



**CARACTERIZAÇÕES GENÉTICO-MOLECULARES
EM *Prosopis juliflora* (SW.) DC.: seleção de marcadores e
estimativas de diversidade em populações naturalizadas**

QUIRLIAN QUEITE ARAÚJO ANJOS

2022



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**CARACTERIZAÇÕES GENÉTICO-MOLECULARES
EM *Prosopis juliflora* (SW.) DC.: seleção de marcadores e
estimativas de diversidade em populações naturalizadas**

Autor: Quirlan Queite Araújo Anjos
Orientador: Dr. Carlos Bernard Moreno Cerqueira Silva

ITAPETINGA
BAHIA – BRASIL
Dezembro/2022

QUIRLIAN QUEITE ARAÚJO ANJOS

**CARACTERIZAÇÕES GENÉTICO-MOLECULARES
EM *Prosopis juliflora* (SW.) DC.: seleção de marcadores e
estimativas de diversidade em populações naturalizadas**

Tese apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós- Graduação em Zootecnia, da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Bernard Moreno Cerqueira Silva
Co-orientadora: Profa. Dra. Messulan Rodrigues Meira

ITAPETINGA
BAHIA – BRASIL
Dezembro/2022

633.3 Anjos, Quirlian Queite Araújo.
A619c Caracterizações genético-moleculares em *Prosopis juliflora* (SW.) DC.: seleção de marcadores e estimativas de diversidade em populações naturalizadas. / Quirlian Queite Araújo Anjos. – Itapetinga-BA: UESB, 2022. 112f.

Tese apresentada, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Zootecnia, no Programa de Pós- Graduação em Zootecnia, da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Sob a orientação do Prof. D. Sc. Carlos Bernard Moreno Cerqueira Silva e coorientação da Prof.^a D. Sc. Messulan Rodrigues Meira.

1. Algaroba - Diversidade Genética. 2. Algaroba – Marcadores moleculares. 3. Algaroba - Estrutura genética. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - Programa de Pós-Graduação de Doutorado em Zootecnia, *Campus* de Itapetinga. II. Silva, Carlos Bernard Moreno Cerqueira. III. Meira, Messulan Rodrigues. IV. Título.

CDD(21): 633.3

Catálogo na Fonte:

Adalice Gustavo da Silva – CRB 535-5ª Região
Bibliotecária – UESB – Campus de Itapetinga-BA

Índice Sistemático para desdobramentos por Assunto:

1. *Prosopis juliflora* - Extração de DNA genômico
2. Algaroba - Diversidade em populações naturalizadas
3. *Prosopis juliflora*

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA
Área de Concentração: Produção de Ruminantes

DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

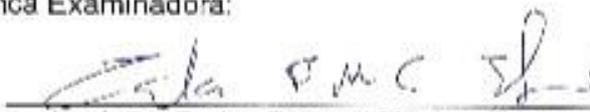
Título: “Caracterizações genético-moleculares em *Prosopis juliflora* (SW.) DC.: seleção de marcadores e estimativas de diversidade em populações naturalizadas”.

Autor (a): Quirlan Queite Araújo Anjos

Orientador (a): Prof. Dr. Carlos Bernard Moreno Cerqueira Silva

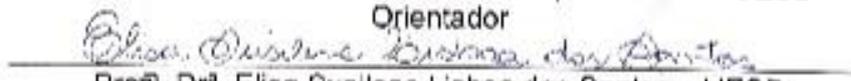
Co-orientador (a): Prof. Dr. Ronan Xavier Correa
Dr^a. Messulan Rodrigues Meira

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de DOUTOR EM ZOOTECNIA, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: PRODUÇÃO DE RUMINANTES, pela Banca Examinadora:



Prof. Dr. Carlos Bernard Moreno Cerqueira Silva – UESB

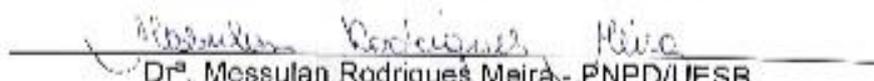
Orientador



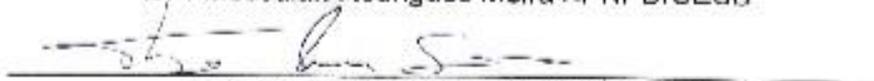
Prof.^a. Dr.^a. Elisa Susilene Lisboa dos Santos – UESB



Prof.^a. Dr.^a. Clislene Viana da Silva – JESB



Dr.^a. Messulan Rodrigues Meira – PNP/UESB



Prof. Dr. Tiago Pereira de Souza- LFLA

Data de realização: 22 de dezembro de 2022

*“Metade de mim agora é assim, de um lado a poesia, o verbo, a saudade. Do outro,
a luta, força e coragem pra chegar ao fim.”*

(Fernando Eduardo Silva Anitelli)

Ao momento mais que especial, que marcou e vem marcando minha vida desde 2020; A Deus e a todos que fizeram e fazem parte de todo o processo.

Dedico...

AGRADECIMENTOS

A Deus, agradeço por me permitir nascer novamente em 2020, por cada novo amanhecer e pelo respirar.

Aos momentos de crises, agradeço por me mostrarem o quanto sou maior e mais forte do que pareço. Cresci e cresço com cada um deles.

Aos meus pais, Valfrido Anjos e Eliene Batista, às minhas irmãs (Fabiane Anjos e Geissianne Anjos) e aos meus sobrinhos (Thársila e Luis), que passaram junto comigo pelos momentos de alegria e alguns nem tanto assim, mas que sempre estiveram ao meu lado, sendo meu Norte. Agradeço por tudo.

Ao meu orientador, Carlos Bernard Moreno Cerqueira Silva, que se tornou um amigo, e que não tenho nem palavras para expressar gratidão, que sou grata por tudo que fez e tem feito por mim. Sem ele, sua compreensão e empatia, esse momento não seria possível.

À Profa Elisa Susilene Lisboa dos Santos e família (Bernard, Heitor e Inácio), que me acolheram da forma mais singela e pura, tenho um carinho imenso e eterna gratidão a vocês.

Às minha amigas/irmãs, Larissa Neres, Nátilla Deyse e Melanie Tavares, pela parceria de longa data, por serem incentivadoras de minha fé e pelo carinho e companheirismo em todos os momentos.

À Ana Alice Oliveira Lima (Dona Ana), pelo carinho e acolhimento gentilmente oferecidos durante minha estadia, na cidade de Vitória da Conquista.

À minha psicóloga, Luana Requião, por cada ensinamento, troca de experiência de vida e pelas orientações que levo e vou levar comigo para sempre.

A Anderson Carvalho Vieira e Lucas Amorim Silveira, pela parceria, generosidade e simplicidade em transmitir conhecimentos e vivências de laboratório e da vida.

À Profa. Sandra Santa Rosa, que me acolheu em um momento bem delicado de retorno às atividades do Doutorado, com as disciplinas Estágio em Docência I e II, pela empatia, solidariedade e amizade.

A Luiz Henrique Tolentino Santos, Rodrigo Oliveira Borges, Jardyelle Carvalho Lima, Rafaella Almeida Soares, Thamires Oliveira dos Santos e demais colegas de laboratório, pelas longas horas de convivência e parceria.

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, por possibilitar desenvolver este trabalho, em especial, ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudos.

Aos membros da banca examinadora pela disponibilidade e importantes contribuições.

Meus sinceros agradecimentos a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

Quirlian Queite Araújo Anjos, filha de Valfrido Macedo dos Anjos e Eliene Batista de Araújo Anjos, nasceu na cidade de Macaúbas, Bahia, no dia 22 de Setembro de 1990. Em 2008, concluiu o Ensino Médio no Colégio Estadual Abdias Menezes, em Vitória da Conquista, Bahia. Em 2016, graduou-se em Ciências Biológicas, pela Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, em Itapetinga, Bahia. Em 2016, ingressou no curso de Pós-Graduação em Ciências Ambientais, em nível de Mestrado, da UESB e, em fevereiro de 2018, defendeu sua dissertação obtendo o título de “*Mestra em Ciências Ambientais*”. Em 2018, foi aprovada na seleção de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB. Em dezembro de 2022, defendeu a presente tese.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE TABELAS	x
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	xi
RESUMO GERAL.....	xii
GENERAL ABSTRACT	xiii
I INTRODUÇÃO.....	18
II CAPÍTULO I - Histórico e perspectivas sobre algaroba (<i>Prosopis juliflora</i>): uma ênfase no avanço das caracterizações genético e moleculares com vistas a conservação e melhoramento..	20
1. INTRODUÇÃO	22
2. ESTADO DA ARTE.....	23
2.1 Características Gerais do Gênero <i>Prosopis</i> , Família Fabaceae.....	23
2.2 A algaroba	27
2.3 Biologia reprodutiva e fenologia da Algaroba	28
2.4 Histórico de implantação da algaroba no Brasil.....	31
2.5 Importância econômica, social e aplicações tecnológicas.....	32
2.6 Estudos Genéticos Moleculares	35
3. CONSIDERAÇÕES FINAIS	41
4. REFERÊNCIAS.....	41
III CAPÍTULO II - Characterization and selection of inter simple sequence repeat markers for genetic studies of mesquite	60
1. Introduction.....	62
2. Methodology	63
2.1 Genomic DNA Extraction, Purification, and Quantification	63
2.2 Amplification of Genetic Material	64
2.3 Data Analysis	64
3. Results and Discussion.....	65
4. Conclusion	68
Acknowledgments.....	69
References.....	69
IV CAPÍTULO III - Elucidando a diversidade e estrutura genética em populações naturalizadas de <i>Prosopis juliflora</i> (Sw.) DC. baseado em marcadores ISSR.....	73
1. INTRODUÇÃO	74
2. MATERIAL E MÉTODOS	77
2.1 Material botânico	77
2.2 Obtenção de DNA genômico	78

2.3 Amplificação do material genético	79
2.4 Análises de dados e estimativa da diversidade genética em <i>P. juliflora</i>	79
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	81
3.1 Diversidade e Diferenciação Genética entre Populações	81
4. CONCLUSÃO	91
5. REFERENCIAS.....	91
V CONSIDERAÇÕES FINAIS	100
VI REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	101
VII APÊNDICES	103
APÊNDICE I - Normas para publicação na Editora RFB	103
APÊNDICE II - Normas para publicação na Research, Society And Development.....	107
VIII ANEXOS.....	110
ANEXO I - Resumo publicado no XXIII Encontro de Genética do Nordeste.....	110
ANEXO II - Manuscrito publicado na revista <i>Biotemas</i>	112

LISTA DE FIGURAS

Página

CAPÍTULO I

Figura 1. *Prosopis juliflora* (Sw.) DC em seu ambiente naturalizado. a) Árvore; b) Arbusto; c) Dispersores (equídeos); d) Vagens e sementes; e) Ramos, inflorescência, vagem e sementes.....30

CAPÍTULO II

Figure 1. Amplification profile of four Inter Simple Sequence Repeat primers (DiGA 3'T; TriCAG 3'RC; TriAAG 3'RC; TriCGC 3'RC) in samples of *Prosopis juliflora* (SW.) DC.....65

CAPÍTULO III

Figura 1. Localização dos 192 acessos de *Prosopis juliflora* (SW) DC., distribuídos em 13 populações naturalizadas, presente nos municípios de Itapetinga, Caculé, Urandi, Ibiassucê, Guanambi, Malhada de Pedra, Itambé e Anagé, na região sudoeste da Bahia.....78

Figura 2. Análises de variância molecular (AMOVA) (A), comparações pareadas de diferenciação genética (*Fst*) (B) e análises de coordenadas principais (PCoA) (C) baseadas no polimorfismo observado a partir de 11 iniciadores ISSR em 192 acessos de *Prosopis juliflora* (SW) DC., distribuídos em 13 populações naturalizadas presente nos municípios de Caculé, Urandi, Ibiassucê, Guanambi, Malhada de Pedra, Itambé, Anagé e Itapetinga, na região sudoeste da Bahia.....86

Figura 3. Análise de agrupamento bayesiano baseadas no polimorfismo observado a partir de 11 iniciadores ISSR em 192 acessos de *Prosopis juliflora* (SW) DC., distribuídos em 13 populações naturalizadas na região sudoeste da Bahia. As estimativas de *pools* gênicos (A) e a distribuição dos acessos em K = 3 (B) e K=2 (C) estão apresentadas89

LISTA DE TABELAS

	Página
CAPÍTULO I	
Tabela 1. Espécies distribuídas em cinco seções do gênero <i>Prosopis</i> L.....	24
Tabela 2. Utilização de <i>Prosopis juliflora</i> em diferentes estudos científicos.....	33
CAPÍTULO II	
Table 1. Amplification profile characterization and genetic diversity index of <i>Prosopis juliflora</i> (Sw.) DC., using 23 ISSR (<i>Inter Simple Sequence Repeat</i>) primers.....	66
CAPÍTULO III	
Tabela 1. Parâmetros genéticos populacionais baseados no polimorfismo observado a partir de 11 iniciadores ISSR em 192 acessos de <i>Prosopis juliflora</i> (SW) DC., distribuídos em 13 populações naturalizadas presente nos municípios de Caculé, Urandi, Ibiassucê, Guanambi, Malhada de Pedra, Itambé, Anagé e Itapetinga, na região sudoeste da Bahia	82

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- AMOVA** – *Analysis of molecular variance* (Análise da Variância Molecular)
- CBDP** – *CAAT box-derived polymorphism*
- CDB** – Convenção Internacional sobre Diversidade Biológica
- DAMD** – *Methods Directed Amplification of Minisatellite-region DNA*
- DNA** – *Deoxyribonucleic acid* (ácido desoxirribonucleico)
- dNTP** – *Deoxyribonucleotide triphosphate* (Desoxirribonucleotídeos Fosfatados)
- EEI** - Espécies Exóticas Invasoras
- F_{ST} – Índice de fixação
- G_{ST} – Coeficiente de diferenciação genética
- h – Índice de diversidade de Nei
- ISSR** – *Inter Simple Sequence Repeats* (Inter Sequências simples repetidas)
- K** - Número predeterminado de populações
- LGMA** – Laboratório de Genética Molecular Aplicada
- MCMC** – *Markov Chain Monte Carlo*
- MP** – Marcadores polimórficos
- %MP** – Percentual de Marcadores polimórficos
- N** – Número de marcas polimórficas
- PEI** – Planta Exótica Invasora
- PCoA** – *Principal Coordinates Analysis* (Análises de Coordenadas Principais)
- PCR** – *Polymerase Chain Reaction* (Reação em cadeia da polimerase)
- PIC** – *Polymorphism Information Content* (Conteúdo de Informação de Polimorfismo)
- RAPD** – *Random Amplified Polymorphic DNA*
- RGA** – *Resistance Genes Analog*
- ScoT** – *Start Codon Targeted*
- SisGen** – Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado
- SSR** – *Single Sequence Repeat* (Sequências simples repetidas)
- SNPs** – *Single Nucleotide Polymorphisms* (Polimorfismo de nucleotídeo único)
- UESB** – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia
- UESC** – Universidade Estadual de Santa Cruz

RESUMO GERAL

ANJOS, Quirlan Queite Araújo. **Caracterizações genético-moleculares em *Prosopis juliflora* (Sw.) DC.: seleção de marcadores e estimativas de diversidade em populações naturalizadas.** Itapetinga, BA: UESB, 2022. 112 p. Tese. (Doutorado em Zootecnia, Área de Concentração em Produção de Ruminantes).*

Prosopis juliflora (Sw.) DC. foi introduzida no Brasil em 1942. Essa espécie movimentou setores da economia, saúde e meio ambiente e, por isso, se torna um importante recurso genético vegetal, mas, apesar disso, pouco se sabe sobre a diversidade genética presente nas populações naturalizadas no Brasil. O conhecimento da diversidade e estrutura genética pode ser obtido através da técnica molecular *Inter Simple Sequence Repeat* (ISSR). A seleção e caracterização de iniciadores foram realizadas utilizando 23 iniciadores ISSR, testados em 16 acessos de *P. juliflora* amostrados no Instituto Federal, *Campus* Itapetinga, Bahia. Após a extração de DNA genômico foi realizada a quantificação e estimados a pureza dessas amostras e posteriormente armazenadas em freezer -20 °C. Os iniciadores foram classificados como adequado ou inadequado e estimados a heterozigosidade esperada (H_e) e o conteúdo de informação polimórfica (PIC). Assim, foi possível classificar treze iniciadores como muito informativos e adequados para a espécie *P. juliflora*, visando análises futuras de diversidade e estrutura genética da espécie. Em seguida, o estudo da diversidade e estrutura genética populacional de *P. juliflora* foi realizado utilizando onze iniciadores ISSR avaliados em 192 acessos distribuídos em treze populações naturalizadas nas cidades de Itapetinga, Caculé, Urandi, Ibiassucê, Guanambi, Malhada de Pedra, Itambé e Anagé. A extração e amplificação de DNA foram realizadas conforme descrito anteriormente. Os parâmetros genéticos populacionais estimados foram marcador polimórfico (MP), percentual de marcadores polimórficos (%MP) e diversidade genética de Nei (h), análise de variância molecular (AMOVA), o número ideal de clusters mais provável (ΔK), análise de agrupamento bayesiano pelo STRUCTURE e a análise de coordenadas principais (PCoA). Foram registrados a partir de onze iniciadores ISSR 190 marcadores polimórficos com percentual de 97,44% de polimorfismo e baixa diversidade genética em ($h = 0,31$) nas treze populações naturalizadas de *P. juliflora*. A AMOVA verificou que a diversidade presente dentro de populações foi de 59%. O valor de F_{st} foi 0,412 e indicou alta diferenciação genética entre as populações, com F_{st} par a par variando de 0,030 a 0,757. A estrutura genética mais provável foi $K = 3$, sendo comprovados nas análises de agrupamento bayesiano e na análise de coordenadas principais (PCoA). Os marcadores ISSR se mostraram poderosas ferramentas na obtenção de dados acerca da diversidade e estruturação genética de *P. juliflora* presente no Brasil.

Palavras-chave: Algaroba, Diversidade genética, Marcador molecular

* Orientador: Carlos Bernard Moreno Cerqueira Silva, D.Sc. UESB e Co-orientadora: Messulan Rodrigues Meira, D.Sc. UESB.

GENERAL ABSTRACT

ANJOS, Quirlian Queite Araújo. **Genetic-molecular characterization in *Prosopis juliflora* (Sw.) DC.: marker selection and diversity estimative in naturalized populations.** Itapetinga, BA: UESB, 2022. 112 p. Thesis. (PhD in Zootechnics, Area of Concentration in Ruminant Production).*

Prosopis juliflora (Sw.) DC. was introduced in Brazil in 1942. This species participates in the economy, health and environment and, therefore, becomes an important plant genetic resource and, despite this, there are few studies about the genetic diversity present in naturalized populations in Brazil. Knowledge of diversity and genetic structure can be obtained through the molecular technique *Inter Simple Sequence Repeat* (ISSR). The selection and characterization of primers were performed using 23 ISSR primers, assessed on 16 accessions of *P. juliflora* sampled at Instituto Federal, Campus Itapetinga, Bahia. After genomic DNA extraction, quantification was performed and the purity of these samples was estimated and subsequently stored in a -20 °C freezer. Primers were classified as adequate or inadequate and expected heterozygosity (H_e) and polymorphic information content (PIC) were estimated. Thus, it was possible to classify thirteen primers as very informative and adequate for the species *P. juliflora*, aiming at future analyzes of diversity and genetic structure of the species. Then, the study of diversity and population genetic structure of *P. juliflora* was performed using eleven ISSR primers evaluated in 192 accessions distributed in thirteen naturalized populations in Itapetinga, Caculé, Urandi, Ibiassucê, Guanambi, Malhada de Pedra, Itambé and Anagé. DNA extraction and amplification was performed as previously described. The estimated population genetic parameters were polymorphic marker (PM), percentage of polymorphic markers (%PM) and genetic diversity of Nei (h), analysis of molecular variance (AMOVA), the ideal number of most likely clusters (ΔK), analysis of bayesian grouping by STRUCTURE and principal coordinate analysis (PCoA). From eleven ISSR primers, 190 polymorphic markers with a percentage of 97.44% of polymorphism and low genetic diversity ($h = 0.31$) were registered in the thirteen naturalized populations of *P. juliflora*. AMOVA described that the diversity within the populations was 59%. The F_{st} value was 0.412 and indicated high genetic differentiation between populations, with pairwise F_{st} ranging from 0.030 to 0.757. The most likely genetic structure was $K = 3$, which was confirmed by Bayesian clustering and principal coordinate analysis (PCoA). ISSR markers seemed to be an important tool in obtaining data about the diversity and genetic structure of *P. juliflora* in Brazil.

Keywords: Mesquite, Genetic diversity, Molecular marker

* Advisor: Carlos Bernard Moreno Cerqueira Silva, D.Sc. UESB and Co-advisor: Messulan Rodrigues Meira, D.Sa. UESB.

I INTRODUÇÃO

Prosopis juliflora (Sw.) DC. (Linneaus, 1753) (Fabaceae: Caesalpinioideae) é uma leguminosea introduzida no Brasil em 1942 (BELMONT et al, 2016; BURNETT, 2017). Após adaptação e conquista de novos ambientes, a espécie é considerada como um recurso vegetal naturalizado (NASCIMENTO et al. 2014). Por definição, uma espécie é classificada como naturalizada quando consegue realizar processos reprodutivos e se manter no ambiente sem a interferência humana (RICHARDSON et al. 2000; YAN et al. 2019), como é o caso da *P. Juliflora* no território brasileiro.

Popularmente a *P. juliflora* é conhecida como algaroba e sua introdução no Brasil guarda relação direta com a utilização de suas vagens como alternativa para alimentar rebanhos na região nordeste do país (GOMES e MIRANDA, 2016). Em um cenário mais recente, Anjos et al. (2022) descrevem diversas aplicações tecnológicas associadas a algaroba. Também são observados em ambientes colonizados pela algaroba impactos na estrutura e diversidade biológica de comunidades nativas no país (PEGADO et al. 2006; NASCIMENTO et al. 2014). Apesar disso, conhecer melhor sobre essa espécie poderá ajudar a desenvolver estratégias de manejo mais eficientes e que obtenha o melhor que esse recurso vegetal naturalizado pode oferecer.

O conhecimento científico-tecnológico obtido por meio do uso dos marcadores moleculares é essencial para o entendimento da diversidade genética e dos padrões de estruturação genética existentes em uma espécie. Para a algaroba, esse conhecimento vem evoluindo juntamente com as técnicas utilizadas para investigar a diversidade genética das plantas em geral (AMITEYE, 2021). No Brasil, as primeiras análises de diversidade genética envolvendo acessos de algaroba foram realizadas por meio de isoenzimas, classe de marcadores bioquímicos, ainda na década de 1980 (PIRES e KAGEYAMA, 1985) e posteriormente em 1996 (DE OLIVEIRA et al. 1996). Nos últimos anos, especificamente em 2017, 2019, 2021 e 2022, estimativas da diversidade genética presente em algaroba foram conduzidas por meio de marcadores moleculares, baseados em PCR (*Polymerase Chain Reaction*), a saber: *Simple Sequence Repeat* (SSR) (FREITAS, 2017; FREITAS et al. 2019), *Resistance Genes Analog* (RGA) (SANTOS et al. 2021) e *Inter Simple Sequence Repeat* (ISSR) (ANJOS et al. 2022). Por fim, tem-se também o registro do primeiro estudo de diversidade em algaroba, associado a estratégias de genotipagem em plataforma de sequenciamento automático

(Sanger) realizado no Catar (Ásia Ocidental) (SALEH et al. 2022).

Fato inquestionável é que a despeito de existirem poucos estudos moleculares dedicados a caracterizações genéticas em algaroba, quanto mais dados forem gerados sobre essa temática, mais subsídios existirão para o estabelecimento de estratégias de manejo da espécie. Assim, a presente tese de doutorado em Zootecnia, cuja linha de pesquisa é genética e melhoramento, foi estruturada em três capítulos que em síntese buscam alcançar o objetivo geral de contribuir para o entendimento da diversidade e estrutura genética em populações naturalizadas de *Prosopis juliflora* Dc. a partir de marcadores moleculares. Ao longo do capítulo 1, intitulado de Histórico e perspectivas sobre algaroba (*Prosopis juliflora*): uma ênfase no avanço das caracterizações genético e moleculares com vistas à conservação e melhoramento buscou-se contemplar objetivos específicos como realizar levantamento bibliográfico sobre o gênero *Prosopis* e sobre a espécie *Prosopis juliflora* no mundo. No capítulo 2, intitulado de *Characterization and selection of inter simple sequence repeat markers for genetic studies of mesquite*, buscou-se caracterizar e selecionar marcadores *Inter Simple Sequence Repeat* (ISSR) para estudos genéticos de algaroba. Por fim, o capítulo 3 foi dedicado a estimativa de diversidade e estruturação genética de populações naturalizadas, compostas por acessos presentes em oito municípios (Caculé, Urandi, Ibiassucê, Guanambi, Malhada de Pedra, Itambé, Anagé e Itapetinga) da região sudoeste da Bahia.

II CAPÍTULO I

RFB editora, v. 5, 2022
ISBN 978-65-5889-255-7 / DOI: 10.46898/rfb.9786558892557.11

HISTÓRICO E PERSPECTIVAS SOBRE ALGAROBA (PROSOPIS JULIFLORA): UMA ÊNFASE NO AVANÇO DAS CARACTERIZAÇÕES GENÉTICO E MOLECULARES COM VISTAS A CONSERVAÇÃO E MELHORAMENTO

HISTORY AND PERSPECTIVES ON ALGAROBA (PROSOPIS JULIFLORA): AN EMPHASIS ON THE ADVANCEMENT OF GENETIC AND MOLECULAR CHARACTERIZATION TO CONSERVATION AND IMPROVEMENT

Quirlian Queite Araújo Anjos¹

Luiz Henrique Tolentino Santos²

Messulan Rodrigues Meira³

Elisa Susilene Lisboa dos Santos⁴

Carlos Bernard Moreno Cerqueira-Silva⁵

¹ <https://orcid.org/0000-0002-2776-3302>

² <https://orcid.org/0000-0002-9419-6192>

³ <https://orcid.org/0000-0003-2447-342X>

⁴ <https://orcid.org/0000-0003-3644-3519>

⁵ <https://orcid.org/0000-0002-1883-4543>

RESUMO

A introdução da algaroba (*Prosopis juliflora* DC) no Brasil ocorreu em três momentos e de forma intencional para fornecer serviços importantes para comunidades nordestinas. A algaroba possui ampla aplicabilidade, resultando em produtos que perpassam desde o setor da economia e saúde até o setor do meio ambiente. Sem estudo prévio da espécie, a algaroba transformou-se de uma espécie invasora para uma espécie naturalizada no país. Estudos genéticos mostram-se eficientes para subsidiar estratégias de conservação e melhoramento da algaroba, que podem ser acessados por diferentes ferramentas técnicas. Nesta revisão, se discutirá aspectos importantes sobre a introdução, manejo, e potencial tecnológico, conservação e diversidade presente na espécie *P. juliflora*.

Palavras-chave: Caracterização molecular. Diversidade genética. Espécie naturalizada. Recurso genético. Potencial tecnológico.

ABSTRACT

The introduction of mesquite (*Prosopis juliflora* DC) in Brazil occurred in three moments and intentionally to provide important services to northeastern communities. Mesquite has wide applicability, resulting in products that range from the economy and health sector to the environment sector. Without a previous study of the species, the mesquite changed from an invasive species to a naturalized species in the country. Genetic studies are efficient to support mesquite conservation and improvement strategies, which can be accessed by different technical tools. In this review, important aspects about the introduction, management, and technological potential, conservation, and diversity present in the *P. juliflora* species will be discussed.

Keywords: Molecular characterization. Genetical diversity. Naturalized species. Genetic resource. Technological potential.

1. INTRODUÇÃO

No contexto agropecuário, o Brasil destaca-se por apresentar o maior rebanho comercial bovino do mundo, onde este setor se mostra importante para o desenvolvimento socioeconômico do país (IBGE, 2019). Existe em média 214,8 milhões de cabeças de gado no Brasil. Desse rebanho, em 2019, o IBGE registrou que 13% pertencem ao território semiárido nordestino (IBGE, 2019). Apesar dos animais apresentarem alto grau de adaptação ao semiárido, alternativas devem ser alcançadas para não somente melhorar os níveis de produção animal, mas também, promover o seu bem-estar (NÓBREGA et al, 2011; KHOBONDO et al, 2019).

O uso de espécies leguminosas introduzidas e adaptadas às regiões semiáridas é uma alternativa viável para a região Nordeste do Brasil. Dentre suas aplicações, estão o aumento da fixação de nitrogênio atmosférico no solo (HUNGRIA et al, 2013), bem como a oferta de recursos nectaríferos para os agentes polinizadores em época de baixo índice pluviométrico (DE SOUSA et al, 2016). Nesse contexto, espécies vegetais leguminosas sob regime de manejo sustentável bem conduzido (LIMA et al, 2005; RANI e VENKATACHALAM, 2022) podem refletir diretamente na melhora da economia nordestina (DE MELO ALVES et al, 2019; DE MELO CAVALCANTE et al, 2022). A exemplo de espécies naturalizadas detentoras dessas características pode-se citar o mutualismo entre a algaroba (*Prosopis juliflora* (Sw.) DC) e as abelhas (*Apis* sp.) (DE SOUSA et al, 2016).

O sucesso adaptativo da algaroba é devido à sua capacidade de vegetar em diferentes tipos de solo e clima (RIBASKI et al, 2009; MORIM, 2015). Sua madeira serve de combustível na fabricação de etanol e carvão (LEITE FILHO, 2020; CIRILO et al, 2021). Também é matéria prima potencial para atender as indústrias alimentícias, pois suas vagens possuem elevado valor energético, podendo ser utilizadas como componente adicional à dieta tanto humana quanto animal (ALVES et al, 2012; PEREIRA et al, 2013; DE GUSMÃO et al,

2016; GONZÁLEZ-MONTEMAYOR et al, 2019). Não obstante, também é utilizada como suplemento na produção de bebidas (DE CARVALHO et al, 2020).

Apesar de sua aplicabilidade, ainda são poucos os estudos dedicados à caracterização da diversidade e estrutura genética da algaroba no Brasil. Entretanto, pesquisadores estão se mobilizando de forma a contribuir com informações dessa natureza, como é o caso do estudo pioneiro desenvolvido por Santos et al, (2021), a partir de iniciadores *Resistance Genes Analog* (RGA).

As caracterizações de estrutura e diversidade genético molecular estão incluídas nas iniciativas que potencializam desde a conservação até o uso efetivo da biodiversidade em programas de melhoramento genético. Nessa perspectiva, diversos marcadores moleculares são utilizados para esse fim. Dentre as atribuições estão as aplicações filogenéticas e evolutivas, bem como seu uso para os fins práticos em programas de pré-melhoramento e conservação de espécies vegetais (FALEIRO et al, 2018). Em síntese, os marcadores moleculares compõem técnicas amplamente aceitas e empregadas devido à sua confiabilidade (SOUZA, 2015; FONSECA e BOITEUX, 2021) e obtenção de grande quantidade de informações em tempo reduzido (TURCHETTO-ZOLET et al, 2017).

Nesta revisão, serão apresentadas informações sobre o histórico de introdução da algaroba (*P. juliflora*) no país, seu manejo e potencial tecnológico ofertado para a sociedade e meio ambiente por meio do uso dessa espécie naturalizada. Também são considerados dados sobre o andamento de estudos relacionados à diversidade e estrutura genética populacional dessa espécie no Brasil e no mundo, por meio de marcadores moleculares, sobretudo com o uso do marcador *Inter Simple Sequence Repeat* (ISSR) e *Resistance Genes Analog* RGA.

2. ESTADO DA ARTE

2.1 Características Gerais do Gênero *Prosopis*, Família Fabaceae

A família Fabaceae, também conhecida como Leguminosae, é um grupo

muito diversificado de plantas distribuídas pelo mundo em diferentes condições edafoclimáticas. Através de análises filogenéticas moleculares, essa família é dividida em seis subfamílias (Cercidoideae, Detarioideae, Duparquetioideae, Dialioideae, Caesalpinioideae e Papilionoideae) (LPWG, 2017).

Dentre as subfamílias citadas, é importante destacar a subfamília Caesalpinioideae, com 148 gêneros, incluindo o gênero *Prosopis* (Linneaus, 1767) (LPWG, 2017), com 44 espécies catalogadas (TRENCHARD et al, 2008). O gênero *Prosopis* é dividido em cinco seções (I. *Prosopis*, II. *Anonychium*, III *Strombocarpa*, IV. *Algarobia* e V. *Monilicarpa*) (BURKART, 1976; CATALANO et al, 2008). A seção IV, *Algarobia*, é a que mais se destaca devido a maior diversidade de espécies, como é possível verificar na **tabela 1**.

