

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E ENGENHARIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**LETICIA DA SILVA CRUZ**

**CARACTERIZAÇÃO DE COMPONENTES ESTRUTURAIS, NUTRIENTES E  
MOLECULAR DE MATERIAIS DE ORA-PRO-NÓBIS**

**ALEGRE**

**2023**

LETICIA DA SILVA CRUZ

**CARACTERIZAÇÃO DE COMPONENTES ESTRUTURAIS, NUTRIENTES E  
MOLECULAR DE MATERIAIS DE ORA-PRO-NÓBIS**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Agronomia.

Orientador: Prof. Dr. Fabio Luiz de Oliveira.

Coorientadora: Dr. Tais Cristina Bastos Soares.

**ALEGRE**

**2023**

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de  
Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

---

C955c Cruz, Leticia da Silva, 1999-  
CARACTERIZAÇÃO DE COMPONENTES  
ESTRUTURAIS, NUTRIENTES E MOLECULAR DE  
MATERIAIS DE ORA-PRO-NÓBIS / Leticia da Silva Cruz. -  
2023.  
39 f. : il.

Orientador: Fabio Luiz de Oliveira..

Coorientador: Tais Cristina Bastos Soares.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal  
do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias.

I. Oliveira., Fabio Luiz de. II. Soares, Tais Cristina Bastos.  
III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências  
Agrárias e Engenharias. IV. Título.

CDU: 63

---


**CARACTERIZAÇÃO DE COMPONENTES ESTRUTURAIS, NUTRIENTES E  
MOLECULAR DE MATERIAIS DE ORA-PRO-NÓBIS**

**Leticia da Silva Cruz**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Agronomia do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Agronomia na área de Proteção Produção de Plantas Cultivadas e Nativas.

Aprovada em 17 de fevereiro de 2023.

Comissão examinadora:

Documento assinado digitalmente  
 **FABIO LUIZ DE OLIVEIRA**  
Data: 24/04/2023 15:11:27-0300  
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>


---

**Prof. Dr. Fábio Luiz de Oliveira**  
Universidade Federal do Espírito Santo  
Orientador

Documento assinado digitalmente  
 **MONIQUE MOREIRA MOULIM**  
Data: 25/04/2023 06:45:48-0300  
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

---

**Prof. Dr. Monique Moreira Moulim**  
Instituto Federal do Espírito Santo  
Membro Externo

Documento assinado digitalmente  
 **FRANCIELE BARROS DE SOUZA SOBREIRA**  
Data: 24/04/2023 09:54:46-0300  
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

---

**Prof. Dr. Franciele Barros de Souza Sobreira**  
Universidade Federal do Espírito Santo  
Membro Interno

*A Deus, o dono de todas as coisas,  
meu alicerce e fiel companheiro.*

*Ao meu amado pai Dailton Nunes da  
Cruz, homem íntegro, humilde e  
doutor por notório saber.*

*“Não fui eu que lhe ordenei? Seja forte e corajoso! Não se apavore, nem desanime, pois, o Senhor, o seu Deus, estará com você por onde andar”.*

*Josué 1:9*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus por sempre ser meu alicerce, me dando proteção, sabedoria, forças e me levantando em todos os momentos que foram necessários.

A Universidade Federal do Espírito Santo pela oportunidade de realizar o curso e a execução desta pesquisa por meio da infraestrutura, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia e seu corpo docente por contribuírem na minha formação.

A Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES), pela concessão da bolsa de mestrado e apoio à pesquisa.

Ao meu orientador, Dr. Fabio Luiz de Oliveira, pela dedicação, conhecimentos, conselhos, disponibilidade e principalmente a paciência que teve comigo durante essa jornada.

Aos membros da banca avaliadora, por reservarem um tempo para se dedicarem a contribuições e avaliação do trabalho.

Ao Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular (BQMOL), em especial a Prof<sup>a</sup> Dra. Tais Cristina Bastos Soares, Conceição de Maria Batista de Oliveira e todos que me ajudaram nas análises moleculares, me repassando não somente conhecimentos, mas também palavras de incentivo que eu levarei por onde passar.

Ao Laboratório de Nutrição Mineral de Plantas, especialmente ao Prof. Dr. Marcelo Antônio Thomaz e a Técnica Larissa Ataíde Siqueira, por ceder o espaço, equipamentos e principalmente o tempo para acompanharem as análises.

A todos do Laboratório de Análise Vegetal e ao Departamento de Agronomia Centro de Ciências Agrárias e Engenharias (CCAEE), pelo espaço, pelas trocas, conversas, apoio e dicas de sempre.

Aproveito para agradecer em especial a voluntária Lidiane pelo apoio, pelos conselhos, paciência e por sempre acreditar em meu potencial. Admiro e me inspiro muito determinação e coragem que você tem para lutar por seus objetivos. Sem dúvidas uma pessoa que marcou minha vida e que eu guardarei

para sempre na página dos amigos de verdade. Minha eterna gratidão pelo ser humano incrível que você é!

Aos técnicos e professores responsáveis pelo Laboratório de Química Aplicada do IFES (Campus de Alegre) pela cordialidade me cedendo espaço, equipamentos e apoio sempre durante a pesquisa e sempre que precisei.

Ao meu amado pai Dailton e minha mãe Lenice, que sempre foram meu braço direito e sem dúvidas as pessoas pelas quais eu sempre lutei pelo título de mestre. Agradeço também aos meus irmãos e demais familiares por sempre terem palavras de positivas que nunca me permitiram desistir. Agradeço ao meu esposo Renan, por me auxiliar em todos os momentos, puxar minha orelha, acreditar em mim e sonhar cada sonho comigo!

Aos queridos amigos e colegas que sempre me deram força e torceram por mim. Em especial agradeço a minha amiga e também mestrandia Milena que viveu todos os processos juntamente comigo, estando sempre disposta a me ajudar. Agradeço a todos que diretamente ou indiretamente colaboraram com o desenvolvimento desse trabalho.



## RESUMO

A ora-pro-nóbis é uma PANC (planta alimentícia não convencional) que atende o conceito de “healthy foods”, em virtude do seu alto valor nutricional, presença de fibras e principalmente proteínas. Essa condição abre expectativas para um aumento no seu consumo devido a busca crescente da população por uma alimentação mais saudável. Sendo assim, gerar informações sobre a diversidade genética dos materiais de ora-pro-nóbis, se torna uma estratégia importante para subsidiar futuras gerações de tecnologias que contribuirão para a expansão do cultivo dessa planta. Mediante a isso, o objetivo do trabalho foi realizar a caracterização estrutural, nutrientes e molecular de acessos de ora-pro-nóbis que compõe o banco de germoplasma do Departamento de Agronomia Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Universidade Federal do Espírito Santo (CCAUE-UFES). Para as variáveis de componentes estruturais (fibras, proteínas e clorofila) e nutricionais (N, P, Ca, Mg, Cu, Mn, Fe, Zn) assumiu-se o delineamento inteiramente casualizado (DIC), contando com quatro tratamentos (genótipos) e cinco repetições para a realização da análise da variância. Para as análises moleculares foram utilizados marcadores do tipo ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*) e os dados submetidos à análise de similaridade pelo coeficiente de Jacard e agrupadas pelo método de agrupamento de médias aritméticas não ponderadas (UPGMA). O genótipo LAV-UFES 01 se destacou por apresentar maior teor de P e Cu; LAV-UFES 02 maior teor de K, fibra e proteína; LAV-UFES 03 maior teor de Mn e clorofila; LAV-UFES 04 maior teor de Ca, Mg, Fe e Zn. Considerou-se que os genótipos estudados são semelhantes quanto às características estruturais e teores de nutrientes. Não houve formação de grupos pelo método UPGMA demonstrando que os genótipos possuem alta similaridade genética.

**Palavras-chave:** *Pereskia aculeata*, PANC; Plantas tradicionais; Segurança alimentar; Variabilidade genética; Marcador ISSR.

