pares de *primers* microssatélites foram testados para amplificar o DNA genômico de *Cereus jamacaru* DC, sendo três deles confeccionados para a espécie *Cereus peruvianus* Mill. e se encontram ainda em fase de testes (Mangolin, C.A. - informações pessoais), identificados como: MCER03, MCER05 e MCER06. E um *primer* (PaSSR184) foi desenvolvido para o gênero *Pilosocereus* spp. (BONATELLI *et al.*, 2015). Os *primers* SSR utilizados neste estudo e suas respectivas sequências *Forward* e *Reverse* estão descritos na Tabela 01.

Tabela 01. Pares de *primers* microssatélites *Forward* (F) e *Reverse* (R) testados e suas sequências de pares de bases, utilizados para amplificação do DNA genômico em *C. jamacaru* DC. Fonte: as autoras.

<i>Primer</i>	Sequência das bases (5'–3')
MCER03	F: GGCATACCTCAGACTAAAGAG R: TAGCGGATTTGGCTTCACATA
MCER05	F: TAAGGAATGTGATCAGCAGAGTG R: GTTCACTAGCACTGTCACCTCAA
MCER06	F: CAACCTGTTTGCTATGCACATCT R: GAGGTGCAGTGAAGAATTTGAGT
PaSSR184	F: GTGCTGTTGTTCTCACGAC R: GTTGCCCGCTGGCTCTCTC

O *mix* utilizado para todos os *primers* teve um volume final de 20 µL, contendo: o DNA extraído de cada amostra, diluído a 10 ng/mol (10%), água ultrapura 55%, dNTPs 4%, *primer F* 5% e *primer R* 5%, MgCl₂ 10%, tampão de reação 1X (20 mM de Tris-HCl pH 8,4; 50 mM de KCl) 10% e *Taq*-DNA Polimerase 1%.

As reações de PCR (*Polimerase Chain Reaction*) foram realizadas em Termociclador Veriti 96-well Thermal Cycler. Para os *primers* MCER03, MCER05 e MCER06, seguiu-se a programação de ciclo e temperatura de Albert e Schmitz (2002) com modificações, sendo a etapa de anelamento com temperatura de 48°C para o *primer* MCER03 e 60°C para os *primers* MCER05 e MCER06. Para o *primer* PaSSR184 as condições de PCR seguiram o protocolo de Bonatelli *et al.*, (2015), sendo a temperatura de anelamento 61°C.

Os produtos das PCRs foram separados por eletroforese em gel de agarose (4%), em tampão TBE 0,5X (44,5 mM Tris, 44,5 mM ácido bórico e 1 mM EDTA), com duração média de 3 h à 60 volts. Os géis foram corados em solução de Brometo de etídio 0,5 µg/mL⁻¹, tendo a imagem capturada em fotodocumentador Loccus Biotecnologia. O DNA *Ladder* de 100pb foi utilizado como padrão para comparação aos fragmentos amplificados.

A análise da diversidade genética usando *loci* microssatélites nos acessos de mandacaru foi realizada pelo programa PopGene 1,32 (YEH *et al.*, 1999). A matriz de similaridade genética e o dendrograma foram obtidos pelo método de agrupamento UPGMA (NEI, 1973, 1978).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Cinco acessos de mandacaru (*Cereus jamacaru* DC), pertencentes ao Banco de Germoplasma de Mandacaru da Universidade Federal do Piauí (BGM-UFPI), cultivados em diferentes municípios do Estado do Piauí: BGM10 (Parnaíba), BGM13 (São Félix do Piauí), BGM14 (Itaueira), BGM18 (Pimenteiras) e BGM28 (Teresina), foram analisados utilizando *loci* microssatélites descritos para outras espécies de cactos.

