

Notas Científicas

Diversidade genética de *Chenopodium ambrosioides* da região cacauieira da Bahia com base em marcadores RAPD

Simone Gualberto Santos⁽¹⁾ e Ronan Xavier Corrêa⁽²⁾

⁽¹⁾Universidade Federal de Viçosa, Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária, CEP 36570-000 Viçosa, MG. E-mail: bromelia@vicosa.ufv.br ⁽²⁾Universidade Estadual de Santa Cruz, Dep. de Ciências Biológicas, Rod. Ilhéus-Itabuna, Km 16, CEP 45662-000 Ilhéus, BA. E-mail: ronanxc@uesc.br

Resumo – *Chenopodium ambrosioides* L., conhecida no Brasil por suas propriedades medicinais e usada principalmente para o controle de verminoses intestinais, é pouco estudada quanto à diversidade genética. O objetivo deste trabalho foi avaliar a diversidade genética de 16 indivíduos de *C. ambrosioides*, provenientes de diferentes municípios da região cacauieira da Bahia, pela técnica de RAPD (DNA polimórfico amplificado ao acaso). Apenas 6,9% das 216 bandas RAPD amplificadas foram polimórficas e a análise de agrupamento evidenciou que não há formação de grupos por área de coleta. Portanto, há pequena variabilidade entre os materiais e esta variabilidade encontra-se distribuída entre as regiões amostradas.

Termos para indexação: variação genética, marcadores moleculares, mastruz, coeficientes de similaridade, análise de agrupamento, planta medicinal.

Genetic diversity based on RAPD markers of *Chenopodium ambrosioides* from the cocoa region of Bahia State, Brazil

Abstract – *Chenopodium ambrosioides* L. is known in many parts of Brazil for its medicinal properties, mainly used to control intestinal worms. Its genetic diversity is little studied. The objective of this work was to evaluate the genetic variability of 16 accessions of *C. ambrosioides* from the cocoa region of Bahia State, Brazil, by the RAPD technique (Random Amplified Polymorphic DNA). Only 6.9% of the 216 amplified RAPD bands were polymorphic and the pattern of dispersion of individuals showed no clustering related to sample site. Therefore, there is low variability among accessions and it is distributed among the accessions from the entire sampled region.

Index terms: genetic variation, molecular markers, wormseed, similarity coefficient, cluster analysis, medicinal herb.

Chenopodium ambrosioides L. (Chenopodiaceae) é uma planta herbácea, de forte aroma, nativa da América tropical e originária do México. No Brasil, essa espécie tem ampla distribuição, com ocorrência em quase todo o território, onde recebe vários nomes populares: mastruço, mastruz, erva-de-santa-maria, chá-do-méxico, erva-formigueira e quenopódio (Jamart, 2000).

Sua ampla utilização deve-se à presença de elevados teores de ascaridol nas sementes, nas folhas e no caule (seu óleo essencial possui 90% de ascaridol). Os principais usos são: tratamento de ascaridíase;

controle de artrópodes e pragas domésticas; inibição do desenvolvimento de fungos do solo e de insetos, como *Scrobipalpula absoluta* (traça-do-tomateiro) e *Spodoptera frugiperda* (lagarta-do-cartucho-do-milho); tratamento de lesões cutâneas causadas por *Leishmania (Viannia) braziliensis* (França, 1996); e alívio da dor de barriga e da gripe (Moreira et al., 2002).

Apesar de muito utilizada na medicina caseira, a diversidade genética dessa espécie não é bem conhecida – estudos restringem-se a abordagens interespecíficas (Ruas et al., 1999). Além disso, por causa da intensa

utilização pela população de baixa renda e das múltiplas utilidades atribuídas ao mastruz, esforços para analisar a diversidade genética dessa espécie têm importância científica, prática e econômica.

O objetivo deste trabalho foi caracterizar indivíduos de *C. ambrosioides*, provenientes de diferentes municípios da região cacauceira da Bahia, quanto à sua variabilidade genética, utilizando a técnica de RAPD, e verificar os níveis de relacionamento entre estes indivíduos.