Tabela 1 - Espécies distribuídas em cinco seções do gênero *Prosopis* L.

I. Seção PROSOPIS	IV. Seção ALGAROBIA (Continuação)
<i>P. cineraria</i> (L.) (Druce, 1914)	<i>P. denudans</i> (Benth., 1841)
<i>P. farcta</i> (Sol. Ex Russel) (J. F., 1919)	<i>P. ruizlealii</i> (Burkart, 1942)
<i>P. koelzian</i> (Burkart, 1976)	<i>P. castellanosii</i> (Burkart, 1941)
II. Seção ANONYCHIUM	<i>P. calingastana</i> (Burkart, 1957)
<i>P. africana</i> (Guill & Perr.) (Taub., 1893)	<i>P. humilis</i> (Gillies ex Hook, 1833)
III. Seção STROMBOCARPA	<i>P. rojasiana</i> (Burkart, 1941)
<i>P. strombulifera</i> (Lam.) (Benth, 1841)	<i>P. rubriflora</i> (Hassl., 1910)
<i>P. reptans</i> (Benth, 1841)	<i>P. campestris</i> (Griseb., 1874)
<i>P. abbreviata</i> (Benth, 1841)	<i>P. pallida</i> (Humb. & Bonpl. Ex Willd) (Kunth, 1823)
<i>P. torquata</i> (Cav. Ex Lag., 1825) DC.	<i>P. affins</i> (Spreng., 1825)
<i>P. pubescens</i> (Benth, 1846)	<i>P. articulata</i> (Sw., 1889)
	<i>P. elata</i> (Burkart, 1952)
	<i>P. tamaulipana</i> (Burkart, 1976)
	<i>P. chilensis</i> (Molina) (Stuntz, 1914)
	<i>P. juliflora</i> (Sw.) (DC., 1825)

<i>P. palmeri</i> (Sw., 1889)	<i>P. nigra</i> (Griseb) (Hieron., 1881)
<i>P. burkartii</i> (Muñoz, 1971)	<i>P. caldenia</i> (Burkart, 1939)
<i>P. feroz</i> (Griseb., 1879)	<i>P. laevigata</i> (Humb. & Bonpl. Ex Willd) (M. C., 1962)
<i>P. tamarugo</i> (Phil., 1891)	<i>P. flexuosa</i> (DC., 1825)
IV. Seção ALGAROBIA	<i>P. glandulosa</i> (Torr., 1827)
<i>P. sericantha</i> (Gillies ex Hooke., 1833)	<i>P. alpataco</i> (Phil., 1862)
<i>P. kuntzei</i> (Harms ex Kuntze, 1898)	<i>P. alba</i> (Griseb., 1874)
<i>P. ruscifolia</i> (Griseb., 1874)	<i>P. velutina</i> (Wooton, 1898)
<i>P. fiebrigii</i> (Harms, 1915)	V. Seção MONILICARPA
<i>P. vinalillo</i> (Stuck., 1900)	
<i>P. hassleri</i> (Harms, 1909)	<i>P. argentina</i> (Burkart, 1937)

Adaptada: BURKART, 1976; CATALANO et al, 2008.

A maioria dos representantes do gênero é diploide (número somático $2n = 2x = 28$), com exceção de *P. juliflora* que também é descrita como tetraploide ($2n = 4x = 56$) (TRENCHARD et al, 2008). No entanto, no Brasil, foi verificada a presença de acessos diploides nas cidades de Petrolina (PE), Belém do São Francisco (PE) e Lagoa Grande (PE). Apenas na cidade de Soledade (PB) foi verificada a presença de células tetraploides em um único acesso (NOGUEIRA et al, 2007). As espécies *P. juliflora* e *P. pallida* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) Kunth) juntas formam o complexo *P. juliflora* – *P. pallida* e devido a essas espécies serem simpátricas, provavelmente as populações de algaroba descritas no Brasil como diploides sejam, na verdade, pertencentes ao táxon *P. pallida* (PASIECZNIK et al, 2001; TRENCHARD et al, 2008).

Segundo Burkart (1976), a origem, evolução e especiação do gênero ocorreram no continente africano, onde sua migração para as Américas foi facilitada por dispersores adaptados a curta distância quando os continentes ainda eram unidos (Pangeia). Catalano et al, (2008) sugere que a evolução e diversificação do gênero *Prosopis* para o continente americano ocorreu no final do Mioceno ao mesmo tempo em que condições áridas e semiáridas se

estabeleciam nesse continente devido ao soerguimento da Cordilheira do Andes, barreira natural capaz de impedir a passagem de ventos úmidos para essa região.

A adaptação a diferentes ambientes e solos pode ter sido responsável pela presença de espécies com hábito arbustivo, como é o caso de solos salinos, já que este restringe o desenvolvimento e crescimento de algumas espécies, limitando a disponibilidade de água, e conseqüentemente, uma menor taxa fotossintética devido ao fechamento estomático (ROIG, 1993; HUSSAIN et al, 2019).

Espécies do gênero *Prosopis* ocorrem naturalmente em regiões ao leste da América do Sul, Chacos Argentinos, norte do México, Oriente Médio, sul da Índia e África Equatorial. Tal introdução foi realizada em diferentes áreas do país, como o sul e oeste da África, em 1880, e na Austrália entre 1900 a 1920 (PASIECZNIK et al, 2001). No cenário atual, as espécies de *Prosopis* são encontradas em regiões tropicais da América, Ásia, África e Oceania (BURKART, 1976; RIBASKI et al, 2009, SHACKLETON et al, 2014). E, apesar de melhor se desenvolverem em regiões áridas, é possível verificar a presença de algumas espécies no continente Europeu (IGLESIAS et al, 2007; RAMÍREZ-BAHENA et al, 2015; WAN et al, 2018).

As espécies do gênero *Prosopis* são hermafroditas (HABIT, 1981), com predominância de alogamia (FELKER, 1982), que se caracteriza em realizar preferencialmente polinização cruzada. As espécies alógamas com flores hermafroditas geralmente apresentam um sistema de autoincompatibilidade, o qual evita a ocorrência de autofecundação (KALISZ et al, 2004). Dessa forma, esta estratégia influencia nos rearranjos que caracterizam a diversidade genética a nível populacional, levando a infinitas combinações, as quais servem de base para o comportamento evolutivo, determinando a sua adaptabilidade no ambiente ao longo das gerações (RICHARDS, 1997).

Características morfofisiológicas diversas são verificadas entre as espécies desse gênero, porém algumas características em comum possibilitam

vantagens adaptativas em ambientes cujas condições abióticas são extremas como altas temperaturas, índice pluviométrico baixo e solos salinos (BURKART, 1976; GEORGE et al, 2007; DELATORRE et al, 2008; BARROS, 2010; TORALES et al, 2013; WESTPHAL et al, 2015; HUSSAIN et al, 2019, REGINATO et al, 2019).

Dentre as características morfofisiológicas em comum, destacam-se a presença de raízes pivotantes que podem atingir até 23 metros de profundidade em busca de água (BURKART, 1976; YASUDA et al, 2014; APG IV, 2016; HUSSAIN et al, 2019); fixação biológica de nitrogênio atmosférico (N₂), devido à associação simbiótica com bactérias do gênero *Rizobium*, os quais são capazes de induzir a formação de nódulos em suas raízes (BENATA et al, 2008; REEVE et al, 2014; DIAS, 2018; ZHOU et al, 2018; FALL et al, 2019; ZHOU et al, 2021), contribuindo para a produção de biomassa (BESSEGA et al, 2015; SARASWATHI e CHANDRASEKARAN, 2016; CAREVIC et al, 2017).

2.2 A algaroba

A taxonomia de *Prosopis juliflora* ainda é obscura devido ao alto grau de semelhanças morfológicas com *P. pallida*, principalmente quando relacionados aos híbridos (PASIECZNIK et al, 2001; TRENCHARD et al, 2008). Apesar da semelhança entre as espécies, Sherry et al, (2011) constataram que ambas não estão intimamente relacionadas. Esse fato é fortalecido por Oliveira (2012) através de um modelo de predição de nicho ecológico construído a partir de variáveis climáticas, onde foi possível evidenciar que existe diferença entre nichos climáticos colonizados por essas espécies. Além do mais, processos de especiação alopátrica podem estar associados à formação das espécies *P. juliflora* e *P. pallida* nas áreas de ocorrência natural do complexo, já que a topografia dessa região é altamente complexa (PASIECZNIK et al, 2001).

O centro de origem e diversidade do complexo *P. juliflora* - *P. pallida* é no Peru (PASIECZNIK et al, 2001). Porém, segundo os mesmos autores, outros

países estão incluídos como áreas nativas, como é o caso do México, na América do Norte; El Salvador, Honduras, Guatemala, Nicarágua, Panamá e Costa Rica, na América Central, e alguns países da América do Sul, como a Venezuela, Colômbia e Equador. Em áreas invadidas na América do Sul, existe sobreposição de nicho ecológico pelo complexo, indicando a ocorrência natural do mesmo em condições climáticas idênticas, ao contrário do observado em áreas onde houve sua introdução (OLIVEIRA, 2012).

P. juliflora (Linneaus, 1753) (Fabaceae: Caesalpinioideae) é representante da seção 4- Algarobia (BURKART, 1976; CATALANO et al, 2008). Nativa da América do Sul, América Central e Caribe, é conhecida popularmente como algarobeira ou algaroba no Brasil, mesquite no México, cuji na Venezuela, algaroba ou nacascal na Guatemala, carbón em El Salvador, acácia de Catarina em Nicarágua e aromo no Panamá, (RIBASKI et al, 2009).

O gênero *Prosopis* spp. originou-se no continente africano, ocorrendo a migração para o continente americano antes da deriva continental, posteriormente, ocasionou a especiação surgindo a *P. juliflora* (BURKART, 1976). A algaroba pertence à subfamília Mimosoideae e possui porte arbóreo com características de plantas xerófitas (ABBAS et al, 2016). Esta espécie foi introduzida no Brasil, em 1942, no estado de Pernambuco, onde se disseminou rapidamente, ocupando vastas extensões de terras em praticamente todos os estados do Nordeste (PEGADO et al, 2006; PEREIRA et al, 2018a).

2.3 Biologia reprodutiva e fenologia da Algaroba

Dentro da espécie, existem indivíduos com hábitos de vida arbóreo ou arbustivo (Figura 1a e 1b, respectivamente), com altura variando entre 3 a 12 metros, respectivamente (MORIM, 2015). Atingem fase adulta a partir do segundo e terceiro ano de vida (CATALANO et al, 2008; RIBASKI et al, 2009). A algaroba apresenta flores com cor amarelo-esverdeadas, agrupadas em inflorescências em racemos, em forma de espiga e os frutos são de coloração amarelo-palha (Figura 1d e 1e), em forma de lomento drupáceo, usualmente

falcado, retos, raramente espiralados, indeiscentes, com 10 a 40 cm de comprimento, 15 a 20 mm de largura e 4 a 5 mm de espessura, contendo, em média, 17 sementes (Figura 1d) (LIMA, 1999).

Os frutos apresentam formato de vagem (RIBASKI et al, 2009) com coloração amarelada e características biométricas variadas (diâmetro, peso e o número de sementes por fruto) (PEREIRA et al, 2018a) (Figura 1d) e anatomia dividida em polpa, semente e endocarpo (GRADOS e CRUZ, 1996). Os ramos são ascendentes ou flexuosos, com espinhos ou inermes, espinhos geminados. O caule é tortuoso, com ritidoma (casca) enrugado, espesso e coloração pardo-avermelhada, geralmente apresentando espinhos (BURKART, 1976). As folhas são bipinadas compostas por folíolos (Figura 1e) e sua emissão ocorre entre os meses chuvosos de dezembro a maio (RIBASKI et al, 2009) (Figura 1e). O sistema radicular presente na espécie é do tipo pivotante, com capacidade de atingir entre 20 a 23 metros de profundidade em direção ao lençol freático (YASUDA et al, 2014; APG IV, 2016).

A algaroba possui reprodução alógama (sistema de autoincompatibilidade) (MORIM, 2015). As flores são do tipo inflorescência, com polinização cruzada (PASIECZNIK et al, 2004), onde em uma única estrutura floral é possível verificar aproximadamente 340 inflorescências hermafroditas (presença de androceu e gineceu) (BURKART, 1976). O período de maior intensidade de floração e frutificação ocorre entre os meses de setembro a novembro, mas também é possível verificar a disponibilidade desses recursos nos meses de abril e junho (RIBASKI et al, 2009). O processo de polinização ocorre através da oferta de néctar e pólen, realizado, principalmente, por abelhas (*A. mellifera* e *T. fuscipennis*) e esporadicamente por borboletas, mariposas e vespas (DE SOUSA et al, 2016).

A estimativa de produção de frutos para plantas com idade de 15 anos é de 70 kg de vagens por árvore, e ao ano a produção varia de 2 a 8 t.ha⁻¹ para a região nordeste (RIBASKI et al, 2009). Altas temperaturas e índice pluviométrico baixo também estimulam a produção de vagens (LIMA, 1984). A

polpa equivale a 56% do fruto (GRADOS e CRUZ, 1996) e contém 8,87% de proteína bruta (EDVAN et al, 2013), 63,7 mg.100 g⁻¹ de carboidrato (a sacarose representa 96%) e diversos minerais, como fósforo e cálcio (SILVA et al, 2007).

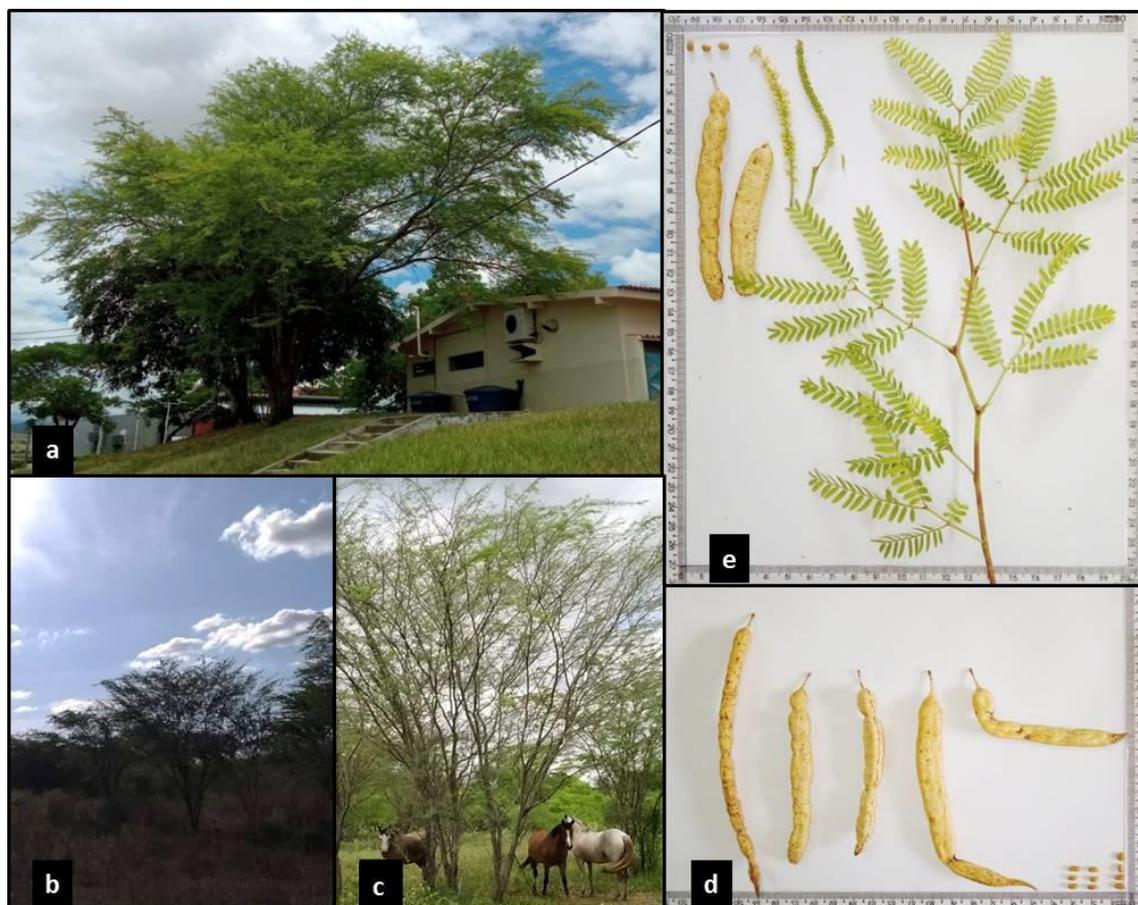


Figura 1 - *Prosopis juliflora* (Sw.) DC em seu ambiente naturalizado. a) Árvore; b) Arbusto; c) Dispersores (equídeos); d) Vagens e sementes; e) Ramos, inflorescência, vagem e sementes.
Fotos: Acervo próprio

A dispersão de sementes é realizada logo após a ingestão da vagem por bovinos, muares, ovinos, caprinos e camelos no ambiente (MEDEIROS et al, 2012; ALMEIDA et al, 2017; AL-WARDY et al, 2021) (Figura 1d). Períodos de estiagem provocam alterações na disponibilidade de chuvas no ecossistema (SCOTT et al, 2014), e, conseqüentemente, a escassez de recursos (alimentos) para espécies animais em ambientes de clima árido, onde a algaroba se mostra um importante recurso alimentar para polinizadores e dispersores (DE SOUSA

et al, 2016; ALMEIDA et al, 2017; SIROHI et al, 2017; AGUIAR et al, 2019).

O principal agente dispersor da algaroba no ambiente são os bovinos, pois apresentam uma maior eficiência no processo de dispersão de sementes no ambiente (GONÇALVES et al, 2007). Porém, muares (GONÇALVES et al, 2013), caprinos (RIBASKI et al, 2009) e camelos (AL-WARDY et al, 2021) também são responsáveis por dispersarem as sementes em diferentes coberturas vegetais. Além da dispersão das sementes por animais, a espécie também apresenta reprodução vegetativa pela quebra de dormência das gemas laterais promovida pela herbivoria e queimadas (RIBASKI et al, 2009).

2.4 Histórico de implantação da algaroba no Brasil

A saga da introdução da algaroba no Brasil iniciou-se com o argumento de que essa planta seria a salvação para a região nordeste da pobreza em tempos de escassez de alimento para a criação de rebanhos (GOMES e MIRANDA, 2016). Essa ideia foi justificada pelo ápice de frutificação da planta, que ocorre justamente no período de seca, associado ao fato das vagens serem nutritivas e altamente palatáveis pelos animais (SILVA, 2000; BURNETT, 2017). A versatilidade da algaroba fortalecia cada vez mais o incentivo a introdução da mesma na região. Nesse sentido, existem relatos de que as populações existentes na região Nordeste sejam oriundas de apenas quatro matrizes introduzidas no país, trazendo um forte indicio de endogamia nas populações atuais devido ao efeito gargalo ocorrido no momento de sua introdução (AZEVEDO, 1982; PIRES e KAGEYAMA, 1985).

Em 1942, na cidade de Serra Talhada (PB), foi realizada a primeira tentativa de cultivo da algaroba a partir de sementes originárias do Novo México (EUA); em 1946, no Rio Grande do Norte (RN), o cultivo foi realizado provavelmente por sementes oriundas no Peru; e em 1952, em Serra Branca (PB), por meio de vagens coletadas em Serra Talhada (BELMONT et al, 2016; BURNETT, 2017). Nas décadas seguintes, a expansão da algaroba para as

demais regiões do nordeste brasileiro (Piauí, Ceará, Paraíba e Pernambuco) foi realizada por meio do incentivo do Ministério da Agricultura e em 1970, o Instituto Brasileiro do Desenvolvimento Florestal (antecessor do IBAMA) incentivou o desmatamento da Caatinga para o plantio da algaroba (LIMA, 2005; BURNETT, 2017).

As condições climáticas das áreas invadidas pela algaroba são congruentes às condições encontradas nos locais de ocorrência natural da espécie (OLIVEIRA, 2012). Esse mesmo autor demonstra a partir de um modelo de predição de distribuição que as regiões secas com áreas desmatadas são climaticamente favoráveis à colonização pela algaroba, destacando inclusive as áreas do sudeste e norte do bioma Amazônia e parte dos biomas Cerrado, Mata Atlântica e Pantanal. Segundo Morim (2015) já é possível verificar a presença da algaroba em diferentes regiões, a exemplo da região nordeste (Alagoas, Bahia, Ceará, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte) e da região Sul do Brasil (Rio grande do Sul) (MORIM, 2015).

2.5 Importância econômica, social e aplicações tecnológicas

No Brasil, em regiões semiáridas, a economia é fortemente baseada na agricultura familiar e a atividade pecuária é importante para a região. O semiárido brasileiro apresenta um clima tropical seco, com precipitação média anual em torno de 700 mm (TINÔCO et al, 2019). O clima é conhecido conforme classificação de Kopper em quente e seco, no qual é definido por longos períodos e estiagem o que aumenta os riscos de perdas na agricultura e na pecuária.

A produção vegetal (folhas e vagens) da algaroba no semiárido é uma alternativa eficaz que assegura a disponibilidade de alimento na pecuária, principalmente em pequenas propriedades, favorecendo a sobrevivência dos rebanhos e o declínio da taxa de mortalidade animal em decorrência da escassez de alimentos (DOS SANTOS e DIODATO, 2017). Por esse motivo, as aplicações tecnológicas a partir da algaroba são amplas. O Brasil é o único país

que desenvolve pesquisas patenteadas utilizando a algaroba, sendo registradas três tecnologias até o momento (DE MELO ALVES et al, 2019). Nessas pesquisas, cientistas relatam a importância social e as diferentes formas de utilização da algaroba, conforme apresentado na Tabela 2.

Dentre as possibilidades, pode-se citar o potencial para alimentação humana (farinha da vagem) (GONZÁLEZ-MONTEMAYOR et al, 2019; BATISTA et al, 2021) e de animais (aves, bovinos, caprinos, equinos, ovinos e peixes) (RIBASKI et al, 2009; SILVA et al, 2015; KHOBONDO et al, 2019; AGUIAR et al, 2019). A espécie também é usada como recursos madeireiros, para proteção do solo, arborização urbana e promoção do bem-estar animal pelo sombreamento de pastagens, além de servir como suporte para a apicultura (RIBASKI et al, 2009). Em um contexto mais amplo, o gênero *Prosopis* é usado não só para alimentação humana e de animais (SCIAMMARO et al, 2016), mas também para fins medicinais (ZHONG et al, 2022). Seus componentes químicos (flavonóides, taninos, alcaloides e compostos fenólicos) demonstram potenciais em várias biofunções, como analgésico, anti-helmíntico, antibiótico, anticancerígeno, antidiabético, anti-inflamatório; bem como efeitos probióticos e nutricionais (DAMASCENO et al, 2017; HENCIYA et al, 2017; PERSIA et al, 2016; ELBEHAIRI et al, 2020; DE MELO CAVALCANTE et al, 2022).

Tabela 2 - Utilização de *Prosopis juliflora* em diferentes estudos científicos

Categoria	Forma de Utilização	Referências
	Vagens na alimentação de ovinos e caprinos	Riet-Correa et al, 2012
Alimentação animal	Vagens na alimentação de bovinos e equinos	Medeiros et al, 2012
	Vagens na alimentação de peixes	Silva et al, 2015

	Vagens na alimentação de aves	Khobondo et al, 2019
	Melhorando eficiência digestiva ruminal	Dos Santos et al, 2013
	Farinha obtida da vagem para fabricação de pães e biscoitos	González-Montemayor et al, 2019
	Produção de cookie a partir da farinha da vagem	De Melo et al, 2020
Alimentação humana	Melado da vagem de algaroba	Lima et al, 2020
	Geleia de farinha de algaroba adicionada ao iogurte grego	Batista et al, 2021
	Produção de cerveja	De Carvalho et al, 2020
	Atividade antitumoral frente a células cancerígenas	Costa e Cavalcante, 2018
Medicina humana e fármacos	Identificação de novos terpenóides anticâncer	Malik et al, 2018
	Potencial antimicrobiano	Srivastava e Aparna, 2015
Inseticida	Extrato da vagem no combate a <i>Spodoptera litura</i> (Fabricius, 1775)	Dhivya et al, 2018
Reflorestamento	Recuperação de áreas degradadas	Ahirwal et al, 2017

Fitorremediação	Restauração de solos contaminados	Singh et al, 2020
-----------------	-----------------------------------	-------------------

Biocombustível	Produção de etanol a partir de vagens	Leite Filho, 2020
----------------	---------------------------------------	-------------------

Fonte: Elaborado pelos pesquisadores (2022)

Também é possível verificar na literatura a associação da algaroba com processos de fitorremediação (HAMMOND et al, 2018; SINGH et al, 2020). Essa técnica é utilizada para remover metais pesados de solos contaminados por meio de vegetais e microrganismos, capazes de absorver, sequestrar ou degradar contaminantes no meio ambiente (DE SOUZA MIRANDA et al, 2022; SARAVANAN et al, 2022; YAASHIKAA et al, 2022).

Especificamente na nutrição animal, as vagens da algaroba são usadas por apresentarem elevado potencial energético e aceitabilidade pelos animais, tendo em vista que uma planta adulta produz de 5 a 111 kg de vagem por ano. Além do mais, o seu pico de produção é no período seco, coincidindo com a época de déficit de alimentos para os animais, demonstrando a capacidade de adaptação e potencial de produção e utilização da algaroba em regiões semiáridas (LIMA, 1984; TALPADA et al, 2003). No Brasil, a produção de vagem de algaroba está concentrada na região nordeste, com uma produção superior a 1 milhão de toneladas, evidenciando assim seu potencial como insumos para uso de amplo espectro (SILVA et al, 2002). Apesar da importância econômica e social da *P. juliflora*, muito pouco se conhece sobre sua diversidade genética, cujo conhecimento subsidiaria programas de conservação e melhoramento genético da espécie.

2.6 Estudos Genéticos Moleculares

A biodiversidade pode ser definida como a variação presente em todas

as formas de vida, incluindo desde espécies procarióticas a eucarióticas, tais como animais e plantas e sua informação genética (diversidade genética) nos ecossistemas em que eles incidem (comunidades de espécies e seu ambiente) (RAO e HODGKIN, 2002). A diversidade existente nos organismos pode ser avaliada por meio de diferentes técnicas, como é mostrado a seguir.

Marcador genético é definido como um gene ou uma sequência de DNA com local conhecido no cromossomo, capaz de controlar uma determinada característica que possibilite a distinção de indivíduos geneticamente diferentes (NADEEM et al, 2018). E que essa característica demonstre um padrão de segregação de alelos conforme preconizado pelas leis mendelianas (TURCHETTO-ZOLET et al, 2017).

Os marcadores genéticos são importantes para o melhoramento genético de plantas (HAYWARD et al, 2015; GARRIDO-CARDENAS et al, 2018), pois estão diretamente relacionados com o gene alvo e atuam como sinal ou como sinalizadores (HOFFMANN e BARROSO, 2006). Agrupados em duas categorias, os marcadores genéticos podem ser classificados como marcadores clássicos e marcadores baseados em DNA, também conhecidos como marcadores moleculares (NADEEM et al, 2018). Os marcadores clássicos são subdivididos em morfológicos (AL-ASHKAR et al, 2020), citológicos (SINGH et al, 2020) e bioquímicos (ABIRAMI et al, 2021), enquanto que os moleculares são mais amplos (ALVES et al, 2018; CONTRERAS et al, 2020; OUAJA et al, 2021; SANTOS et al, 2021).

A primeira classe de marcadores genéticos a serem amplamente utilizadas para caracterizar espécies vegetais foi a de marcadores morfológicos (RICK e YODER, 1988). Até meados da década de 1960, os estudos envolvendo marcadores morfológicos eram controlados por genes associados a uma determinada característica (FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1996) capaz de ser mensurada visualmente (PEREIRA et al, 2018a) e selecionadas a partir de genitores para os cruzamentos (HOFFMANN e BARROSO, 2006). Essa técnica é limitada pelo número de características avaliadas simultaneamente, por diferentes estágios da planta e por serem influenciadas diretamente por fatores

ambientais (FONSECA e BOITEUX, 2021).

Para minimizar as desvantagens presentes nessa técnica, os mesmos são utilizados em conjunto com os marcadores moleculares, ampliando com maior confiabilidade os resultados obtidos (LAM et al, 2020; CAMACHO-VILLALOBOS et al, 2021; CHEN et al, 2021). São ainda hoje a base para o melhoramento genético convencional, sendo muito utilizado em estudos de diversidade genética, caracterização de cultivares (GUDEN et al, 2019; VALENTINE et al, 2020) e de germoplasmas (SINGH et al, 2018). Nesse contexto, os caracteres morfoagronômicos são cruciais na identificação de espécies passivas de uso para o melhoramento genético vegetal. Além de fornecer informações que subsidia o uso sob manejo sustentável das espécies, também contribui com informações importantes para estratégias de conservação (CORONADO et al, 2016; MORILLO-CORONADO et al, 2021).

Os marcadores citológicos estão relacionados com variações encontradas em padrões de marcas, tamanho, forma, ordem e posicionamento dos cromossomos, capazes de revelar diferenças na distribuição da eucromatina e heterocromatina entre cromossomos normais e mutados (PINTO-MAGLIO et al, 2000; JIANG, 2013; BONEA e BONCIU, 2017; MARAVILLA et al, 2021).

A construção dos primeiros mapas genéticos foi fundamentada a partir desse marcador, juntamente com os morfológicos, por meio do estoque cromossômico de mutações (aneuploidias, translocações, deleções e inversões) (COE et al, 1988; RICK e YODER, 1988; IRZYKOWSKA et al, 2002), sobretudo nas culturas de milho (LAWRENCE et al, 2006), tomate (MOURA et al, 2005) e ervilha (KUMAR et al, 2012). O princípio da técnica está relacionado com a classificação e avaliação do número básico de cromossomos presente em espécies intimamente relacionadas (BONNEMA et al, 1997; LOPÉZ MEDINA et al, 2018; YAZICILAR et al, 2021).

Embora seja uma das primeiras técnicas desenvolvidas, a evolução dos marcadores citológicos vem promovendo ferramentas cruciais para a análise genética e genômica de cromossomos em plantas (FIGUEROA e BASS, 2010;

ADAWY et al, 2013; ERTÜRK et al, 2021), por meio de ferramentas integrativas como imagens, genética, epigenética e informações citológicas que podem ser empregadas para aprimorar a pesquisa cromossômica e genômica molecular em táxons de plantas (YOUNIS et al, 2015).

Marcadores bioquímicos foram desenvolvidos, com intuito de aumentar a especificidade de análise na década de 60-70 (BRAMMER, 2000; TURCHETTO-ZOLET et al, 2017). São baseados na técnica de eletroforese de isoenzimas (BRAMMER, 2000), que são produtos primários de genes estruturais (SHIELDS et al, 1983) capazes de distinguir variedade de plantas (GROVER e SHARMA, 2016). Isoenzimas possuem herança codominante. Segundo Vieira et al, (2009), a utilização de marcadores bioquímicos é vantajosa, pois é possível obter resultados num prazo entre 24 e 48 horas.

O desenvolvimento e aplicabilidade de marcadores moleculares relacionados ao DNA ocorreram no ano de 1980 (AMITEYE, 2021). Considerados um dos avanços mais significativos da genética molecular, esses marcadores são capazes de fornecer informações ilimitadas sobre as sequências distribuídas pelo genoma vegetal (TURCHETTO-ZOLET et al, 2017) e o papel fisiológico e molecular de diversos genes aplicados a genética molecular em programas de melhoramento genético (NADEEM et al, 2018). É possível direcionar a partir desses marcadores estudos de estratégias associadas à caracterização, à conservação e ao uso de recursos genéticos, potencializando os ganhos genéticos de uma determinada espécie (FALEIRO et al, 2018).

Por definição, marcadores moleculares são sequências de nucleotídeos (HASAN et al, 2021), capazes de detectar variabilidade presente entre indivíduos (HIREMATH et al, 2021; MOTAHARI et al, 2021). A base de polimorfismos encontrados em uma população ocorre por meio da variação genética como: deleção, inserção, mutação gênica, duplicação e translocação (HASAN et al, 2021). Esta variação pode ser detectada através do uso de marcadores moleculares, que são classificados em três categorias: I- a depender do método de detecção: marcadores moleculares baseados em hibridização ou

em PCR; II- quanto à natureza de ação e III- baseados em Sequenciamento (TURCHETTO-ZOLET et al, 2017; HASAN et al, 2021).