Apesar de ser já conhecido o potencial dos marcadores microssatélites na detecção do polimorfismo genético, há uma escassez de estudos utilizando este marcador para as espécies de cactos, não tendo até o presente momento *primers* desenvolvidos e já otimizados, para o gênero *Cereus*. Possivelmente, o número restrito de análises genéticas em cactáceas com marcadores microssatélites deva-se à dificuldade na obtenção de *primers* SSRs específicos, pois o desenvolvimento destes marcadores envolve algumas etapas, como a construção de bibliotecas genômicas e sequenciamento do DNA, sendo estas etapas laboriosas, demoradas e de alto custo (FERNANDES et al., 2016).

O polimorfismo de comprimento de fragmento amplificado (AFLP) foi usado para avaliar plantas de mandacaru do Sul, Nordeste e Sudeste do Brasil levantando a hipótese de que as plantas das três regiões podem ser de diferentes espécies de *Cereus*, no qual sugeriram: *Cereus peruvianus* ou *Cereus repandus* (região Sul), *Cereus jamacaru* (região Nordeste) e *Cereus hildmaniannus* (região Sudoeste) (FARIA-TAVARES et al., 2013). Esta hipótese foi testada analisando o polimorfismo em *loci* SSR codominantes, que são marcadores apropriados para estimar frequências alélicas, a heterozigosidade e para avaliar o nível de mistura genética entre as plantas das quatro regiões do Brasil, na qual pouca mistura de genomas ancestrais já era esperada para diferentes espécies de *Cereus* (FERNANDES et al., 2016).

Outro estudo envolvendo marcador do tipo dominante, aplicados às espécies de mandacaru do gênero *Cereus*, teve por objetivo realizar uma seleção de *primers* ISSR para caracterizar a forma como as populações de mandacaru estão geneticamente estruturadas em diferentes regiões do Brasil (DOMINGUES et al., 2017).

Otero-Arnaiz et al., (2004) desenvolveram os primeiros *primers* SSR para cactáceas. Dez marcadores foram desenvolvidos para o cacto colunar *Polaskia chichipe*, de importância ecológica e econômica para o México Central. Sete dos dez *loci* apresentaram polimorfismo, com número de alelos variando de dois a oito. Segundo Fernandes et al., (2016) estão descritos até o momento 111 microssatélites desenvolvidos para as diferentes espécies de cactáceas.

Estudo de transferibilidade em cactáceas testou cinco *primers* microssatélites em *Pilosocereus gounellei*. Os *primers* foram desenvolvidos a partir do genoma das espécies de *Echinocactus grusonii* (mEgR17, mEgR63 e mEgR98), *Polaskia chichipe* (Pchi44) e *Astrophytum asterias* (mAaB6), foram polimórficos e apresentaram 15,5% de transferibilidade (MONTEIRO et al., 2015).

No presente estudo foram testados quatro pares de *primers* SSR em *C. jamacaru* DC, sendo três desenvolvidos para a espécie *Cereus peruvianus* Mill. (MCER03, MCER05, MCER06) (Mangolin, C.A., - informações pessoais) e um *primer* desenvolvido a partir do genoma de espécies do gênero *Pilosocereus* spp. (PaSSR184) (BONATELLI et al., 2015). O uso de *primers* microssatélites de espécies próximas é uma alternativa para quando não existe *primers* específicos desenvolvidos para a espécie de interesse, uma vez que esta reduz consideravelmente os custos e o tempo para as investigações genéticas. Assim, faz-se necessário estudos utilizando marcadores SSR a partir de outras espécies de cactos, no intuito de obter transferibilidade para as espécies de *Cereus*.