## ABSTRAT

Ora-pro-nobis is a PANC (unconventional food plant) that meets the concept of "healthy foods", due to its high nutritional value, presence of fibers and mainly proteins. This condition raises expectations for an increase in its consumption due to the growing search of the population for a healthier diet. Therefore, generating information about the genetic diversity of ora-pro-nobis materials becomes an important strategy to support future generations of technologies that will contribute to the expansion of this plant's cultivation. Therefore, the objective of this work was to carry out the structural, nutrient and molecular characterization of ora-pro-nobis accessions that make up the germplasm bank of the Department of Agronomy Center of Agricultural Sciences and Engineering, Federal University of Espírito Santo (CCAUE- UFES). For the variables of structural components (fibers, proteins and chlorophyll) and nutritional (N, P, Ca, Mg, Cu, Mn, Fe, Zn) a completely randomized design (DIC) was assumed, with four treatments (genotypes) and five repetitions to carry out the analysis of variance. For molecular analysis, markers of the type ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) were used and the data submitted to similarity analysis by Jacard's coefficient and grouped by the grouping method of unweighted arithmetic means (UPGMA). The LAV-UFES 01 genotype stood out for having higher P and Cu content; LAV-UFES 02 higher K, fiber and protein content; LAV-UFES 03 higher Mn and chlorophyll content; LAV-UFES 04 higher Ca, Mg, Fe and Zn content. It was considered that the studied genotypes are similar in terms of structural characteristics and nutrient content. There was no formation of groups by the UPGMA method, demonstrating that the genotypes have high genetic similarity.

**Keywords:** *Pereskia aculeata*, PANC; Traditional plants; Food security; Genetic variability; ISSR marker.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Dendrograma representativo da dissimilaridade a partir dos teores de nutrientes e características estruturais de genótipos de ora-pro-nóbis, agrupados pelo método UPGMA..... 22
- Figura 2** - Dendrograma representativo da dissimilaridade a partir de características genéticas em genótipos de ora-pro-nóbis, agrupados pelo método UPGMA..... 24
- Figura 3** - Dendrograma representativo da dissimilaridade a partir de uma análise conjunta dos teores de nutrientes, características estruturais e genéticas em genótipos de ora-pro-nóbis, agrupados pelo método UPGMA..... 25

## LISTA DE TABELAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Tabela 1</b> - Primers ISSR da University of British Columbia e suas respectivas sequências testadas em amostras de DNA de cinco genótipos de ora-pro-nóbis..... | 15 |
| <b>Tabela 2</b> - Teores de macronutrientes em folhas de genótipos de ora-pro-nóbis.....  | 18 |
| <b>Tabela 3</b> - Teores de micronutrientes em folhas de genótipos de ora-pro-nóbis.....  | 19 |
| <b>Tabela 4</b> - Teores de fibra, proteína bruta e clorofila total em folhas de genótipos de ora-pro-nóbis.....  | 21 |

## SUMÁRIO

|  |    |
|--|----|
| 1 INTRODUÇÃO .....   | 8  |
| 2 MATERIAL E MÉTODOS.....  | 11 |
| 2.1 Descrição da coleção.....  | 11 |
| 1.2 Análises de teores de nutrientes e características estruturais ..... | 11 |
| 1.2.1 Composição de micro e macronutrientes.....                         | 11 |
| 1.2.2 Teor de fibra e proteína .....                                     | 12 |
| 1.2.3 Clorofila total.....   | 13 |
| 1.3 Análises moleculares por meio de marcadores ISSR .....               | 13 |
| 1.3.1 Extração de DNA .....  | 13 |
| 1.3.2 Análises dos marcadores ISSR .....                                 | 14 |
| 1.4 Tratamento estatístico dos dados .....                               | 16 |
| 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....  | 18 |
| 4 CONCLUSÕES .....   | 27 |
| 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....   | 28 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....   | 29 |

## 1 INTRODUÇÃO

Pelas estimativas de 2022 das Nações Unidas o mundo atingiu a marca de 8 bilhões de habitantes, com a expectativa de atingir 8,6 bilhões em 2030, 9,8 bilhões em 2050 e 11,2 bilhões em 2100 (UN, 2022).

Neste cenário, será necessário a produção de alimentos de maneira sustentável nos próximos anos para alimentar adequadamente uma população que cresce dia-a-dia. Além disso, a procura por uma vida saudável leva as pessoas a buscarem novas formas de se alimentar e o conceito de alimentação muda de acordo com o conhecimento da população sobre alimentos saudáveis e seus benefícios (LIBERATO et al., 2019).

As Plantas Alimentícias Não Convencionais (PANC) vêm se mostrando ótimas alternativas na busca de soluções para essa problemática, uma vez que quando incluídas na alimentação humana favorecem a autonomia e segurança alimentar da população (PADILHA et al., 2020). Mesmo fazendo parte da alimentação cotidiana de algumas comunidades, seu potencial econômico e social ainda é restrito a algumas regiões (SILVA et al., 2022).

Dentre as várias PANC, a ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata*) tem chamado muita atenção em virtude do seu alto valor nutricional, presença de fibras e principalmente proteínas. (MORETZSOHN et al., 2020). A espécie foi considerada uma planta alimentícia não convencional (PANC) em 2002 pelo governo brasileiro (BRASIL, 2010). Já em 2015, foi citada entre os importantes alimentos regionais brasileiros e em 2016, incluída na relação das espécies nativas da flora brasileira de valor econômico, atual ou potencial, como planta para o futuro da região Centro-Oeste (VIEIRA et al., 2016).

Sua propagação se dá em maior parte de forma vegetativa, através do enraizamento de estacas, provenientes da parte intermediária do caule (MADEIRA et al., 2013). Sob o aspecto de cultivo, possui características de sobrevivência interessantes; dadas por sua rusticidade, sua adaptação ao clima quente e sua elevada resistência a condições hídricas do solo. Além disso, possui características agrônômicas favoráveis à sua produção, como: propagação facilitada, menores demandas por cuidados e alto vigor (GUIMARÃES, 2018).

As folhas da ora-pro-nóbis são consumidas *in natura* e como base para fabricação de inúmeras receitas. Os frutos podem ser utilizados na preparação de sucos, vitaminas e geleias. Além disso, devido ao seu alto teor de mucilagem, a ora-pro-nóbis pode ser utilizada como emoliente na medicina popular, o que vem despertando o interesse de indústrias farmacêuticas e de alimentos nutracêuticos em utilizar esta planta como matéria-prima na produção de complementos alimentares (GUIMARÃES, 2018). Ainda, na perspectiva econômica, suas flores e folhas podem ser utilizadas com intuito ornamental (MORETZSOHN et al., 2020).

Por apresentar grande potencial alimentício, medicinal e ornamental, a exploração econômica de ora-pro-nóbis é favorecida, principalmente por agricultores familiares (SANTOS et al., 2019), o que pode acarretar a fragilidade no risco de perda desses materiais. Além disso, nota-se que nas áreas com plantio de ora-pro-nóbis, não há ainda cultivares melhoradas, sobre os quais se tenha informações e garantias do potencial de produção nas diversas regiões produtoras (MORETZSOHN et al., 2020).

Reconhecendo a importância da ora-pro-nóbis, grandes perspectivas econômicas podem ser despertadas, o que torna importante caracterizar os materiais distribuídos pelo território nacional, gerando informações sobre a diversidade genética, bem como as caracterizações estruturais e nutricionais. Essas informações são essenciais para o uso racional dos recursos genéticos, o que poderá subsidiar futuros programas de melhoramento do gênero e contribuir na obtenção de ideótipos mais adequados para o plantio e progresso econômico da cultura.