Marcadores de hibridização de primeira geração foram utilizados pela primeira vez na década de 1980 (YANG et al, 2015) para a construção de mapas genéticos para detecção de polimorfismo de DNA (BOTSTEIN et al, 1980). Esses marcadores requerem o uso de sonda de DNA marcadas para a seleção de genes de interesse pela digestão de amostras de DNA por enzimas de restrição para revelar padrões polimórficos gerados nestas sequencias (BOTSTEIN et al, 1980; DAI e LONG, 2015). O RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) foi o primeiro marcador baseado em DNA a ser desenvolvido a partir desta abordagem (TURCHETTO-ZOLET et al, 2017).

Uma década depois, houve mais uma inovação com o advento da técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) (AMITEYE, 2021). A técnica de PCR permite que sequências de nucleotídeos sejam amplificadas a partir do DNA genômico através da utilização de iniciadores (MADHUMATI, 2014). Iniciadores, também denominados de Primers são sequencias curtas de nucleotídeos capazes de amplificar uma região específica do DNA alvo durante a PCR (FREELAND, 2017; PARK e POULIN, 2020).

Quanto à natureza de ação, os marcadores podem ser dominantes e codominantes. Os dominantes são amplamente utilizados, especialmente por não requererem informações prévias sobre o genoma das espécies a serem avaliadas (BORÉM e CAIXETA, 2009). Somente identifica presença ou ausência de um determinado marcador (TURCHETTO-ZOLET et al, 2017). Enquanto os marcadores codominantes possibilitam diferenciação entre indivíduos homocigotos e heterocigotos (HASAN et al, 2021). Os marcadores moleculares são capazes de detectar, em uma população, a diversidade genética existente (HOFFMANN e BARROSO, 2006), cuja capacidade varia de acordo com o tipo de marcador utilizado na amostra (ZHANG et al, 2018a; ZHANG et al, 2018b; ZHANG et al, 2022).

Marcadores genéticos moleculares têm sido aplicados com sucesso

como ferramentas auxiliares em diferentes etapas do melhoramento genético do gênero *Prosopis* e vários são os artigos que evidenciam tais aplicações (POMPONIO et al, 2015; PADARIA et al, 2015; SIVALINGAM et al, 2016; RAI et al, 2017; SHEKHAWAT et al, 2018). No gênero *Prosopis*, marcadores microssatélites têm sido desenvolvidos através da construção de bibliotecas genômicas pelas técnicas de sequenciamento de nova geração (BESSEGA et al, 2013; TORALES et al, 2013; ALVES et al, 2014; GEORGE et al, 2017).

O entendimento e identificação dos recursos genéticos específicos de cada espécie do gênero *Prosopis* é muito importante para programas de melhoramento, visto que a caracterização da diversidade genética está na base das informações necessárias para se potencializar a integração dos recursos genéticos aos programas de melhoramento.

Diante da diversidade de marcadores moleculares, vários fatores podem influenciar na escolha da técnica mais adequada aos objetivos do estudo. Cada marcador molecular tem sua especificação, diferindo entre si quanto ao nível de polimorfismo detectado, a abundância no genoma, a especificidade de *locus*, a reprodutibilidade e os requisitos de detecção e automatização da técnica (SILVA et al, 2019; GHANBARI et al, 2022).

Nesse contexto, é possível verificar que ainda existe uma série de questionamentos que precisam ser elucidados em relação às análises de diversidade genética comparativa e filogenéticas envolvendo populações de *P. juliflora* no Brasil, que podem ser realizadas, por exemplo, por meio do sequenciamento do genoma cloroplastídico (ASAF et al, 2020) ou pelo uso de marcadores moleculares. Contudo são poucos os estudos dedicados às estimativas de diversidade e estrutura genética com *Prosopis juliflora* (ELMEER et al, 2011), inexistindo sobretudo com uso de marcadores ISSR.

A fim de contribuir com o conhecimento genético molecular da algaroba, o grupo de pesquisa do Laboratório de Genética Molecular da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (LGMA - UESB) vem desenvolvendo estudos com a espécie desde 2015. Os resultados obtidos até o

presente momento têm contribuído para subsidiar futuros estudos de melhoramento genético da espécie de forma a alcançar êxito com informações importante para a produção animal como forrageira, bem como contribuir para o manejo adequado da espécie em regiões periurbanas da mesorregião centro-sul baiano. Dentre as informações obtidas, pode-se citar: a existência de variabilidade e a presença de doze marcadores raros e cinco marcadores exclusivos observados na coleção de germoplasma presente no Instituto Federal Baiano, na cidade de Itapetinga-BA, e em acessos de oito populações naturais da mesorregião centro-sul baiano, por meio do marcador molecular RGA. Além dessas contribuições, resultados preliminares podem ser verificados por meio de pesquisas em andamento no grupo LGMA - UESB com marcadores ISSR têm mostrado promissoras para o avanço científico e tecnológico da espécie *P. juliflora*.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A forma como a algaroba (*Prosopis juliflora*) foi introduzida no território brasileiro, bem como as suas aplicações, sobretudo na região nordeste, faz da algaroba um importante recurso genético. Com o avanço das pesquisas dedicadas a caracterizações agronômicas e, sobretudo, as caracterizações genético-moleculares, ampliassem as informações necessárias para subsidiar estratégias de conservação e melhoramento da algaroba. A perspectiva é que linhas de pesquisas dedicadas ao entendimento da diversidade e estrutura genética de *Prosopis* possibilitem maior segurança e eficiência no uso e no melhoramento dos recursos genéticos associados a algaroba.

4. REFERÊNCIAS

ABBAS, A. M.; SOLIMAN, W. S.; MANSOUR, A.; TAHER, E.; HASSAN, I. N.; MAHMOUD, M.; YOUSSEF, M. F.; MANSOUR, M. H.; ABDELKAREEM, M. Predicting the spatial spread of invasive *Prosopis juliflora* (SW.) DC along environmental gradients in Gabel Elba National Park, Egypt. **Int. J. Sci. Eng. Res**, v. 7, p. 596-599, 2016.

ABIRAMI, K.; SWAIN, S.; BASKARAN, V.; VENKATESAN, K.; SAKTHIVEL, K.; BOMMAYASAMY, N. Distinguishing three Dragon fruit (*Hylocereus* spp.) species grown in Andaman and Nicobar Islands of India using morphological, biochemical and molecular traits. **Scientific reports**, v. 11, n. 1, p. 1-14, 2021.

ADAWY, S. S.; DIAB, A. A.; ATIA, M. A.; HUSSEIN, E. H. Construction of genetic linkage map with chromosomal assignment and quantitative trait loci associated with some important agronomic traits in cotton. **GM crops & food**, v. 4, n. 1, p. 36-49, 2013.

AGUIAR, L. V.; DE OLIVEIRA SILVA, H. G.; DE ALBUQUERQUE FERNANDES, S. A.; CAIRES, D. N.; SILVA, A. S.; FEISTAUER, A. E.; DA SIL, A. H.; DA SILVA, L. C. MATARAZZO, S. V.; DOS SANTOS PEDREIRA, M. Mesquite pod meal as an additive increases milk total solids, lactose, fat and protein content in dairy cows. **Tropical Animal Health and Production**, p. 1-6, 2019.

AHIRWAL, J.; MAITI, S. K.; REDDY, M. S. Development of carbon, nitrogen and phosphate stocks of reclaimed coal mine soil within 8 years after forestation with *Prosopis juliflora* (Sw.) Dc. **Catena**, v. 156, p. 42-50, 2017.

AL-ASHKAR, I.; ALDERFASI, A.; BEN ROMDHANE, W.; SELEIMAN, M. F.; EL-SAID, R. A.; AL-DOSS, A. Morphological and genetic diversity within salt tolerance detection in Eighteen wheat genotypes. **Plants**, v. 9, n. 3, p. 287, 2020.

ALMEIDA, M. D. P.; SOUZA, E. J. O. D.; VÉRAS, A. S. C., MORAIS, Í. M. D. V., VÍTOR, D. R., SILVA, J. R. C. D. Cuts of dairy-origin cattle fed mesquite pod meal in replacement of corn. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 39, n. 4, p. 401-407, 2017.

ALVES, E. M.; PEDREIRA, M. S.; PEREIRA, M. L. A.; ALMEIDA, P. J. P.; NETO, J. G.; FREIRE, L. D. R. Farelo da vagem de algaroba associado a níveis de ureia na alimentação de ovinos: balanço de nitrogênio, N ureico no plasma e parâmetros ruminais. **Acta Scientiarum Animal Science**, v.34, n.3, p. 287-295, 2012.

ALVES, F. M.; SARTORI, Â. L.; ZUCCHI, M. I.; AZEVEDO-TOZZI, A. M.; TAMBARUSSI, E. V.; ALVES PEREIRA, A.; DE SOUZA, A. P. Genetic structure of two *Prosopis* species in Chaco areas: A lack of allelic diversity diagnosis and insights into the allelic conservation of the affected species. **Ecology and Evolution**, v. 8, n. 13, p. 6558-6574, 2018.

ALVES, F. M.; ZUCCI, M. I.; AZEVEDO-TOZZI, A. M.; SARTORI, A. L. B.; SOUZA, A. P. Characterization of microsatellite markers developed from *Prosopis rubriflora* and *Prosopis ruscifolia* (Leguminosae-Mimosoideae), legume

species that are used as models for genetic diversity studies in Chaquenan areas under anthropization in South America. **BMC Research Notes** 7: 375, 2014.

AL-WARDY, M.; AL-RAWAS, G.; CHARABI, Y.; CHOUDRI, B. S. Spatiotemporal assessment of *Prosopis juliflora* invasion: linking invasion pattern to meteorological conditions. **Tropical Ecology**, v. 62, n. 2, p. 197-208, 2021.

AMITEYE, S. Basic concepts and methodologies of DNA marker systems in plan molecular breeding. **Heliyon**, v. 7, n. 10, p. e08093, 2021.

APG IV. (2016) An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Botanical Journal of the Linnean Society** 181: 1-20. Disponível em: <<https://www.britannica.com/plant/mesquite-plant>>. Acesso em: 10 jul. 2022.

ASAF, S.; KHAN, A. L.; KHAN, A.; AL-HARRASI, A. Unraveling the chloroplast genomes of two *Prosopis* species to identify its genomic information, comparative analyses and phylogenetic relationship. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 9, p. 3280, 2020.

AZEVEDO, G. F. Como e porque a algarobeira foi introduzida no Nordeste. **FCE Fonseca; APB Mota; CF Azêvedo**, p. 300-306, 1982.

BARROS, S. El género *Prosopis*, valioso recurso forestal de las zonas áridas y semiáridas de América, Asia y África. **Ciencia e Investigación forestal**, v. 16, n. 1, p. 91-128, 2010.

BATISTA, M. A.; OLIVEIRA, S. C. P. L.; PESSOA, L. O.; LIMA, P. S. Caracterização físico-química do iogurte grego adicionado de geleia de farinha de algaroba (*Prosopis juliflora*) saborizado com polpa de abacaxi. In: **34º Congresso Nacional de Laticínios**, Anais. 2021.

BELMONT, A. R. B.; NEVES, A. M. B.; NOBRE, F. V.; FONSECA, J. R.; MEDEIROS, M. C.; BELCHIOR FILHO, V. Algaroba na alimentação animal. **SEBRAE/RN**, 44 p., 2016.

BENATA, H.; MOHAMMED, O.; NOUREDDINE, B.; ABDELBASSET, B.; ABDELMOUMEN, H.; MURESU, R.; EL IDRISSE, M. M. Diversity of bacteria that nodulate *Prosopis juliflora* in the eastern area of Morocco. **Systematic and applied microbiology**, v. 31, n. 5, p. 378-386, 2008.

BESSEGA, C.; POMETTI, C.; EWENS, M.; SAIDMAN, B. O.; VILARDI, J. C. Evidences of local adaptation in quantitative traits in *Prosopis alba* (Leguminosae). **Genetica**, v. 143, n. 1, p. 31-44, 2015.

BESSEGA, C. F.; POMETTI, C. L.; MILLER, J. T.; WATTS, R.; SAIDMAN, B. O.; VILARDI, J. C. New Microsatellite loci for *Prosopis alba* and *P. chilensis* (Fabaceae). **Applications in Plant Sciences** 5: 1200324 , 2013.

BONEA, D.; BONCIU, E. Cytogenetic effects induced by the fungicide Royal Flo to maize (*Zea mays* L.). **Caryologia**, v. 70, n. 3, p. 195-199, 2017.

BONNEMA, G.; SCHIPPER, D.; VAN HEUSDEN, S.; LINDHOUT, P.; ZABEL, P. Tomato chromosome 1: high resolution genetic and physical mapping of the short arm in an interspecific *Lycopersicon esculentum* × *L. peruvianum* cross. **Molecular and General Genetics MGG**, v. 253, n. 4, p. 455-462, 1997.

BORÉM, A.; CAIXETA, E. T. Marcadores moleculares. 2. ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa; Brasília, DF: **Embrapa Café**, v. 2, 532 p., 2009.

BOTSTEIN, D.; White, R. L.; Skolnick, M.; Davis, R. W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. **American journal of human genetics**, v. 32, n. 3, p. 314, 1980.

BRAMMER, S. P. Marcadores moleculares: princípios básicos e uso em programas de melhoramento genético vegetal. **Embrapa Trigo-Documentos (INFOTECA-E)**, 2000.

BURKART, A. A monograph of the genus *Prosopis* (Leguminosae subfm. Mimosidae). **Journal of the Arnold Arboretum**, Cambridge, v. 57, p 219-249. 1976.

BURNETT, A. A saga político-ecológica da algaroba no semiárido brasileiro. **Revista de Estudos Sociais**, v. 19, n. 38, p. 148-175, 2017.

CAMACHO-VILLALOBOS, A.; SERNA, F.; FLORES, J.; FLORES, H.; MANRIQUE, P.; BENDEZU, J. Morphological and molecular characterization of an *Elaeis oleifera* (HBK) Cortes germplasm collection located in Ucayali, Peru. **Plos one**, v. 16, n. 5, p. e0250445, 2021.

CAREVIC, F. S.; DELATORRE-HERRERA, J.; DELATORRE-CASTILLO, J. Inter-and intrapopulation variation in the response of tree seedlings to drought: physiological adjustments based on geographical origin, water supply and species. **AoB Plants**, v. 9, n. 5, 2017.

CATALANO, S. A.; VILARDI, J. C.; TOSTO, D.; SAIDMAN, B. O. Molecular phylogeny and diversification history of *Prosopis* (Fabaceae: Mimosoideae). **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 93, n. 3, p. 621-640, 2008.

CHEN, J.; WU, G.; SHRESTHA, N.; WU, S.; GUO, W.; YIN, M.; LI, AO.; LIU, J.; REN, G. Phylogeny and Species Delimitation of *Chinese Medicago* (Leguminosae) and Its Relatives Based on Molecular and Morphological Evidence. **Frontiers in plant science**, v. 11, p. 2224, 2021.

CIRILO, N. R. M.; DE MEDEIROS NETO, P. N.; DA SILVA RIBEIRO, L.; MOREIRA, G. L.; DO CARMO, F. C. D. A.; DE MEDEIROS, N. C. G. Caracterização da madeira de *Prosopis juliflora* utilizada na indústria de cerâmica vermelha no semi-árido brasileiro. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 16, n. 4, p. 178-182, 2021.

COE, J. R. E. H.; NEUFFER, M. G.; HOISINGTON, D. A. The genetics of corn. **Corn and corn improvement**, v. 18, p. 81-258, 1988.

CONTRERAS, R.; VAN DEN BRINK, L.; BURGOS, B.; GONZÁLEZ, M.; GACITÚA, S. Genetic characterization of an endangered Chilean endemic species, *Prosopis burkartii* Muñoz, reveals its hybrids parentage. **Plants**, v. 9, n. 6, p. 744, 2020.

CORONADO, A. C.; MORILLO TOVAR, Y. P.; MORILLO, Y. Caracterización morfológica de *Selenicereus megalanthus* (K. Schum. ex Vaupel) Moran en la provincia de Lengupá. **Ciencia En Desarrollo**, v. 7, n. 2, p. 23-33, 2016.

COSTA, A. C. F.; CAVALCANTE, G. M. Atividade antitumoral in vitro de *prosopis juliflora* frente a células de câncer de mama e câncer de ovário. **Acta Biomedica Brasiliensia**, v. 9, n. 1, p. 130-136, 2018.

DAI, S.; LONG, Y. Genotyping analysis using an rflp assay. In: **Plant Genotyping**. Humana Press, New York, NY, p. 91-99. 2015.

DAMASCENO, G. A. B.; FERRARI, M.; GIORDANI, R. B. *Prosopis juliflora* (SW) DC, an invasive specie at the Brazilian Caatinga: phytochemical, pharmacological, toxicological and technological overview. **Phytochemistry reviews**, v. 16, n. 2, p. 309-331, 2017.

DE CARVALHO, L. C.; MAFALDO, I. M.; ROCKENBACH, I. I.; DE OLIVEIRA, K. K. G.; LIMA, L. G. A. C.; SATURNINO, V. L. D. A. M.; MISHINA, R. Â. G. Perfil químico e sensorial de cerveja artesanal produzida com uso de algaroba (*Prosopis juliflora*) como adjunto de malte. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 8, p. e769986041-e769986041, 2020.

DE GUSMÃO, R. P.; CAVALCANTI-MATA, M. E. R. M.; DUARTE, M. E. M.; GUSMÃO, T. A. S. Particle size, morphological, rheological, physicochemical characterization and designation of minerals in mesquite flour (*Prosopis juliflora*). **Journal of Cereal Science**, v. 69, p. 119-124, 2016.

DE MELO ALVES, A. C.; DOS SANTOS, J. C. M.; SILVA, J. N. Estudo do Monitoramento das Aplicações Tecnológicas da *Prosopis Juliflora* (Algaroba). **Cadernos de Prospecção**, v. 12, n. 2, p. 374, 2019.

DE MELO CAVALCANTE, A. M.; DE MELO, A. M.; DA SILVA, A. V. F.; DA SILVA NETO, G. J.; BARBI, R. C. T.; IKEDA, M.; DA SILVA, O. S. Mesquite (*Prosopis juliflora*) grain flour: New ingrediente with bioactive, nutritional and physical-chemical properties for food applications. **Future Foods**, v. 5, p. 100114, 2022.

DE MELO, R. M.; XAVIER, M. W. R.; DO NASCIMENTO, I. L.; PONTES, E. D. S.; DA SILVA ANDRADE, J. C.; DO NASCIMENTO, P. B.; VIERA, V. B. Elaboração e caracterização físico-química de cookie adicionado de farinha da vagem de algaroba (*Prosopis juliflora*). **Research, Society and Development**, v. 9, n. 9, p. e476997488-e476997488, 2020.

DE SOUSA, J. K. G.; DA COSTA, H. B.; DE OLIVEIRA, M.; GUIMARÃES-BRASIL, D. D. F. B.; DE SOUZA, E. A. Frequência e comportamento de visitantes florais na algarobeira (*Prosopis juliflora* (Sw) DC.) em Alexandria-RN. **Agropecuária Científica no Semi-Árido**, v. 12, p. 112-120, 2016.

DE SOUZA MIRANDA, R.; BOECHAT, C. L.; BOMFIN, M. R.; SANTOS, J. A. G.; COELHO, D. G.; ASSUNÇÃO, S. J. R.; CARDOSO, E. B. Phytoremediation: A sustentable green approach for enviromental cleanup. In: **Phytoremediation Technology for the Removal of Heavy Metals and Other Contaminants from Soil and Water**. Elsevier, p. 49-75. 2022.

DELATORRE, J.; PINTO, M.; CARDEMIL, L. Effects of water stress and high temperature on photosynthetic rates of two species of *Prosopis*. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 92, n. 2, p. 67-76, 2008.

DHIVYA, K.; VENGATESWARI, G.; ARUNTHIRUMENI, M.; KARTHI, S.; SENTHIL-NATHAN, S.; SHIVAKUMAR, M. S. BIOPROSPECTING of *Prosopis juliflora* (Sw.) DC seed pod extract effect on antioxidant and immune system of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). **Physiological and molecular plant pathology**, v. 101, p. 45-53, 2018.

DIAS, M. A. M. Caracterização fenotípica, molecular e simbiótica de bactérias nativas do semiárido isoladas de nódulos de algaroba [*Prosopis juliflora* (Sw.) DC] e jurema preta [*Mimosa tenuiflora* (Wild.)]. **Embrapa Semiárido-Tese/dissertação (ALICE)**, 2018.

DOS SANTOS, E. T.; PEREIRA, M. L. A.; DA SILVA, C. F. P.; SOUZA-NETA, L. C.; GERIS, R.; MARTINS, D.; BATISTA, R. ANTIBACTERIAL activity of the alkaloid-enriched extract from *Prosopis juliflora* pods and its influence on in vitro ruminal digestion. **International journal of molecular sciences**, v. 14, n. 4,

p. 8496-8516, 2013.

DOS SANTOS, J. P. S.; DIODATO, M. A. Histórico da implementação da algaroba no Rio Grande do Norte. **Pesquisa Florestal Brasileira**, v. 37, n. 90, p. 201-212, 2017.

EDVAN, R. L.; CARNEIRO, M. S. S.; COUTINHO, M. J. F.; SILVA, E. B.; OLIVEIRA, G. S.; SILVA, M. S. M.; ALBUQUERQUE, D. R. Perdas e composição bromatológica de silagem de gliricídia contendo diferentes níveis de vagem de Algaroba. **Tecnologia & Ciencia Agropecuária**, Joao Pessoa-PB, v.7, n.2, p.63-68, 2013.

ELBEHAIRI, S. E. I.; AHMED, A. E.; ALSHATI, A. A.; AL-KAHTANI, M. A.; ALFAIFI, M. Y.; ALSYAAD, K. M.; ABBAS, A. M. *Prosopis juliflora* leave extracts induce cell death of MCF-7, HepG2, and LS-174T cancer cell lines. **EXCLI journal**, v. 19, p. 1282, 2020.

ELMEER, K.; ALMALKI, A.. DNA finger printing of *Prosopis cineraria* and *Prosopis juliflora* using ISSR and RAPD techniques. **American Journal of Plant Sciences**, v. 2, n. 4, p. 527, 2011.

ERTÜRK, F. A.; SUNAR, S.; GÜLERAY, A. Ğ. A. R. Determination of cytogenetic and epigenetic effects of manganese and copper on *Zea mays* L. **ISPEC Journal of Agricultural Sciences**, v. 5, n. 3, p. 529-543, 2021.

FALEIRO, F. G.; AMABILE, R. F.; CERQUEIRA-SILVA, C. B. M. Marcadores moleculares aplicados ao melhoramento genético de plantas. **Embrapa Cerrados-Livro Técnico (INFOTECA-E)**, Planaltina, DF. (p. 44-66), 2018.

FALL, F.; LE ROUX, C.; BÂ, A. M.; FALL, D.; BAKHOUM, N.; FAYE, M. N.; DIOUF, D. The rhizosphere of the halophytic grass *Sporobolus robustus* Kunth hosts rhizobium genospecies that are efficient on *Prosopis juliflora* (Sw.) DC and *Vachellia seyal* (Del.) PJH Hurter seedlings. **Systematic and applied microbiology**, v. 42, n. 2, p. 232-239, 2019.

FELKER, P. Seleção de genótipos de *Prosopis* para uma produção de vagens e de combível de Madeira. Em: Simpósio Brasileiro sobre Algaroba, *Anais*. **EMPARNNA**, Natal. 2: 7-24, 1982.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. 2 ed. Brasília: **Embrapa-Cenargen**. 220 p.,1996.

FIGUEROA, D. M.; BASS, H. W. A historical and modern perspective on plant cytogenetics. **Briefings in functional genomics**, v. 9, n. 2, p. 95-102, 2010.

FONSECA, M.; BOITEUX, L. S. Biotecnologia no melhoramento genético de

plantas para resistência a patógenos: exemplos da aplicação de sistemas de seleção assistida por marcadores moleculares (SAM) no tomateiro. **Embrapa Hortaliças-Capítulo em livro científico (ALICE)**, 2021.

FREELAND, J. R. The importance of molecular markers and primer design when characterizing biodiversity from environmental DNA. **Genome**, v. 60, n. 4, p. 358-374, 2017.

GARRIDO-CARDENAS, J. A.; MESA-VALLE, C.; MANZANO-AGUGLIARO, F. Trends in plant research using molecular markers. **Planta**, v. 247, n. 3, p. 543-557, 2018.

GEORGE, S.; MANOHARAN, D.; LI, J.; BRITTON, M.; PARIDA, A. Transcriptomic responses to drought and salt stress in desert tree *Prosopis juliflora*. **Plant Gene**, v. 12, p. 114-122, 2017.

GEORGE, S.; VENKATARAMAN, G.; PARIDA, A. Identification of stress-induced genes from the drought-tolerant plant *Prosopis juliflora* (Swartz) DC. through analysis of expressed sequence tags. **Genome**, v. 50, n. 5, p. 470-478, 2007.

GHANBARI, M. A.; SALEHI, H.; MOGHADAM, A. Genetic Diversity Assessment of Iranian Kentucky Bluegrass Accessions: I. ISSR Markers and Their Association with Habitat Suitability Within and Between Different Ecoregions. **Molecular Biotechnology**, p. 1-15, 2022.

GOMES, R. A.; MIRANDA, R. S. Dinâmicas institucionais e interações sociais: os efeitos não planejados da modernização da agricultura no Brasil e na França. **Interações (Campo Grande)**, v. 17, p. 134-144, 2016.

GONÇALVES, G. S.; ANDRADE, L. A.; GONÇALVES, E.; OLIVEIRA, C. F. T.; MOURA, M. A.; FERREIRA, H. V.; FERNANDES, A. A. (2007). Influência de Bovinos na Dispersão e na Invasão Biológica da Algaroba (*Prosopis Juliflora* Sw. DC) na Caatinga. In: **Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil, Caxambu, Brasil**. 2007.

GONÇALVES, G. S.; DE ANDRADE, L. A.; GONÇALVES, E. P.; DE OLIVEIRA, L. S. B.; DIAS, J. T. Qualidade fisiológica de sementes de algaroba recuperadas de excrementos de muare. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 2, p. 593-602, 2013.

GONZÁLEZ-MONTEMAYOR, Á. M.; FLORES-GALLEGOS, A. C.; CONTRERAS-ESQUIVEL, J. C.; SOLANILLA-DUQUE, J. F.; RODRÍGUEZ-HERRERA, R. *Prosopis* spp. functional activities and its applications in bakery products. **Trends in Food Science & Technology**, v. 94, p. 12-19, 2019.

GRADOS, N. Y. G.; CRUZ. **La algarroba: Perspectivas de Utilización Industrial**. Série de Química. Universidad de Piura, Piura, Peru, 2: 22f. (Série de Química), 1996.

GROVER, A.; SHARMA, P. C. Development and use of molecular markers: past and present. **Critical reviews in biotechnonology**, v. 36, n. 2, p. 290-302, 2016.

GUDEN, B.; YOL, E.; IKTEN, C.; ERDURMUS, C.; UZUN, B. Molecular and morphological evidence for resistance to sugarcane aphid (*Melanaphis sacchari*) in sweet sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. **3 Biotech**, v. 9, n. 6, p. 1-7, 2019.

HABIT, M. A. Prosopis tamarugo: arbustos de quatro zonas para zonas arides. Em: Programa regional para a produção de alimentos regionais baseados em diários para a América Latina. **FAO / DANIDA**, Roma. p.116, 1981.

HAMMOND, C. M.; ROOT, R. A.; MAIER, R. M.; CHOROVER, J. Mechanisms of arsenic sequestration by *Prosopis juliflora* during the phytostabilization of metalliferous mine tailings. *Environmental science & technology*, v. 52, n. 3, p. 1156-1164, 2018.

HASAN, N.; CHOUDHARY, S.; NAAZ, N.; SHARMA, N.; LASKAR, R. A. Recent advancements in molecular marker-assisted selection and applications in plant breeding programmes. **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology**, v. 19, n. 1, p. 1-26, 2021.

HAYWARD, A. C.; TOLLENAERE, R.; DALTON-MORGAN, J.; BATLEY, J. Molecular marker applications in plants. **Plant geotyping**, p. 13-27, 2015.

HENCIYA, S.; SETURAMAN, P.; JAMES, A. R.; TSAI, Y. H.; NIKAM, R.; WU, Y. C.; CHANG, F. R. Biopharmaceutical potentials of *Prosopis* spp. (Mimosaceae, Leguminosa). **Journal of food and drug analysis**, v. 25, n. 1, p. 187-196, 2017.

HIREMATH, C.; GUPTA, N.; KUPPUSAMY, B.; SHANKER, K.; SUNDARESAN, V. Morphometric, chemotypic, and molecular diversity studies in *Andrographis paniculata*. **Journal of Herbs, Spices & Medicinal plants**, v. 27, n. 2, p. 109-122, 2021.

HOFFMANN, L.; BARROSO, P. A. V. Marcadores moleculares como ferramentas para estudos de genética de plantas. 2006.

HUNGRIA, M.; NOGUEIRA, M. A.; ARAUJO, R. S. Co-inoculation of soybeans and common beans with rhizobia and azospirilla: strategies to improve sustainability. **Biology and Fertility of Soils**, v. 49, n. 7, p. 791-801, 2013.

HUSSAIN, M. I.; EL-KEBLAWY, A.; MITTERAND TSOMBOU, F. Leaf age, canopy position, and habitat affect the carbon isotope discrimination and water-use efficiency in three C₃ Leguminous *Prosopis* species from a hyper-arid climate. **Plants**, v. 8, n. 10, p. 402, 2019.

IGLESIAS, O.; RIVAS, R.; GARCÍA-FRAILE, P.; ABRIL, A.; MATEOS, P. F.; MARTINEZ-MOLINA, E.; VELÁZQUEZ, E. Genetic characterization of fast-growing rhizobia able to nodulate *Prosopis alba* in North Spain. **FEMS microbiology letters** v. 277.2, p. 210-216, 2007.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA [IBGE]. (2019). Pesquisa da pecuária mundial 2019. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3939#resultado>. Acesso em: 04 fev. 2021.

IRZYKOWSKA, L.; WOLKO, B.; SWIECICKI, W. K. Interval mapping of QTLs controlling some morphological traits in pea. **Cellular and Molecular Biology Letters**, v. 7, n. 2A, p. 417-422, 2002.

JIANG, G. L. Plant breeding from laboratories to fields. *Molecular markers and marker-assisted breeding in plants*. *IntechOpen*, 45-83. 2013.

KALISZ, S.; VOGLER, D. W.; HANLEY, K. M. Context-dependent autonomous self-fertilization yields reproductive assurance and mixed mating. **Nature**. London, v.430, p.884-887, 2004.

KHOBONDO, J. O.; KINGORI, A. M.; MANHIQUE, A. Effect of incorporation of ground *Prosopis juliflora* pods in layer diet on weight gain, egg production, and natural antibody titer in KALRO genetically improved indigenous chicken. **Tropical Animal Health and Production**, v. 51, n. 8, p. 2213-2218, 2019.

KUMAR, S., MISHRA, R. K., KUMAR, A., CHAUDHARY, S., SHARMA, V., KUMARI, R. Genetic interaction and mapping studies on the leaflet development (lld) mutant in *Pisum sativum*. **Journal of genetics**, v. 91, n. 3, p. 325-342, 2012.

LAM, D. T.; ICHITANI, K.; HENRY, R. J.; ISHIKAWA, R. Molecular and Morphological Divergence of Australian Wild Rice. **Plants**, v. 9, n. 2, p. 224, 2020.

LAWRENCE, C. J., SEIGFRIED, T. E., BASS, H. W., ANDERSON, L. K. Predicting chromosomal locations of genetically mapped loci in maize using the Morgan2McClintock Translator. **Genetics**, v. 172, n. 3, p. 2007-2009, 2006.

LEGUME PHYLOGENY WORKING GROUP (LPWG). A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny: The Legume Phylogeny Working Group (LPWG). **Taxon**, v. 66, n. 1,

p. 44-77, 2017.

LEITE FILHO, M. T. **Produção de etanol combustível primeira e segunda geração a partir de vagens de algaroba (*Prosopis juliflora* Sw. Dc.)**. 2020. 122 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Campina Grande/PB, 2020.

LIMA, J. R. R.; DA SILVA T. A.; DOS SANTOS, L. S.; LEITE, K. S.; MELO, F. O. Desenvolvimento de melado de algaroba (*Prosopis juliflora* Sw. DC.). Development of mesquite molasses (*Prosopis juliflora* (Sw) DC. In: Silva, J. c. s.; carvalho, c n.; Cunha, f. s. a. **Agro-desenvolvimento para o Nordeste: proposições, exposições e realizações**. Arapiraca: EDuneal, 2020. p. 114-122. Disponível em: Acesso em: 04 jul. 2022.