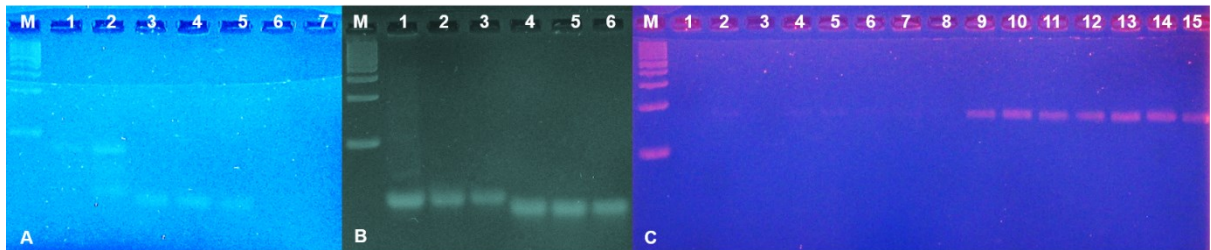
Dos quatro pares de *primers* testados no presente estudo para amplificação em *Cereus jamacaru* DC (MCER03, MCER05, MCER06 e PaSSR184), todos foram capazes de amplificar o genoma de mandacaru, porém o número de bandas geradas foi baixo, tendo variado de 1 a 4 bandas, totalizando 10 *loci* SSR. Os *primers* MCER03 e MCER06 revelaram maior número de bandas (4), já os *primers* MCER05 e PaSSR184, apenas 1 banda.

Para a espécie *Pilosocereus machrisii* o *primer* PaSSR184 gerou de 3 a 4 alelos (BONATELLI et al., 2015). Em nosso estudo, no entanto, o *primer* PaSSR184 amplificou genoma de *Cereus jamacaru* DC, para os acessos BGM14 (Itaueira) e BGM28 (Teresina) com boa qualidade na visualização dos fragmentos, já nos

acessos BGM10 (Parnaíba), BGM13 (São Félix do Piauí) e BGM18 (Pimenteiras), as bandas foram bastante fracas (Figura 02).

Em estudos de transferibilidade, *primers* microssatélites projetados a partir das espécies *Polaskia chichipe*, *Ariocarpus bravoanus*, *Astrophytum asterias* e *Echinocactus grusonii*, revelaram 31 alelos em amostras de mandacaru (*Cereus* spp.) (FERNANDES *et al.*, 2016). Sete *loci* microssatélites transferidos amplificaram 17 alelos em três morfotipos de *C. peruvianus* Mill. e foram capazes de distinguir quanto às variações morfológicas no caule (NEVES, 2013).

Figura 02. Amplificação do DNA genômico em acessos de mandacaru utilizando *primers* SSR, sendo M: Ladder-100pb. Em A: MCER03: BGM28 (1 e 2), BGM13 (3, 4, 5) e BGM18 (6 e 7); Em B: MCER05: BGM28 (1, 2, 3) e MCER06: BGM13 (4, 5, 6). Em C: PaSSR184: BGM13 (1, 2, 3, 4, 5), BGM18 (6, 7, 8), BGM14 (9, 10, 11, 12) e BGM28 (13, 14, 15), visualizadas em gel de agarose a 4%. Fonte: as autoras.



A transferibilidade entre gêneros distintos é menos comum, entretanto, Bombonato *et al.*, (2019) realizaram testes em gêneros cruzados na família Cactaceae, usando um total de 20 *primers* heterólogos. A variação genética nos marcadores transferidos para as espécies de *Cereus* foi suficiente para realizar a análise de agrupamento padrão, indicando cada população como um agrupamento genético coeso.

Devido este baixo número de bandas geradas no gel, a análise dos marcadores microssatélites, no presente estudo, foi realizada a partir de uma matriz binária, considerando (1) para presença de banda e (0) para ausência de banda.

A análise dos *loci* SSR para os cinco acessos de mandacaru revelou que o número médio de alelos (na) foi 1,9 alelos e o número efetivo médio de alelos (ne) foi 1,5 alelos, para as quinze amostras analisadas. Em contraste, *loci* SSR transferidos para amostras de *Cereus* spp., revelaram um valor médio de 2,4 alelos por *locus* polimórfico (NEVES, 2013) e 2,5 alelos por *locus* (FERNANDES *et al.*, 2016).