Os marcadores moleculares se mostram como ferramentas eficientes no processo de caracterização genética, uma vez que detectam a variabilidade existente diretamente em nível de DNA (CRUZ et al., 2011). Nesse âmbito, os marcadores do tipo ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) vem se destacando por serem uma alternativa eficiente no processo de caracterização dos genomas mais complexos, sendo indicados principalmente para estudos de diversidade (GIUSTINA et al., 2017). Esses marcadores dominantes são bastantes requeridos, por apresentarem alta taxa de polimorfismo e reprodutividade; e conseguirem ser utilizados em diversas espécies sem que haja a necessidade

de sequenciamento (CHEN et al., 2017; FELIX et al., 2020). O uso de marcadores ISSR apresentam algumas vantagens que sobressaem aos outros tipos de marcadores, como por exemplo ser uma alternativa para reduzir o elevado custo do AFLP, superar a baixa reprodutividade do RAPD e por serem inespecífico, podendo ser utilizado para qualquer espécie, superando a limitação dos marcadores SSRs (IDREES & IRSHAD, 2014).

Além do destaque dos marcadores moleculares, a caracterização estrutural e nutricional é de grande importância no processo de reconhecimento de uma cultura. Essas características apresentam-se entre os principais fatores de determinação da qualidade de uma hortaliça, estando entre os assuntos mais abordados na literatura em torno da ora- pro-nóbis (CRUZ et al., 2020). Essas características apresentam grande representatividade, o que reforça o papel da espécie no enriquecimento nutricional e na melhoria da qualidade da alimentação, principalmente por seu alto valor de fibras, proteínas, minerais (GUIMARÃES, 2018; ALMEIDA et al., 2014).

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo realizar a caracterização estrutural (fibra, proteína e clorofila); nutricional (micro e macronutrientes); molecular de acessos de ora-pro-nóbis estabelecida no banco de germoplasma do Departamento de Agronomia Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Universidade Federal do Espírito Santo (CCAUE-UFES).



## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Descrição da coleção**

Os genótipos utilizados pertencem a coleção do Laboratório de Análise Vegetal do Departamento de Agronomia Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Universidade Federal do Espírito Santo (CCAUE-UFES). A coleção foi montada em julho de 2019, na área experimental do CCAUE/UFES, em Alegre-ES, situada no distrito de Rive (20° 45' de latitude Sul e 41° 29' de longitude Oeste e altitude de 113 m).

A coleção é composta por quatro acessos, que são identificados pelas suas origens, sendo: LAV-UFES 01= Genótipo do Vale do Jequitinhonha-MG; LAV-UFES 02= Genótipo de Alegre-ES; LAV-UFES 03= Genótipo de Alegre-ES/Rio Itapemirim; LAV-UFES 04= Genótipo do Sul do Brasil.

Os materiais são mantidos ex situ, em condição de campo, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado (DIC).

### **1.2 Análises de teores de nutrientes e características estruturais**

#### **1.2.1 Composição de micro e macronutrientes**

Para análise de micro e macronutrientes presentes nas folhas dos genótipos de ora-pro-nóbis, foram coletadas folhas saudáveis e bem expandidas do terço médio de cinco ramos de cada material, com a qual foi feita uma média por planta. As amostras foram acondicionadas em saquinhos de papel e levadas a estufa em temperatura de 60 °C, por 72 horas. Após a secagem, as amostras foram moídas em moinho do tipo Wiley, para análise da composição dos nutrientes: Nitrogênio (N), Fósforo (P), Cálcio (Ca), Magnésio (Mg), Cobre (Cu), Manganês (Mn), Ferro (Fe) e Zinco (Zn). As análises foram realizadas no Laboratório de Nutrição Mineral de Plantas do departamento de Agronomia (CCAUE-UFES), de acordo com a metodologia proposta por Malavolta (1997), com exceção da análise de nitrogênio total que foi conduzida de acordo com a metodologia de Kjeldahl, como descrito por Galvani e Gaertner (2006).

Equação de determinação do nitrogênio total:

$$NT = \frac{(Va - Vb) \times F \times 0,1 \times 0,014 \times 100}{}$$

## P1

Onde:

NT- Teor de nitrogênio total na amostra, em percentagem;

Va- Volume da solução de ácido clorídrico gasto na titulação da amostra, em mililitros;

Vb- Volume da solução de ácido clorídrico gasto na titulação do branco, em mililitros;

P1 - Massa da amostra (em gramas).

### 1.2.2 Teor de fibra e proteína

Após a secagem e moagem, uma parte das folhas foram levadas ao Laboratório de Química Aplicada no Instituto Federal do Espírito Santo- Campus de Alegre, para a análise de fibra e teor de proteína bruta.

A análise de fibra bruta foi baseada no método de Weende (WILLIAMS; OLMSTED, 1935), com a utilização do determinador de fibras Tecnal T-149. Para determinação dos teores de fibra foi adotada a seguinte fórmula:

$$Fibra = \left( \frac{(C - A) - (E - D)}{B} \right) * 100$$

Em que:

A = massa do pacote

B = massa da amostra

C = massa do pacote + amostra 105°C

D = massa do cadinho

E = massa do cadinho + cinza

Para análise de proteína, adotou-se o processo de digestão Kjeldahl. Foram utilizadas 100 gramas da farinha das folhas para realizar a digestão sulfúrica e a determinação do N total por arraste a vapor. Os teores de proteína bruta (PB) foram obtidos multiplicando-se o N total pelo fator de conversão 6,25, segundo Galvani e Gaertner (2006).

Expressão de determinação de proteína:

PB = NT x FN

PB- Teor de proteína bruta na amostra, em percentagem

FN – 6,25

### **1.2.3 Clorofila total**

O índice de clorofila total foi averiguado utilizando-se o aparelho portátil clorofilog modelo CFL 1030 da marca Falker®. Esse aparelho mede a clorofila com base na absorção de luz em comprimentos de onda característicos da clorofila. O clorofilog mede a quantidade de radiação transmitida através das folhas, de forma óptica, em três diferentes comprimentos de onda (dois na faixa do vermelho, próximos aos picos de absorção da clorofila e um no infravermelho próximo). A combinação dos valores de transmitâncias nestes três comprimentos de onda gera o Índice de Clorofila Falker (ICF).

As medições foram realizadas em folhas do terço médio de cinco ramos de cada material, com a qual foi feita uma média por planta. Evitou-se as nervuras das folhas e o aparelho foi previamente calibrado de acordo com as instruções presentes no manual do fabricante.

## **1.3 Análises moleculares por meio de marcadores ISSR**

### **1.3.1 Extração de DNA**

As análises moleculares foram realizadas no Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular do CCAE-UFES. Para a extração do DNA genômico, foram coletadas folhas jovens, completamente expandidas e saudáveis. A extração de DNA foi precedida por uma pré lavagem com um tampão à base de sorbitol (0,35 M), com intuito de evitar a contaminação por contaminantes extracelulares no tecido vegetal. O processo de extração do DNA foi realizado de acordo com protocolo de extração de tecidos vegetais CTAB (Brometo de Cetil-trimetilamônio) proposto por Doyle e Doyle (1990), com modificações sugeridas pelo Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), adequado para espécies vegetais com altas concentrações de polissacarídeos.

Em tubos de eppendorf com capacidade de 2 mL contendo cerca de 300 mg do material macerado, foi adicionado 700 µL de tampão de extração (2% CTAB; 1,4 mM NaCl; 20 mM EDTA pH 8,0; 100 mM Tris- HCl pH 8,0; 1% PVP; 0,2% β-mercaptoetanol) e em seguida levados incubação a 65 °C por 30 minutos.

Após a retirada do banho-maria adicionou-se novamente 650µL de Clorofórmio-Álcool Isoamílico (24:1) e as amostras foram homogeneizadas manualmente por 10 minutos, em seguida, centrifugou-se a 12000 rpm (centrífuga Pico 21 da Thermo Scientific, raio de 7,5 cm) por 10 minutos.