As plantas foram coletadas em Vitória da Conquista (1 a 4), Porto Seguro (5 a 8), Itapetinga (9 a 12) e Jequié (13 a 16), municípios representativos do polígono da região cacauceira da Bahia. Os locais de coleta e o tamanho da amostragem foram definidos com base em trabalhos preliminares, desenvolvidos no laboratório de Genética e Biologia Molecular da Universidade Estadual de Santa Cruz (Uesc), com indivíduos coletados em Ilhéus e Itabuna, os quais revelaram baixíssimo polimorfismo molecular. Em cada localidade, dois indivíduos foram coletados de área urbana e dois de área rural e transplantados para o viveiro de mudas da Uesc. Para confirmação da espécie de planta utilizada neste trabalho, foi realizada análise comparativa com exemplares disponíveis no Herbário do Centro de Pesquisas do Cacau, pertencente à Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira, Ilhéus, BA (Cepec/Ceplac), e com fotos disponíveis na página da Universidade de Wisconsin-Madison (University of Wisconsin-Madison, 2005).

A extração do DNA de folhas foi feita pelo método de CTAB, conforme protocolos previamente adaptados para outras plantas (Corrêa et al., 1999). Amostras de DNA de cada planta foram amplificadas pelas técnicas de DNA polimórfico amplificado ao acaso (RAPD), utilizando-se 36 iniciadores decâmeros (A01, C16, F10, J08, A16, C02, F19, J15, A20, C07, F06, K15, B01, D05, G10, K07, B16, D10, G18, L01, B17, D12, H10, L19, B05, E10, H15, U01, B08, E11, I01, H12, C10, E09, I13 e Q04), cujas seqüências podem ser encontradas em Operon (2005). As condições de amplificação e eletroforese, a codificação dos dados moleculares e o cálculo dos coeficientes de dissimilaridade de *Dice*, foram realizados de acordo com Corrêa et al. (1999). A determinação dos agrupamentos, por meio do método do vizinho mais próximo, e a análise de

dispersão dos genótipos no espaço bidimensional foram realizadas com auxílio do Programa Genes (Cruz, 1997).

As plantas apresentaram características morfológicas semelhantes às de materiais depositados no herbário do Cepec/Ceplac em Ilhéus, BA, identificados como *Chenopodium ambrosioides*. Além disso, são morfológicamente semelhantes às plantas desta espécie com imagem disponível na página da Universidade de Wisconsin-Madison (University of Wisconsin-Madison, 2005). Verificou-se que esta é uma espécie com muitas sinônimas, sendo algumas delas consideradas inadequadas. Em virtude dessa multiplicidade de nomes, o material testemunha da espécie utilizada neste trabalho encontra-se depositado no Herbário Uesc, sob o número 5196.

Os 36 iniciadores utilizados permitiram a amplificação de um total de 216 bandas RAPD. Ruas et al. (1999), trabalhando com 19 indivíduos de cinco espécies de *Chenopodium*, amplificaram 399 bandas RAPD, com 30 iniciadores RAPD. O menor número de bandas detectadas neste trabalho, provavelmente, deve-se à utilização da análise intra-específica. Das 216 bandas obtidas, apenas 15 (6,9%) foram polimórficas, entre as 16 plantas de mastruz estudadas.

Em análises preliminares de nove plantas provenientes dos municípios de Ilhéus, Itabuna e Jussari, BA, observou-se baixo nível de polimorfismo entre as diferentes plantas de mastruz. Pela comparação desses dados com os obtidos com esse mesmo método, em soja – cultura de base genética estreita, em que 36 iniciadores produziram 190 bandas em cinco cultivares, das quais 30% foram polimórficas (Corrêa et al., 1999) –, verificou-se que *C. ambrosioides* possui nível de polimorfismo cerca de quatro vezes menor. Portanto, trata-se de material com baixo polimorfismo genético, mesmo tendo sido coletado de uma área grande, permitindo concluir que essa espécie tenha-se disseminado na região a partir de poucos exemplares ou pode refletir a natureza pouco polimórfica do grupo, o que poderá ser confirmado a partir de novos estudos, que envolvam exemplares de outras regiões de ocorrência da espécie.