O índice de diversidade genética ($h = 0,33$) segundo Nei (1973), para todos os *loci*, indicou altíssima variabilidade genética. Dos dez *loci* SSR analisados, no presente estudo, 90% foram polimórficos. Neves (2013) também detectou 90,47% de *loci* polimórficos em *C. peruvianus* Mill. a partir de *primers* SSR transferidos, sendo desenvolvidos para diferentes espécies de cactáceas.

A média do índice de diversidade genética ($Gst = 0,75$) entre os cinco acessos de mandacaru mostrou alta diferenciação genética entre os acessos de *C. jamacaru* DC estudados. Fernandes *et al.*, (2016) também encontraram alta divergência genética entre as amostras de mandacaru (*Cereus* spp.) cultivadas em quatro diferentes regiões do Brasil, a partir de *primers* microssatélites projetados para outras cactáceas.

A relação de identidade e distância genética entre os cinco acessos de mandacaru analisados pelo método UPGMA com base em Nei (1978), revelou que os valores de identidade variaram de 0.3493 a 0.8790, sendo a maior similaridade (87%) encontrada entre os acessos BGM13 e BGM18, oriundos dos municípios de São Félix do Piauí e Pimenteiras, respectivamente. Já a maior distância genética (1,05) foi detectada entre os acessos BGM10 (Parnaíba) e BGM18 (Pimenteiras), conforme mostra a Tabela 02.

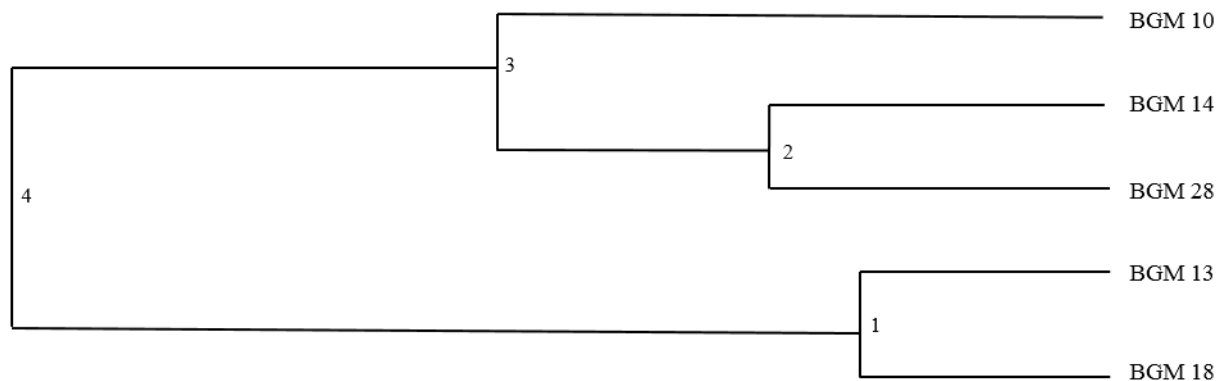
A partir dos *loci* SSR, analisados nos cinco acessos de mandacaru, foi gerado um dendrograma baseado na distância genética entre os genótipos de mandacaru, revelando a formação de três grupos a 75%. O 1º grupo foi formado pelos acessos BGM13 (São Félix do Piauí) e BGM18 (Pimenteiras), sendo os mais similares geneticamente (87%) revelando certa correlação geográfica. O 2º grupo formado pelos acessos BGM14 (Itaueira) e BGM28 (Teresina), com 84% de similaridade genética. O 3º grupo formado pelo acesso BGM10

(Parnaíba), ficou em um grupo isolado, indicando maior divergência genética em relação aos demais acessos, sendo também o mais distante geograficamente (Figura 03).

Tabela 02. Relação de identidade (acima da diagonal) e distância genética (abaixo da diagonal), entre os acessos de mandacaru (*Cereus jamacaru* DC) analisados, pelo método de agrupamento UPGMA, baseado em Nei (1978).