A fase aquosa formada na centrifugação foi retirada e transferida para um novo microtubo de 2 mL, adicionou-se 200 µL de tampão de extração juntamente com 650 µL de Clorofórmio-Álcool Isoamílico (CIA), foram homogeneizadas e logo em seguida centrifugou-se a 12000 rpm por 10 minutos. A fase aquosa foi novamente transferida, porém, para um microtubo de 1,5 mL onde foi adicionado 650 µL de CIA e centrifugou-se a 12000 rpm por 10 minutos.

Ao final dessa etapa, a fase aquosa foi transferida para outro microtubo de 1,5 mL, adicionou-se 1 volume de isopropanol gelado, 230 µL de acetato de amônio e centrifugou-se a 12000 rpm por mais 10 minutos para precipitar o DNA. O precipitado gerado foi lavado 3 vezes com 250 µL de etanol 70% e posto para secar. Posteriormente, o DNA foi ressuscitado em 50 µL de TE + RNase e colocado em banho-maria a 37 °C por 30 minutos.

As amostras de DNA foram quantificadas por espectrofotometria no aparelho NanoDrop (Thermo Scientific 2000c) para identificar a qualidade e as concentrações do DNA obtido. O parâmetro adotado para definição da pureza das amostras de DNA foi a relação A260/ A280, considerado ideal quando dentro do intervalo de 1,8 a 2,0. Razão inferior a 1,8 indica contaminação por proteínas e uma razão com valor superior a 2,0 indica contaminação com clorofórmio ou fenol (BARBOSA, 1998).

As amostras que não se mostraram eficientes quanto aos parâmetros citados acima tiveram o processo repetido até a obtenção de DNA de qualidade. Os microtubos contendo o DNA total foram armazenados em freezer -30 °C, salvo a retirada de alíquotas na concentração de 10 ng µL<sup>-1</sup> para manipulação habitual, estocadas em freezer -20 °C.

### **1.3.2 Análises dos marcadores ISSR**

Após os testes com as amostras de DNA, foram selecionados 24 primers ISSR (Tabela 1), para realização das reações de PCR nos 4 indivíduos

selecionados. Foram escolhidos os marcadores que apresentaram o maior número de polimorfismos e com bandas nítidas e bem definidas.

**Tabela 1** - Primers ISSR da University of British Columbia e suas respectivas sequências testadas em amostras de DNA de cinco genótipos de ora-pro-nóbis.

| PRIMERS | Sequências (5'3')       |
|---------|-------------------------|
| UBC 807 | AGA GAG AGA GAG AGA GT  |
| UBC 808 | AGA GAG AGA GAG AGA GC  |
| UBC 809 | AGA GAG AGA GAG AGA GG  |
| UBC 810 | GAG AGA GAG AGA GAG AT  |
| UBC 811 | GAG AGA GAG AGA GAG AC  |
| UBC 812 | GAG AGA GAG AGA GAG AA  |
| UBC 813 | CTC TCT CTC TCT CTC TT  |
| UBC 814 | CTC TCT CTC TCT CTC TA  |
| UBC 815 | CTC TCT CTC TCT CTC TG  |
| UBC 818 | CAC ACA CAC ACA CAC AG  |
| UBC 824 | TCT CTC TCT CTC TCT CG  |
| UBC 829 | TGT GTG TGT GTG TGT GC  |
| UBC 834 | AGA GAG AGA GAG AGA GYT |
| UBC 836 | AGA GAG AGA GAG AGA GYA |
| UBC 840 | GAG AGA GAG AGA GAG AYT |
| UBC 855 | ACA CAC ACA CAC ACA CYT |
| UBC 862 | AGC AGC AGC AGC AGC AGC |
| UBC 864 | ATG ATG ATG ATG ATG ATG |
| UBC 867 | GGC GGC GGC GGC GGC GGC |
| UBC 868 | GAA GAA GAA GAA GAA GAA |
| UBC 886 | VDV CTC TCT CTC TCT CT  |
| UBC 887 | DVD TCT CTC TCT CTC TC  |
| UBC 891 | HVH TGT GTG TGT GTG TG  |

\* A = Adenina; T = Timina; C = Citosina; G = Guanina; H = (A, T ou C); R = (A ou G); V = (A, C ou G) e Y = (C ou T).

As reações de amplificação dos *primers* ISSR foram realizadas em placas para reações de polimerase em cadeia (PCR), para um volume final de 20 µL, contendo: tampão 1X (10 mM de Tris-HCl pH 8,5 e 50 mM de KCl), 2,5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 0,25 mM de cada dNTP, 0,2 µM de primer, 1 unidade de Taq DNA polimerase e cerca de 50 ng de DNA genômico. As ampliações foram realizadas em termociclador Veriti Applied Biosystems, com programação compreendida em três etapas. A primeira etapa consistiu na desnaturação a 94 °C por 5 minutos. A segunda etapa ocorreu através de 35 ciclos de: desnaturação a 94°C por 45 segundos, anelamento a 52°C por 45 segundos e extensão a 72°C por 90 minutos.

Os fragmentos da amplificação foram separados por meio de eletroforese em gel de agarose a uma concentração de 2% numa voltagem de 110 Volts. Após a separação dos fragmentos, o gel foi corado através de sua submersão em solução contendo brometo de etídio (0,50 µg/mL) durante 40 min, em seguida exposto à luz ultravioleta e fotografado em fotodocumentador BioRad®. A partir dos géis fotodocumentados foi realizada uma análise visual que permitiu observar os padrões de bandas gerados em cada primer.

A leitura das informações contidas nos géis possibilitou a geração de uma matriz binária, onde para presença de banda atribui-se valor igual a 1 e para ausência 0, sendo consideradas apenas bandas evidentes. Para dados perdidos foi atribuído o valor -9, como necessário para o programa estatístico utilizado. Foi realizada uma análise descritiva dos dados, envolvendo número total de bandas (NTB), número de bandas polimórficas (NBP), porcentagem de bandas polimórficas (PBP) por primer e a faixa de variação de tamanho dos lócus em pares de bases (TPB).

#### **1.4 Tratamento estatístico dos dados**

A dissimilaridade genética entre os genótipos foi obtida a partir da similaridade, usando o coeficiente de Jaccard (Jaccard, 1901). As matrizes de dissimilaridades obtidas foram utilizadas para determinar os agrupamentos, por meio do método de agrupamento de médias aritméticas não ponderadas (UPGMA).

Foram realizadas análises conjuntas dos dados de caracteres qualitativos e quantitativos com os caracteres moleculares, através das distâncias genéticas estimadas pelo algoritmo de Gower (1971) e também empregados nas análises de agrupamento pela ligação média entre grupos (UPGMA).

A consistência entre a matriz de dissimilaridade, obtida para cada marcador e os agrupamentos formados nos dendrogramas, foi confirmada pelo coeficiente de correlação cofenética (CCC).

Para as variáveis teores de nutrientes e características estruturais assumiu-se o delineamento inteiramente casualizado (DIC), contando com quatro tratamentos (genótipos) e cinco repetições, submetidos à análise de variância pelo teste F a 5% de probabilidade, e quando da significantes, as

médias foram comparadas pelo teste t de Student. As análises moleculares foram conduzidas no software GENES (CRUZ, 2016). As demais análises foram realizadas com o software Rbio (BHERING, 2017).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação aos macronutrientes nota-se que o genótipo LAV-UFES 01 foi o que apresentou maior teor de fósforo, LAV-UFES 02 foi o que apresentou maior teor de potássio e LAV-UFES 04 foi o que apresentou maior teor de cálcio e magnésio (Tabela 2). Além dos resultados apresentados na tabela, observou-se que não há diferença entre os genótipos quanto ao teor de nitrogênio (médio de 0,278 g/Kg).