As 16 plantas de *C. ambrosioides*, quando projetadas no plano bidimensional, com base nas coordenadas obtidas a partir da matriz dos coeficientes de

dissimilaridades genéticas, formaram um grupo que inclui plantas de todas as localidades (Figura 1), não havendo separação de grupos genéticos por localidade. As plantas de Itapetinga foram as mais similares entre si, ao passo que metade das plantas provenientes de cada uma das demais localidades compõe a lista de seis plantas não agrupadas, mais divergentes entre si e com as demais (plantas 1, 4, 7, 8, 14 e 16) (Figura 1).

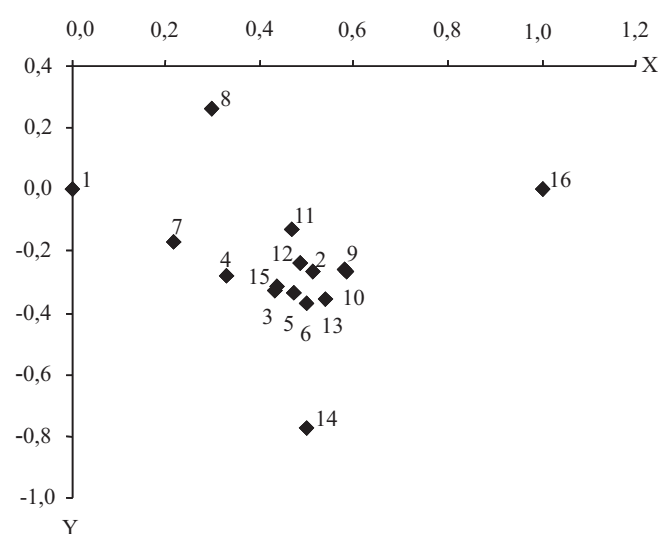


Figura 1. Dispersão de plantas de mastruz provenientes dos municípios de Vitória da Conquista (1 a 4), Porto Seguro (5 a 8), Itapetinga (9 a 12) e Jequié (13 a 16), no espaço de duas dimensões, utilizando-se coordenadas obtidas da matriz dos coeficientes de dissimilaridades genéticas.

As plantas 9 e 10, ambas provenientes de Itapetinga, foram as menos divergentes e as plantas 1 e 16, provenientes de Vitória da Conquista e Jequié, respectivamente, as mais divergentes (Tabela 1).

As análises moleculares mostraram-se imprescindíveis na avaliação das plantas de *C. ambrosioides* morfologicamente idênticas, não sendo possível diferenciar os indivíduos apenas pelo fenótipo. Em estudos similares, até mesmo com espécies de base genética estreita, como a soja, várias técnicas derivadas da reação de PCR, inclusive a de RAPD, têm sido utilizadas com sucesso (Corrêa et al., 1999). A utilização de marcadores moleculares RAPD na caracterização de cultivares de pessegueiro e de nectarina, que são espécies também com base genética estreita, é eficiente (Lima et al., 2003).

Os estudos moleculares sobre diversidade genética facilitam a identificação de variações genéticas não representadas nas coleções e o melhor direcionamento no uso do material, em programas de melhoramento genético (Lima et al., 2003).

Em decorrência da importância medicinal e agrônômica do mastruz e do padrão pouco polimórfico encontrado, a utilização de dados moleculares representa um auxílio na definição de estratégias de coletas que não afetem a sua conservação a longo prazo, bem como de constituição de coleções representativas da diversidade existente.

Tabela 1. Matriz de coeficientes de dissimilaridade genética entre indivíduos de mastruz provenientes de diferentes municípios da região cacauceira da Bahia⁽¹⁾.