LIMA, P. C. F. Algaroba: uma das alternativas para o Nordeste. **Brasil Florestal**, Brasília, v.13, n.58, p.47-54, abr./jun, 1984. Disponível em: <<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/132430>>. Acesso em: 09 dez. 2021.

LIMA, P. C. F. Manejo de áreas individuais de algaroba: relatório final. **Embrapa Semiárido-Outras publicações científicas (ALICE)**, 2005.

LIMA, P. C. F. **Recursos genéticos e avaliação do gênero *Prosopis* no Nordeste do Brasil**. In: QUEIROZ, MA de; GOEDERT, CO; RAMOS, SRR (Ed.). Recursos genéticos e melhoramento de plantas para o Nordeste brasileiro. Petrolina: Embrapa Semi-Árido; Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 1999.

LOPÉZ MEDINA, S. E.; MOSTACERO LÉON, J.; QUIJANO JARA, C. H.; GIL RIVERO, A. E; RABANAL CHE LEON, M. F. Karyotype of native *Zea mays* ssp. *mays* Proto-Confite morocho. **Acta Agronómica**, v. 67, n. 4, p. 525-530, 2018.

MADHUMATI, B. Potential and Application of molecular markers techniques for plant genome analysis. **Int j Pure App Biosci**, v. 2, n. 1, p. 169-188, 2014.

MALIK, S. K.; AHMED, M.; KHAN, F. Identification of novel anticancer terpenoids from *Prosopis juliflora* (Sw) DC (Leguminosae) pods. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 17, n. 4, p. 661-668, 2018.

MARAVILLA, A. J.; ROSATO, M.; ROSSELLÓ, J. A. Interstitial Telomeric-like Repeats (ITR) in Seed Plants as Assessed by Molecular Cytogenetic Techniques: A Review. **Plants**, v. 10, n. 11, p. 2541, 2021.

MEDEIROS, M. A.; RIET-CORREA, F.; PESSOA, A. F.; PESSOA, C. R.; BATISTA, J. A.; DANTAS, A. F.; MEDEIROS, R. M. Utilização de vagens de *Prosopis juliflora* na alimentação de bovinos e equinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 10, p. 1014-1016, 2012.

MORILLO-CORONADO, A. C.; MANJARRES HERNÁNDEZ, E. H.; FORERO-MANCIPE, L. Phenotypic Diversity of Morphological Characteristics of Pitahaya (*Selenicereus Megalanthus* Haw.) Germplasm in Colombia. **Plants**, v. 10, n. 11, p. 2255, 2021.

Morim, M. P. 2015. **Prosopis in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB18991>> . Acesso em: 02 jul. 2021.

MOTAHARI, B.; SHABANIAN, N.; RAHMANI, M. S.; MOHAMMAD-HASANI, F. genetic diversity and genetic structure of *Acer monspessulanum* L. across Zagros forest of Iran using molecular markers. **Gene**, v. 769, p. 145245, 2021.

MOURA, M. L.; FINGER, F. L.; MIZOBUTSI, G. P.; GALVÃO, H. L. Fisiologia do amadurecimento na planta do tomate'Santa Clara'e do mutante'Firme'. **Horticultura Brasileira**, v. 23, p. 81-85, 2005.

NADEEM, M. A.; NAWAZ, M. A.; SHAHID, M. Q.; DOĞAN, Y.; COMERTPAY, G.; YILDIZ, M.; BALOCH, F. S. Dna molecular markers in plant breeding: current status and recent advancements in genomic selection and genome editing. **Biotechnology & Biotchnological Equipment**, v.v32, n. 2, p. 1261-285, 2018.

NÓBREGA, G. H.; DA SILVA, E. M. N.; DE SOUZA, B. B.; MANGUEIRA, J. M. A produção animal sob a influência do ambiente nas condições do semiárido nordestino. **Revista verde de agroecologia e desenvolvimento sustentável**, 6(1), 67-73, 2011.

NOGUEIRA, F.; BORTOLETI, K. D. A.; de OLIVEIRA, V. R.; DRUMOND, M.; SANTOS, C.; de MELO, N. F. Caracterização citogenética de acessos de algaroba coletados no Semi-Árido Brasileiro. In: **Embrapa Semiárido-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: JORNADA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA SEMI-ÁRIDO, 2., 2007, Petrolina. Anais... Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 2007.

OLIVEIRA, B. F. D. **Padrões distintos de congruência climática em duas espécies invasoras de prosopis em zonas semi-áridas da América do Sul**. 2012. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Rio Grande do Norte, 2012.

OUAJA, M.; BAHRI, B. A.; AOUINI, L.; FERJAOU, S.; MEDINI, M.; MARCEL, T. C.; HAMZA, S. Morphological characterization and genetic diversity analysis of Tunisian durum wheat (*Triticum turgidum* var. Durum) accessions. **BMC**

genomic data, v. 22, n. 1, p. 1-17, 2021.

PADARIA, J. C.; THUY, N. T.; TARAFDAR, A.; YADAV, R. Development of a heat-responsive cDNA library from *Prosopis cineraria* and molecular characterisation of the Pchsp17. 9 gene. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 90, n. 3, p. 318-324, 2015.

PARK, E.; POULIN, R. Widespread *Torix Rickettsia* in New Zealand amphipods and the use of blocking primers to rescue host COI sequences. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1-13, 2020.

PASIECZNIK, N. M.; FELKER, P.; HARRIS, P. J.; HARSH, L.; CRUZ, G.; TEWARI, J. C.; MALDONADO, L. J. **The *Prosopis juliflora*-*Prosopis pallida* complex: a monograph**. Coventry: HDRA, 2001.

PASIECZNIK, N. M.; HARRIS, P. J.; SMITH, S. J. **Identifying tropical *Prosopis* species: a field guide**. Coventry: HDRA Publishing, 2004.

PEGADO, C. M. A.; ANDRADE, L. A. D.; FÉLIX, L. P.; PEREIRA, I. M. Efeitos da invasão biológica de algaroba - *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. sobre a composição e a estrutura do estrato arbustivo-arbóreo da caatinga no Município de Monteiro, PB, Brasil. **Acta Botanica Brasiliensis**, São Paulo, v. 20, n. 4, p.887-898, 2006. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abb/v20n4/13.pdf>>. Acesso em: 03 mar 2022.

PEREIRA, M. D.; ROMEIRO, T. C. O. D. S.; FLORES, A. V.; SEVERIANO, R. L. Germinação e biometria de frutos e sementes de *Prosopis juliflora* (Sw) DC. **Ciência Florestal**, v. 28, p. 1271-1281, 2018a.

PEREIRA, T. C. D. J.; PEREIRA, M. L. A.; OLIVEIRA, C. A. S. D.; ARGÔLO, L. D. S.; SILVA, H. G. D. O.; PEDREIRA, M. S.; ALMEIDA, P. J. P.; SANTOS, A. B. Mesquite pod meal in diets for lactating goats. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.42, n.2, p.102-108, 2013.

PERSIA, A.; RINALDINI, E.; HAPON, M. B.; GAMARRA LUQUES, C. D. Overview of genus *Prosopis* toxicity reports and its beneficial biomedical properties. **Journal of Clinical Toxicology**, 2016.

PINTO-MAGLIO, C. A. F.; CUÉLLAR, T.; BARBOSA, R. L. Aplicação de técnicas de citogenética molecular na caracterização dos cromossomos da espécie *Coffea arabica* L. 2000.

PIRES, I. E.; KAGEYAMA, P. Y. Caracterização da base genética de uma população de algaroba - *Prosopis juliflora* (SW) DC- existente na região de Soledade-PB. **Embrapa Semiárido-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 1985.

POMPONIO, M. F.; ACUÑA, C.; PENTREATH, V.; LAUENSTEIN, D. L.; POLTRI, S. M.; TORALES, S. Characterization of functional SSR markers in *Prosopis alba* and their transferability across *Prosopis* species. **Forest systems**, 24(2), 13, 2015.

RAI, M. K.; SHEKHAWAT, J. K.; KATARIA, V.; SHEKHAWAT, N. S. Cross species transferability and characterization of microsatellite markers in *Prosopis cineraria*, a multipurpose tree species of Indian Thar Desert. **Arid Land Research and Management**, v. 31, n. 4, p. 462-471, 2017.

RAMÍREZ-BAHENA, M. H.; VARGAS, M.; MARTÍN, M.; TEJEDOR, C.; VELÁZQUEZ, E.; PEIX, Á.. Alfalfa microsymbionts from different ITS and nodC lineages of *Ensifer meliloti* and *Ensifer medicae* symbiovar *meliloti* establish efficient symbiosis with alfalfa in Spanish acid soils. *Applied microbiology and biotechnology*, v. 99, n. 11, p. 4855-4865, 2015.

RANI, B. S. J.; VENKATACHALAM, S. Cleaner approach for the cascade production of nanohemicellulose and nanolignin from *Prosopis juliflora*. **Carbohydrate Polymers**, p. 119807, 2022.

RAO, R.V.; HODGKIN, T. Genetic diversity and conservation and utilization of plant genetic resources. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.68, p.1-19, 2002.

REEVE, W.; TIAN, R.; BRÄU, L.; GOODWIN, L.; MUNK, C.; DETTER, C.; PATI, A. Genome sequence of *Ensifer arboris* strain LMG 14919 T; a microsymbiont of the legume *Prosopis chilensis* growing in Kosti, Sudan. **Standards in genomic sciences**, v. 9, n. 3, p. 473-483, 2014.

REGINATO, M. A.; TURCIOS, A. E.; LUNA, V.; PAPENBROCK, J. Differential effects of NaCl and Na₂SO₄ on the halophyte *Prosopis strombulifera* are explained by different responses of photosynthesis and metabolism. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 141, p. 306-314, 2019.

RIBASKI, J.; DRUMOND, M. A.; DE OLIVEIRA, V. R.; NASCIMENTO, C. D. S. Algaroba (*Prosopis juliflora*): árvore de uso múltiplo para a região semiárida brasileira. **Embrapa Florestas-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2009.

RICHARDS, A. J. **Plant breeding systems**. 2n ed. London: Chapman & Hall, 1997.

RICK, C. M.; YODER, J. I. Classical and molecular genetics of tomato highlights and perspectives. **Annual Review of Genetics**, Palo Alto, v.22, n. 1, p.281-300, 1988.

RIET-CORREA, F.; DE ANDRADE, F. R.; CARVALHO, F. K.; TABOSA, I. M.; GALIZA, G. J.; BERNARDINO, J. N.; MEDEIROS, R. M. Utilização de vagens de *Prosopis juliflora* na alimentação de ovinos e caprinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 10, p. 987-989, 2012.

ROIG, F. A. Informe nacional para la selección de germoplasma en especies de *Prosopis* de la República Argentina. **Contribuciones mendocinas a la Quinta Reunión Regional para América Latina y el Caribe de la Red de Forestación del CIID**, p. 1-37, 1993.

SANTOS, L. H. T.; DIAS, C. S.; SILVEIRA, L. A.; MEIRA, M. R.; DOS SANTOS, E. S. L.; CERQUEIRA-SILVA, C. B. M. Characterization and selection of markers associated with resistance analogous genes as input for genetic analysis of *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. **Acta Scientiarum. Technology**, 43(1), e51983, 2021.

SARASWATHI, K.; CHANDRASEKARAN, S. Biomass yielding potential of naturally regenerated *Prosopis juliflora* tree stands at three varied ecosystems in southern districts of Tamil Nadu, India. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 10, p. 9440-9447, 2016.

SARAVANAN, A.; KUMAR, P. S.; RAMESH, B.; SRINIVASAN, S. Removal of toxic heavy metals using genetically engineered microbes: Molecular tools, risk assessment and management strategies. **Chemosphere**, p. 134341, 2022.

SCIAMMARO, L. P.; RIBOTTA, D. P.; PUPPO, M. C. Traditional food products from *Prosopis* sp. flour. In: Traditional Foods. **Springer**, Boston, MA, p. 209-216, 2016.

SCOTT, R. L.; HUXMAN, T. E.; BARRON GAFFORD, G. A.; DARREL JENERETTE, G.; YOUNG, J. M.; HAMERLYNCK, E. P. When vegetation change alters ecosystem water availability. **Global Change Biology**, v. 20, n. 7, p. 2198-2210, 2014.

SHACKLETON, R. T.; LE MAITRE, D. C.; PASIECZNIK, N. M.; RICHARDSON, D. M. *Prosopis*: a global assessment of the biogeography, benefits, impacts and management of one of the world's worst woody invasive plant taxa. **AoB plants**, v. 6, 2014.

SHEKHAWAT, J. K.; RAI, M. K.; SHEKHAWAT, N. S.; KATARIA, V. Exploring genetic variability in *Prosopis cineraria* using two gene targeted CAAT box-derived polymorphism (CBDP) and start codon targeted (SCoT) polymorphism markers. **Molecular biology reports**, v. 45, n. 6, p. 2359-2367, 2018.

SHERRY, M.; SMITH, S.; PATEL, A.; HARRIS, P.; HAND, P.; TRENCHARD, L.; HENDERSON, J. RAPD and microsatellite transferability studies in selected

species of *Prosopis* (section Algarobia) with emphasis on *Prosopis juliflora* and *P. pallida*. **Journal of Genetics**, v.90, n. 2, p. 251-264, 2011.

SHIELDS, C. R.; ORTON, T. J.; STUBER, C. W. An outline of general resource needs and procedures for the electrophoretic separation of active enzymes from plant tissue. **Isozymes in plant genetics and breeding, part A**, p. 443-468, 1983.

SILVA, C. G. M. D.; MELO FILHO, A. B. D.; PIRES, E. F.; STAMFORD, T. L. M. Caracterização físico-química e microbiológica da farinha de algaroba (*Prosopis juliflora* (Sw.) DC). **Food Science and Technology**, v. 27, p. 733-736, 2007.

SILVA, E. L.; SILVA, J. H. V.; JORDÃO FILHO, J. Valores energéticos e efeitos da inclusão da Farinha Integral de Vagem de Algaroba (*Prosopis juliflora* (Sw.) DC. Em rações de poedeiras comerciais. **Revista Brasileira Zootecnia** , v.31, n.6, p.2255 2264, 2002.

SILVA, S. História da Algaroba no Brasil. Terezina. **SNPA\BN\EMBRAPA Meio-Norte**, 2000.

SILVA, T. R. M.; CHUNG, S.; DE ARAÚJO, T. A. T.; DE AZEVEDO, K. S. P.; DOS SANTOS, M. C.; DE ALMEIDA BICUDO, Á. J. Substituição do milho pelo farelo de algaroba (*Prosopis juliflora*) em dietas para juvenis de tilápia do Nilo cultivados em baixa temperatura. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 10, n. 3, p. 460-465, 2015.

SILVA, T.; FREITAS, J.; SANTOS, E. S.; CERQUEIRA-SILVA, C. B. M. Contribuições da biologia molecular para caracterização, conservação e uso do gênero *Croton* L. (Euphorbiaceae) **Enciclopédia Biosfera**, v.16 n.29; p. 539, 2019.

SINGH, A. K.; ZHANG, P.; DONG, C.; LI, J.; SINGH, S.; TRETOWAN, R.; SHARP, P. Generation and molecular marker and cytological characterization of wheat-*Secale strictum* subsp. *anatolicum* derivatives. **Genome**, v. 64, n. 1, p. 29-38, 2020.

SINGH, N.; PAL, A. K.; ROY, R. K.; TEWARI, S. K.; TAMTA, S.; RANA, T. S. Characterization of gladiolus germplasm using morphological, physiological, and molecular markers. **Biochemical genetics**, v. 56, n. 1, p. 128-148, 2018.

SINGH, S.; MALHOTRA, S.; MUKHERJEE, P.; MISHRA, R.; FAROOQI, F.; SHARMA, R. S.; MISHRA, V. Peroxidases from an invasive Mesquite species for management and restoration of fertility of phenolic-contaminated soil. **Journal of Environmental Management**, v. 256, p. 109908, 2020.

SIROHI, A. S.; MATHUR, B. K.; MISRA, A. K.; TEWARI, J. C. Effect of feeding crushed and entire dried *Prosopis juliflora* pods on feed intake, growth and

reproductive performance of arid goats. **Indian Journal of Animal Sciences**, v. 87, p. 238-240, 2017.

SIVALINGAM, P. N.; SAMADIA, D. K.; SINGH, D.; CHAUHAN, S. Molecular markers to distinguish 'Thar Shoba', a variety of khejri [*Prosopis cineraria* (L.) Druce], from trees in natural populations. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v. 91, n. 4, p. 353-361, 2016.

SOUZA, D. C. L. Técnicas moleculares para caracterização e conservação de plantas medicinais e aromáticas: uma revisão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 495-503, 2015.

SRIVASTAVA, A. P. A. R. N. A.; ANANDRAO, R. K. Antimicrobial potential of fungal endophytes isolated from leaves of *Prosopis juliflora* (SW.) DC. an important weed. **Int J Pharm Pharmacol Sci**, v. 7, p. 128-136, 2015.

TALPADA, P. M.; PANDYA, P. R.; NAYAK, J. B.; DESAI, H. B.; DESAI, M. C. Effect of Replacing Rice Polish With *Prosopis Juliflora* Pods in Complete Feeds on Intake, Digestibility and Nutritive Value in Cattle. **Indian Journal of Animal Nutrition**, v. 20, n. 3, p. 350-353, 2003.

TINÔCO, I. C. M.; BEZERRA, B. G.; LUCIO, P. S.; BARBOSA, L. D. M. Caracterização dos padrões de precipitação no semiárido brasileiro. **Anuário do Instituto de Geociências**, v. 41, n. 2, p. 397-409, 2019.

TORALES, S. L.; RIVAROLA, M.; POMPONIO, M. F.; GONZALEZ, S.; ACUÑA, C. V.; FERNÁNDEZ, P.; POLTRI, S. N. M. De novo assembly and characterization of leaf transcriptome for the development of functional molecular markers of the extremophile multipurpose tree species *Prosopis alba*. **Bmc Genomics**, v. 14, n. 1, p. 705, 2013.

TRENCHARD, L. J.; HARRIS, P. J.; SMITH, S. J.; PASIECZNIK, N. M. A review of ploidy in the genus *Prosopis* (Leguminosae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 156, n. 3, p. 425-438, 2008.

TURCHETTO-ZOLET, A.C.; TURCHETTO, C.; ZANELLA, C.M.; PASSAIA, G. Marcadores Moleculares na Era genômica: Metodologias e Aplicações –Ribeirão Preto: **Sociedade Brasileira de Genética**, 181 p. 2017.

VALENTINE, A.; GRACE, W. G.; JOSEPH, W. K.; MORRIS, M. Morphological and molecular characterization of cultivated yam (*Dioscorea* species) in selected counties in Kenya. **African Journal of Plant Science**, v. 14, n. 7, p. 270-279, 2020.

VIEIRA, E. S. N.; PINHO, É. V. D. R. V.; CARVALHO, M. D. G. G.; SILVA, P. A. D. Caracterização de cultivares de soja por descritores morfológicos e marcadores bioquímicos de proteínas e isoenzimas. **Revista Brasileira de**

Sementes, v. 31, p. 86-94, 2009.

WAN, J. Z.; ZHANG, Z. X.; WANG, C. J. Identifying potential distributions of 10 invasive alien trees: Implications for conservation management of protected areas. **Environmental monitoring and assessment**, v. 190, n. 12, p. 739, 2018.

WESTPHAL, C.; GACHÓN, P.; BRAVO, J.; NAVARRETE, C.; SALAS, C.; IBÁÑEZ, C. The potential of Algarrobo (*Prosopis chilensis* (Mol.) Stuntz) for regeneration of desertified soils: assessing seed germination under saline conditions. **Environmental Management**, v. 56, n. 1, p. 209-220, 2015.

YAASHIKAA, P. R.; KUMAR, P. S.; JEEVANANTHAM, S.; SARAVANAN, R. A review on bioremediation approach for heavy metal detoxification and accumulation in plants. **Environmental Pollution**, p. 119035, 2022.

YANG, H. B.; KANG, W. H.; NAHM, S. H.; KANG, B. C. Methods for developing molecular markers. In: **Current technologies in plant molecular breeding**. Springer, Dordrecht, p. 15-50. 2015.

YASUDA, H.; ABD ELBASIT, M. A.; YODA, K.; BERNDTSSON, R.; KAWAI, T.; NAWATA, H.; IBRAHIM, A. M.; INOUE, T.; TSUJI, W.; GAMRI, T. E. A.; SAITO, T. Diurnal fluctuation of groundwater levels caused by the invasive alien mesquite plant. **Arid Land Research and Management**, v. 28, n. 2, p. 242-246, 2014.

YAZICILAR, B.; JANNATI, G.; BEZIRGANOGLU, I. Genetic variations in Turkey cultivar and ecotype *Medicago sativa* species: cytological, total protein profile, and molecular characterization. **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology**, v. 19, n. 1, p. 1-11, 2021.

YOUNIS, A., RAMZAN, F., HWANG, Y. J.; LIM, K. B. FISH and GISH: molecular cytogenetic tools and their applications in ornamental plants. **Relatórios de células vegetais**, v. 34, n. 9, pág. 1477-1488, 2015.

ZHANG, L.; ZHENG, X. W.; QIAO, L. Y.; LING, Q.; ZHAO, J. J.; WANG, J. M.; ZHENG, J. Analysis of three types of resistance gene analogs in PmU region from *Triticum urartu*. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 17, n. 12, p. 2601-2611, 2018a.

ZHANG, Y.; HE, Q.; ZHOU, X.; ZHENG, S.; WANG, Y.; LI, P.; WANG, Y. Genetic diversity and population structure of 93 rice cultivars (lines) (*Oryza sativa* Xian group) in Qinba in China by 3 types of genetic markers. **Research Square**, 2022.

ZHANG, Y.; ZHANG, X.; CHEN, X.; SUN, W.; LI, J. Genetic diversity and structure of tea plant in Qinba area in China by three types of molecular

markers. **Hereditas**, v. 155, n. 1, p. 1-12, 2018b.

ZHONG, J.; LU, P.; WU, H.; LIU, Z.; SHARIFI-RAD, J.; SETZER, W. N.; SULERIA, H. A. Current Insights into Phytochemistry, Nutritional, and Pharmacological Properties of *Prosopis* Plants. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, v. 2022, 2022.

ZHOU, S.; ZHANG, C.; HUANG, Y.; CHEN, H.; YUAN, S.; ZHOU, X. Characteristics and research progress of legume nodule senescence. **Plants**, v. 10, n. 6, p. 1103, 2021.

ZHOU, Y.; BOUTTON, T. W.; WU, X. B. Woody plant encroachment amplifies spatial heterogeneity of soil phosphorus to considerable depth. **Ecology**, v. 99, n. 1, p. 136-147, 2018.

III CAPÍTULO II

Characterization and selection of inter simple sequence repeat markers for genetic studies of mesquite

Caracterização e seleção de marcadores inter simple sequence repeat para estudos genéticos de algaroba

Caracterización y selección de marcadores inter simple sequence repeat para estudios genéticos de mezquite

Received: 06/07/2022 | Reviewed: 06/19/2022 | Accept: 06/23/2022 | Published: 07/03/2022

Quirlian Queite Araújo Anjos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2776-3302>
Graduate Program in Animal Sciences, State University of Southwest Bahia, Brazil
E-mail: quirlian.a.anjos@hotmail.com

Luiz Henrique Tolentino Santos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9419-6192>
Graduate Program in Animal Sciences, State University of Southwest Bahia, Brazil
E-mail: santoslht@gmail.com

Messulan Rodrigues Meira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2447-342X>
Graduate Program in Environmental Sciences, State University of Southwest Bahia, Brazil
E-mail: messulan.meira@gmail.com

Thamires Oliveira dos Santos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8923-8151>
Graduate in biology, State University of Southwest Bahia, Brazil
E-mail: thamikiss18@gmail.com

Jardyelle Carvalho Lima

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5380-414X>
Graduate in biology, State University of Southwest Bahia, Brazil
E-mail: jar.dyelle03@gmail.com

Elisa Susilene Lisboa dos Santos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3644-3519>
Department of Exact and Natural Sciences, State University of Southwest Bahia, Brazil
E-mail: elisa.lisboa@uesb.edu.br

Carlos Bernard Moreno Cerqueira-Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1883-4543>
Department of Exact and Natural Sciences, State University of Southwest Bahia, Brazil
E-mail: csilva@uesb.edu.br

Abstract

Since characterization and selection of molecular markers are crucial steps in genetic research for plant conservation and/or (pre) breeding, this study aimed to describe the amplification profile of Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) markers in *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. so that the most suitable ones could be selected. To do so, the genomic DNA of 16 individuals collected at the Federal Institute - Campus Itapetinga, Bahia State, were extracted at the Applied Molecular Genetics Laboratory of the State University of Southwest Bahia, in Itapetinga-BA (Brazil). The amplification profile was obtained using 23 ISSR primers, visualized after electrophoresis in 2% agarose gels, and photo-documented under ultraviolet light; then, genotyping was performed. In total, amplification of 206 markers was observed, with an average of nine tags per primer, a polymorphic percentage equivalent to 90% of the markers generated; and mean polymorphic information content of 0.63. Expected and observed heterozygosity means were similar (0.28 and 0.29, respectively). Our findings confirm that ISSR primers are suitable for molecular-genetic studies of *P. juliflora*. Among the 23 analyzed primers, 13 can be prioritized (DiGA3'G, DiCA 3'RG, DiCA 3'YG, DiGA 3'C, DiGA 3'RC, DiGA 3'T, TriCAG 3'RC, TriTGT 3'YC, TriAAC 3'RC, TriAAG 3'RC, TriCGC 3'RC, TriGAC 3'RC, and TriGGA 3'RC) for genetic studies of *P. juliflora*.

Keywords: ISSR; Polymorphism; *Prosopis juliflora*; Transferability.

Resumo

Considerando que a caracterização e seleção de marcadores moleculares é uma etapa importante para subsidiar pesquisas genéticas dedicadas a conservação e, ou, (pré) melhoramento, o presente estudo caracterizou o perfil de amplificação de marcadores *Inter Simple Sequence Repeat* (ISSR) em *Prosopis Juliflora* (Sw.) DC. e selecionou aqueles que apresentaram perfil mais adequado. Para tanto, foram extraídos no Laboratório de Genética e Molecular Aplicada, da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, em Itapetinga-BA, o DNA genômico de 16 indivíduos coletados no Instituto Federal, Campus Itapetinga, Bahia. O perfil de amplificação foi obtido com uso de 23 iniciadores ISSR, visualizado após a eletroforese em géis de agarose a 2%, fotodocumentado com incidência de luz ultravioleta e, em seguida, foi realizada a etapa de genotipagem. No total foram observadas amplificação de 206 marcadores com média de nove marcas por iniciador, percentual polimórfico equivalente a 90% dos marcadores gerados; conteúdo de informação polimórfica médio de 0,63. Os valores médios de heterozigosidade esperada e observada foram semelhantes, com 0,28 e 0,29, respectivamente. Os resultados confirmam que os iniciadores ISSR possuem características adequados para estudos genético-moleculares em *P. juliflora*, sendo possível destacar entre os 23 iniciadores, 13 a serem priorizados (DiGA3'G, DiCA 3'RG, DiCA 3'YG, DiGA 3'C, DiGA 3'RC, DiGA 3'T, TriCAG 3'RC, TriTGT 3'YC, TriAAC 3'RC, TriAAG 3'RC, TriCGC 3'RC, TriGAC 3'RC e TriGGA 3'RC) em estudos genético de *P. juliflora*.

Palavras-chave: ISSR; Polimorfismo; *Prosopis juliflora*; Transferabilidade.

Resumen

Considerando que la caracterización y selección de marcadores moleculares es un paso importante para apoyar la investigación genética dedicada a la conservación y, o, (pre) mejora, el presente estudio caracterizó el perfil de amplificación de los marcadores *Inter Simple Sequence Repeat* (ISSR) en *Prosopis Juliflora* (Sw.) DC. y seleccionado aquellos con el perfil más adecuado. Para eso, fueron extraídos en el Laboratorio de Genética Aplicada y Molecular, de la Universidad Estadual del Sudoeste de Bahia, en Itapetinga-BA, el DNA genómico de 16 individuos recolectados en el Instituto Federal, Campus Itapetinga, Bahia. El perfil de amplificación se obtuvo utilizando 23 iniciadores ISSR, visualizados después de electroforesis en geles de agarosa al 2%, fotodocumentados bajo luz ultravioleta y luego se realizó el paso de genotipado. En total se observó amplificación de 206 marcadores, con un promedio de nueve marcas por iniciador, porcentaje polimórfico equivalente al 90% de los marcadores generados; contenido medio de información polimórfica de 0,63. Los valores medios de heterocigosidad esperada y observada fueron similares, con 0,28 y 0,29, respectivamente. Los resultados confirman que los iniciadores ISSR tienen características adecuadas para estudios genético-moleculares en *P. juliflora*, pudiendo destacarse entre los 23 iniciadores, 13 a priorizar (DiGA3'G, DiCA 3'RG, DiCA 3'YG, DiGA 3'C, DiGA 3'RC, DiGA 3'T, TriCAG 3'RC, TriTGT 3'YC, TriAAC 3'RC, TriAAG 3'RC, TriCGC 3'RC, TriGAC 3'RC e TriGGA 3'RC) en estudios genéticos de *P. juliflora*.

Palabras clave: ISSR; Polimorfismo; *Prosopis juliflora*; Transferibilidad.

1. Introduction

Mesquite (*Prosopis juliflora* Sw. DC.) (Linneaus, 1753) (Fabaceae: Mimosoideae) (RIBASKI et al., 2009; BURNETT, 2017) is an allogamous, xerophytic evergreen, C3 plant (PASIECZNIK et al., 2004; HUSSAIN et al., 2019). Its flowering occurs between the second and third year of life, from April, July, and September until November (RIBASKI et al., 2009). Pollination is carried out mainly by *Appis mellifera* L. and *Trigona fuscipennis* Friese (DE SOUSA et al., 2016). Its fruits are yellowish indehiscent pods (ABD EL HALIM et al., 2015). For this species, dispersal and habitat are decisive for its survival (YODA et al., 2015; DE SOUZA NASCIMENTO et al., 2020) and take place in different plant strata by animal grazing (mules, cattle, and camels) (GONÇALVES et al., 2013; DE SOUZA NASCIMENTO et al., 2020; ALWARDY et al., 2021).

Native to Mexico, Central America, and some South American countries (NASCIMENTO et al., 2014), its efficiency in colonizing arid environments (HUSSAIN et al., 2019) is mainly related to rapid growth and drought resistance (YASUDA et al., 2014; APG IV, 2016). Therefore, it has been introduced in countries with arid and semi-arid climate, such as Sudan, Sahel, South Africa, India, and Brazil (BEALE et al., 2020). This species entered Brazil in 1942, 1946, and 1952 (SILVA, 2000; BURNETT, 2017) due to its forage potential (pods) to feed herds in periods of grazing scarcity (BELMONT et al., 2016).

In Brazil, mesquite is known as algaroba and is found from Northeast (Alagoas, Bahia, Ceará, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte States) to South (Rio Grande do Sul State) (MORIM, 2015). It plays a major role for the country's economy (RIBASKI et al., 2009; BURNETT, 2017) as nutritional additive for animals (AGUIAR et al., 2019; KHOBONDO et al., 2019), raw material for the pharmaceutical industry (SHARIFI-RAD et al., 2019), human feeding (LIMA et al., 2020; DE MELO CAVALCANTE et al., 2022), production of bioethanol (DE MELO ALVES & LEITE FILHO, 2020) and alcoholic beverages (DE CARVALHO et al., 2020), and coal mining industry (CIRILO et al., 2021), as well as making of boards, stakes, and fences in farms (RODRIGUES et al., 2013).

Despite its several uses; little is known about mesquite genetic diversity. Molecular-genetic studies are essential for management and conservation strategies or

breeding studies (FALEIRO et al., 2018). Indeed, genetic characterization based on molecular markers includes defining a molecular marker to be used among available options, the Inter Simple Sequence Repeat (ISSR). These dominant inheritance markers can be used in any species, as previous genomic knowledge is needless, making them a promising tool for genetic studies of plant populations (SARMA & TANTI, 2017).

Besides defining markers, primers must also be selected. If previous characterizations do not exist or are insufficient, characterization and selection of primers becomes a priority step. As mesquite is essential for Northeastern Brazil development and genetic-molecular information on this species are scarce, this study aimed to characterize the amplification profile and select ISSR primers to support genetic studies in *P. juliflora*.