**Tabela 2** - Teores de macronutrientes em folhas de genótipos de ora-pro-nóbis.

| Genótipos   | P (g/Kg) | K (g/Kg) | Ca (g/Kg) | Mg (g/Kg) |
|-------------|----------|----------|-----------|-----------|
| LAV-UFES 01 | 0,704 a* | 36,75 b  | 31,69 c   | 10,86 c   |
| LAV-UFES 02 | 0,462 b  | 45,08 a  | 27,92 c   | 13,56 b   |
| LAV-UFES 03 | 0,484 b  | 29,25 c  | 40,11 b   | 11,78 c   |
| LAV-UFES 04 | 0,432 b  | 24,06 d  | 51,41 a   | 18,11 a   |
| CV (%)      | 14,47    | 3,67     | 8,26      | 9,15      |

\*Médias seguidas por uma mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste t.  
P= Fósforo; K= Potássio; Ca= Cálcio; Mg= Magnésio.

Em relação aos teores de fósforo (P), as médias variaram entre 0,432 e 0,704 g/kg. De uma maneira geral, as médias encontradas são superiores ao encontrado em outros trabalhos, como a pesquisa de Botrel et. (2020) que averiguou a presença de 0,176 g/kg de P em folhas de ora-pro-nóbis. Os resultados também sobressaem ao encontrado para a Anredera, uma hortaliça não convencional que apresenta cerca de 0,198 g/kg do macronutriente (BOTREL et al., 2020).

Os teores de potássio (K) variaram entre 24,06 e 45,08 g/kg. Esses resultados são aceitáveis quando se considera o encontrado por Oliveira et al. (2013) (37,4 g/kg) e superam o encontrado por Botrel et al. (2020) (3,22 g/ kg) em ora-pro-nóbis. Ao se comparar com outras hortaliças não convencionais os resultados também surpreendem, como no caso do Jambu (2,30 g/kg) e a Bertalha (3,04 g/kg) (BOTREL et al. (2020).

Dentre os macronutrientes analisados, os teores de cálcio presente nas folhas desses materiais chamam a atenção, uma sobressaem valores encontrados em diversos estudos com ora-pro-nóbis, como o encontrado por Andrade et al. (2019) (20,2 g/kg) e Almeida et al. (2014) (13,47 g/kg). Também



superam valores encontrados em outras hortaliças não convencionais como a taioba (1,4 g/kg) e a serralha (1,26 g/kg) (TACO, 2011). Essa é uma informação interessante tendo em vista que esse nutriente está relacionado à formação e manutenção da massa óssea, o que demonstra mais um potencial alimentar para ora-pro-nóbis.

As médias encontradas em relação aos teores de Magnésio (Mg) variaram entre 10,86 e 18,11 g/kg. Os resultados são satisfatórios quando comparados a outros estudos com ora-pro-nóbis, como o encontrado por Oliveira et al. (2013), que constataram um teor equivalente a 6,8 g/kg, resultado inferior ao encontrado na pesquisa. No organismo humano o magnésio tem função de controlar o metabolismo de carboidratos, gorduras, proteínas e eletrólitos, além de auxiliar nas transmissões dos impulsos nervosos; sua carência pode causar fraqueza muscular, irritação nervosa ou até mesmo a depressão (PINHEIRO et al., 2005).

Com exceção do ferro, todos os micronutrientes demonstraram diferenças estatísticas, sendo que o genótipo LAV-UFES 01 apresentou o maior teor médio de Cu, LAV-UFES 03 maior teor de Mn e LAV-UFES 04 o maior teor de Zn (Tabela 3).

**Tabela 3** - Teores de micronutrientes em folhas de genótipos de ora-pro-nóbis.

| <b>Genótipos</b> | <b>Cu (mg/Kg)</b> | <b>Mn (mg/Kg)</b> | <b>Fe (mg/Kg)</b> | <b>Zn (mg/Kg)</b> |
|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| LAV-UFES 01      | 5,98 a*           | 262,61 b          | 104,45 a          | 18,63 b           |
| LAV-UFES 02      | 5,75 ab           | 192,69 c          | 111,67 a          | 16,91 c           |
| LAV-UFES 03      | 5,33 b            | 350,72 a          | 138,48 a          | 18,86 b           |
| LAV-UFES 04      | 4,84 c            | 181,63 d          | 173,90 a          | 22,35 a           |
| CV (%)           | 6,38              | 3,26              | 47,93             | 4,76              |

\*Médias seguidas por uma mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste t.

Cu= Cobre; Mn= Manganês; Fe= Ferro; Zn= Zinco.

As médias dos teores de cobre (Cu) apresentaram valores variando entre 4,84 e 5,98 mg/kg. Esses valores superam o encontrado por Botrel et al. (2020) (2,5 mg/kg) em folhas de ora pro nóbis e também em outras plantas não convencionais, como a azedinha (1,4 mg/kg) e a bertalha (2 mg/kg) (BOTREL, et al., 2020).

O manganês é um componente enzimático no metabolismo geral do organismo humano e sua deficiência ocasiona vários problemas ósseos (GUIMARÃES, 2018). As médias dos teores desse nutriente superaram o averiguado em outras pesquisas com ora-pro-nóbis, como a de Botrel et al. (2020) (73,1 mg/kg) e Oliveira et al. (2013) (28 mg/kg). Comparando com outras hortaliças os resultados também surpreendem, como a couve que possui 10,2 mg/kg e a taioba que apresenta cerca de 6,6 mg/kg (TACO, 2011).

Dentre os micronutrientes, de modo geral, destaca-se os teores de ferro (Fe) observado nas folhas dos genótipos estudados que superam os encontrados na pesquisa de Oliveira et al. (2013) (94 mg/kg); Cremasco et al. (2016) (106 mg/kg); Guimarães (2018) (140,2 mg/kg). Comparando com outras hortaliças, os valores encontrados também se sobressaíram como a couve flor (69 mg/kg) (TACO, 2011); a beldroega (64,9 mg/kg) e a taioba (11,7 mg/kg) (BOTREL, 2020). O ferro é micronutriente responsável por despertar grande parte do interesse pelo consumo de ora-pro-nóbis, uma vez que essa fonte mineral auxilia na formação das células vermelhas e a sua deficiência no organismo humano causa graves problemas de anemia (GUIMARÃES, 2018).

As dos teores de Zinco (Zn) encontrados no trabalho variaram entre 16,91 e 22,35 mg/kg, resultados superiores ao encontrado por Botrel et al. (2020) (2,8 mg/kg). Quando se comparado a outras hortaliças não convencionais os resultados também surpreendem, como a serralha (4,2 mg/kg); o almeirão roxo (3,4 mg/kg), que apresentam teores inferiores ao encontrado. Esse micronutriente é de grande importância para o organismo humano, uma vez que age na função imunitária, no crescimento celular e se relaciona com a fertilidade e reprodução (PINHEIRO et al., 2005; GUIMARÃES, 2018).

Segundo Conceição (2013), a ingestão diária de 100 gramas das folhas de ora-pro-nóbis supre a demanda diária de adultos por cálcio, magnésio, ferro e zinco. Os bons níveis desses nutrientes presentes nas folhas de ora-pro-nóbis dos genótipos estudados, ressaltam o potencial dos mesmos na suplementação diárias de minerais. Esses nutrientes minerais possuem papel fundamental na manutenção da saúde humana, sendo obtidos unicamente através da alimentação ou suplementação, uma vez que o organismo não os sintetiza de maneira voluntária (GUIMARÃES, 2018).

Também foram observadas sutis diferenças entre os genótipos para os teores de fibra e clorofila total (Tabela 4). Ainda, se observou que não há diferença entre os genótipos quanto ao teor de proteína (médio 1,72 g/kg).

**Tabela 4** - Teores de fibra, proteína bruta e clorofila total em folhas de genótipos de ora-pro-nóbis.

| <b>Genótipos</b> | <b>Fibra (%)</b> | <b>Proteína (%)</b> | <b>Clorofila total</b> |
|------------------|------------------|---------------------|------------------------|
| LAV-UFES 01      | 6,87 c*          | 15,69 a             | 49,39 b                |
| LAV-UFES 02      | 8,16 a           | 20,36 a             | 50,46 b                |
| LAV-UFES 03      | 7,70 b           | 15,08 a             | 56,62 a                |
| LAV-UFES 04      | 6,78 c           | 18,56 a             | 50,49 b                |
| CV (%)           | 3,97             | 33,93               | 6,89                   |

\*Médias seguidas por uma mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si pelo teste t.