Acessos	BGM10	BGM13	BGM14	BGM18	BGM28
BGM10	****	0.5362	0.8335	0.3493	0.6399
BGM13	0.6232	****	0.6320	0.8790	0.6951
BGM14	0.1822	0.4588	****	0.5279	0.8409
BGM18	1.0519	0.1289	0.6388	****	0.7522
BGM28	0.4465	0.3637	0.1733	0.2847	****

Figura 03. Dendrograma gerado com base na distância genética entre cinco acessos de mandacaru (*Cereus jamacaru* DC), pelo método de agrupamento UPGMA com base em Nei (1978).



A análise mostrou que os acessos BGM13 e BGM18, cultivados nos municípios de São Félix do Piauí e Pimenteiras, respectivamente, apresentaram alta similaridade genética (87%), o que pode indicar certa correlação geográfica, uma vez que estes municípios são os mais próximos, em relação aos demais acessos estudados. Além disso, o acesso BGM10, de Parnaíba, foi o mais divergente em relação aos demais acessos analisados, sendo também o mais distante geograficamente.

Entretanto, os acessos BGM14 (Itaueira) e BGM28 (Teresina), também apresentaram alta similaridade genética (84%), embora a distância geográfica entre estes municípios não seja tão pequena. Uma hipótese para explicar esta alta identidade genética, pode ser pelo fato de a cidade de Teresina, por ser a capital do estado do Piauí, concentrar um alto número de pessoas oriundas das cidades do interior do estado, e esses imigrantes possivelmente trazem mudas de mandacaru para serem usadas na ornamentação de jardins de casas e empresas, nas áreas urbanas de Teresina, considerando que essa é uma prática comum desta população.

Assim, os dados genéticos obtidos por marcadores microssatélites, podem auxiliar análises de estrutura populacional de mandacaru. Bombonato *et al.*, (2019) fizeram uso da transferibilidade para amplificar quatro táxons do gênero *Cereus* (*C. fernambucensis* subsp. *fernambucensis*, *C. fernambucensis* subsp. *sericifer*, *C. jamacaru* e *C. insularis*), a partir de *primers* SSR desenvolvidos para diferentes gêneros na família Cactaceae. Os autores concluíram que a quantidade de variação genética detectada indica que os marcadores SSR transferidos podem ser úteis em estudos populacionais nas espécies de *Cereus*. Um total de 33 pares de *primers* de microssatélites desenvolvidos para diferentes espécies de cactáceas foram avaliados para soma clones de *C. peruvianus* Mill., gerados *in vitro*, que apresentam variação soma clonal. Alta taxa de transferibilidade (42,86%) dos *primers* SSR desenhados para *Polaskia chichipe* foi obtida (MARTIN, 2011).

Embora seja necessária a otimização dos *primers* utilizados no presente estudo, os *loci* SSR foram capazes de amplificar o genoma de *C. jamacaru* DC, sendo úteis na análise da diversidade genética em acessos de mandacaru pertencentes ao Banco de Germoplasma de Mandacaru da UFPI. O acesso BGM10 de Parnaíba pode ser indicado para uso em cruzamentos nos programas de melhoramento genético de mandacaru.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

As informações moleculares obtidas no presente estudo, podem auxiliar nos programas de conservação da diversidade genética em espécies de cactos, compreender a estrutura das populações de *C. jamacaru* DC no Estado do Piauí e contribuir para o conhecimento da variabilidade genética nas espécies de mandacaru, bem como corroborar na conservação e o conhecimento da diversidade genética do Bioma Caatinga.

CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES. As duas co-autoras foram minhas alunas de iniciação científica, tendo cada uma contribuído neste artigo com dados gerados durante o trabalho de IC. A Sílvia Braz iniciou, realizando as etapas de laboratório, desde a extração do DNA genômico, as reações de PCR e na confecção dos géis de microsatélites. Estas etapas são bastante laboriosas, requer persistência a fim de otimizar os protocolos nos quais nos baseamos. Posteriormente, a Jéssica Missilany realizou a etapa de análise estatística a partir das imagens dos géis obtidos, na construção da matriz e inserção no programa estatístico, bem como na interpretação dos dados. Ambas contribuíram nas buscas por artigos relacionados ao estudo nas Bases de dados, bem como na redação dos seus relatórios de IC específicos. A composição do artigo como um todo, redigindo o novo texto e a montagem de figuras e tabelas, foram realizadas por mim.

REFERÊNCIAS

- ALBERT, S.; SCHMITZ, J. Characterization of major royal jelly protein-like DNA sequences in *Apis dorsata*. **Journal of Apicultural Research**, v. 41, p. 75-85, 2002.
- BEVILÁQUA, M.R.R.; SANTANA FILHO, A.P.; MANGOLIN, C.A.; OLIVEIRA, A.J.B. and MACHADO, M.de F.P.S. Genetic and chemical diversity in seeds of cactus mandacaru (*Cereus* sp.) from two edapho climatic regions contrasting. **Annals of Brazilian Academy of Sciences**, v. 87, n. 2, p. 765–776. 2015.
- BOMBONATO, J.R.; BONATELLI, I.A.S.; SILVA, G.A.R.; MORAES, E.M.; ZAPPI, D.C.; TAYLOR, N.P.; FRANCO, F.F. Cross-genera SSR transferability in cacti revealed by a case study using *Cereus* (Cereeae, Cactaceae). **Genetics and Molecular Biology**, v. 42, n. 1, p. 87-94, 2019.
- BONATELLI, I.A. S.; CARSTENS, B.C.; MORAES, E. M. Using Next Generation RAD Sequencing to Isolate Multispecies Microsatellites for *Pilosocereus* (Cactaceae). **Public Library of Science One**, v. 10, n. 11, 2015.
- BUSO, G.S.C.; CIAMPI, A.Y.; MORETZSOHN, M. DE C.; AMARAL, Z.P. DE S.; BRONDANI, R. V. Marcadores microsatélites em espécies vegetais. Desenvolvimento e caracterização de marcadores microsatélites em espécies vegetais tropicais. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**. Edição nº 30. Janeiro/Junho. 2003.
- CAVALCANTI, N.B.; RESENDE, G.M. Efeito de diferentes substratos no desenvolvimento de mandacaru (*Cereus jamacaru* P. DC.), facheiro (*Pilosocereus pachycladus* Ritter), xiquexique (*Pilosocereus gounelli* (A. Webw ex K. Schum.) Bly. ex Rowl.) e coroa-de-frade (*Melocactus bahiensis* Britton and Rose). **Revista Caatinga**, v. 20, p. 28-35, 2007.
- DAVET, Aline. **Estudo fitoquímico e biológico do cacto *Cereus jamacaru* De Candolle, Cactaceae**. 2005. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.
- DOMINGUES, S. D.; NEVES, A. F. das; MANGOLIN, C. A.; MACHADO, M. de F. P. S. Selection of primers for Inter Simple Sequence Repeats (ISSR) in *Cereus* sp. (Cactaceae). **Revista Biotecnologia e Ciência**, v.6, n.2, p. 46-54, 2017.
- DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. A rapid DNA isolation procedure for small amounts of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin**, v. 19, p. 11–15, 1987.
- DUTRA, J.C.V.; FERREIRA, J.M.; PEREIRA, P.R.C.; OLIVEIRA, J.B-H. de; GERVÁSIO, S.V.; XAVIER, M.B.; MOTA, M.M. da; LUZ, A.C. da; PRETTI, I.R.; FRANÇA, H.S.; JAMAL, C.M.; BATITUCCI, M. do C. P. *Cereus jamacaru* hydroalcoholic extract promotes anti-cytotoxic and antitumor activity. **Pharmaceuticals**, v.11, n.4, p.1-18, 2018.
- FARIA-TAVARES, J.S.; MARTIN, P.G.; MANGOLIN, C.A.; OLIVEIRA-COLLET, S.A., MACHADO, M.F.P.S. Genetic relationships among accessions of mandacaru (*Cereus* spp.: Cactaceae) using amplified fragment length polymorphisms (AFLP). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 48, p. 12-19, 2013.
- FERNANDES, V.N.A.; MANGOLIN, C.A.; NEVES, A.F.; SOUSA NOGUEIRA, F.C.; ZENI NETO, H.; MACHADO, M.F.P.S. Extraction of total protein from shoots of *Cereus* morphological variants (Cactaceae) for proteomic analysis. **Advances in Horticultural Science**, v. 34, n. 2, p. 233240, 2020.
- FERNANDES, V.N.A.; NEVES, A.F.DAS; MARTIN, P.G.; MANGOLIN, C.A.; MACHADO, M.F.P.S. Genetic structure and molecular divergence among samples of mandacaru (*Cereus* spp.; Cactaceae) as revealed by microsatellite markers. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 64, p. 38-45, 2016.