2. Methodology

Our research was carried out at the Applied Molecular Genetics Laboratory of the State University of Southwest Bahia (UESB, Itapetinga - Ba) and registered in the National System for Management of the Genetic Heritage and Traditional Knowledge Associated (SISGEN), under registration number AFF0E34. The botanical material was deposited in the Herbarium of the State University of Santa Cruz (UESC) under registration number: RG-14435. Leaf samples of *P. juliflora* were collected from the Federal Institute, Campus de Itapetinga, Bahia, at the geographic coordinates: 15°14'57.8" S latitude and 40°13'53.4" W longitude, in southwestern mesoregion of Bahia State (Brazil).

2.1 Genomic DNA Extraction, Purification, and Quantification

Genomic DNA extraction followed a protocol adapted and selected for the species (Santos et al., 2021a), according to method of Sunnucks and Halles (1996). First, 0.4 g young leaf tissue was macerated in 3.0 mL SDS buffer (sodium dodecyl sulfate), without liquid nitrogen and β -mercaptoethanol additions. Then, DNA was quantified using a 1% (w/v) agarose gel electrophoresis run, stained with 0.2% (w/v) Red Invitrogen Gel Biotium™. To do so, we used a series of known concentrations of Lambda phage DNA (Invitrogen™) for calibration. Afterwards, DNA purity was estimated by absorbance ratios A₂₆₀/230 and A₂₆₀/280, respectively, using

BioDrop™ μ LITE (Whitehead Scientific). After obtaining genomic DNA concentrations, samples were standardized at 2 ng μ L⁻¹ and stored in a -20 °C freezer.

2.2 Amplification of Genetic Material

Polymerase chain reaction (PCR) was performed in a Veriti™ 96-Well Thermal Cycler (Applied Biosystems™), using 23 ISSR primers (Table 1) in 16 *P. juliflora* samples. The PCR was prepared with 8 μ L 2 ng DNA, 1.7 μ L 10x PCR buffer [20 mM Tris-HCl (pH 8.4) and 50 mM KCl], 1.0 μ L MgCl₂, 1.0 μ L dNTP mix, 3.19 μ L Milli-Q water, 0.11 μ L Taq DNA polymerase (LGC biotechnology), and 1.0 μ L each primer, totaling a final volume of 16 μ L per reaction. The amplification program consisted of the following steps: initial denaturation at 95 °C for 5 min, followed by 34 cycles (94 °C for 50 s for denaturation, 48 °C for 60s for annealing, and 72 °C for 60 s for extension), and a final extension at 72 °C for 5 min.

2.3 Data Analysis

Amplification products were visualized in a 2% (m/v) agarose gel electrophoresis run with 5x TBE running solution for 120 minutes at 110 v. After electrophoresis, gels were analyzed in a transilluminator (Kodak) under ultraviolet light. The resulting images were used to classify primers as: (I) adequate, when the marker amplification profile is present in most individuals; or (II) inadequate, when there were no tags or the marker amplification was limited to a few individuals.

Moreover, total number of markers and polymorphism percentage were estimated using the GenAlex 6.5 software (SMOUSE and PEAKALL, 2012). Expected heterozygosity (H_e) was obtained as proposed by Nei (1987), using the formula: $H_e = 1 - \sum p_i^2$; wherein p_i is the estimated allele frequency. Finally, polymorphic information content (PIC) values were calculated according to Botstein et al. (1980), as follows:

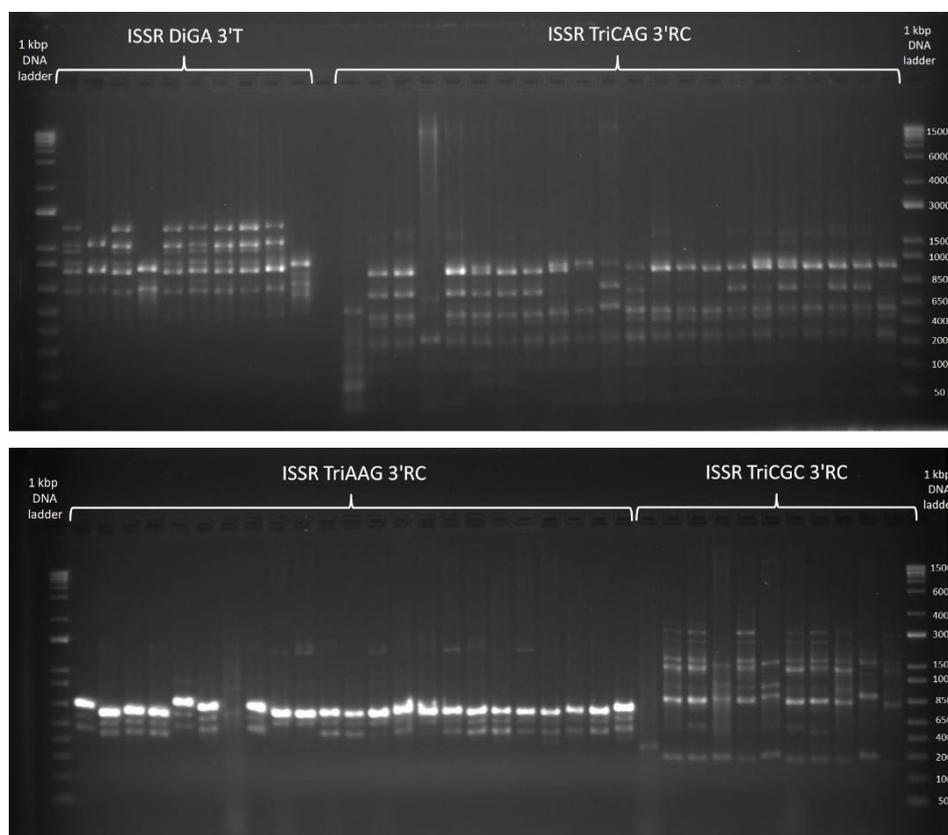
$$IC = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 - \sum_{i=1}^n \sum_{j=1+1}^n 2p_i^2 p_j^2$$

wherein p_i is the frequency of the i -th allele of the studied locus.

3. Results and Discussion

The 23 ISSR primers evaluated in the 16 *P. juliflora* individuals generated reproducible and easily scorable amplification profiles in the agarose gels. Thus, they were classified as adequate for the species (Figure 1).

Figure 1 - Amplification profile of four *Inter Simple Sequence Repeat* primers (DiGA 3'T; TriCAG 3'RC; TriAAG 3'RC; TriCGC 3'RC) in samples of *Prosopis juliflora* (SW.) DC.



Source: Authors, (2022).

From the amplification profiles, 206 markers were observed, averaging nine markers per primer used. The average polymorphism observed was 88.5%, ranging from 44.4% for the TriCAC'YC primer to 100% for the DiGA3'G, DiCA 3'RG, DiCA 3'YG, DiGA 3'T, TriCAC 3'RC, TriCAC 5'CY, TriCAG 3'RC, TriTGT 3'YC, TriAAC 3'RC, TriAAG 3'RC, TriTGG'RC, TriGAC 3'RC, and TriGGA 3'RC (Table 1).

Although scarce, studies using ISSR markers in *P. juliflora* have also shown a high number of markers as we did in this study. While estimating similarity between *P. juliflora* (Sw.) DC. and *P. cineraria* L. (Druce), Elmeer and Almalki (2011) identified 109 markers from 29 ISSR primers, an average below 4 markers per primer. These authors also observed a high polymorphism as in our study (88.5% on average), finding polymorphism in 108 of the 109 markers obtained.

Table 1. Amplification profile characterization and genetic diversity index of *Prosopis juliflora* (Sw.) DC., using 23 ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) primers.

Primer	Sequence	Total tags	% Polymorphism	He	PIC
DiGA3'G	(CA)8G	9	100.0	0.28	0.84
DiCA 3'RG	(CA)8RG	12	100.0	0.29	0.69
DiCA 3'YG	(CA)8YG	11	100.0	0.16	0.96
DiGA 3'C	(GA)8C	11	90.9	0.24	0.67
DiGA 3'RC	(GA)8RC	11	90.9	0.32	0.75
DiGA 3'T	(GA)8T	10	100.0	0.32	0.70
TriCAC 3'RC	(CAC)5RC	5	100.0	0.33	0.53
TriCAC 3'YC	(CAC) 5YC	9	44.4	0.15	0.28
TriCAC 5'CY	CY(CAC)5	5	100.0	0.48	0.50
TriCAG 3'RC	(CAG)5RC	11	100.0	0.26	0.84
TriGTG 3'YC	(GTG)5YC	4	75.0	0.25	0.47
TriTGT 3'YC	(TGT)5YC	11	100.0	0.20	0.90
TriAAC 3'RC	(AAC)5RC	11	100.0	0.22	0.91
TriAAG 3'RC	(AAG)5RC	12	100.0	0.26	0.86
TriACA 3'RC	(ACA)5RC	6	66.6	0.30	0.44
TriAGA 3'RC	(ACG)5RC	7	71.4	0.17	0.45
TriTGG'RC	(CGC)5RC	8	100.0	0.34	0.50
TriCGA 3'RC	(GCA)5RC	5	60.0	0.22	0.30
TriCGC 3'RC	(GGA)5RC	12	90.9	0.34	0.68
TriGAC 3'RC	(GCA)5RC	10	100.0	0.32	0.56
TriGCA 3'RC	(GCA)5RC	8	75.0	0.29	0.52
TriGCC 3'RC	(CGC)5RC	7	71.4	0.37	0.46
TriGGA 3'RC	(GGA)5RC	11	100.0	0.35	0.75
Average		8.95	88.5	0.28	0.63

He= Expected heterozygosity; PIC= Polymorphic information content.
Source: Authors, (2022).

By studying genetic diversity and gene flow in *P. cineraria*, Sharma et al. (2011)

used the markers Simple Sequence Repeat (SSR) and Directed Amplification of Minisatellite-region DNA (DAMD) and also verified a high polymorphism percentage; such high polymorphism was found for 8 SSR markers and ranged from 75.0% to 100.0%, and an average of 92% was inferred for this marker. These polymorphism values found by these authors were higher than those obtained in our study. Furthermore, similar characterizations of *P. juliflora* made with primers analogous to resistance genes (RGA) have generated an average of 5.7 markers per primer (SANTOS et al., 2021b).

In this study, expected heterozygosity (H_e) for the 23 ISSR primers ranged from 0.15 (TriCAC primer 3'YC) to 0.48 (TriCAC primer 5'CY), averaging 0.28 (Table 1). Alves et al., (2014) developed and characterized 10 and 13 SSR primers for future genetic diversity studies in anthropized areas of South America. These authors observed H_e estimates for the genus *Prosopis* from 0.000 in *Prosopis rubriflora* Hassl. for Prb2 to 0.884 in *Prosopis ruscifolia* Gris for Prsc11. In Bolivia, Bessega et al., (2018) studied genetic diversity and differentiation in three *Prosopis alba* Griseb populations under different human disturbance levels and at different altitudes; they used 10 SSR microsatellites and observed that H_e ranged from 0.00 for GLP to 0.73 for GL12. As for Alves et al. (2014), variations in the species *P. juliflora* can be justified by anthropic pressures in areas where it is found, mainly cattle ranching, and/or its reproductive patterns. According to Zanella et al. (2012), the reproductive system of a target species should be known, as it can influence its population genetic variability.

In this study, mean PIC was 0.63, ranging from 0.28 (primer TriCAC 3'YC) to 0.96 (primer DiCA 3'YG). These findings are close to those of selection and characterization studies using microsatellite markers (SSR), such as those by Bessega et al. (2013) in *P. alba* (0.22 to 0.79) and *P. chilensis* (0.00 to 0.78) and by Alves et al. (2014) in *P. ruscifolia* (0.289 to 0.883) and *P. rubriflora* (0.073 to 0.791). Botstein et al. (1980) proposed that PIC values lower than 0.25 are poorly informative, between 0.25 and 0.50 moderately informative, and above 0.5 very informative; therefore, ISSR primers are adequate and at least moderately informative. In this sense, 17 primers of the primers analyzed in this study can be classified as very informative, that is, with a PIC value ≥ 0.5 (Table 1). Moreover, for Muhammad et al. (2017), PIC variation depicts the diverse nature of genotypes.

Characterization and selection of primers have become increasingly frequent, including ISSR primers, as these are used in genetic studies for several native species, whose genome is still unknown (SHARMA et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2017; WANG et al., 2017).

Given the importance of molecular markers and especially the scarcity of available primers, criteria and studies dedicated to the prior selection of primers should be prioritized. In this sense, some studies in the literature may be highlighted, for instance those in *Croton tetradenius* Baill (ALMEIDA-PEREIRA et al., 2017) and *Zea mays* L. (MUHAMMAD et al., 2017), as well as those on selection of markers analogous to resistance genes in *P. juliflora* (Santos et al., 2021b).

The polymorphic profile of ISSR primers observed in this study varied widely (88.5%). In this sense, Silva et al. (2018) described the importance of studies on amplification of ISSR markers, as monomorphic percentages may vary from one sample to another. Moreover, Santos et al. (2021b) proved the efficiency of RGA markers in a pioneering study on characterization and selection in *P. juliflora*. These authors reached H_e and PIC values from 0 to 0.38 and from 0 to 0.29, respectively. Although lower than our findings on H_e and PIC, of the 17 RGA primers tested by Santos et al. (2021b), 12 were highly polymorphic and can be used to investigate genetic variability in further studies on mesquite. Almeida-Pereira et al. (2017) also proved the effectiveness of ISSR markers to estimate genetic variability among accessions of the species *C. tetradenius*, which is endemic to northeastern Brazil.

Despite the naturally existing differences among the species and/or genera above mentioned, as well as among molecular marker classes, the averages of number of markers and percentage of polymorphism observed in *P. juliflora* denote that ISSR primers appear to be promising for different genetic studies for species belonging to the genus *Prosopis*.

Our amplification profile and PIC results attest to the efficiency of ISSR primers for future molecular analyses in *P. juliflora*, without changing amplification process, saving time and resources in developing new markers.

4. Conclusion

The ISSR markers show good transferability and a high percentage of

polymorphism for the 16 individuals of mesquite (*P. juliflora*) considered in this study. Among the primers, 13 can be highlighted (DiGA3'G, DiCA 3'RG, DiCA 3'YG, DiGA 3 'C, DiGA 3'RC, DiGA 3'T, TriCAG 3'RC, TriTGT 3'YC, TriAAC 3'RC, TriAAG 3'RC, TriCGC 3'RC, TriGAC 3'RC, and TriGGA 3'RC) for being adequate for genomic DNA amplification in the species, have polymorphic profile and can be classified as very informative.

Acknowledgments

The authors thank the Coordination for Improvement of Higher Education Personnel (CAPES), and Animal Science Graduate Program of the State University of Southwest Bahia (PPZ/UESB), and environmental Science Graduate Program of the State University of Southwest Bahia (PPGCA/UESB) for granting scholarships; and to the Foundation for Research Support of the State of Bahia (FAPESB) for providing the laboratory structure (PIE00014/206).

References

- Aguiar, L. V., De Oliveira Silva, H. G., Fernandes, S. A. A., Caires, D. N., Silva, A. S., Feistauer, A. E., da Silva, H; A., da Silva, L. C., Matarazzo, S. V., & Dos Santos Pedreira, M. Mesquite pod meal as an additive increases milk total solids, lactose, fat and protein content in dairy cows. **Tropical animal health and production**, s/v.: p. 1-6, 2019.
- Almeida-Pereira, C. S., Silva, A. V. C., Alves, R. P., Feitosa-Alcantara, R. B., Arrigoni-Blank, M. F., Alvares-Carvalho, S. V., Costa, T. S., White, L. A. S., Pinto, V. S., Sampaio, T. S., & Blank, A. F. Genetic diversity of native populations of *Croton tetradenius* Baill. using ISSR markers. **Genetics and Molecular Research**, s/v.: p. 1-12, 2017.
- Alves, F. M., Zucchi, M. I., Azevedo-Tozzi, A. M., Sartori, Â. L., & Souza, A. P. Characterization of microsatellite markers developed from *Prosopis rubriflora* and *Prosopis ruscifolia* (Leguminosae-Mimosoideae), legume species that are used as models for genetic diversity studies in Chaquienian areas under anthropization in South America. **BMC Research Notes**, v. 7, n. 1, p. 1-6, 2014.
- Al-Wardy, M., Al-Rawas, G., Charabi, Y., & Choudri, B. S. Spatiotemporal assessment of *Prosopis juliflora* invasion: linking invasion pattern to meteorological conditions. **Tropical Ecology**, v. 62, n. 2, p. 197-208, 2021.
- APG IV. (2016) An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Botanical Journal of the Linnean Society** 181: 1–20. Disponível em: <<https://www.britannica.com/plant/mesquite-plant>>. Acesso em: 10 set. 2021.
- Beale, T., Kriticos, D. J., Witt, A. B., & Nunda, W. A preliminary assessment of the presence and distribution of invasive and potentially invasive alien plant species in Laikipia County, Kenya, a biodiversity hotspot. **Koedoe: African Protected Area Conservation and Science**, v. 62, n. 1, p. 1-10, 2020.
- Belmont, A. R. B., Neves, A. M. B., Nobre, F.V., Fonseca, J. R. R., Medeiros, M. C., & Belchior Filho,

V. **Algaroba na alimentação animal**. Rio Grande do Norte: SEBRAE, 2016, p. 44. Disponível em: <<https://www.sebrae.com.br/Sebrae/Portal%20Sebrae/UFs/RN/Anexos/Algaroba-na-alimentacao-animal.pdf>>. Acesso em: 19 out. 2021.

Bessegga, C., Pometti, C., López, R. P., Larrea-Alcázar, D., Fortunato, R. H., Saidman, B., & Vilardi, J. C. Genetic diversity and differentiation among *Prosopis alba* (Leguminosae) populations from dry valleys of Bolivia with different levels of human disturbance and altitude. **Ecology and evolution**, v. 8, n. 22, p. 11309-11321, 2018.

Bessegga, C. F., Pometti, C. L., Miller, J. T., Watts, R., Saidman, B. O., & Vilardi, J. C. New microsatellite loci for *Prosopis alba* and *P. chilensis* (Fabaceae). **Applications in Plant Sciences**, v. 1, n. 5, p. 1200324, 2013.

Botstein, D., White, R. L., Skolnick, M., & Davis, R. W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. **American journal of human genetics**, v. 32, n. 3, p. 314, 1980.

Burnett, A. A saga político-ecológica da algaroba no semiárido brasileiro. **Revista de Estudos Sociais**, v. 19, n. 38, p. 148-175, 2017.

Cirilo, N. R. M., de Medeiros Neto, P. N., da Silva Ribeiro, L., Lemos, G., Moreira, F. C. D. A. D., & Carmo, N. C. G. D. M. Caracterização da madeira de *Prosopis juliflora* utilizada na indústria de cerâmica vermelha no semi-árido brasileiro. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 16, n. 4, p. 178-182, 2021.

De Melo Alves, A. C., Dos Santos, J. C. M., & Silva, J. N. Estudo do Monitoramento das Aplicações Tecnológicas da *Prosopis Juliflora* (Algaroba). **Cadernos de Prospecção**, v. 12, n. 2, p. 374, 2019.

De Melo Cavalcante, A. M., de Melo, A. M., da Silva, A. V. F., da Silva Neto, G. J., Barbi, R. C. T., Ikeda, M., Silva, G. B., Steel, C. J., & da Silva, O. S. Mesquite (*Prosopis juliflora*) grain flour: new Ingredient with bioactive, nutritional and physical-chemical properties for food applications. **Future Foods**, s/v.: p. 100114, 2022.

De Carvalho, L. C., Mafaldo, I. M., Rockenbach, I. I., de Oliveira, K. K. G., Lima, L. G. A. C., Saturnino, V. L. D. A. M., & Mishina, R. Â. G. Perfil químico e sensorial de cerveja artesanal produzida com uso de algaroba (*Prosopis juliflora*) como adjunto de malte. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 8, p. e769986041-e769986041, 2020.

De Sousa, J. K. G., da Costa, H. B., de Oliveira, M., Guimarães-Brasil, D. D. F. B., & de Souza, E. A. Frequência e comportamento de visitantes florais na algarobeira (*Prosopis juliflora* (Sw) DC.) em Alexandria-RN. **Agropecuária Científica no Semi-Árido**, v. 12, p. 112-120, 2016.

De Souza Nascimento, C. E., da Silva, C. A. D., Leal, I. R., de Souza Tavares, W., Serrão, J. E., Zanuncio, J. C., & Tabarelli, M. Seed germination and early seedling survival of the invasive species *Prosopis juliflora* (Fabaceae) depend on habitat and seed dispersal mode in the Caatinga dry forest. **PeerJ**, v. 8, p. e9607, 2020.

Elmeer, K., & Almalki, A. DNA finger printing of *Prosopis cineraria* and *Prosopis juliflora* using ISSR and RAPD techniques. **American Journal of Plant Sciences**, v. 2, n. 4, p. 527, 2011.

Faleiro, F. G., Amabile, R. F., & Cerqueira-Silva, C. B. M. Marcadores moleculares aplicados ao melhoramento genético de plantas. In: Amabile, R.F., Vilela, M. S., & Peixoto, J. R. **Melhoramento de plantas: variabilidade genética, ferramentas e mercado**. Proimpress, Brasília, DF, Sociedade Brasileira de Melhoramento de Plantas, 108 p., 2018.

Gonçalves, G. S., de Andrade, L. A., Gonçalves, E. P., de Oliveira, L. S. B., & Dias, J. T. Qualidade fisiológica de sementes de algaroba recuperadas de excrementos de muare. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 2, p. 593-602, 2013.

Hussain, M. I., El-Keblawy, A., & Mitterand Tsombou, F. Leaf age, canopy position, and habitat affect the carbon isotope discrimination and water-use efficiency in three C3 Leguminous *Prosopis* species from a hyper-arid climate. *Plants*, v. 8, n. 10, p. 402, 2019.

Khobondo, J. O., Kingori, A. M., & Manhique, A. Effect of incorporation of ground *Prosopis juliflora* pods in layer diet on weight gain, egg production, and natural antibody titer in KALRO genetically improved indigenous chicken. **Tropical animal health and production**, v. 51, n. 8, p. 2213-2218, 2019.

Leite Filho, M. T. **Produção de etanol combustível primeira e segunda geração a partir de vagens de algaroba (*Prosopis juliflora* Sw. DC.)**. 2020. 122 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Campina Grande, Paraíba, 2020.

Lima, J. R. R., Da Silva, T. A., Dos Santos, L. S., Leite, K. S., & Melo, F. O. Desenvolvimento de melado de algaroba (*Prosopis juliflora* Sw. DC.). Development of mesquite molasses (*Prosopis juliflora* (Sw) DC. In: Silva, J. C. S., Carvalho, C N., & Cunha, F. S. A. **Agro-desenvolvimento para o Nordeste: proposições, exposições e realizações**. Arapiraca: EDuneal. p. 114-122, 2020.

Morim, M. P. *Prosopis* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB18991>>. Acesso em: 09 set. 2021.

Muhammad, R. W., Qayyum, A., Ahmad, M. Q., Hamza, A., Yousaf, M., Ahmad, B., Younas, M., Malik, W., Liaqat, S., & Noor, E. Characterization of maize genotypes for genetic diversity on the basis of inter simple sequence repeats. **Genetics and molecular research: GMR**, v. 16, n. 1, p. 1-19, 2017.

Nascimento, C. E. S., Tabarelli, M., Da Silva, C. A. D., Leal, I. R., De Souza Tavares, W., Serrão, J. E., & Zanuncio, J. C. The introduced tree *Prosopis juliflora* is a serious threat to native species of the Brazilian Caatinga vegetation. **Science of the Total Environment**, v. 481, p. 108-113, 2014.

Oliveira, L. A. R., Machado, C. A., Cardoso, M. N., Oliveira, A. C. A., Amaral, A. D., Rabbani, A. R. C., Silva, A. V. C., & Ledo, A. S. Genetic Diversity Of *Saccharum* Complex Using Issr Markers. **Genetics And Molecular Research**, v. 16, N. 3, p. 1-10, 2017.

Pasiecznik, N. M., Harris, P. J. & Smith, S. J. **Identifying tropical *Prosopis* species: a field guide**. Coventry, UK: HDRA Publishing, 2004, p. 29, 2004.

Ribaski, J., Drumond, M. A., De Oliveira, V. R., & Nascimento, C. D. S. **Algaroba (*Prosopis juliflora*): árvore de uso múltiplo para a região semiárida brasileira**. Colombo: EMBRAPA FLORESTAS, 2009. p. 9. (Comunicado Técnico, 240).

Rodrigues, L. C., Silva, A. A. D., Silva, R. B. D., Oliveira, A. F. M. D., & Andrade, L. D. H. C. Conhecimento e uso da carnaúba e da algaroba em comunidades do Sertão do Rio Grande do Norte, Nordeste do Brasil. **Revista Árvore**, v. 37, p. 451-457, 2013.

Santos, L. H. T., Dias, C. S., Lima, J. C., Meira, M. R., & Silva, C. B. M. C. Análise comparativa de protocolos para extração de DNA genômico em *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. **Biotemas**, v. 34, p. 1-7, 2021a.

Santos, L. H. T., Dias, C. S., Silveira, L. A., Meira, M. R., dos Santos, E. S. L., & Cerqueira-Silva, C. B. M. Characterization and selection of markers associated with resistance analogous genes as input for genetic analysis of *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. **Acta Scientiarum. Technology**, v. 43, p. e51983-e51983, 2021b.

Sarma, B., & Tanti, B. Analysis of genetic diversity of certain species of *Aristolochia* using ISSR-based molecular markers. **Current Life Sciences**, v. 3, n. 4, p. 47-53, 2017.

Sharifi-Rad, J., Kobarfard, F., Ata, A., Ayatollahi, S.A., Khosravi-Dehaghi, N., Jugran, A.K., Tomas, M., Capanoglu, E., Matthews, K.R., Popović-Djordjević, J., Kostić, A., Kamiloglu, S., Sharopov, F.,

Choudhary, M.I., & Martins, N. Prosopis plant chemical composition and pharmacological attributes: Targeting clinical studies from preclinical evidence. **Biomolecules**, v. 9, n. 12, p. 777, 2019.

Sharma, S. K., Kumar, S., Rawat, D., Kumaria, S., Kumar, A., & Rao, S. R. Genetic diversity and gene flow estimation in *Prosopis cineraria* (L.) Druce: a key stone tree species of Indian Thar Desert. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 39, n. 1, p. 9-13, 2011.

Silva, S. **História da Algaroba no Brasil**. Terezina: Embrapa Meio-Norte, s/v.: p. 119-130, 2000.

Smouse, R. P. P., & Peakall, R. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research an update. **Bioinformatics**, v. 28, n. 19, p. 2537-2539, 2012.

Vijayan, D., Cheethaparambil, A., Pillai, G. S., & Balachandran, I. Molecular authentication of *Cissampelos pareira* L. var. *hirsuta* (Buch.-Ham. ex DC.) Forman, the genuine source plant of ayurvedic raw drug 'Patha', and its other source plants by ISSR markers. **Biotech**, v. 4, n. 5, p. 559-562, 2014.

Wang, J. S., He, J. H., Chen, H. R., Chen, Y. Y., & Qiao, F. Genetic Diversity in Various Accessions of Pineapple [*Ananas comosus* (L.) Merr.] Using ISSR and SSR Markers. **Biochemical genetics**, v. 55, n. 5-6, p. 347-366, 2017.

Yasuda, H., Abd Elbasit, M. A., Yoda, K., Berndtsson, R., Kawai, T., Nawata, H., Ibrahim, A. M., Inoue, T., Tsuji, W., Gamri, T. EA., & Saito, T. Diurnal fluctuation of groundwater levels caused by the invasive alien mesquite plant. **Arid Land Research and Management**, v. 28, n. 2, p. 242-246, 2014.

Yoda, K., Tsuji, W., Inoue, T., Saito, T., Abd Elbasit, M. A., Eldoma, A. M., Magzoub, M. K., Hoshino, B., Nawata, H., & Yasuda, H. Evaluation of the effect of a rain pulse on the initial growth of *Prosopis* seedlings. **Arid Land Research and Management**, v. 29, n. 2, p. 210-221, 2015.

Zanella, C. M., Janke, A., Palma-Silva, C., Kaltchuk-Santos, E., Pinheiro, F. G., Paggi, G. M., Soares, L. E.S., Goetze, M., Büttow, M. V., & Bered, F. Genetics, evolution and conservation of Bromeliaceae. **Genetics and molecular Biology**, v. 35, n. 4, p. 1020-1026, 2012.

IV CAPÍTULO III

Elucidando a diversidade e estrutura genética em populações naturalizadas de *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. baseado em marcadores ISSR

Quirlian Queite Araújo Anjos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2776-3302>

Doutorando do PPZ da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB)

E-mail: quirlian.a.anjos@hotmail.com

Luiz Henrique Tolentino Santos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9419-6192>

Doutor pelo PPZ da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB)

E-mail: santoslht@gmail.com

Anderson Carvalho Vieira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0197-8775>

Doutorando do PPGGBM da Universidade Estadual de Santa Cruz

E-mail: vieiraac2@gmail.com

Rafaella Almeida Soares

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6696-9322>

Graduando em Ciências biológicas na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB)

E-mail: rafaellaalmeidasoares@live.com

Messulan Rodrigues Meira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2447-342X>

Pós-doc do PPGCA na Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB)

E-mail: messulan.meira@gmail.com

Carlos Bernard Moreno Cerqueira-Silva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1883-4543>

Professor Titular do DCEN da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB)

E-mail: csilva@uesb.edu.br

RESUMO

No Brasil, o levantamento da diversidade e estrutura genética de *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. aconteceu pela primeira vez em 1984. Nas décadas seguintes, os estudos com essa temática alcançaram uma perspectiva inversamente proporcional à naturalização da espécie, visto que à medida que a espécie conquistava o ambiente, pouco se sabia sobre sua diversidade e estrutura genética no país. Recentemente, o cenário de pesquisas dedicadas à caracterização genética populacional foi retomado com estudos realizados com uso dos marcadores moleculares *Resistance Genes Analog* e *Inter Simple Sequence Repeat*. Apesar da escassez destes estudos, os resultados gerados com pesquisas dessa natureza são indispensáveis para programas de manejo de populações naturalizadas. Assim, objetivou-se com esta pesquisa conhecer a diversidade e estrutura

genética em populações naturalizadas de *P. juliflora* ao longo do sudoeste da Bahia. Os 11 iniciadores ISSR testados geraram 190 marcadores polimórficos, com percentual de polimorfismo aproximado de 97% e diversidade genética de Nei variando de 0,06 a 0,30. A Análise molecular de variância revelou a existência de estrutura genética entre as populações e, por sua vez, a análise Bayesiana indicou uma estruturação dos 192 acessos em três grupos (K) com a presença de três *pools* gênicos. Os resultados obtidos no presente estudo além de subsidiar expedições que necessitem de adequada amostragem da diversidade existente, deverá auxiliar no entendimento da complexidade genética presente na espécie *P. juliflora* em ambientes naturalizados.

Palavras-chave: Algaroba, Variabilidade genética, ISSR, Recursos genéticos vegetais naturalizados.

1. INTRODUÇÃO

A algaroba (*Prosopis juliflora* Sw. DC.) (Linneaus, 1753) é uma espécie arbustivo-arbórea perene (ABD EL HALIM et al., 2015) com altura de 3 a 12 metros com reprodução alógama e autoincompatibilidade (PASIECZNIK et al., 2004; MORIM, 2015). As flores são agrupadas em inflorescências branco-esverdeadas e/ou amareladas com a idade (RIBASKI et al, 2009) e suas vagens (frutos) apresentam coloração amarelada (ABD EL HALIM et al., 2015) e dimensões variadas (PEREIRA et al., 2018). A espécie é encontrada naturalmente em regiões tropicais da América Central (El Salvador, Guatemala, Honduras, Nicarágua, Panamá e Costa Rica), América do Norte (México) e América do Sul (Colômbia, Equador, Peru e Venezuela) (PASIECZNIK et al., 2001; RIBASKI et al., 2009).

Inicialmente, foi introduzida de forma intencional na África do Sul, Brasil, Índia, Sahel e Sudão (BEALE et al., 2020) para o fornecimento de serviços importantes para comunidades locais, como forragem e madeira (RIBASKI et al., 2009). A extensão da invasão de *P. juliflora* está difundida a nível global, sendo registrada em 103 países tropicais e subtropicais (EDRISI et al., 2020). No Brasil, o primeiro registro de introdução da espécie foi em 1942 (BURNETT, 2017). Devido às características do solo e dispersão de sementes (NASCIMENTO et al., 2014), a algaroba ocupa atualmente biomas que sofrem intenso processo de antropização, como é o caso da Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica (DE SOUZA NASCIMENTO et al., 2020). Além disso, a

presença da algaroba também é relatada nos biomas Floresta Amazônica, Pampa e Pantanal (REIS et al., 2022).