Considerando o percentual de fibra total, o genótipo LAV-UFES 02 foi o que apresentou o maior valor (8,16%). Entretanto, todos os materiais podem ser considerados ricos em fibra, pois apresentaram teores acima de 6%, que é o percentual mínimo, de acordo com a ANVISA (RESOLUÇÃO - RDC Nº 54, 2012) para que um alimento seja considerado fonte com elevado teor de fibra (BRASIL, 2012).

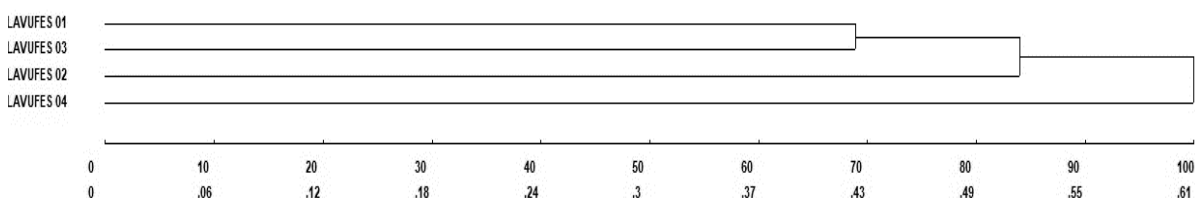
Quanto aos teores de proteínas, todos os materiais apresentaram acima de 15% de proteína, podendo ser considerados alimentos ricos em proteínas, pois demonstraram teores acima de 12%, que é o percentual mínimo, de acordo com a ANVISA (RESOLUÇÃO - RDC Nº 54, 2012) para que um alimento seja considerado fonte com elevado valor proteico (BRASIL, 2012). Resultado que justifica o codinome de “carne vegetal” aferido ao ora-pro-nobis, se equiparando a outras plantas alimentícias não convencionais com esse potencial, como a Bertalha (17,44%) e a Beldroega (12,82%)( VIANA et al., 2015). Cabe ressaltar que os valores encontrados se assemelham aos observados por Queiroz (2012), onde os teores de proteína presentes nas folhas de ora-pro-nóbis variaram entre 12 a 20%.

Os teores de clorofila total encontrados variaram entre 49,39 e 56,69, onde o genótipo LAV-UFES 03 apresentou a maior média. De forma geral, as médias encontradas sobressaem ao constatado por Jesus et al. (2020) (42,09); Barbosa (2021) (46,4) em trabalhos com ora-pro-nóbis e também para

hortaliças convencionais, como a alface (21,03) (FREIRE et al., 2019). Segundo Dias et al. (2020), o teor de clorofila representa um critério indireto da qualidade das hortaliças, possuindo relação direta com o estado nutricional da planta. Estudos apontam que o pigmento é benéfico à saúde, devido a sua função antioxidante, anti-inflamatória, anticancerígena e antimutagênica (FERRUZZI e BLAKESLEE, 2007). Além disso, a presença da clorofila representa uma relação com o padrão de qualidade exigido pelo consumidor, uma vez que esse pigmento fotossintético reflete a coloração a intensidade do verde presente nas folhas, aspecto muito apreciado no momento da escolha da hortaliça (SANTOS, 2020).

A grande quantidade de fibras e proteínas e nutrientes encontradas nas folhas de ora-pro-nóbis, ressalta seu potencial inestimável para a segurança alimentar, podendo ser incluído na gama de alimentos proteicos, nutritivos e ricos em fibras.

Apesar das sutis diferenças relatadas acima, não foi possível diferenciar os indivíduos em grupos, pelo método UPGMA (Método Pares-Grupos Não Ponderados por Médias Aritméticas). A ausência da formação de grupos é explicada pela distância entre os indivíduos (medidas de dissimilaridade), que não se mostraram estatisticamente diferentes ao ponto de formarem agrupamentos, concluído assim que todas estariam no mesmo grupo, segundo os teores de nutrientes e as características estruturais (teores de fibra, proteína e clorofila) (Figura 1).



**Figura 1** - Dendrograma representativo da dissimilaridade a partir dos teores de nutrientes e características estruturais de genótipos de ora-pro-nóbis, agrupados pelo método UPGMA.

A média nos valores de dissimilaridade foi de 0,41, com distâncias que variaram entre 0,41 e 0,61. A maior distância encontrada foi entre o genótipo

LAVUFES 04 e os demais (LAVUFES 01, LAVUFES 02 e LAVUFES 03), o que pode ser reflexo das sutis diferenças notadas em relação aos teores de nutrientes. A segunda maior distância foi 0,52, notada entre o genótipo LAVUFES 02 com o LAVUFES 01 e LAVUFES 03. Os genótipos que se mostraram mais próximos foram LAVUFES 01 e LAVUFES 03, com distância de 0,41.

A consistência do agrupamento revelada pelo coeficiente de correlação cofenética foi de 90,83% (CCC= 0,9083), com distorção de 0,35% e estresse de 5,93%; demonstrando confiabilidade na relação entre o dendrograma gerado pelo (UPGMA) e a matriz de dissimilaridade.

Para a análise molecular, foram selecionados primers baseando-se em critérios de detecção de maior polimorfismo, bandas com maior clareza e fácil visualização. Foram amplificadas o total de 165 bandas, das quais 104 (63%) se mostraram polimórficas (Tabela 2). O número de bandas amplificadas para cada primer variou entre 2 (UBC 807, UBC 824) e 15 (UBC 864). O tamanho dos fragmentos de DNA observados variaram de 400 a 2100 pares de bases (Tabela 5).

**Tabela 5** - Primers ISSR selecionados para ora-pro-nóbis incluindo número total de bandas, número de bandas polimórficas, porcentagem de bandas polimórficas por primer, faixa de variação de tamanho dos lócus em pares de bases e conteúdo da informação de polimorfismo.

| PRIMER | NTB <sup>1</sup> | NBP | PBP (%) | TPB (MAX-MIN) | PIC  |
|--------|------------------|-----|---------|---------------|------|
| 807    | 2                | 2   | 100     | 1400-1500     | 0,38 |
| 808    | 6                | 2   | 33,3    | 1600-700      | 0,42 |
| 809    | 8                | 6   | 75      | 1300-450      | 0,27 |
| 810    | 9                | 6   | 66,6    | 1900-600      | 0,28 |
| 811    | 8                | 5   | 62,5    | 1400-500      | 0,25 |
| 812    | 8                | 3   | 37,5    | 1400-420      | 0,14 |
| 813    | 8                | 6   | 75      | 2000-900      | 0,33 |
| 814    | 5                | 5   | 100     | 1750- 560     | 0,50 |
| 815    | 6                | 5   | 83,3    | 1900-500      | 0,35 |
| 816    | 4                | 2   | 50      | 2100-1200     | 0,19 |
| 818    | 3                | 3   | 100     | 2100-1750     | 0,42 |
| 824    | 2                | 2   | 100     | 1200-1000     | 0,38 |
| 829    | 5                | 2   | 40      | 1800-900      | 0,15 |
| 834    | 3                | 2   | 66,6    | 950-600       | 0,25 |
| 836    | 14               | 13  | 92,85   | 2000-450      | 0,38 |