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 |
|----|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 2 | 0,45 | | | | | | | | | | | | | | |
| 3 | 0,29 | 0,20 | | | | | | | | | | | | | |
| 4 | 0,23 | 0,29 | 0,18 | | | | | | | | | | | | |
| 5 | 0,38 | 0,14 | 0,06 | 0,13 | | | | | | | | | | | |
| 6 | 0,50 | 0,29 | 0,18 | 0,25 | 0,13 | | | | | | | | | | |
| 7 | 0,17 | 0,33 | 0,33 | 0,29 | 0,43 | 0,57 | | | | | | | | | |
| 8 | 0,40 | 0,50 | 0,57 | 0,43 | 0,57 | 0,57 | 0,27 | | | | | | | | |
| 9 | 0,47 | 0,29 | 0,20 | 0,26 | 0,16 | 0,16 | 0,53 | 0,50 | | | | | | | |
| 10 | 0,47 | 0,29 | 0,20 | 0,26 | 0,16 | 0,16 | 0,53 | 0,50 | 0,00 | | | | | | |
| 11 | 0,33 | 0,23 | 0,38 | 0,20 | 0,33 | 0,47 | 0,23 | 0,33 | 0,33 | 0,33 | | | | | |
| 12 | 0,29 | 0,41 | 0,26 | 0,16 | 0,26 | 0,37 | 0,38 | 0,50 | 0,18 | 0,18 | 0,22 | | | | |
| 13 | 0,40 | 0,17 | 0,14 | 0,29 | 0,14 | 0,29 | 0,45 | 0,67 | 0,29 | 0,29 | 0,38 | 0,41 | | | |
| 14 | 0,45 | 0,23 | 0,07 | 0,20 | 0,07 | 0,20 | 0,50 | 0,69 | 0,22 | 0,22 | 0,43 | 0,33 | 0,08 | | |
| 15 | 0,27 | 0,14 | 0,13 | 0,25 | 0,13 | 0,25 | 0,38 | 0,57 | 0,26 | 0,26 | 0,33 | 0,26 | 0,14 | 0,20 | |
| 16 | 1,00 | 0,40 | 0,50 | 0,64 | 0,50 | 0,50 | 0,75 | 0,75 | 0,33 | 0,33 | 0,40 | 0,43 | 0,40 | 0,45 | 0,50 |

⁽¹⁾ 1 a 4: Vitória da Conquista; 5 a 8: Porto Seguro; 9 a 12: Itapetinga; 13 a 16: Jequié; os coeficientes foram reescalados entre 0 e 1.

Agradecimentos

À Universidade Estadual de Santa Cruz, pelo financiamento; ao Prof. Anthony Raw, pela correção do Abstract; à pesquisadora Jeiza Botelho Leal, pelos estudos preliminares.

Referências

- CORRÊA, R.X.; ABDELNOOR, R.V.; FALEIRO, F.G.; CRUZ, C.D.; MOREIRA, M.A.; BARROS, E.G. de. Genetic distances in soybean based on RAPD markers. **Bragantia**, v.58, p.15-22, 1999.
- CRUZ, C.D. **Programa genes**: aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: UFV, 1997. 442p.
- FRANÇA, F.; LAGO, E.L.; MARSDEN, P.D. Plants used in the treatment of leishmanial ulcers due to *Leishmania (Viannia) braziliensis* in an endemic area of Bahia, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.29, p.229-232, 1996.
- JAMART, W.S. **Plantas medicinais**: erva de Santa Maria, chá do México. Disponível em: <<http://www.canalvip.com.br/neumart/pm/chenambr.htm>>. Acesso em: 19 jul. 2000.
- LIMA, M.R.; AUGUSTIN, E.; CHOER, E.; RASEIRA, M. do C.B. Caracterização de cultivares de pessegueiro e de nectarineira por marcadores moleculares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.38, p.349-355, 2003.
- MOREIRA, R. de C.T.; COSTA, L.C. do B.; COSTA, R.C.S.; ROCHA, E.A. Abordagem etnobotânica acerca do uso de plantas medicinais na Vila Cachoeira, Ilhéus, Bahia, Brasil. **Acta Farmacéutica Bonaerense**, v.21, p.205-211, 2002.
- OPERON. Molecules for life [home page]. Disponível em: <<http://www.operon.com>>. Acesso em: 15 ago. 2005.
- RUAS, P.M.; BONIFACIO, A.; RUAS, C.F.; FAIRBANKS, D.J.; ANDERSEN, W.R. Genetic relationship among 19 accessions of six species of *Chenopodium* L. by Random Amplified Polymorphic DNA fragments (RAPD). **Euphytica**, v.105, p.25-32, 1999.
- UNIVERSITY OF WISCONSIN-MADISON. Department of Botany. **Wisconsin State herbarium**. Disponível em: <<http://www.botany.wisc.edu>>. Acesso em: 15 ago. 2005.

Recebido em 5 de janeiro de 2005 e aprovado em 12 de junho de 2005