A temática da introdução de espécies exóticas invasoras (EEI) foi considerada um fator limitante para a biodiversidade, em proporção mundial em 1992, durante a ECO 92, quando foram estabelecidas as bases para a Convenção Internacional sobre Diversidade Biológica (CDB) (MMA, 2000; LEÃO et al., 2011; RIPPLE et al., 2017). Neste mesmo ano, o mundo recebeu um alerta da comunidade científica sobre as implicações futuras do crescimento populacional contínuo e das consequências negativas de suas atividades, por vezes predatórias, sobre a biodiversidade e os recursos naturais (KENDALL, 2000).

As discussões relacionadas às espécies exóticas invasoras decorrem especialmente do fato destas espécies serem promotoras de distúrbios à biodiversidade nativa e de potenciais desequilíbrios ao ecossistema em que são inseridas (LEÃO et al., 2011). Para além dos aspectos ecológicos, consequências econômicas (IUCN, 2000; CDB, 2002) e prejuízos à saúde humana passaram também a serem atribuídos e associados com as EEI (MAZZA et al., 2014; LAZZARO et al., 2018). Neste contexto geral, depois da destruição de habitats (OLMSTEAD, 2006), espécies exóticas invasoras são consideradas a segunda causa global da perda de biodiversidade e extinção de espécies nativas (RIPPLE et al., 2017; PYŠEK et al., 2020), contribuindo e guardando relação direta com a problemática das mudanças climáticas e ameaças à biodiversidade nativa (KENDALL, 2000; YOUNG e LARSON, 2011; RAI e SINGH, 2020).

A efetiva ação e influência das espécies invasoras perpassa a naturalização de uma planta exótica invasora (SANTOS e CALAFATE, 2018), classificada assim por ser capaz de se adaptar e reproduzir em um novo ambiente (RICHARDSON et al, 2000), sobretudo sem que haja intervenção humana para garantir sua reprodução e manutenção no ambiente (YAN et al., 2019). Essa adaptação se deve, inclusive, às características botânicas e fisiológicas presentes nas espécies naturalizadas que se tornam funcionais durante o processo de colonização de um *habitate* (JUNAEDI et al., 2021). Tais características, que culminam e justificam a condição de planta exótica invasora já naturalizada no Brasil, estão presentes na espécie *P. juliflora*, popularmente conhecida como algaroba. Em síntese, a algaroba é capaz de promover a fixação de nitrogênio (SADEQ et al., 2020), aumentar a atividade microbiana e de nutrientes do solo (XU et

al., 2022), e ainda possui um crescimento rápido (APG IV, 2016) e uma resistência à seca (YASUDA et al., 2014), característica de muitas regiões brasileiras.

A despeito das limitações e/ou prejuízos inerentes à planta exótica invasora, é necessário considerar também os benefícios ambientais, sociais e econômicos observados a partir do uso de espécies naturalizadas como a algaroba. Dentre esses benefícios, se registra: servir de recurso floral para espécies nativas (DE SOUSA et al., 2016), apresentar potencial fitorremediador (SINGH et al., 2017; HAMMOND et al., 2018; CHAUDHARY et al., 2019; SINGH et al., 2020) e pode desempenhar papel relevante na economia de uma região (SHARIFI-RAD et al., 2019; LEITE FILHO, 2020; CIRILO et al., 2021; DE MELO CAVALCANTE et al., 2022). Naturalmente, diante das potencialidades existentes para uma espécie, independente de tratar-se de uma planta exótica invasora naturalizada, é fundamental conhecer sobre a espécie quando se pensa em estratégias de uso (IUCN, 2000; MCNEELY et al., 2001), incluindo ações eficientes de monitoramento/mapeamento (WAKIE et al., 2014), controle (WAKIE et al., 2016) e manejo (LIMA et al., 2005; RANI e VENKATACHALAM, 2022).

O conhecimento sobre a diversidade genética presente na algaroba no Brasil ainda é limitado, tendo em vista que o primeiro estudo ocorreu em 1985 através de marcadores bioquímicos (isoenzimas), fazendo inferências sobre a base genética e perspectiva de melhoramento genético da espécie no nordeste do país (PIRES e KAGEYAMA, 1985). Após esse período, estudos com os marcadores moleculares *Simple Sequence Repeat* (SSR) (FREITAS, 2017; FREITAS et al., 2019), *Resistance Genes Analog* (RGA) (SANTOS et al., 2021b) e *Inter Simple Sequence Repeat* (ISSR) (ANJOS et al., 2022b) podem ser considerados um marco da retomada das pesquisas sobre a diversidade genética da algaroba no país. Em um contexto global, a diversidade genética da algaroba também foi investigada através da técnica de sequenciamento automático no Catar (Ásia Ocidental) (SALEH et al., 2022).

Estudos com marcadores moleculares têm sido amplamente utilizado para elucidar a diversidade e estrutura genética em leguminoseas (YANG et al., 2016; ALVES et al., 2018; BESSEGA et al., 2021). Por meio do uso de marcadores moleculares é possível prever o processo de evolução da invasão de uma determinada espécie (OSIPOVA et al., 2021). Também é possível conhecer sobre a diversidade e estrutura genética populacional de plantas nativas (ZERBO et al., 2017) e introduzidas

(CASTILLO et al., 2021), fluxo gênico (BESSEGA et al., 2018), bem como esclarecer a forma que a diversidade genética impulsiona a capacidade adaptativa da mesma no ambiente (JOCIENÉ et al., 2022).

Dentre os diversos marcadores moleculares disponíveis e tendo em vista que a escolha destes, em estudos genéticos, devem levar necessariamente em consideração o contexto da pesquisa e da estrutura disponível, é possível destacar, para estimativas de diversidade e estrutura genética em populações de algaroba, os marcadores *Inter Simple Sequence Repeat* (ISSR). Estes marcadores são considerados dominantes (AMITEYE, 2021) que utilizam pouco material genético (DNA) em suas análises (HAQ et al., 2022) e não requerem estudos preliminares para desenvolvimento de iniciadores espécie específicos (AMITEYE, 2021). Portanto, são considerados marcadores acessíveis, sobretudo quando comparados a marcadores codominantes e/ou baseados em sequenciamento (FAISAL et al. 2012), além de serem confiáveis (HATZILAZAROU et al., 2021), altamente polimórficos (GEMMILL et al., 2021; PARAB et al., 2021), eficientes (AKHTAR et al., 2021) e precisos para realizar agrupamento de espécies vegetais com bases em suas origens geográficas (NAZIR et al., 2021). Dessa forma, os marcadores dominantes, embora não apresente diferença entre os alelos dominantes e recessivos, são utilizados com sucesso em estudos de diversidade genética (SHEIKH et al., 2021) e estrutura populacional (FLIHI et al., 2022).

Diante do exposto, objetivou-se estimar a diversidade e estrutura genética de *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. (algaroba) em acessos de populações naturalizadas, visando contribuir para o entendimento da dinâmica populacional da espécie.

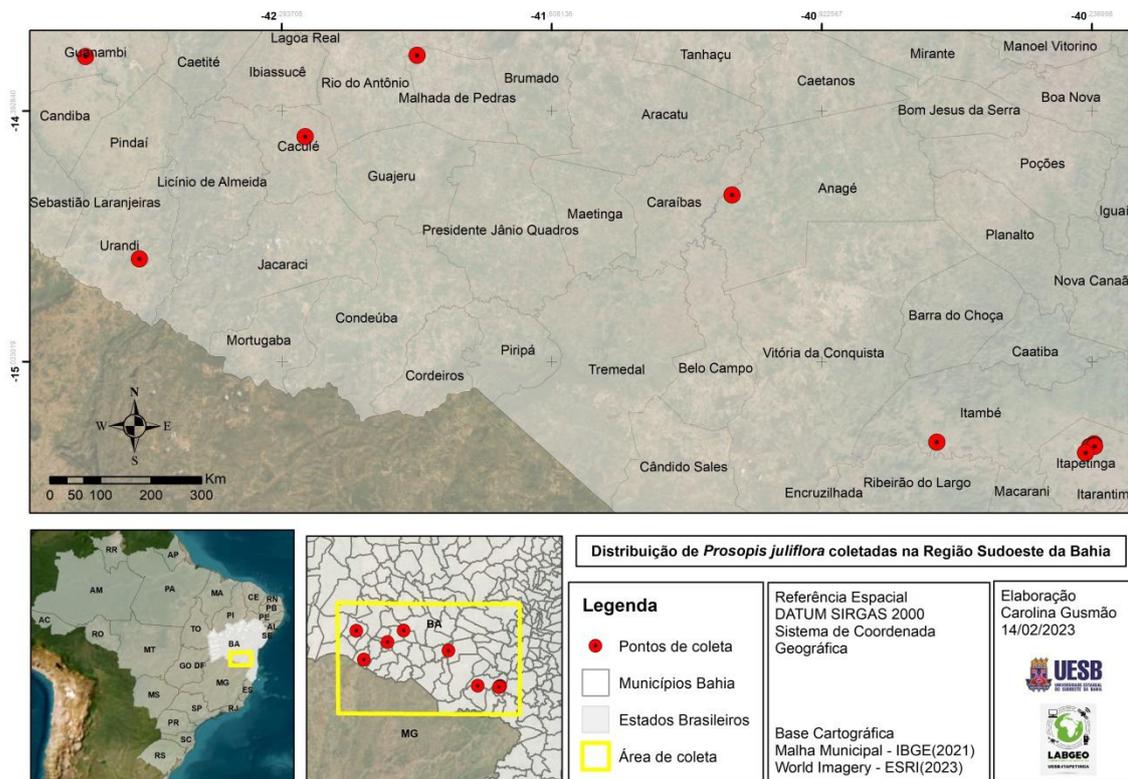
2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material botânico

O estudo foi realizado a partir da amostragem de 192 acessos de algaroba (*Prosopis juliflora* Sw. DC.) obtidos de treze populações naturalizadas, localizadas nos municípios de Caculé, Anagé, Itambé, Itapetinga, Ibiassucê, Urandi, Guanambi e Malhada de Pedra, na região Sudoeste da Bahia, no período de 2019 a 2022 (Figura 1). Devido à grande quantidade de indivíduos presente no município de Itapetinga, o mesmo foi subdividido em seis subpopulações. As amostras foliares jovens foram coletadas e encaminhadas ao Laboratório de Genética Molecular Aplicada (LGMA), da

Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB, Itapetinga – BA). Amostra botânica foi depositada no Herbário da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC, Ilhéus - BA) sob o número de registro RG-14435, e a pesquisa registrada no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado – SisGen (registro número AFF0E34).

Figura 1. Localização dos 192 acessos de *Prosopis juliflora* (SW) DC., distribuídos em treze populações naturalizadas, presente nos municípios de Itapetinga, Caculé, Urandi, Ibiassucê, Guanambi, Malhada de Pedra, Itambé e Anagé, na região sudoeste da Bahia.



2.2 Obtenção de DNA genômico

A extração e purificação do DNA genômico foi realizada por meio da metodologia de Sunnucks e Halles (1996) modificada por Santos et al., (2021c), onde foram maceradas, sem adição de nitrogênio líquido e β -mercaptoetanol, 0,4g de folhas jovens de algaroba em 3,0 mL de tampão SDS (dodecil sulfato de sódio) e, após a extração, as amostras de DNA genômico foram armazenadas a -20°C , até as análises moleculares. A quantificação, pureza e verificação da qualidade das extrações foram estimadas com uso do espectrofotômetro (BioDrop μ LITE (Whitehead Scientific)). O

DNA quantificado foi corado com gel Red Biotium Invitrogen®) a 0,2% (p/v), tendo como padrão de comparação uma série de concentrações conhecidas do fago Lambda Invitrogen® e visualizado a partir da corrida de eletroforese em gel de agarose a 1% (p/v), fotodocumentados em sistema com incidência de luz ultravioleta e padronizado a uma concentração de 2 ng. μL^{-1} .

2.3 Amplificação do material genético

A amplificação em cadeia de polimerase (PCR) do DNA alvo foi realizada com uso de 11 iniciadores ISSR (DiGA3'G, DiCA 3'YG, DiGA 3'C, DiGA 3'RC, DiGA 3'T, TriCAG 3'RC, TriAAC 3'RC, TriAAG 3'RC, TriAGA 3'RC, TriCGC 3'RC e TriGAC 3'RC) previamente caracterizados e selecionados por Anjos et al., (2022b) para algaroba. As amplificações foram realizadas em termociclador Veriti 96 Well Thermal Cycler Applied Biosystems® com uma desnaturação inicial a 95 °C por 5 minutos, seguida por 34 ciclos (composto por 94°C por 50s para desnaturação, 48°C por 60s para anelamento e 72°C por 60s para extensão) e uma extensão final a 72°C por 5 minutos. As soluções adotadas para as reações de PCR continham 8 μL de DNA a 2 ng, 1,7 μL de tampão para PCR 10X (20 mM Tris-HCl [pH 8,4] e 50 mM de KCl), 1,0 μL de MgCl_2 , 1,0 μL de dNTP mix, 3,19 μL de água Milli-Q, 0,11 μL de Taq DNA polimerase (LGC biotecnologia) e 1,0 μL de cada iniciador. Os produtos da PCR foram analisados em gel de agarose a 2% (p/v) em tampão TBE 0,5x e visualizados em sistema de fotodocumentação com incidência de luz ultravioleta.

2.4 Análises de dados e estimativa da diversidade genética em *P. juliflora*

Os padrões de amplificação foram avaliados por dois pesquisadores de forma independente, com intuito de diminuir o viés falso-positivo da análise, e o consenso destas observações adotado para a construção de uma tabela de dados binários, sendo atribuído 1 para presença, 0 para ausência de amplificações e 9 para dados inconclusivos. A partir desta tabela de dados binários, foram realizadas análises descritivas e estimadas da diversidade, diferenciação e estrutura genética em populações através dos seguintes parâmetros: Índice de diversidade de Nei (h) (NEI, 1978), onde,

$$h = 1 - \sum_{i=1}^k x_i^2,$$

diversidade total (H_T), variabilidade dentro das populações (H_S), diferenciação genética (G_{ST}) (NEI, 1987)

$$G_{ST} = \frac{(H_T - H_S)}{H_T} = 1 - \frac{H_S}{H_T}$$

O *Polymorphism Information Content* (PIC) Botstein et al. (1980) também foi calculado, adotando-se a equação:

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 - \sum_{i=1}^n \sum_{j=1+1}^n 2p_i^2 p_j^2$$

O PIC quantifica a informação do locus marcador e este diretamente relacionado aos alelos e sua frequência. Segundo Botstein et al, (1980), os índices abaixo de 0,25 são poucos informativos; entre 0,25 e 0,50, medianamente informativos e acima de 0,50 muito informativos. Para marcadores dominantes, como o ISSR, 0,50 é o valor máximo alcançado (CHESNOKOV e ARTEMYEVA, 2015).

A análise de variância molecular (AMOVA) (EXCOFFIER et al., 1992) foi utilizada com o intuito de medir as variações genéticas dentro e entre as populações. Para determinar a variação genética geral e avaliar a importância dos grupos populacionais, por meio do valor de PhiPT médio, análogo ao índice de fixação de Wright F_{ST} (WRIGHT, 1965), foram consideradas 999 permutações. O valor de PhiPT foi determinado pela equação,

$$(PhiPT = AP / (WP + AP) = AP / Total Est. Var), \text{ onde}$$

AP é a variação estimada entre populações e WP é a variação estimada dentro das populações. $PhiPT > 0$ indica diferenças genéticas entre as populações. Quando o $PhiPT \geq 0,25$ sugerem uma grande diferenciação entre subpopulações. $PhiPT$ entre 0,15 e 0,25 mostra diferenciação moderada e, $PhiPT < 0,05$, uma diferenciação insignificante.

A análise de coordenadas principais (PCoA) foi utilizada para visualizar a diferenciação/relações genéticas entre os 192 acessos. A análise Bayesiana foi realizada através da ferramenta *online* Structure Harvester versão 0.6.94 (EARL e VONHOLDT,

2012) para estimar o número ótimo de K, para alocar os agrupamentos em um número de *pool gênicos* (K). A escolha do K mais provável foi realizada segundo o método descrito por Evanno et al., 2005). O método prediz a possibilidade de ocorrer miscigenação ou fluxo gênico entre populações (*admixture model*). Esta análise foi executada 20 vezes para os possíveis *pools gênicos* (K) testados, onde cada execução consistiu em 100.000 e 1.000,000 de randomizações realizadas via Cadeia de Markov e Monte Carlo (MCMC).

O conjunto das análises descritivas, AMOVA e PCoA foram realizadas com uso dos programas POPGENE versão 1.32 (YEH et al., 1997), GenALEX v.6.5 (PEAKALL e SMOUSE, 2006) e GENES (CRUZ, 2006). Por sua vez, as estimativas de estrutura genética foram realizadas com o programa STRUCTURE versão 2.3.4 (PRITCHARD et al., 2000).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Diversidade e Diferenciação Genética entre Populações

Foram observados e analisados 195 produtos de amplificação em 192 acessos de *Prosopis Juliflora* (SW) DC., distribuídos em treze populações naturalizadas, a partir de 11 iniciadores ISSR. O número de marcadores polimórficos (MP) e o percentual polimórfico (%MP) total foram de 190 e 97,44%, respectivamente, com média de 70,23 MP e 36,02 %MP para as treze populações naturalizadas (Tabela 1).

Os parâmetros marcadores polimórficos e percentual de marcadores polimórficos variaram de 24 a 131 e 12,31 a 67,18 %, para as populações de Caculé e Itapetinga (área B), respectivamente. A diversidade genética de Nei (*h*) total e a diversidade média foram estimadas em 0,31 e 0,15, respectivamente, e variou entre 0,06 a 0,24, para as cidades de Guanambi e Itapetinga (área B) (Tabela 1).

Os parâmetros genéticos populacionais marcadores polimórficos e percentual de marcadores polimórficos verificados por Anjos et al., (2022b) para 16 acessos de *P. juliflora* em um estudo prévio de seleção e caracterização de 23 iniciadores ISSR foram inferiores (187 MP e 88,5 %MP) ao verificado nesta pesquisa com 192 acessos de *P. juliflora*. Valores de MP e %MP foram também inferiores em *Calotropis procera* Ait. R. Br., espécie também naturalizada no Brasil em estudo de seleção e caracterização de 23 iniciadores ISSR testados por Dias et al., (2022), cujos valores de MP e %MP foram

de 173 e 89,60%, respectivamente. Esses resultados podem ser justificados pela particularidade de cada espécie, além do número real de acessos em cada população analisada (IGWE et al., 2017).

Tabela 1. Parâmetros genéticos populacionais baseados no polimorfismo observado a partir de 11 iniciadores ISSR em 192 acessos de *Prosopis juliflora* (SW) DC., distribuídos em 13 populações naturalizadas presente nos municípios de Caculé, Urandi, Ibiassucê, Guanambi, Malhada de Pedra, Itambé, Anagé e Itapetinga, na região sudoeste da Bahia.

Populações Naturalizadas	Parâmetros Genéticos Populacionais				
	N	MP	%MP	<i>h</i>	
A	32	118	60,51	0,22	
B	32	131	67,18	0,24	
Itapetinga (áreas)	C	16	107	54,87	0,21
	D	16	103	52,82	0,20
	E	32	119	61,03	0,22
	F	16	90	46,15	0,17
Caculé	7	24	12,31	0,11	
Urandi	7	25	12,82	0,11	
Ibiassucê	7	41	21,03	0,10	
Guanambi	7	27	13,85	0,06	
Malhada de Pedra	6	62	31,79	0,12	
Itambé	7	37	18,97	0,08	
Anagé	7	29	14,87	0,07	
Total	192	190	97,44	0,31	
Média	-	70,23	36,02	0,15	

N= Número de acessos, MP= Marcador polimórficos, %MP= percentual de Marcadores polimórficos, *h*= Diversidade genética de Nei

Para o gênero *Prosopis*, os parâmetros MP e %MP obtidos a partir de iniciadores ISSR foram relatados para as espécies *P. juliflora* e *Prosopis cineraria* L. Druce, em um estudo de similaridade genética (ELMEER e ALMALKI, 2011) a partir de vinte e nove iniciadores ISSR, e para *Prosopis tamarugo* Phil., *Prosopis burkartii* Muñoz, *Prosopis strombulifera* (Lam.) Benth. e *Prosopis reptans* Benth., em um estudo de caracterização, utilizando sete iniciadores ISSR (CONTRERAS et al., 2020). O número e o percentual de marcadores polimórficos obtidos por Elmeer e Almalki (2011) foi de 108 e 99%, respectivamente. O percentual de marcadores polimórficos obtidos por esses autores foi superior (99%) ao encontrado para *P. juliflora*, enquanto que o número de marcadores polimórficos foi considerado inferior aos valores

obtidos no presente estudo para a espécie *P. juliflora* (190) (ELMEER e ALMALKI, 2011). Para *P. tamarugo*, *P. burkartii*, *P. strombulifera* e *P. reptans*, os valores de marcadores polimórfico e percentual de marcadores polimórficos obtidos com iniciadores ISSR foram inferiores (70 e 89%, respectivamente) ao observados para *P. juliflora* (CONTRERAS et al., 2020).

A estimativa de diversidade e estrutura genética por meio de iniciadores ISSR é também relatada na literatura para leguminosas arbóreas de outros gêneros. Nesse contexto, Vashishtha et al., (2013) obtiveram, a partir de 15 iniciadores ISSR, 71 MP com %MP equivalente a 77,2% para a espécie *Butea monosperma* (Lam.) Taubert. Apesar do número e percentual de marcadores polimórficos serem inferiores aos resultados encontrados nas populações naturalizadas de *P. juliflora* no presente estudo, Vashishtha et al., (2013) consideraram os resultados obtidos para os iniciadores ISSR altos.

A baixa diversidade genética encontrada nas populações avaliadas neste estudo, com h sempre inferior a 0,31 nas populações naturalizadas (Tabelas 1), é também verificada nas populações de *P. juliflora* introduzidas nas regiões da Etiópia e Tanzânia (CASTILLO et al., 2021), tendo os autores observado valores de h variando entre 0,28 e 0,42. Conhecer e entender a variabilidade e a estrutura genética é importante, sobretudo, quando se trata de uma espécie introduzida (XIA e QIFANG, 2020), pois irá auxiliar em informações para direcionar estratégias de manejo desses organismos (ROLLINS et al., 2009).

A diversidade genética de Nei (h) é um dos parâmetros utilizados para medir a diversidade genética de plantas, podendo variar entre populações de uma mesma espécie (IGWE et al., 2017). Para *P. juliflora*, os valores de h foram estimados pela primeira vez por Anjos et al., (2022), em um estudo de seleção e caracterização de 23 iniciadores ISSR em 16 acessos. No referido estudo, Anjos et al., (2022b) observou valor total de h de 0,28, semelhante ao valor estimado para os 192 acessos de *P. juliflora* no presente estudo (cujos valores de h para oito e treze populações foram de 0,32 e 0,31, respectivamente. Com iniciadores SSR, o valor de h para *P. juliflora* foi 0,181 (FREITAS et al., 2019).

A diversidade genética a partir de iniciadores ISSR é também verificada para a espécie naturalizada *C. Procera*, onde os valores de h variaram entre 0,10, para o iniciador TriAGA3'RC, e 0,33, para o iniciador DiGA3'T, com média de h estimada em

0,24 (DIAS et al., 2022). Esses mesmos iniciadores (TriAGA3'RC e DiGA3'T) foram utilizados para a estimativa da diversidade e estrutura genética de 192 acessos naturalizados de *P. juliflora*, os quais apresentaram valores médios de h de 0,06 e 0,30, respectivamente.

Segundo Freitas et al., (2019), o histórico de introdução da espécie *P. juliflora* no país (quatro matrizes), podem estar relacionados com os baixos valores de h encontrados no presente estudo. Esse padrão de diversidade genética de Nei parece ser característico do gênero *Prosopis*, quando comparado a outros marcadores. Os valores h foram estimados para os *Simple Sequence Repeats* (SSR) nas espécies *Prosopis rubriflora* Hassl. e *Prosopis ruscifolia* Gris (h variando de 0,00 - 0,88) (ALVES et al., 2014; ALVES et al., 2018), *Prosopis alba* Griseb (h variando de 0,00 - 0,74) (BESSEGA et al., 2018), *Prosopis chilensis* (0,00 - 0,80) (BESSEGA et al., 2013) e para *P. alba*, *P. flexuosa* DC., *P. chilensis* Molina., *P. nigra* Hieron. (h variando de 0,56 - 0,72) (BESSEGA et al., 2021; CASTILLO et al., 2021), *P. laevigata* (Humb. and Bonpl. ex Willd M.C. Johnston) ($h = 0,48$) e *P. pallida* (Humb. & Bonpl. ex Willd.) Kunth (h variando de 0,29 - 0,42) (CASTILLO et al., 2021) e *P. juliflora* (h variando de 0,18 - 0,42) (FREITAS et al., 2019; CASTILLO et al., 2021). Valores de h também foram estimados com uso de marcadores *CAAT box-derived polymorphism* (CBDP) e *Start Codon Targeted* (SCoT) (h variando de 0,096 - 0,170) (SHEKHAWAT et al., 2018), ISSR e *Methods Directed Amplification of Minisatellite-region DNA* (DAMD) (h variando de 0,185 - 0,301) para *Prosopis cineraria* L. (SHARMA et al., 2011), *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) para *P. alba*, *P. ruscifolia*, *P. nigra*, *P. flexuosa* e *Prosopis vinalillo* Stuck. (h variando de 0,12 - 0,26) (FERREYRA et al., 2004).

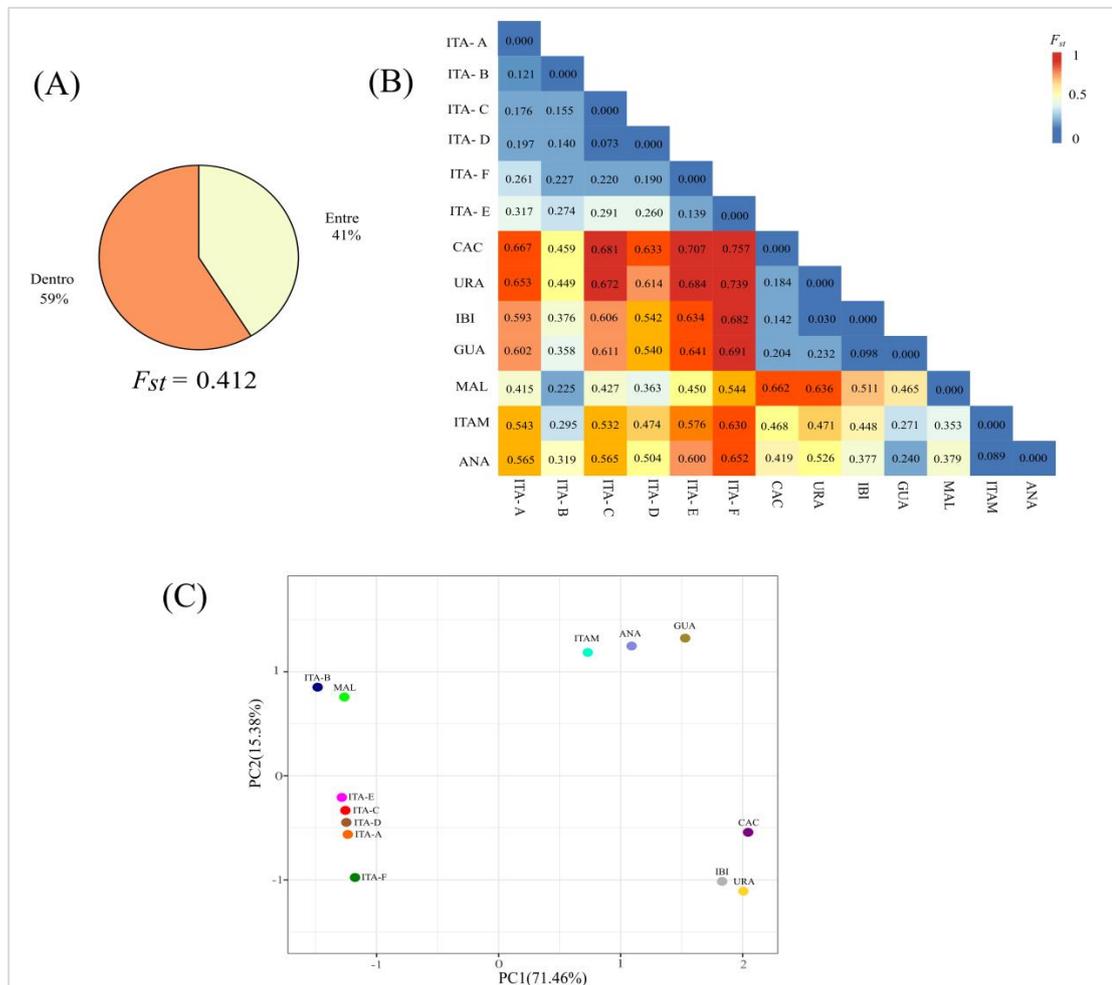
A variação no índice de diversidade genética observada nas populações naturalizadas de *P. juliflora* no presente estudo pode ser justificada pela atuação de diversos fatores, a exemplo da ação de polinizadores, da ação antrópica e do tamanho das populações avaliadas, conforme discutido a seguir. A ausência de polinizadores pode afetar diretamente os níveis de diversidade genética em uma população, principalmente em plantas alógamas (JABIS et al., 2011). Nesse sentido, a *P. juliflora* possui sistema de reprodução alógama (PASIECZNIK et al., 2004; MORIM, 2015) e sua polinização depende principalmente das espécies *Apis mellifera* e *Trigona fuscipennis* (DE SOUSA et al., 2016). No tocante às pressões antrópicas, é sabido que estas são capazes de alterar os níveis de diversidade de uma espécie e, segundo Alves et

al., (2014), essas pressões ocorrem principalmente pela presença do pastejo de bovinos nas áreas de ocorrência da *P. juliflora*.

Por último, os níveis de diversidade genética (MP, %MP e h) encontrados nos 192 acessos de *P. juliflora* com iniciadores ISSR podem sofrer variações devido ao número de acessos coletados, tendo em vista que as seis populações naturalizadas de *P. juliflora* no municípios de Itapetinga apresentaram uma maior densidade vegetal da espécie que nas demais regiões amostradas (dados não publicados). Esse fato é comprovado no estudo desenvolvido por Castillo et al., (2021) onde, ao avaliarem a diversidade genética de marcadores SSR, os valores de h estimados para uma população naturalizada de *P. juliflora* composta por 457 acessos foi de 0,42, enquanto que para a população com 46 acessos, o valor de h foi menor (0,28). Outra questão a ser considerada é a diversidade verificada para *P. juliflora* em ambiente nativo e em ambientes introduzido e adaptado. Segundo Castillo et al., (2021), o valor de h para população em ambiente nativo é maior do que o valor em populações naturalizadas. Os autores observaram essa diferença ao reportarem que mesmo com o número de acessos nativos avaliados serem inferiores (20 acessos) aos exóticos (46 acessos), o nível de h dos acessos do ambiente nativo foi maior (0,31) do que nos ambientes exóticos ($h=0,28$).

As análises de variância molecular (AMOVA) realizadas com treze populações naturalizadas de *P. juliflora*, demonstram a existência de estruturação genética entre as populações (41%) (Figura 2A). A distribuição dos 192 acessos em treze populações naturalizadas, os percentuais de variação foram de 59% presente dentro das populações, enquanto que 41% estavam entre as populações (Figura 2A). O valor de F_{st} foi de 0,412 e sugere alto nível de diferenciação genética entre as populações naturalizadas de *P. juliflora* (Figura 2B). O valor de F_{st} par a par variou de 0,030 a 0,757 para as populações naturalizadas de Urandi e Ibiassucê, e Itapetinga área F e Caculé, respectivamente. Apenas o par populacional Urandi e Ibiassucê apresentou diferenciação genética insignificante ($F_{st} = 0,030$) (Figura 2B). Quinze pares populacionais apresentaram diferenciação genética moderada (F_{st} 0,073 a 0,225), enquanto os demais pares populacionais (62) apresentaram alta diferenciação genética (F_{st} 0,227 a 0,757) (Figura 2B).

Figura 2. Análises de variância molecular (AMOVA) (A), comparações pareadas de diferenciação genética (F_{st}) (B) e análises de coordenadas principais (PCoA) (C) baseadas no polimorfismo observado a partir de 11 iniciadores ISSR em 192 acessos de *Prosopis juliflora* (SW) DC., distribuídos em 13 populações naturalizadas presente nos municípios de Caculé, Urandi, Ibiassucê, Guanambi, Malhada de Pedra, Itambé, Anagé e Itapetinga, na região sudoeste da Bahia.