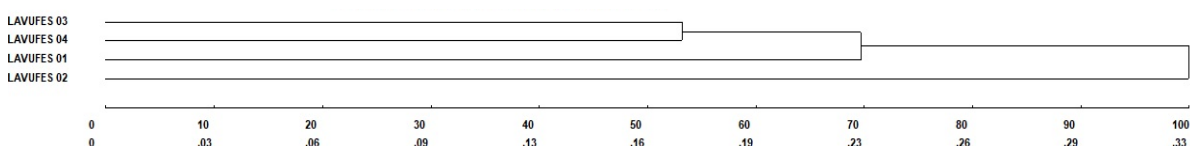
|              |            |            |             |           |             |
|--------------|------------|------------|-------------|-----------|-------------|
| 840          | 13         | 7          | 53,84       | 1600-400  | 0,19        |
| 862          | 10         | 6          | 60          | 1450-410  | 0,23        |
| 864          | 15         | 9          | 60          | 2100-650  | 0,24        |
| 867          | 4          | 4          | 100         | 2050-1350 | 0,13        |
| 868          | 6          | 2          | 33,3        | 2000-900  | 0,13        |
| 886          | 9          | 6          | 66,6        | 1750-450  | 0,28        |
| 887          | 8          | 1          | 12,5        | 1750-700  | 0,05        |
| 891          | 9          | 5          | 55,5        | 2000-650  | 0,22        |
| <b>TOTAL</b> | <b>165</b> | <b>104</b> | <b>63,0</b> | <b>-</b>  | <b>0,26</b> |

<sup>1</sup>Número total de bandas (NTB), número de bandas polimórficas (NBP), porcentagem de bandas polimórficas (PBP) por primer, faixa de variação de tamanho dos locus em pares de bases (TPB) e conteúdo da informação de polimorfismo (PIC).

Considerando o PIC (conteúdo informação polimórfica), nota-se que a média encontrada no estudo foi de 0,26, demonstrando que os marcadores moleculares ISSR utilizados nesse estudo foram mediamente informativos, conforme estabelecido por Botstein et al. (1980). O valor de PIC indica a qualidade do marcador molecular, pois fornece uma estimativa do poder discriminatório do marcador, por considerar o número de alelos por locus, a frequência relativa desses alelos (OLIVEIRA, 2015).

Não houve diferença estatística para as distâncias (medidas de dissimilaridade) entre os genótipos quanto às características genéticas, pelo método UPGMA, por isso a não formação de grupos. Com as medidas de dissimilaridade se construiu um dendrograma a partir das características genéticas (Figura 2).

A consistência entre os valores da matriz de dissimilaridade e as distâncias gráficas do dendrograma foi verificada pelo coeficiente de correlação cofenética que resultou em 90,7% (CCC= 0.907), com distorção de 1,05% e estresse de 10,32%.



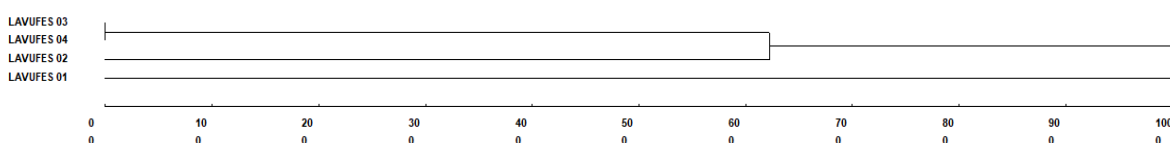
**Figura 2** - Dendrograma representativo da dissimilaridade a partir de características genéticas em genótipos de ora-pro-nóbis, agrupados pelo método UPGMA.

Em relação a dissimilaridade, a média encontrada foi de 0,20, onde os valores variaram entre 0,17 e 0,33. A maior distância genética foi percebida entre os genótipos LAVUFES 02 e os demais genótipos. A segunda maior distância é notada entre o genótipo LAVUFES 01 com o LAVUFES 03 e LAVUFES 04 (0,23).

Os genótipos que se mostraram mais semelhantes para características genéticas foram LAVUFES 03 (Alegre-ES/Rio Itapemirim) e LAVUFES 04 (Sul do Brasil), com distância de dissimilaridade igual a 0,17. Um resultado interessante, uma vez que esses materiais são originários de regiões distintas.

Quando se analisa conjuntamente os teores de nutrientes, componentes estruturais e as características genéticas, os valores de dissimilaridade são bem pequenos, pelo método UPGMA, sendo possível observar aumento no nível de similaridade entre os genótipos, comparado aos observados nas matrizes isoladas.

Os valores de dissimilaridade variaram entre 0 e 0,0019, com média de 0,0010. O genótipo LAVUFES 01 se mostrou mais distante dos demais genótipos avaliados, apresentando distância genética igual a 0,0019, diferente ao encontrado nas análises isoladas. A segunda maior distância genética foi observada entre o genótipo LAVUFES 02 e os genótipos LAVUFES 03 e 04 (0,0012), que ocuparam a mesma posição no dendrograma (0) (Figura 3).



**Figura 3** - Dendrograma representativo da dissimilaridade a partir de uma análise conjunta dos teores de nutrientes, características estruturais e genéticas em genótipos de ora-pro-nóbis, agrupados pelo método UPGMA.

A alta similaridade entre os genótipos LAVUFES 03 e 04, sugere que sejam semelhantes considerando conjuntamente os teores de nutrientes, características estruturais e genéticas.

Nota-se que a análise conjunta demonstrou padrões de dissimilaridade diferentes do encontrado nas análises isoladas. Isso demonstra a importância de se considerar o conjunto formado por características genéticas e fenotípicas no

processo de caracterização de um material. Na maioria dos casos uma única análise isolada considerando apenas um dos aspectos citados acima, não são suficientes para averiguar a real similaridade entre os materiais, resultando em uma caracterização escassa, que por consequência pode interferir no uso eficiente dos recursos genéticos.

A baixa dissimilaridade averiguada entre os genótipos pode ser explicada pela capacidade da espécie de apresentar a propagação vegetativa (estaquia) como a principal forma de disseminação do material, tornando plantas clones umas das outras.

Portanto, esse resultado ressalta a importância da introdução de novos genótipos contrastantes que promovam a heterozigosidade, ou seja, medida da variação genética entre as populações de ora-pro-nóbis na região com vistas na ampliação da sua capacidade de adaptação a fatores bióticos e abióticos que influenciam no seu desenvolvimento e produção agrícola. Essas informações favorecem a conexão entre a geração de conhecimento e a prática e o conhecimento técnico-científico, fornecendo conhecimentos que contribuirão com a expansão do cultivo da ora-pro-nóbis.



#### **4 CONCLUSÕES**

Considera-se que os genótipos estudados são semelhantes quanto aos teores de nutrientes, às características estruturais (Fibra, proteínas e clorofila) e geneticamente.

Apesar das semelhanças encontradas, o genótipo LAV-UFES 01 se destacou por apresentar maior teor de P e Cu; LAV-UFES 02 maior teor de K, fibra e proteína; LAV-UFES 03 maior teor de Mn e clorofila; LAV-UFES 04 maior teor de Ca, Mg, Fe e Zn.

Não houve formação de grupos pelo método UPGMA demonstrando que possuem alta similaridade genética. Todavia, quando analisamos os resultados vemos um padrão de polimorfismo considerável entre os materiais.

## **5 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Se faz necessário conduzir outros trabalhos visando não somente a diversidade genética, mas sim uma caracterização mais ampla de cada acesso. Além disso, é importante ressaltar a necessidade de realizar a caracterização morfológica e morfoagronômica dos materiais, analisando características como padrão de desenvolvimento, produção, presença de espinhos, padrão de folhas, dentre outras características.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA; M. E. F.; JUNQUEIRA, A. M. B.; SIMÃO, A. A.; CORRÊA, A. D. Caracterização química das hortaliças não-convencionais conhecidas como ora-pro-nobis. **Bioscience Journal**, v. 30, n. 1, p. 431-439, 2014.

ANDRADE, R. R.; GALBIATTI, J. A.; QUEIROZ, C. R. A. A.; PAVANI, L. C. Teores de cálcio e de ferro em folhas de ora-pro-nóbis em função da adição de composto orgânico no substrato e de lâminas de irrigação. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável (RBAS)**, v. 9, n. 2, p. 120-130, 2019.