- GÓMEZ-FERNÁNDEZ, A.; ALCOCER, I.; MATESANZ, S. Does higher connectivity lead to higher genetic diversity? Effects of habitat fragmentation on genetic variation and population structure in a gypsophile. **Conservation Genetics**, v.17, p. 631–641, 2016.
- LUZ, G.C.; ZENI-NETO, H.; MANGOLIN, C.A.; MACHADO, M.F.P.S. Characteristics of fruits and seeds of *Cereus* plants (Cactaceae) grown in South and Northeastern Brazil. **Horticulture International Journal**, v. 4, n. 5, p. 181-185, 2020.
- MARTIN, Paula Garcia. **Transferibilidade de microssatélites de cactáceas para a análise de regenerantes clonais (R0) de *Cereus peruvianus* Mill. (Cactaceae)**. 2011. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) – Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2011.
- MEHMOOD, A.; LUO, S.; AHMAD, N.M.; DONG, C.; MAHMOOD, T.; SAJJAD, Y.; JASKANI, M.J.; SHARP, P. Molecular variability and phylogenetic relationships of guava (*Psidium guajava* L.) cultivars using inter-primer binding site (iPBS) and microsatellite (SSR) markers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 63, p. 1345-1361, 2016.
- MONTEIRO, E.R.; MANGOLIN, C.A.; NEVES, A.F.; ORASMO, G.R.; SILVA, J.G.M. da; MACHADO, M.F.P.S. Genetic diversity and structure of populations in *Pilosocereus gounellei* (F.A.C.Weber ex K.Schum.) (Cactaceae) in the Caatinga biome as revealed by heterologous microsatellite primers. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 58, p. 7-12, 2015.
- NASCIMENTO, G.M.B. DO; ORASMO, G.R. Perfil genético e metabólico em populações de mandacaru usando marcadores microssatélites e CLAE. In: XXVI SIC - Seminário de Iniciação Científica UFPI, 08-10 nov 2017, Teresina. **Anais [...]**. Teresina: UFPI, 2017.
- NEI, M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. **Proceeding National Academic Science USA**, v. 70, p. 3321–3323, 1973.
- NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics**, v. 89, p. 583-590, 1978.
- NEVES, Andréa Florindo das. **Caracterização genética de variedades morfológicas de *Cereus peruvianus* Mill. utilizando marcadores microssatélites**. 2013. Dissertação (Mestrado em Biologia Comparada) - Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2013.
- OLIVEIRA, M.G. de A.; ORASMO, G.R. Detecção de compostos químicos de interesse e uso medicinal popular do mandacaru. In: XXVII SIC - Seminário de Iniciação Científica UFPI, 06-11 nov 2018, Teresina. **Anais [...]**. Teresina: UFPI, 2018.
- OTERO-ARNAIZ, A.; CRUSE-SANDERS, J.; CASAS, A.; HAMRICK, J.L. Isolamento e caracterização de microssatélites no cacto colunar: *Polaskia chichipe* e amplificação de espécies cruzadas na Tribo Pachycereeae (Cactaceae). **Molecular Ecology Notes**, v. 4, n. 2, p. 265-267, 2004.