Nota: ITA – A: Itapetinga área A; ITA – B: Itapetinga área B; ITA – C: Itapetinga área C; ITA – D: Itapetinga área D; ITA – E: Itapetinga área E; ITA – F: Itapetinga área F; CAC: Caculé; URA: Urandi; IBI: Ibiassucê; GUA: Guanambi; MAL: Malhada de Pedra; ITAM: Itambé; ANA: Anagé.

Os percentuais de variação genética verificados com iniciadores SSR indicaram que existe estruturação populacional para os acessos coletados no México, Etiópia, Quênia e Tanzânia (CASTILLO et al., 2021). A AMOVA hierárquica revelou que a variabilidade genética entre as populações nativas e não nativas (introduzidas e invasoras) foi 71,36%, e entre populações invasoras foi 12,32%, enquanto que o percentual obtido dentro de populações invasoras foi 16,32%. Os valores verificados por Castillo et al., (2021) dentro (16,32%) de populações invasoras de *P. juliflora* foram

inferiores (59%) ao obtido para 192 acessos de *P. juliflora* com o uso de iniciadores ISSR. Para populações naturalizadas de *P. juliflora* existentes no Brasil (Bahia), Santos (2021a) observaram um indicativo de variação genética moderada entre populações (26%), a partir de iniciadores RGAs, sendo inferior ao relatado no presente estudo (41%).

A existência de estrutura genética em uma população depende de eventos como isolamento geográfico e condições climáticas, que podem promover mudanças na variabilidade genética, nos padrões de estrutura, distribuição e tamanho populacional (ORTEGO et al., 2012; GUO et al., 2021). Outro fator capaz de alterar a estrutura genética em populações de plantas é o comportamento do agente polinizador. Assim, quando os polinizadores estão restritos a pequenas distâncias, o nível de endogamia dentro da população pode aumentar, enquanto que o inverso é observado quando os processos de dispersão de pólen acontecem a longas distâncias (ZHOU et al., 2018).

A estruturação presente em populações naturalizadas de *P. juliflora* pode ser justificada, segundo Parisod et al., (2005), como uma estratégia evolutiva de uma espécie se manter no novo ambiente, as populações de *Sarracenia purpurea* introduzida na França sob fluxo gênico restrito e dispersão de sementes limitada se estruturam de forma mais rápida. Diante de um contexto de estruturação, a população se organiza em unidades menores de reprodução, eliminando alelos deletérios e selecionando genes coadaptados na população (PARISOD et al., 2005).

A Análise de Coordenadas Principais (PCoA) para treze populações naturalizadas de *P. juliflora*, apresentou em suas duas coordenadas principais, um percentual de 86,84% da variação total (Figura 2C). A distribuição das treze populações nos gráficos de PCoA demonstram majoritariamente menor distância entre as populações de Caculé, Urandi e Ibiassucê (7, 8 e 9), e entre as populações de Guanambi, Itambé e Anagé (10, 12 e 13), em detrimento das populações representativas dos acessos coletados em Itapetinga (populações 1 a 6). Isso pode ser justificado pela proximidade entre as seis populações de Itapetinga quando comparados com acessos das populações de outros municípios (Figura 2C). Esse resultado corrobora com os maiores percentuais de diversidade de Nei observados nessas seis populações (Tabela 1).

O cenário evolutivo que melhor pode justificar o agrupamento desses acessos de *P. juliflora* em Itapetinga é a atuação do efeito fundador no momento da colonização da espécie nessa área, como é verificado por Shirk et al., (2014). A partir do uso de

aloenzimas e marcadores SSR em populações invasoras de *Geranium carolinianum* L. na China, foi verificado fortes efeitos fundadores devido à alta diferenciação entre as populações na cidade de Nanjing, China, à medida que as populações individuais foram estabelecidas e/ou quando ocorrem múltiplas introduções (SHIRK et al., 2014). Como consequência, a diversidade genética em populações naturalizadas de *G. carolinianum* foi menor do que a verificada nas populações em ambiente nativo nos Estados Unidos (SHIRK et al., 2014).

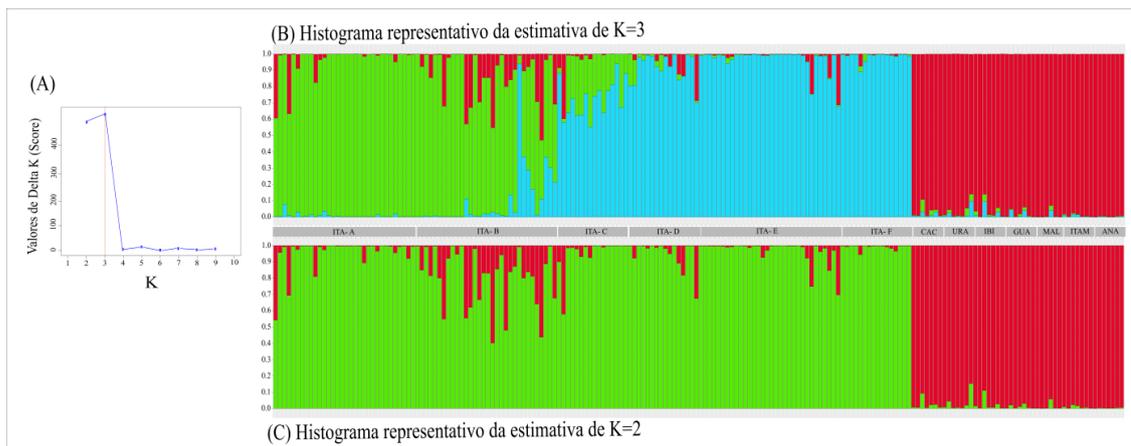
A atuação do efeito fundador nas populações de *P. juliflora* avaliadas no presente estudo traz um forte indício de endogamia, já que as populações existentes no Nordeste brasileiro tenham sido originadas de apenas quatro matrizes (AZEVEDO, 1982; PIRES e KAGEYAMA, 1985). Os primeiros registros na literatura da introdução da algaroba no Brasil aconteceram no Nordeste, em 1942 e 1946, a partir de sementes originadas do Novo México (EUA) e no Peru (BELMONT et al., 2016; BURNETT, 2017). A expansão da algaroba para outras regiões foi mediada via incentivo do governo federal em 1970 (LIMA, 2005; BURNETT, 2017). Apesar da importância de se conhecer o histórico de introdução de espécies, não foram encontrados na literatura dados específicos sobre a provável origem das populações de algaroba nas cidades de Itapetinga, Caculé, Urandi, Ibiassucê, Guanambi, Malhada de Pedra, Itambé e Anagé. Por esse motivo, foi desconsiderada a classificação de BAG (Banco Ativo de Germoplasma) dada por Santos (2021a) para a população de *P. juliflora* do município de Itapetinga, sendo reclassificada, no presente estudo, como uma população naturalizada.

Existe uma discussão com relação aos reais efeitos relacionados à presença de *P. juliflora*, enquanto espécie naturalizada, em biomas brasileiros (Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Floresta Amazônica, Pampa e Pantanal (DE SOUZA NASCIMENTO et al., 2020; REIS et al., 2022) e o manejo da mesma (LIMA, 2005). Nesse sentido, é possível observar diversas aplicações tecnológicas a partir do uso da espécie *P. juliflora* (Anjos et al., 2022a). Os resultados obtidos neste estudo, a partir do uso de iniciadores ISSR, contribuem para o conhecimento acerca da diversidade dessa espécie no Brasil, e podem auxiliar no melhor gerenciamento de estratégias de manejo da mesma.

A estrutura genética populacional verificada através da análise de agrupamento Bayesiano pelo STRUCTURE estimou como o número ideal de clusters mais provável $K = 3$ (ΔK máximo = 478,05) para populações naturalizados de *P. juliflora*, a partir dos

11 iniciadores ISSR, segundo o modelo de Evanno et al., (2005) (Figura 3A). Também foi verificada nesta análise a formação de uma estrutura secundária observada em $K = 2$ (ΔK máximo = 459,76) (Figura 3A).

Figura 3. Análise de agrupamento bayesiano baseadas no polimorfismo observado a partir de 11 iniciadores ISSR em 192 acessos de *Prosopis juliflora* (SW) DC., distribuídos em 13 populações naturalizadas na região sudoeste da Bahia. As estimativas de *pools* gênicos (A) e a distribuição dos acessos em $K = 3$ (B) e $K=2$ (C) estão apresentadas.



Nota: ITA– A: Itapetinga área A (N=32); ITA– B: Itapetinga área B (N=32); ITA– C: Itapetinga área C (N=16); ITA– D: Itapetinga área D (N=16); ITA– E: Itapetinga área E (N=32); ITA– F: Itapetinga área F (N=16); CAC: Caculé (N=7); URA: Urandi (N=7); IBI: Ibiassucê (N=7); GUA: Guanambi (N=7); MAL: Malhada de Pedra (N=6); ITAM: Itambé (N=7); ANA: Anagé (N=7).

Enquanto o número mais provável de cluster no presente estudo foi 3 para populações naturalizadas de *P. juliflora* com iniciadores ISSR, Santos (2021a) verificaram que o número mais provável de cluster foi 2 para populações de *P. juliflora*, avaliadas na mesma região com iniciadores RGA. A estruturação ($K = 2$) obtida por Santos (2021a) é também verificada por Castillo et al., (2021) com populações nativas e invasoras de *P. juliflora* do México, Etiópia, Tanzânia e Quênia.

A distribuição dos acessos de *P. juliflora* dentro do *pool* genético é demonstrada pelas populações naturalizadas por municípios de coleta. Assim, considerando o histograma gerado para $K = 3$, é possível verificar que população naturalizada de *P. juliflora* da cidade de Itapetinga apresentou em sua composição uma mistura de três *pools* gênicos enquanto que as populações naturalizadas de Caculé, Urandi, Ibiassucê, Guanambi, Malhada de Pedra, Itambé e Anagé são representadas, em sua maioria, por

um único *pool* gênico (vermelho) (Figura 3B). Essa mesma estrutura de *pool* gênico foi observada quando considerado $K = 2$, onde a população naturalizada de Itapetinga apresentou uma mistura de dois *pools* gênicos, enquanto as demais populações apresentaram, em sua maior parte, a presença de um único *pool* gênico (Figura 3C).

Ao analisar a estruturação observada dentro das seis populações naturalizadas de *P. juliflora* em Itapetinga, foi possível verificar que todas as seis populações apresentaram mistura dos três *pools* gênicos. A população da área B apresentou maior mistura genética (*pool* gênico) que as demais áreas (Figura 4A e B). Esse resultado está de acordo com o observado na tabela 2, onde a população da área B apresentou os maiores valores para os parâmetros genéticos populacionais MP, %MP e *h* (131, 67,18% e 0,24, respectivamente). Esses resultados podem ser justificados pelo fato dessa área apresentar maior extensão territorial e uma parcela da mesma, além de estar localizada à margem do Rio Catolé Grande, onde apresenta pastagem ampla e a presença de bovinos é constante. Os acessos de *P. juliflora* na área B tem distribuição ampla, mas não formam florestas, o que permite maior fluxo de dispersores (bovinos) (dados não publicados).

A análise de agrupamento bayesiano realizada através do STRUCTURE por Castillo et al., (2021) com populações naturalizada e invasoras de *P. juliflora* demonstrou uma baixa diferenciação genética entre as populações nativas do México e invasoras da Etiópia e Quênia, sendo observado uma estimativa de 2 *pool* gênicos. Esses autores consideraram que a estrutura genética populacional de *P. juliflora* é altamente diferenciada devido a sua poliploidia (tetraplóide) quando comparada com outras espécies diplóides do gênero. No Brasil, Freitas et al., (2019) verificaram a ocorrência de polissomatismo em acessos de *P. juliflora*, onde foi possível identificar a presença de células diplóides ($2n=28$) e poliplóides ($2n=56$) em um mesmo indivíduo. A ocorrência de poliploidia e polissomatismo pode beneficiar o sucesso da invasão de *P. juliflora*, já que facilitam o isolamento reprodutivo entre espécies (CASTILLO et al., 2021) além de promover características morfológicas vantajosas para indivíduos em um novo ambiente, como taxa de crescimento rápido, tolerância a estresses, reprodução efetiva, entre outros (BAROW, 2006; TE BEEST et al., 2012). Não obstante, efeitos fundadores podem levar ao aparecimento de citótipos poliplóides em espécies vegetais após sua introdução (TE BEEST et al., 2012).

A partir da estruturação populacional verificada no presente estudo, é possível

inferir que provavelmente os acessos de *P. juliflora* de Itapetinga tenham origem diferente das populações naturalizadas de Caculé, Urandi, Ibiassucê, Guanambi, Malhada de Pedra, Itambé e Anagé. Essa conformação estrutural é também verificada por Castillo et al., (2021) para populações invasoras de *P. juliflora* no Quênia e Etiópia quando comparado com as populações presentes em Tanzânia.

4. CONCLUSÃO

Os resultados aqui apresentados são inéditos quanto ao uso de iniciadores ISSR em populações naturalizadas de *Prosopis juliflora* (SW) DC. e atestam a eficiência dos ISSR em discriminar polimorfismo presente nessas populações. Tais iniciadores ISSR agregam informações quanto à diversidade e estrutura genética presentes nas populações naturalizadas de *P. juliflora* e podem contribuir para o gerenciamento e manejo da espécie, sobretudo no nordeste do Brasil.

5. REFERENCIAS

ABD EL HALIM, A. M.; AZER, S. A. Taxonomic revision of genus *Prosopis* L. in Egypt. **International Journal of Environment**, v. 4, p. 13-20, 2015.

AKHTAR, N.; HAFIZ, I. A.; HAYAT, M. Q.; POTTER, D.; ABBASI, N. A.; HABIB, U.; MALIK, S. I. ISSR-Based Genetic Diversity Assessment of Genus *Jasminum* L. (Oleaceae) from Pakistan. **Plants**, v. 10, n. 7, p. 1270, 2021.

ALVES, F. M.; SARTORI, Â. L.; ZUCCHI, M. I.; AZEVEDO-TOZZI, A. M.; TAMBARUSSI, E. V.; ALVES-PEREIRA, A.; DE SOUZA, A. P. Genetic structure of two *Prosopis* species in Chaco areas: A lack of allelic diversity diagnosis and insights into the allelic conservation of the affected species. **Ecology and evolution**, v. 8, n. 13, p. 6558-6574, 2018.

ALVES, F. M.; ZUCCHI, M. I.; AZEVEDO-TOZZI, A. M.; SARTORI, Â. L.; SOUZA, A. P. Characterization of microsatellite markers developed from *Prosopis rubriflora* and *Prosopis ruscifolia* (Leguminosae-Mimosoideae), legume species that are used as models for genetic diversity studies in Chaquenian areas under anthropization in South America. **BMC Research Notes**, v. 7, n. 1, p. 1-6, 2014.

AMITEYE, S. Basic concepts and methodologies of DNA marker systems in plant molecular breeding. **Heliyon**, v. 7, n. 10, p. e08093, 2021.

ANJOS, Q. Q. A.; SANTOS, L. H. T.; MEIRA, M. R.; DOS SANTOS, E. S. L.; CERQUEIRA-SILVA, C. B. M. Histórico e perspectivas sobre algaroba (*Prosopis juliflora*): uma ênfase no avanço das caracterizações genético e moleculares com vistas a conservação e melhoramento. Pesquisas em temas de Ciências Agrárias. **RFB Editora**, v. 5, p. 129 – 165, Ago., 2022. Disponível em: <https://en.rfbeditora.com/ebooks-2022/historico-e-perspectivas-sobre-algaroba>. Acesso em: 08 dez. 2022a.

ANJOS, Q. Q. A.; SANTOS, L. H. T.; MEIRA, M. R.; DOS SANTOS, T. O.; LIMA, J. C.; DOS SANTOS, E. S. L.; CERQUEIRA-SILVA, C. B. M. Characterization and selection of inter simple sequence repeat markers for genetic studies of mesquite. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 9, p. e9011930070-e9011930070, 2022b.

APG IV. (2016) An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Botanical Journal of the Linnean Society** 181: 1–20. Disponível em: <<https://www.britannica.com/plant/mesquite-plant>>. Acesso em: 28 mai. 2022.

BAROW, M. Endopolyploidy in seed plants. **BioEssays**, v. 28, n. 3, p. 271-281, 2006.

BEALE, T.; KRITICOS, D. J.; WITT, A. B.; NUNDA, W. A preliminary assessment of the presence and distribution of invasive and potentially invasive alien plant species in Laikipia County, Kenya, a biodiversity hotspot. **Koedoe: African Protected Area Conservation and Science**, v. 62, n. 1, p. 1-10, 2020.

BELMONT, A. R. B.; NEVES, A. M. B.; NOBRE, F. V.; FONSECA, J. R.; MEDEIROS, M. C.; BELCHIOR FILHO, V. Algaroba na alimentação animal. **SEBRAE/RN**, 44 p., 2016.
BESSEGA, C. F., Pometti, C. L., Miller, J. T., Watts, R., Saidman, B. O., & Vilardi, J. C. I. New microsatellite loci for *Prosopis alba* and *P. chilensis* (Fabaceae). **Applications in Plant Sciences**, v. 1, n. 5, p. 1200324, 2013.

BESSEGA, C.; POMETTI, C.; FORTUNATO, R.; GREENE, F.; SANTORO, C. M.; MCROSTIE, V. Genetic studies of various *Prosopis* species (Leguminosae, Section Algarobia) co-occurring in oases of the Atacama Desert (northern Chile). **Ecology and evolution**, v. 11, n. 5, p. 2375-2390, 2021.

BESSEGA, C.; POMETTI, C.; LÓPEZ, R. P.; LARREA-ALCÁZAR, D.; FORTUNATO, R. H.; SAIDMAN, B.; VILARDI, J. C Genetic diversity and differentiation among *Prosopis alba* (Leguminosae) populations from dry valleys of Bolivia with different levels of human disturbance and altitude. **Ecology and Evolution**, v. 8, n. 22, p. 11309-11321, 2018.

BOTSTEIN, D.; WHITE, R. L.; SKOLNICK, M.; DAVIS, R. W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. **American journal of human genetics**, v. 32, n. 3, p. 314, 1980.

BURNETT, A. A saga político-ecológica da algaroba no semiárido brasileiro. **Revista de Estudos Sociais**, v. 19, n. 38, p. 148-175, 2017.

CASTILLO, M. L.; SCHAFFNER, U.; VAN WILGEN, B. W.; MONTAÑO, N. M.; BUSTAMANTE, R. O.; COSACOV, A.; LE ROUX, J. J. Genetic insights into the globally invasive and taxonomically problematic tree genus *Prosopis*. **AoB Plants**, v. 13, n. 1, p. plaa069, 2021.

CHAUDHARY, K.; SARASWAT, P. K.; KHAN, S. Improvement in fluoride remediation technology using GIS based mapping of fluoride contaminated groundwater and microbe assisted phytoremediation. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 168, p. 164-176, 2019.

CHESNOKOV, Y. V.; ARTEMYEVA, A. M. Evaluation of the measure of polymorphism information of genetic diversity. **Сельскохозяйственная биология**, n. 5 (eng), p. 571-578, 2015.

CIRILO, N. R. M.; DE MEDEIROS NETO, P. N.; DA SILVA RIBEIRO, L.; MOREIRA, G.

L.; DO CARMO, F. C. D. A.; DE MEDEIROS, N. C. G. Caracterização da madeira de *Prosopis juliflora* utilizada na indústria de cerâmica vermelha no semi-árido brasileiro. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 16, n. 4, p. 178-182, 2021.

CONTRERAS, R.; VAN DEN BRINK, L.; BURGOS, B.; GONZÁLEZ, M.; GACITÚA, S. Genetic Characterization of an endangered Chilean endemic species, *Prosopis burkartii* Muñoz, reveals its hybrids parentage. *Plants*, v. 9, n. 6, p. 744, 2020.

CONVENÇÃO SOBRE DIVERSIDADE BIOLÓGICA – CDB, Decisão VI/23, 2002. Disponível em: < <http://www.cbd.int/decision/cop/?id=7197>>. Acesso em 21 abr. 2022.

CRUZ, C. D. **Programa Genes: estatística experimental e matrizes**. UFV, 2006.

DE MELO CAVALCANTE, A. M.; DE MELO, A. M.; DA SILVA, A. V. F.; DA SILVA NETO, G. J.; BARBI, R. C. T.; IKEDA, M.; DA SILVA, O. S. Mesquite (*Prosopis juliflora*) grain flour: new Ingredient with bioactive, nutritional and physical-chemical properties for food applications. **Future Foods**, s/v.: p. 100114, 2022.

DE SOUSA, J. K. G.; DA COSTA, H. B.; DE OLIVEIRA, M.; GUIMARÃES-BRASIL, D. D. F. B.; DE SOUZA, E. A. Frequência e comportamento de visitantes florais na algarobeira (*Prosopis juliflora* (Sw) DC.) em Alexandria-RN. **Agropecuária Científica no Semi-Árido**, v. 12, p. 112-120, 2016.

DE SOUZA NASCIMENTO, C. E.; DA SILVA, C. A. D.; LEAL, I. R.; DE SOUZA TAVARES, W.; SERRÃO, J. E.; ZANUNCIO, J. C.; TABARELLI, M. Seed germination and early seedling survival of the invasive species *Prosopis juliflora* (Fabaceae) depend on habitat and seed dispersal mode in the Caatinga dry forest. **PeerJ**, v. 8, p. e9607, 2020.

DIAS, C. S.; SANTOS, L. H. T.; MEIRA, M. R.; SANTOS, E. S. L. D.; CERQUEIRA-SILVA, C. B. M. AMPLIFICATION AND SELECTION PROFILE OF ISSR MARKERS FOR GENETIC STUDIES IN *Calotropis procera*. **Revista Caatinga**, v. 35, p. 739-746, 2022.

EARL, D. A.; VONHOLDT, B. M. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. **Conservation genetics resources**, v. 4, n. 2, p. 359-361, 2012.

EDRISI, S. A.; EL-KEBLAWY, A.; ABHILASH, P. C. Sustainability analysis of *Prosopis juliflora* (Sw.) DC based restoration of degraded land in North India. **Land**, v. 9, n. 2, p. 59, 2020.

ELMEER, K.; ALMALKI, A. DNA finger printing of *Prosopis cineraria* and *Prosopis juliflora* using ISSR and RAPD techniques. **American Journal of Plant Sciences**, v. 2, n. 4, p. 527, 2011.

EVANNO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. **Molecular ecology**, v. 14, n. 8, p. 2611-2620, 2005.

EXCOFFIER, L.; SMOUSE, P. E.; QUATTRO, J. M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. **Genetics**, v. 131, n. 2, p. 479-491, 1992.

FAISAL, M.; ALATAR, A. A.; AHMAD, N.; ANIS, M.; HEGAZY, A. K. Assessment of

genetic fidelity in *Rauvolfia serpentina* plantlets grown from synthetic (encapsulated) seeds following in vitro storage at 4 C. **Molecules**, v. 17, n. 5, p. 5050-5061, 2012.

FERREYRA, L. I.; BESSEGA, C.; VILARDI, J. C.; SAIDMAN, B. O. First report on RAPDs patterns able to differentiate some Argentinean species of section *Algarobia* (*Prosopis*, Leguminosae). **Genetica**, v. 121, n. 1, p. 33-42, 2004.

FLIHI, J.; RHIMI, A.; YANGUI, I.; MESSAOUD, C.; BEN ELHADJ ALI, I. Genetic diversity and population structure of Tunisian wild Kermes oak (*Quercus coccifera* L.): Assessment by ISSR molecular markers and implication for conservation. **Molecular Biology Reports**, p. 1-10, 2022.

FREITAS, L. S. **Transferibilidade de marcadores microssatélites e diversidade genética em uma população diploide de algaroba**. 2017. 60 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus/BA, 2017.

FREITAS, L. S.; MELO, C. A.; GAIOTTO, F. A.; CORRÊA, R. X. SSR based genetic diversity analysis in diploid algaroba (*Prosopis* spp.) population. **Journal of Agricultural Science (Toronto)**, v. 11, n. 1, p. 179-190, 2019.

GEMMILL, C. E.; GRIERSON, E. R. Inter-Simple Sequence Repeats (ISSR), Microsatellite-Primed Genomic Profiling Using Universal Primers. In: **Molecular Plant Taxonomy**. Humana, New York, NY, 2021. p. 249-262.

GUO, B.; HAO, X.; HAN, L.; ZHAI, Y.; ZHOU, S.; CHEN, S.; AN, X. Unraveling the genetic diversity and structure of *Quercus liaotungensis* population through analysis of microsatellite markers. **PeerJ**, v. 9, p. e10922, 2021.

GUO, W. Y.; LAMBERTINI, C.; PYŠEK, P.; MEYERSON, L. A.; BRIX, H. Living in two worlds: Evolutionary mechanisms act differently in the native and introduced ranges of an invasive plant. **Ecology and evolution**, v. 8, n. 5, p. 2440-2452, 2018.

HAMMOND, C. M.; ROOT, R. A.; MAIER, R. M.; CHOROVER, J. Mechanisms of arsenic sequestration by *Prosopis juliflora* during the phytostabilization of metalliferous mine tailings. **Environmental science & technology**, v. 52, n. 3, p. 1156-1164, 2018.

HAQ, S.; DUBEY, S.; DHINGRA, P.; VERMA, K. S.; KUMARI, D.; KOTHARI, S. L.; KACHHWAHA, S. Exploring the genetic makeup and population structure among *Capsicum* accessions for crop improvement and breeding curriculum insights. **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology**, v. 20, n. 1, p. 1-18, 2022.

HATZILAZAROU, S.; KOSTAS, S.; NENDOU, T.; ECONOMOU, A. Conservation, regeneration and genetic stability of regenerants from alginate-encapsulated shoot explants of *Gardenia jasminoides* Ellis. **Polymers**, v. 13, n. 10, p. 1666, 2021.

IGWE, D. O.; AFIUKWA, C. A.; UBI, B. E.; OGBU, K. I.; OJUEDERIE, O. B.; UDE, G. N. Assessment of genetic diversity in *Vigna unguiculata* L.(Walp) accessions using inter-simple sequence repeat (ISSR) and start codon targeted (SCoT) polymorphic markers. **BMC genetics**, v. 18, n. 1, p. 1-13, 2017.

IUCN, Species Survival Commission. IUCN guidelines for the prevention of biodiversity loss caused by alien invasive species. **Aliens**, v. 11, p. 15, 2000.

JABIS, M. D.; AYERS, T. J.; ALLAN, G. J. Pollinator-mediated gene flow fosters genetic

variability in a narrow alpine endemic, *Abronia alpina* (Nyctaginaceae). **American Journal of Botany**, v. 98, n. 10, p. 1583-1594, 2011.

JOCIENĖ, L.; STRAVINSKAITĖ, K.; KROKAITĖ, E.; JANULIONIENĖ, R.; REKAŠIUS, T.; PAULAUSKAS, A.; KUPČINSKIENĖ, E. AFLP-Based Genetic Structure of Lithuanian Populations of Small Balsam (*Impatiens parviflora* DC.) in Relation to Habitat Characteristics. **Forests**, v. 13, n. 8, p. 1228, 2022.

JUNAEDI, D. I.; GUILLERA-ARROITA, G.; VESK, P. A.; MCCARTHY, M. A.; BURGMAN, M. A.; CATFORD, J. A. Traits explain invasion of alien plants into tropical rainforests. **Ecology and evolution**, v. 11, n. 9, p. 3808-3819, 2021.

KENDALL, H. W. Press release: announcing world scientists' warning to humanity. In: **A Distant Light**. Springer, New York, NY, p. 193-197. 2000.

KUMAR, R.; KUMAR, C.; PALIWAL, R.; ROY CHOUDHURY, D.; SINGH, I.; KUMAR, A.; SINGH, R. Development of novel genomic simple sequence repeat (g-SSR) markers and their validation for genetic diversity analyses in Kalmegh [*Andrographis paniculata* (Burm. F.) Nees]. **Plants**, v. 9, n. 12, p. 1734, 2020.

LAZZARO, L.; ESSL, F.; LUGLIÈ, A.; PADEDDA, B. M.; PYŠEK, P.; BRUNDU, G. Invasive alien plant impacts on human health and well-being. In: Capizzi, D.; Monaco, A.; Genovesi, P.; Scalera, R.; Carnevali, L. **Invasive species and human health**. New York, NY, USA: CAB International, 2018. v. 13, n. 10, p. 16-33, 2018. Disponível em: <<https://www.sprep.org/attachments/VirLib/Global/cabi-health-ias.pdf>>. Acesso em 02 jan. 2022.

LEÃO, T. C.; ALMEIDA, W. R.; DECHOUM, M. D. E. S.; ZILLER, S. R. Espécies exóticas invasoras no Nordeste do Brasil: contextualização, manejo e políticas públicas. **Centro de Pesquisas Ambientais do Nordeste e Instituto Hórus de Desenvolvimento e Conservação Ambiental. Recife, PE**, v. 99, 2011.

LEITE FILHO, M. T. **Produção de etanol combustível primeira e segunda geração a partir de vagens de algaroba (*Prosopis juliflora* Sw. Dc.)**. 2020. 122 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Campina Grande/PB, 2020.

LIMA, P. C. F. Manejo de áreas individuais de algaroba: relatório final. **Embrapa Semiárido-Outras publicações científicas (ALICE)**, 2005.

MAZZA, G.; TRICARICO, E.; GENOVESI, P.; GHERARDI, F. Biological invaders are threats to human health: an overview. **Ethology Ecology & Evolution**, v. 26, n. 2-3, p. 112-129, 2014.

MCNEELY, J. A.; MOONEY, H. A.; NEVILLE, L. E.; SCHEI, P.; WAAGE, J. K. Estrategia mundial sobre espécies exóticas invasoras. **Global Invasive Species Programme (GISP). International Union for the Conservation of Nature (IUCN). Gland, Suíça and Cambridge, UK**, 2001.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE - MMA. A Convenção sobre diversidade biológica–CDB. **Cópia do Decreto Legislativo**, n. 2, p. 30, 2000. Disponível em: <<https://www.gov.br/mma/pt-br/textoconvenoportugus.pdf>>. Acesso em 18 fev. 2022.

MORIM, M. P. *Prosopis* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB18991>>. Acesso em: 15 nov. 2022.

- NASCIMENTO, C. E. S.; TABARELLI, M.; DA SILVA, C. A. D.; LEAL, I. R.; DE SOUZA TAVARES, W.; SERRÃO, J. E.; ZANUNCIO, J. C. The introduced tree *Prosopis juliflora* is a serious threat to native species of the Brazilian Caatinga vegetation. **Science of the Total Environment**, v. 481, p. 108-113, 2014.
- NAZIR, M.; MAHAJAN, R.; HASHIM, M. J.; IQBAL, J.; ALYEMENI, M. N.; GANAI, B. A.; ZARGAR, S. M. Deciphering allelic variability and population structure in buckwheat: An analogy between the efficiency of ISSR and SSR markers. **Saudi journal of biological sciences**, v. 28, n. 11, p. 6050-6056, 2021.
- NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics**, v. 89, n. 3, p. 583-590, 1978.
- OLMSTEAD, R. G. Are invasive plants an inevitable consequence of evolution?. **American Journal of Botany**, v. 93, n. 8, p. 1236-1239, 2006.
- ORTEGO, J.; RIORDAN, E. C.; GUGGER, P. F.; SORK, V. L. Influence of environmental heterogeneity on genetic diversity and structure in an endemic southern Californian oak. **Molecular Ecology**, v. 21, n. 13, p. 3210-3223, 2012.
- OSIPOVA, E. S.; STEPANOVA, A. Y.; TERESHONOK, D. V.; GLADKOV, E. A.; VYSOTSKAYA, O. N. Genetic Diversity in Invasive Populations of *Lupinus polyphyllus* Lindl. and *Heracleum sosnowskyi* Manden. **Biology**, v. 10, n. 11, p. 1094, 2021.
- PARAB, A. R.; LYNN, C. B.; SUBRAMANIAM, S. Assessment of genetic stability on in vitro and ex vitro plants of *Ficus carica* var. black jack using ISSR and DAMD markers. **Molecular Biology Reports**, v. 48, n. 11, p. 7223-7231, 2021.
- PARISOD, C.; TRIPPI, C.; GALLAND, N. Genetic variability and founder effect in the pitcher plant *Sarracenia purpurea* (Sarraceniaceae) in populations introduced into Switzerland: from inbreeding to invasion. **Annals of Botany**, v. 95, n. 2, p. 277-286, 2005.
- PASIECZNIK, N. M.; HARRIS, P. J.; SMITH, S. J. **Identifying tropical Prosopis species: a field guide**. Coventry, UK: HDRA Publishing, 2004, p. 29, 2004.
- PASIECZNIK, N. M.; FELKER, P.; HARRIS, P. J.; HARSH, L.; CRUZ, G.; TEWARI, J. C.; MALDONADO, L. J. **The Prosopis juliflora-Prosopis pallida complex: a monograph**. Coventry: HDRA, 2001.
- PEAKALL, R. O. D.; SMOUSE, P. E. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. **Molecular ecology notes**, v. 6, n. 1, p. 288-295, 2006.
- PEREIRA, M. D.; ROMEIRO, T. C. O. D. S.; FLORES, A. V.; SEVERIANO, R. L. Germinação e biometria de frutos e sementes de *Prosopis juliflora* (Sw) DC. **Ciência Florestal**, v. 28, p. 1271-1281, 2018.
- PIRES, I. E.; KAGEYAMA, P. Y. Caracterização da base genética de uma população de algaroba - *Prosopis juliflora* (SW) DC- existente na região de Soledade-PB. **Embrapa Semiárido-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 1985.
- PRITCHARD, J. K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, v. 155, n. 2, p. 945-959, 2000.