BARBOSA, M. M. Quantificação e controle da qualidade do DNA genômico. In: MILACH, S. Marcadores moleculares em plantas. Porto Alegre, p.99- 106, 1998.

BHERING, L.L. Rbio: A Tool For Biometric And Statistical Analysis Using The R Platform. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, v.17, p.187-190, 2017.

BARBOSA, G. O. **Produtividade, qualidade química e sensorial da ora-pro-nóbis fertilizada com adubo orgânico e mineral**. Dissertação (Mestrado em Agroecologia e Desenvolvimento Rural). Universidade Federal de São Carlos, Araras, 2021.

BOTREL, N., FREITAS, S., FONSECA, M. J. D. O., MELO, R. A. D. C., MADEIRA, N. Valor nutricional de hortaliças folhosas não convencionais cultivadas no Bioma Cerrado. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 23, 2020.

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 Human Genetic**, v. 32, p. 314–331. 1980.

BRASIL. Ministério da Agricultura, pecuária e abastecimento. Hortaliças não convencionais: (tradicionais). MAPA p. 54. Brasília, 2010.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução RDC nº 54 de 12 de novembro de 2012. Dispõe sobre o Regulamento Técnico sobre Informação Nutricional Complementar. Disponível em: <http://antigo.anvisa.gov.br>. Acesso em 22 de agosto de 2022.

CHEN, L. et al. High genetic diversity and small genetic variation among populations of *Magnolia wufengensis* (magnoliaceae), revealed by ISSR and SRAP markers. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 17, n. 6, p. 268–274, 2014.

CONCEIÇÃO, M.C. Otimização no processo de extração e caracterização de mucilagem de ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Miler). Tese (Doutorado)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

CREMASCO, C.P; GODINHO, A. M. M, BOSO, A. C. M. R., VILAS BOAS, A. C. S., MOLLO NETO, M.; GABRIEL FILHO, L. R. A. Avaliação bromatológica e sensorial do uso de *Pereskia aculeata* em massa de massa. **Revista Brasileira de Engenharia De Biosistemas**, v. 10, p. 234–240, 2016.

CRUZ, C. D.; FERREIRA, F. M.; PESSONI, L. A. **Biometria aplicada ao estudo da diversidade genética**. Viçosa: UFV, 2011.

CRUZ, C. D. GENES - A software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**, v. 35, n. 3, p. 271-276, 2017.

CRUZ, A. F.; SAVICKI, A.; FRENTZEL, A. E.; ADAM, I. P.; PRADO, L. O.; FRANQUETO, L.; BALBI, M. E. Plantas alimentícias não convencionais: utilização das folhas de “ora-pro-nobis” (*Pereskia aculeata* mill, cactaceae) no consumo humano. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 21, n. 3, 2020.

DIAS, L. A.; SILVEIRA, P. H. A. M.; OMURA, S. S.; GARCIA, B.; OLIVEIRA, R. E. V. Determinação de Teores de Clorofilas e Carotenoides em Alface, Rúcula e Cebolinha. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 3, n. 4, p. 3100-3107, 2020.

FERRUZZI, MG; BLAKESLEE, J. 2007. Digestion, absorption, and cancer preventative activity of dietary chlorophyll derivatives. *Nutrition Research* 27: 1-12.

GIUSTINA, L. D., ROSSI, A. A. B., VIEIRA, F. S., TARDIN, F. D., NEVES, L. G.; PEREIRA, T. N. S. Variabilidade genética em genótipos de teca (*Tectona grandis* Linn. F.) baseada em marcadores moleculares ISSR e caracteres morfológicos. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 27, n. 4, p. 1311-1324, 2017.

GUIMARÃES, J. R. A. Caracterização físico-química e composição mineral de *Pereskia aculeata* mill., *Pereskia grandifolia* haw. e *Pereskia bleo* (kunth) dc. Tese Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2018.

IDREES, M.; IRSHAD, M. Molecular Markers in Plants for Analysis of Genetic Diversity: A Review. **European Academic Research**, v. 2, n. 1, p. 1513-1540, 2014.

JESUS, R.S.; ANJOS, G. L.; FERREIRA, P. M.; JESUS, A. R.; SOUZA, G. S.; SANTOS, A. R. Características agrônômicas de ora-pro-nóbis cultivadas em ambientes de luz e adubação orgânica. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 6, n. 3, p.15048-15063, 2020.

LIBERATO, P. S.; LIMA, D. V. T.; SILVA, G. M. B. PANCS- Plantas alimentícias não convencionais e seus benefícios nutricionais. **Environmental smoke**, v. 2, n. 2, 2019.

MORETZSOHN, M.C.; SILVA, D. B.; INGLIS, P. W.; CUSTÓDIO, A. R.; MADEIRA, N. R.; VIEIRA, R. F. Caracterização molecular da coleção de germoplasma de ora-pro-nóbis (*Pereskia* spp.) da Embrapa. Boletim de pesquisa e desenvolvimento. **Embrapa recursos genéticos e biotecnologia**. Brasília, 2020.

OLIVEIRA, D.C. S.; WOBETO, C.; ZANUZO, M. R.; SEVERGNINI, C. Composição mineral e teor de ácido ascórbico nas folhas de quatro espécies olerícolas não-convencionais. **Horticultura Brasileira**, v. 31, n. 3, 2013.

OLIVEIRA, A. M. C. **Associação das abordagens de genética quantitativa e de genética de populações no melhoramento de plantas**. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2015.

PADILHA, M. R. F.; SOUZA, V. B. N.; SHINOHARA, N. K. S.; PIMENTEL, R. M. M. Plantas Alimentícias não Convencionais presentes em Feiras Agroecológicas em Recife: Potencial Alimentício. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 6, n. 9, p. 64928- 64940, 2020.

PINHEIRO, D. M.; PORTO, K. R. A.; MENEZES, E. M. S. A química dos alimentos: carboidratos, lipídios, proteínas e minerais. Maceió: EDUFAL, 2005.

QUEIROZ, C. R. A. A. **Cultivo e composição química de Ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Mill.) sob déficit hídrico intermitente no solo**. Tese (Doutorado em Agronomia). Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal- SP, 2012.

SANTOS, C. C; GOELZER, A.; SILVERIO, J. M.; SCALON, S. P. Q.; ZÁRATE, N. A. H; VIEIRA, M. C. Capacidade vegetativa e trocas gasosas em mudas de *Pereskia aculeata* Plum em diferentes substratos. **Revista Scientia Plena**, v.15, 2019.

SANTOS, C P. **Desempenho agrônômico e teor de clorofila na relação com a absorção de água em alface**. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal e Bioprocessos Associados). Universidade Federal de São Carlos, Araras, 2020.

SILVA, A.; SILVA, A. J.; BENEVIDES, C. M. J. Revisão sistemática sobre panc no brasil: aspectos nutricionais e medicinais. **Revista Scientia**, v.7, n. 1, p. 132-151, 2022.

TACO: **Tabela brasileira de composição de alimentos** / NEPA – UNICAMP. 4ª ed. revisada e ampliada. Campinas: NEPAUNICAMP, 2011.

UN. World Population Prospects: Revision, Highlights, Working Paper No. ESA/P/WP; **United Nations**, Department of Economic and Social Affairs, Population Division, 27ª edição, p 12. New York, 2022.

VIANA, M. M. S.; CARLOS, L. A.; SILVA, E.C.; PEREIRA, S. M. F.; OLIVEIRA, D. B.; ASSIS, M. L.V. Composição fotoquímica e potencial antioxidante em hortaliças não convencionais. **Horticultura Brasileira**, v.33, 2015.

VIEIRA, R. F.; CAMILLO, J.; CORADIN, L. Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro: Região Centro-Oeste. **Ministério do Meio Ambiente**, Brasília, 2016.