- SALA, J.; MANGOLIN, C.A.; FRANZONI J.; MACHADO, M.F.P.S. Esterase polymorphism and the analysis of genetic diversity and structure in cactus populations descended from *Cereus peruvianus* plants regenerated *in vitro*. **Biochemical Genetics**, v. 49, p. 1320-1325, 2011.
- SANTOS, E.S.; OLIVEIRA, J.B.; MACHADO, M.F.P.S.; MANGOLIN, C.A.; GONÇALVES, R.A.C. *Cereus hildmannianus* (K.) Schum. (Cactaceae): Ethnomedical uses, phytochemistry and biological activities. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 264 p. 113339, 2021.
- SILVA, J. G. M.; MELO, A.A.S.; REGO, M.M.T.; LIMA, G.F.C.; AGUIAR, E.M. Native cacti associated with sabiá and flor de seda shrub hays in dairy goats' feeding. **Revista Caatinga**, v. 24, p. 158-164, 2011.
- TAN, L.Q.; WANG, L.Y.; XU, L.Y.; WU, L.Y.; PENG, M.; ZHANG, C.C.; WEI, K.; BAI, P.X.; LI, H.L.; CHENG, H.; QI, G.N. SSR-based genetic mapping and QTL analysis for timing of spring bud flush, young shoot color, and mature leaf size in tea plant (*Camellia sinensis*). **Tree Genetics and Genomes**, v. 12, p. 52-64, 2016.
- WHITE, G.; POWELL, W. Cross-species amplification of SSR *loci* in the Meliaceae family. **Molecular Ecology**, v. 6, p. 1195-1197, 1997.
- YEH, F.C.; BOYLE, T.Y.Z.; XIYAN, J.M. **POPGENE Version 1.31: Microsoft Windowbased freeware for population genetic analysis**. University of Alberta and Center for International Forestry Research. 1999.
- ZALAPA, J. E.; CUEVAS, H.; ZHU, H.; STEFFAN, S.; SENALIK, D.; ZELDIN, E.; McCOWN, B.; HARBUT, R.; SIMON, P. Using next-generation sequencing approaches to isolate simple sequence repeat (SSR) *loci* in the plant sciences. **American Journal of Botany**, v. 99, n. 2, p. 193–208, 2012.
- ZAPPI, D.C., TAYLOR, R.N.P., MACHADO, M.C. Cactaceae. In: Forzza, R.C., Baumgratz, F.A., Bicudo, C.E.M., Canhos, D.A.L., Carvalho Jr., A.A., Costa, A., Costa, D.P., Hopkins, M., Leitman, P.M., Lohm Ann, L.G., Nic Lu Ghadha, E., Maia, L.C., Martinelli, G., Menezes, M., Morim, M.P., Nadruz Coelho, M.A., Peixoto, A.L., Pirani, J.R., Prado, J., Queiroz, L.P., Souza, S., Souza, V.C., Stehmann, J.R., Sylvestre, L.S., Walter, B.M.T., Zappi, D.C. (Eds.), **Catálogo de Plantas e Fungos do Brasil**, Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 1, pp. 822 e 832, 2010.
- ZHU, X.H.; CHENG, S.P.; LIAO, T.; KANG, X.Y. Genetic diversity in fragmented populations of *Populus talassica* inferred from microsatellites: Implications for conservation. **Genetics and Molecular Research**, v. 15, p. 27899, 2016.