PYŠEK, P.; HULME, P. E.; SIMBERLOFF, D.; BACHER, S.; BLACKBURN, T. M.; CARLTON, J. T.; RICHARDSON, D. M. Scientists' warning on invasive alien species. **Biological Reviews**, v. 95, n. 6, p. 1511-1534, 2020.

RAI, P. K.; SINGH, J. S. Invasive alien plant species: Their impact on environment, ecosystem services and human health. **Ecological indicators**, v. 111, p. 106020, 2020.

RANI, B. S. J.; VENKATACHALAM, S. Cleaner approach for the cascade production of nanohemicellulose and nanolignin from *Prosopis juliflora*. **Carbohydrate Polymers**, p. 119807, 2022.

REIS, D. O.; DE ARAÚJO, K. C. T.; DA SILVA, F. O.; SANTOS, M. Í. D. A. G.; FABRICANTE, J. R. Distribuição de espécies exóticas invasoras em diferentes cenários no território brasileiro. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 3, p. e54711327072-e54711327072, 2022.

REIS, D. O.; DE ARAÚJO, K. C. T.; DA SILVA, F. O.; SANTOS, M. Í. D. A. G.; FABRICANTE, J. R. Distribuição de espécies exóticas invasoras em diferentes cenários no território brasileiro. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 3, p. e54711327072-e54711327072, 2022.

RIBASKI, J.; DRUMOND, M. A.; DE OLIVEIRA, V. R.; NASCIMENTO, C. D. S. Algaroba (*Prosopis juliflora*): árvore de uso múltiplo para a região semiárida brasileira. **Embrapa Florestas-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2009.

RICHARDSON, D. M.; PYŠEK, P.; REJMANEK, M.; BARBOUR, M. G.; PANETTA, F. D.; WEST, C. J. Naturalization and invasion of alien plants: concepts and definitions. **Diversity and distributions**, v. 6, n. 2, p. 93-107, 2000.

RIPPLE, W. J.; WOLF, C.; NEWSOME, T. M.; GALETTI, M.; ALAMGIR, M.; CRIST, E.; 15,364 Scientist Signatories from 184 Countries. World scientists' warning to humanity: a second notice. **BioScience**, v. 67, n. 12, p. 1026-1028, 2017.

ROLLINS, L. A.; WOOLNOUGH, A. P.; WILTON, A. N.; SINCLAIR, R. O. N.; SHERWIN, W. B. Invasive species can't cover their tracks: using microsatellites to assist management of starling (*Sturnus vulgaris*) populations in Western Australia. *Molecular Ecology*, v. 18, n. 8, p. 1560-1573, 2009.

SADEQ, M. A.; ABIDO, M. S.; SALIH, A. A.; ALKHUZAI, J. A. The effects of mesquite (*Prosopis juliflora*) on soils and plant communities in the deserted rangelands of Bahrain. **International Journal of Forestry Research**, v. 2020, 2020.

SALEH, I.; AHMED, T.; HALBOOSI, R.; ABU-DIEYEH, M. Genetic diversity of *Prosopis juliflora* in the state of Qatar and its valuable use against postharvest pathogen of mango fruits. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 1-13, 2022.

SANTOS, A. I.; CALAFATE, L. Espécies invasoras. **Revista de Ciência Elementar**, v. 6, n. 1, 2018.

SANTOS, L. H. T. **Caracterizações genéticas e moleculares em algaroba (*Prosopis juliflora* (sw.) DC)**. 2021. 77 f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga/BA, 2021a.

SANTOS, L. H. T.; DIAS, C. S.; SILVEIRA, L. A.; MEIRA, M. R.; DOS SANTOS, E. S. L.; CERQUEIRA-SILVA, C. B. M. Characterization and selection of markers associated with resistance analogous genes as input for genetic analysis of *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. **Acta Scientiarum. Technology**, v. 43, p. e51983-e51983, 2021b.

SANTOS, L. H. T.; DIAS, C. S.; LIMA, J. C.; MEIRA, M. R.; SILVA, C. B. M. C. Análise comparativa de protocolos para extração de DNA genômico em *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. **Biotemas**, v. 34, p. 1-7, 2021c.

SHARIFI-RAD, J.; KOBARFARD, F.; ATA, A.; AYATOLLAHI, S. A.; KHOSRAVI-DEHAGHI, N.; JUGRAN, A. K.; KOSTIĆ, A. *Prosopis* plant chemical composition and pharmacological attributes: Targeting clinical studies from preclinical evidence. **Biomolecules**, v. 9, n. 12, p. 777, 2019.

SHARMA, S. K.; KUMAR, S.; RAWAT, D.; KUMARIA, S.; KUMAR, A.; RAO, S. R. Genetic diversity and gene flow estimation in *Prosopis cineraria* (L.) Druce: a key stone tree species of Indian Thar Desert. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 39, n. 1, p. 9-13, 2011.

SHEIKH, Z. N.; SHARMA, V.; SHAH, R. A.; SHARMA, N.; SUMMUNA, B.; AL-MISNED, F. A.; MIR, J. I. Genetic diversity analysis and population structure in apricot (*Prunus armeniaca* L.) grown under north-western himalayas using ISSR markers. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 28, n. 10, p. 5986-5992, 2021.

SHEKHAWAT, J. K.; RAI, M. K.; SHEKHAWAT, N. S.; KATARIA, V. Exploring genetic variability in *Prosopis cineraria* using two gene targeted CAAT box-derived polymorphism (CBDP) and start codon targeted (SCoT) polymorphism markers. **Molecular biology reports**, v. 45, n. 6, p. 2359-2367, 2018.

SHIRK, R. Y.; HAMRICK, J. L.; ZHANG, C.; QIANG, S. Patterns of genetic diversity reveal multiple introductions and recurrent founder effects during range expansion in invasive populations of *Geranium carolinianum* (Geraniaceae). **Heredity**, v. 112, n. 5, p. 497-507, 2014.

SINGH, S.; MALHOTRA, S.; MUKHERJEE, P.; MISHRA, R.; FAROOQI, F.; SHARMA, R. S.; MISHRA, V. Peroxidases from an invasive Mesquite species for management and restoration of fertility of phenolic-contaminated soil. **Journal of Environmental Management**, v. 256, p. 109908, 2020.

SINGH, S.; MISHRA, R.; SHARMA, R. S.; MISHRA, V. Phenol remediation by peroxidase from an invasive mesquite: Turning an environmental wound into wisdom. **Journal of hazardous materials**, v. 334, p. 201-211, 2017.

SUNNUCKS, P.; HALES, D. F. Numerous transposed sequences of mitochondrial cytochrome oxidase I-II in aphids of the genus *Sitobion* (Hemiptera: Aphididae). **Molecular biology and evolution**, v. 13, n. 3, p. 510-524, 1996.

TE BEEST, M.; LE ROUX, J. J.; RICHARDSON, D. M.; BRYSTING, A. K.; SUDA, J.; KUBEŠOVÁ, M.; PYŠEK, P. The more the better? The role of polyploidy in facilitating plant invasions. **Annals of botany**, v. 109, n. 1, p. 19-45, 2012.

VASHISHTHA, A.; JEHAN, T.; LAKHANPAUL, S. Genetic diversity and population structure of *Butea monosperma* (Lam.) Taub.-a potential medicinal legume tree. **Physiology and molecular biology of plants**, v. 19, n. 3, p. 389-397, 2013.

- WAKIE, T. T.; EVANGELISTA, P. H.; JARNEVICH, C. S.; LAITURI, M. Mapping current and potential distribution of non-native *Prosopis juliflora* in the Afar region of Ethiopia. **PloS one**, v. 9, n. 11, p. e112854, 2014.
- WAKIE, T. T.; HOAG, D.; EVANGELISTA, P. H.; LUIZZA, M.; LAITURI, M. Is control through utilization a cost effective *Prosopis juliflora* management strategy?. **Journal of Environmental Management**, v. 168, p. 74-86, 2016.
- WRIGHT, S. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. **Evolution**, p. 395-420, 1965.
- XIA, L.; GENG, Q. I; AN, S. Rapid genetic divergence of an invasive species, *Spartina alterniflora*, in China. **Frontiers in genetics**, v. 11, p. 284, 2020.
- XU, H.; LIU, Q.; WANG, S.; YANG, G.; XUE, S. A global meta-analysis of the impacts of exotic plant species invasion on plant diversity and soil properties. **Science of the Total Environment**, v. 810, p. 152286, 2022.
- YAN, X.; WANG, Z.; MA, J. The checklist of the naturalized plants in China. **Shanghai Science and Technology Press: Shanghai, China**, 2019.
- YANG, L.; CHEN, J.; HU, W.; YANG, T.; ZHANG, Y.; YUKIYOSHI, T.; WANG, Y. Population genetic structure of *Glycyrrhiza inflata* B. (Fabaceae) is shaped by habitat fragmentation, water resources and biological characteristics. **PloS one**, v. 11, n. 10, p. e0164129, 2016.
- YASUDA, H.; ABD ELBASIT, M. A.; YODA, K.; BERNDTSSON, R.; KAWAI, T.; NAWATA, H.; SAITO, T. Diurnal fluctuation of groundwater levels caused by the invasive alien mesquite plant. **Arid Land Research and Management**, v. 28, n. 2, p. 242-246, 2014.
- YEH, F. C.; YANG, R. C.; BOYLE, T. B. J.; YE, Z. H.; MAO, J. X. POPGENE, the user-friendly shareware for population genetic analysis, version 1.31. **Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, Alberta**, 1997.
- YOUNG, A. M.; LARSON, B. M. Clarifying debates in invasion biology: a survey of invasion biologists. **Environmental Research**, v. 111, n. 7, p. 893-898, 2011.
- ZERBO, G. C.; KONRAD, H.; OUEDRAOGO, M.; GEBUREK, T. Fourteen simple-sequence repeats newly developed for population genetic studies in *Prosopis africana* (Fabaceae–Mimosoideae). **BMC research notes**, v. 10, n. 1, p. 1-5, 2017.
- ZHOU, J.; DUDASH, M. R.; ZIMMER, E. A.; FENSTER, C. B. Comparison of population genetic structures of the plant *Silene stellata* and its obligate pollinating seed predator moth *Hadena ectypa*. **Annals of botany**, v. 122, n. 4, p. 593-603, 2018.

V CONSIDERAÇÕES FINAIS

Entender o histórico de introdução, os processos de adaptação, dispersão, reprodução e os diferentes usos de *Prosopis juliflora* (Sw). DC., além do andamento de pesquisas que envolvem a diversidade genética no país e no mundo são essenciais para gerenciar estratégias de manejo da espécie.

Os estudos de caracterização e seleção com marcadores ISSR são essenciais para indicar quais iniciadores são mais adequados para se utilizar na espécie *P. juliflora*, além de serem fundamentais para o estudo de diversidade genética populacional da espécie no país. Com os resultados obtidos na tese é possível conduzir novos estudos sem a necessidade de novas caracterizações e seleções de outros iniciadores ISSR.

A partir do estudo de diversidade genética e estruturação populacional, com iniciadores ISSR, foi possível verificar que as populações naturalizadas de *P. juliflora* encontradas na Bahia, Brasil, apresentam estruturação genética, mesmo possuindo baixa diversidade. Os resultados gerados através de iniciadores ISSR são úteis para serem utilizados em estratégias de manejo em populações naturalizadas de *P. juliflora*, permitindo uma maior eficiência no uso desse recurso genético vegetal naturalizado.

VI REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMITEYE, S. Basic concepts and methodologies of DNA marker systems in plant molecular breeding. **Heliyon**, v. 7, n. 10, p. e08093, 2021.

ANJOS, Q. Q. A.; SANTOS, L. H. T.; MEIRA, M. R.; DOS SANTOS, T. O.; LIMA, J. C.; DOS SANTOS, E. S. L.; CERQUEIRA-SILVA, C. B. M. Characterization and selection of inter simple sequence repeat markers for genetic studies of mesquite. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 9, p. e9011930070-e9011930070, 2022.

BELMONT, A. R. B.; NEVES, A. M. B.; NOBRE, F. V.; FONSECA, J. R.; MEDEIROS, M. C.; BELCHIOR FILHO, V. Algaroba na alimentação animal. **SEBRAE/RN**, 44 p., 2016.

BURNETT, A. A saga político-ecológica da algaroba no semiárido brasileiro. **Revista de Estudos Sociais**, v. 19, n. 38, p. 148-175, 2017.

DE OLIVEIRA, V. R.; DE CARVALHO, M. T. V.; MARTINS-CORDER, M. P.; DERBYSHIRE, E. Variabilidade genética em populações de algaroba (*Prosopis juliflora* (SW). DC.) na região semi-árida do Nordeste. In: **Embrapa Semiárido-Resumo em anais de congresso (ALICE)**. In: ENCONTRO CIENTÍFICO DOS PÓS-GRADUADOS DO CENA/USP, 2., 1996, Piracicaba. Resumos. Piracicaba: CENA, 1996.

FREITAS, L. S. **Transferibilidade de marcadores microssatélites e diversidade genética em uma população diploide de algaroba**. 2017. 60 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus/BA, 2017.

FREITAS, L. S.; MELO, C. A.; GAIOTTO, F. A.; CORRÊA, R. X. SSR based genetic diversity analysis in diploid algaroba (*Prosopis* spp.) population. **Journal of Agricultural Science (Toronto)**, v. 11, n. 1, p. 179-190, 2019.

GOMES, R. A.; MIRANDA, R. S. Dinâmicas institucionais e interações sociais: os efeitos não planejados da modernização da agricultura no Brasil e na França. **Interações (Campo Grande)**, v. 17, p. 134-144, 2016.

NASCIMENTO, C. E. S.; TABARELLI, M.; DA SILVA, C. A. D.; LEAL, I. R.; DE SOUZA TAVARES, W.; SERRÃO, J. E.; ZANUNCIO, J. C. The introduced tree *Prosopis juliflora* is a serious threat to native species of the Brazilian Caatinga vegetation. **Science of the Total Environment**, v. 481, p. 108-113, 2014.

PEGADO, C. M. A.; ANDRADE, L. A. D.; FÉLIX, L. P.; PEREIRA, I. M. Efeitos da invasão biológica de algaroba: *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. sobre a composição e a estrutura do estrato arbustivo-arbóreo da caatinga no Município de Monteiro, PB, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 20, p. 887-898, 2006.

PIRES, I. E.; KAGEYAMA, P. Y. Caracterização da base genética de uma população de algaroba - *Prosopis juliflora* (SW) DC- existente na região de Soledade-

PB. **Embrapa Semiárido-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 1985.

RICHARDSON, D. M.; PYŠEK, P.; REJMANEK, M.; BARBOUR, M. G.; PANETTA, F. D.; WEST, C. J. Naturalization and invasion of alien plants: concepts and definitions. **Diversity and distributions**, v. 6, n. 2, p. 93-107, 2000.

SALEH, I.; AHMED, T.; HALBOOSI, R.; ABU-DIEYEH, M. Genetic diversity of *Prosopis juliflora* in the state of Qatar and its valuable use against postharvest pathogen of mango fruits. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 1-13, 2022.

SANTOS, L. H. T.; DIAS, C. S.; SILVEIRA, L. A.; MEIRA, M. R.; DOS SANTOS, E. S. L.; CERQUEIRA-SILVA, C. B. M. (2021). Characterization and selection of markers associated with resistance analogous genes as input for genetic analysis of *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. **Acta Scientiarum. Technology**, v. 43, p. e51983-e51983, 2021.

YAN, X.; WANG, Z.; MA, J. The checklist of the naturalized plants in China. **Shanghai Science and Technology Press: Shanghai, China**, 2019.

VII – APÊNDICES I

1. Normas para publicação na Editora RFB

TÍTULO EM LÍNGUA PORTUGUESA

O título em língua portuguesa deve estar em letras maiúsculas, tamanho 14 pt, negrito e centralizado.

TÍTULO EM LÍNGUA INGLESA

O título em língua inglesa deve estar em letras maiúsculas, tamanho 14 pt, itálico e centralizado.

Nome completo do autor¹

Nome completo do autor²

Nome completo do autor³

Observações: ESTE *TEMPLATE* PODERÁ SER ADAPTADO PELO AUTOR PARA ATENDER ÀS NECESSIDADES DOS DIFERENTES TIPOS DE PESQUISAS (teórica, relato de experiência, revisão, narrativa etc.)

- ✓ Os capítulos deverão ser formatados com **fonte Book Antiqua 12**, espaçamento **entre linhas 1,5**.
- ✓ Os capítulos devem ser enviados na **versão final com todos os autores**, até 11 (onze) autores. Após o aceite, não será permitida inclusão de autores no manuscrito).
- ✓ Usar tamanho de papel A4; margens superior e inferior 2,5 cm; esquerda e direita 3,0 cm, tabulação 1,25 cm.
- ✓ Espaçamento entre linhas 1,5; espaçamento antes de parágrafo 0 pt e depois de parágrafo 6 pt.
- ✓ Imagens com resolução de pelo menos 300 dpi.

¹ Orcid **ou** Lattes

² Orcid **ou** Lattes

³ Orcid **ou** Lattes

RESUMO

O resumo deve ressaltar o objetivo, o método, os resultados e as conclusões do documento. Deve ser composto de uma sequência de frases concisas, afirmativas e não de enumeração de tópicos. Recomenda-se o uso de parágrafo único, justificado, fonte Book Antiqua 12, com mínimo de 100 e máximo de 250 palavras. A primeira frase deve ser significativa, explicando o tema principal do documento. Deve informar também sobre a categoria do trabalho (memória, estudo de caso, análise da situação etc.).

Palavras-chave: Palavra 1. Palavra 2. Palavra 3.

As palavras-chave devem vir logo abaixo do resumo e devem ser separadas entre si por ponto e finalizadas também por ponto (no máximo 05 palavras).

ABSTRACT

O abstract deve ser elaborado por profissional capacitado, recomenda-se não utilizar diretamente a tradução online.

Keywords:

As Keywords devem ser elaboradas por profissional capacitado, recomenda-se não utilizar diretamente a tradução online.

1 INTRODUÇÃO

A introdução é a parte do trabalho em que o autor mostra uma visão geral da sua pesquisa, apresentando: a escolha do problema e as hipóteses; o objetivo, o período e a delimitação do campo da pesquisa; as justificativas e argumentações para a elaboração do trabalho; a problematização do tema; a metodologia utilizada e a relevância da pesquisa elaborada. Ou seja, é a apresentação do tema a ser estudado, situando o leitor no contexto da obra. A introdução deve ser concisa, clara e coerente com o desenvolvimento do trabalho, apresentando apenas indicações gerais.

2 REVISÃO DE LITERATURA

A revisão de literatura é a parte do trabalho que abrange os assuntos mais importantes que serão tratados na pesquisa. Estes assuntos também servirão de base para o desenvolvimento do problema e interpretação dos dados produzidos. Assim, é importante que a revisão de literatura seja baseada nos autores considerados relevantes ao tema pesquisado.

Para citações em todo o texto, recomenda-se a NBR 10.520 ABNT.

Para ilustrações, equações/fórmulas, tabelas, recomenda-se a NBR 14724 ABNT.

2.1 Seção nível 2

2.1.1 Seção nível 3

2.1.1.1 Seção nível 4 em diante.

3 METODOLOGIA

A metodologia deve explicitar como o trabalho foi conduzido e ordenar os procedimentos cronologicamente ou por tipo de procedimento; os métodos incomuns ou mais avançados exigem citação de literatura; cuidado para não confundir resultados com procedimentos.

3.1 Seção nível 2

3.1.1 Seção nível 3

3.1.1.1 Seção nível 4 em diante.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Deve-se fazer uma apresentação dos resultados relevantes. Os dados devem ser apresentados da maneira mais clara possível fazendo interlocução com a fundamentação teórica. Podem-se utilizar quadros, tabelas e ilustrações. A Discussão tem como objetivo comentar as interpretações, os “achados” da pesquisa, sempre com fundamento na literatura sobre o tema.

4.1 Seção nível 2

4.1.1 Seção nível 3

4.1.1.1 Seção nível 4 em diante.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Enfatizar as principais conclusões do estudo, de forma sucinta e objetiva. Não repetir os resultados. Apresentar possibilidades para continuação da pesquisa.

REFERÊNCIAS

Para a normalização das referências, recomenda-se a NBR 6023 ABNT que apresenta os elementos específicos e obrigatórios.

APÊNDICES/ANEXOS

VII – APÊNDICES II

2. Normas para publicação na Research, Society And Development

Submissões

O cadastro no sistema e posterior acesso, por meio de login e senha, são obrigatórios para a submissão de trabalhos, bem como para acompanhar o processo editorial em curso. Acesso em uma conta existente ou Registrar uma nova conta.

Condições para submissão

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

- O arquivo em Microsoft Word enviado no momento da submissão **não** possui os nomes dos autores; A contribuição é original e inédita, e não está sendo avaliada para publicação por outra revista; O texto segue os padrões de estilo e requisitos bibliográficos descritos em Diretrizes para Autores.
- Custo de publicação (APC) | Para autores brasileiros a taxa de publicação é de R\$ 300,00 BRL (trezentos reais). Para demais autores, a taxa de publicação é de US\$ 100,00 USD (cem dólares americanos). A taxa de publicação é cobrada apenas para trabalhos aceitos. **Não existe taxa de submissão.**

Diretrizes para Autores

1) Estrutura do texto:

- Título em Português, Inglês e Espanhol.
- Os autores do artigo (devem ser colocados nesta sequência: nome, ORCID, instituição, e-mail). OBS.: O número do ORCID é individual para cada autor, e ele é necessário para o registro no DOI, e em caso de erro, não é possível realizar o registro no DOI).
- Resumo e Palavras-chave em português, inglês e espanhol (o resumo deve conter objetivo do artigo, metodologia, resultados e conclusão do estudo. Deve ter entre 150 a 250 palavras);
- Corpo do texto (deve conter as seções: 1. Introdução, na qual haja contextualização, problema estudado e objetivo do artigo; 2. Metodologia utilizada no estudo, bem como autores de suporte a metodologia; 3. Resultados (ou alternativamente, 3. Resultados e Discussão, renumerando os demais subitens); 4. Discussão e, 5. Considerações finais ou Conclusão);
- Referências: (Autores, o artigo deve ter no mínimo 20 referências as mais atuais possíveis. Tanto a citação no texto, quanto no item de Referências, utilizar o estilo de formatação da APA - American Psychological Association. As referências devem ser completas e atualizadas. Colocadas em ordem alfabética crescente, pelo sobrenome do primeiro autor da referência. Não devem ser numeradas. Devem ser colocadas em tamanho 8 e espaçamento 1,0, separadas uma das outras por um espaço em branco).

2) Layout:

- Formato Word (.doc);

- Escrito em espaço 1,5 cm, utilizando Times New Roman fonte 10, em formato A4 e as margens do texto deverão ser inferior, superior, direita e esquerda de 1,5 cm.;
- Recuos são feitos na régua do editor de texto (não pela tecla TAB);
- Os artigos científicos devem ter mais de 5 páginas.

3) Figuras:

O uso de imagens, tabelas e as ilustrações deve seguir o bom senso e, preferencialmente, a ética e axiologia da comunidade científica que discute os temas do manuscrito. Obs: o tamanho máximo do arquivo a ser submetido é de 10 MB (10 mega).

As figuras, tabelas, quadros etc. (devem ter sua chamada no texto antes de serem inseridas. Após a sua inserção, deve constar a fonte (de onde vem a figura ou tabela...) e um parágrafo de comentário no qual se diga o que o leitor deve observar de importante neste recurso. As figuras, tabelas e quadros... devem ser numeradas em ordem crescente. Os títulos das tabelas, figuras ou quadros devem ser colocados na parte superior e as fontes na parte inferior.

4) Autoria:

O arquivo em word enviado (anexado) no momento da submissão NÃO deve ter os nomes dos autores.

Todos os autores precisam ser incluídos apenas no sistema da revista e na versão final do artigo (após análise dos pareceristas da revista). Os autores devem ser registrados apenas nos metadados e na versão final do artigo (artigo final dentro do template) em ordem de importância e contribuição na construção do texto. OBS.: Autores escrevam o nome dos autores com a grafia correta e sem abreviaturas no início e final artigo e também no sistema da revista.

O artigo pode ter no máximo 10 autores. Para casos excepcionais é necessário consulta prévia à Equipe da Revista.

5) Comitê de Ética e Pesquisa:

Pesquisas envolvendo seres humanos devem apresentar aprovação do Comitê de Ética e Pesquisa.

6) Vídeos tutoriais:

- Cadastro de novo usuário: <https://youtu.be/udVFytOmZ3M>
- Passo a passo da submissão do artigo no sistema da revista: <https://youtu.be/OKGdHs7b2Tc>

7) Exemplo de referências em APA:

- Artigo em periódico:

Gohn, M. G. & Hom, C. S. (2008). Abordagens Teóricas no Estudo dos Movimentos Sociais na América Latina. *Caderno CRH*, 21(54), 439-455.

- Livro:

Ganga, G. M. D.; Soma, T. S. & Hoh, G. D. (2012). *Trabalho de conclusão de curso (TCC) na engenharia de produção*. Atlas.

- Página da internet:

Amoroso, D. (2016). *O que é Web 2.0?* <http://www.tecmundo.com.br/web/183-o-que-e-web-2-0->

8) A revista publica artigos originais e inéditos que não estejam postulados simultaneamente em outras revistas ou órgãos editoriais.

9) Dúvidas: Quaisquer dúvidas envie um e-mail para rsd.articles@gmail.com ou dorlivete.rsd@gmail.com ou WhatsApp (55-11-98679-6000)

Declaração de Direito Autoral

Autores que publicam nesta revista concordam com os seguintes termos:

1) Autores mantêm os direitos autorais e concedem à revista o direito de primeira publicação, com o trabalho simultaneamente licenciado sob a Licença Creative Commons Attribution que permite o compartilhamento do trabalho com reconhecimento da autoria e publicação inicial nesta revista.

2) Autores têm autorização para assumir contratos adicionais separadamente, para distribuição não-exclusiva da versão do trabalho publicada nesta revista (ex.: publicar em repositório institucional ou como capítulo de livro), com reconhecimento de autoria e publicação inicial nesta revista.

3) Autores têm permissão e são estimulados a publicar e distribuir seu trabalho online (ex.: em repositórios institucionais ou na sua página pessoal) a qualquer ponto antes ou durante o processo editorial, já que isso pode gerar alterações produtivas, bem como aumentar o impacto e a citação do trabalho publicado.

VIII – ANEXOS I

1. Resumo publicado no XXIII Encontro de Genética do Nordeste

Genética, Evolução e Melhoramento de Plantas - Trabalho ID 311

Estrutura e diversidade genética de acessos de algaroba *Prosopis juliflora* (Fabaceae) introduzidas no município de Itapetinga BA

Autores: Quirlian Queite Araujo Anjos¹; Luiz Henrique Tolentino Santos²; Anderson Carvalho Vieira³; Jardyelle Carvalho Lima; Beatriz Fernandes Pereira; Carlos Bernard Moreno Cerqueira-Silva^{1,2,3}

E-mail para correspondência: anjos.a.quirlian@gmail.com

Instituições: ¹Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, Bahia; ²Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, Bahia; ³Programa Multicêntrico em Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, Bahia; ⁴Curso de Ciências Biológicas, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, Bahia; ⁵Curso de Ciências Biológicas, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, Bahia; ⁶Departamento de Ciências Exatas e Naturais, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga, Bahia

Palavras-chave: [Prosopis juliflora]; Diversidade genética; Marcador molecular

Apoio: À CAPES e ao CNPq pelas bolsas concedidas e à Fapesb pelo apoio financeiro relativo a estrutura do laboratório (PIE0014/2016)

Resumo:

INTRODUÇÃO: Apesar de ser uma espécie invasora, a algaroba (*Prosopis juliflora*) é uma espécie muito utilizada na pecuária como fonte nutricional alternativa para a criação de animais, principalmente em regiões semiáridas do Nordeste do Brasil. A despeito da importância para o desenvolvimento econômico da região Nordeste, ainda são escassas as informações acerca da diversidade genética populacional da algaroba por meio do uso de marcadores moleculares. **OBJETIVOS:** Objetivou-se estimar a diversidade e estrutura genética em sete potenciais populações de algaroba presente no município de Itapetinga, BA, por meio do uso de marcador molecular ISSR, visando contribuir para programas de melhoramento genético e ações de conservação. **MATERIAIS E METODOS:** Foram coletadas no município de Itapetinga, Bahia amostras foliares de 144 plantas, e encaminhadas ao Laboratório de Genética Molecular Aplicada (LGMA) da UESB (campus de Itapetinga), onde foi realizada a extração de DNA através de protocolo com tampão de extração SDS. Foram utilizados 4 iniciadores ISSR sendo o perfil de amplificação genética submetido a análises estatísticas descritivas de diversidade e estrutura genética. **RESULTADOS:** Quarenta e oito marcadores foram analisados, com 73% de polimorfismo. Foi observada diversidade genética moderada ($H_e = 0,32$), com o conjunto de marcadores

considerados informativos (PIC médio = 0,25). A análise de variância molecular revelou 18% da variação genética particionada entre as populações e 82% dentro das populações, mostrando uma baixa diferenciação genética entre as populações. A análise de Coordenadas Principais (PCoA), por sua vez, mostrou baixa distribuição da diversidade genética de algaroba nas populações, que corrobora com a alta similaridade genética estimada. **CONCLUSÃO:** As análises preliminares mostram uma diversidade genética moderada e uma baixa diferenciação genética nas populações de algaroba da cidade de Itapetinga-BA. Contudo, com a ampliação no número de marcadores moleculares ISSR, um maior número de regiões genômicas será naturalmente analisado, possibilitando uma maior segurança na caracterização da diversidade genética.

VIII – ANEXOS II

2. Manuscrito publicado na revista *Biotemas*

<http://dx.doi.org/10.5007/2175-7925.2020.e70282>

Biotemas, 33 (1): 1-9, março de 2020
ISSNe 2175-7925

<http://dx.doi.org/10.5007/2175-7925.2020.e70282>

Caracterização molecular de *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. por meio de marcadores moleculares e índices de similaridade genética

Submetido em 27/11/2019

Aceito para publicação em 05/02/2020

Algaroba, *Prosopis juliflora* (Sw.) DC., é uma espécie arbórea adaptada no Brasil com valor alimentício animal e ambiental para reflorestamento. Porém, pouco se sabe sobre sua diversidade genético-molecular. Portanto, objetivou-se estudar diferentes índices de similaridade a partir de caracterizações genéticas da algaroba obtidas por meio dos marcadores ISSR e RGA em indivíduos naturalizados no sudoeste da Bahia. Folhas jovens de 36 indivíduos foram coletadas no município de Itapetinga, Bahia. O DNA foi extraído pelo método SDS 10% e quantificado pela razão de absorvância A₂₆₀/A₂₃₀ e A₂₆₀/A₂₈₀ nm. Dez pares de RGA e 23 iniciadores ISSR foram utilizados para a reação de PCR, cujas reações foram submetidas à eletroforese em gel de agarose a 2% por 2 h. O resultado da genotipagem (matriz binária) foi utilizado para cálculo dos índices de similaridade de Jaccard, Simple Matching e Sorensen Dice. Por fim, foram realizados os agrupamentos UPGMA, otimização de Tocher e PCA. Foram observados 205 e 68 marcas polimórficas, com heterozigosidade esperada de 0,28 e 0,21; informação polimórfica de 91,71% e 0,17% e distância genética de 8,0 e 8,53 para ISSR e RGA, respectivamente. Essas informações contribuem para o entendimento da distribuição e adaptação da espécie em áreas reflorestadas.

Palavras-chave: Algaroba; Coeficientes de similaridade; Diversidade; Recurso genético.