10º FEPEG FÓRUM ENSINO • PESQUISA EXTENSÃO • GESTÃO
RESPONSABILIDADE SOCIAL: INDISSOCIABILIDADE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA
Realização: Unimontes, Secretaria de Desenvolvimento Econômico, Ciência, Tecnologia e Ensino Superior, Minas Gerais
Apoio: FAPEMIG, FADENOR
ISSN 1806-549 X

Autor(es): GUILHERME ARAÚJO LACERDA, MÁRCIO ANTÔNIO SILVA PIMENTA, BRUNA KAROLLINE CARDOSO QUEIROZ, ANA FLÁVIA PINHO SOUZA, JÉSSICA AMELINE SANTOS RAMOS, GUILHERME PEREIRA DIAS, RONALD RAFAEL MOREIRA SANTOS

Diversidade genética de populações de buriti (*Mauritia flexuosa* L.f. (Mart.))

Introdução

No cerrado, por mais que predominam características de solos bem drenados, também há a ocorrência de solos úmidos, muitos deles as veredas. Nestas veredas podemos encontrar indivíduos da palmeira *Mauritia flexuosa* L.f. (Mart) (Arecaceae), popularmente conhecida como buriti, miriti, miritizeiro, palmeira-do-brejo, buriti-do-brejo, carandá-guassú, moriti (Ferreira, 2005). Além da importância ecológica esta espécie possui um grande potencial de uso como fonte alternativa de renda para comunidades rurais, entretanto, existem poucos estudos sobre a diversidade genética de populações desta palmeira.

Até o presente momento, os fatores genéticos não são considerados em qualquer atividade, extrativista ou não. Sabe-se que tais fatores, além do ambiente, são responsáveis por diferenças em produtividade, adaptação e reprodução entre indivíduos (Conte 2004). O extrativismo intenso do buriti pode afetar a diversidade genética de suas populações exploradas, especialmente quando da extração de flores e frutos que mostram diferentes características, resultando em diferentes graus de pressão (Peters et al. 1989). Antes que a espécie possa perder genes importantes para sua perpetuação, é imprescindível conhecer sua estrutura genética. Diante disso, este trabalho teve como objetivo principal fornecer informações preliminares sobre a diversidade genética de populações naturais de buriti no estado de Minas Gerais, com ênfase na região Norte do estado.

Material e métodos

A. Áreas de estudo e coleta

Foram amostradas duas populações/áreas naturais de buriti, sendo uma no município de Jequitaí e a outra localizada na Área de Proteção Ambiental do Rio Pandeiros (APA-Pandeiros), município de Januária. As duas populações são representativas da Região Norte de Minas Gerais, mais especificamente na Região do médio São Francisco.

O material biológico consistiu de folhas jovens de indivíduos adultos (reprodutivos). Amostras foliares de 20-30 indivíduos de cada uma das populações foram coletadas, identificadas, embaladas e encaminhadas ao Laboratório de Genética da Conservação da Universidade Estadual de Montes Claros - Unimontes para extração do DNA.

B. Extração do DNA

Na extração do DNA, fora utilizada a metodologia descrita por Doyle & Doyle (1990) adaptado por Machado et al., (2002). O DNA genômico foi extraído com nitrogênio líquido de aproximadamente 1 g de folhas usando CTAB 5%; 1% de polivinilpirrolidona (PVP); 0,02% β-mercaptoetanol; 100µm de Tris-HCl 1 M; 20µM de EDTA 0,25M; e NaCl 5 M a 1,30%. Foram utilizados os *primers* microssatélites: MF3, MF8, MF9, MF11, MF12, MF14, MF17, MF18 e MF29 validados por Menezes et al. (2012). O coquetel para a realização da reação de polimerase em cadeia (PCR) foi composta por 5 ng de DNA genômico, 100 mM de dNTPs, 1,5 mM de MgCl2, Buffer 1X, 0,5 Un de Taq DNA polimerase e 2,4 µM de cada primer.

C. Amplificação do DNA

As amplificações foram realizadas em termociclador (GeneAmp PCR System) com a seguinte programação: 94ºC por 5 minutos, para desnaturação; 35 ciclos de 94ºC por 1 minuto, 30 segundos na temperatura de anelamento para cada par de primer específico; 72ºC por 1 minuto e terminando com 72ºC por 7 minutos. Os fragmentos foram separados em gel de poliacrilamida (5%) em eletroforese vertical. A coloração foi feita com utilização de nitrato de prata.

C. Análise dos dados

As análises genéticas foram realizadas por meio do programa GDA 1.0 (Lewis and Zaykin, 2000) observando ao mesmo tempo o equilíbrio de Hardy-Weinberg, He e Ho.

Apoio financeiro: CNPq

ISSN 1806-549 X

Resultados e discussão

Foram testados nove pares de *primers* microssatélites (Simple sequence repeats – SSR) já desenvolvidos para a espécie *Mauritia flexuosa.* Porém, somente cinco destes amplificaram para as duas populações testadas. Na genotipagem dos géis observou-se que o tamanho dos alelos (pb), não obedeceu aos tamanhos encontrados e descritos por Menezes et al. (2012), exceto o primer MF17 que se obteve resultado significativo, sendo este primer utilizado nas análises genéticas das duas populações. É importante destacar que no presente estudo foi utilizado termociclador diferente do utilizado por Menezes et al. (2012) para a validação dos *primers*. Esta mudança de aparelho, bem como o diferente padrão de funcionamento deste, como maior eficiência na mudança de temperatura, pode ter influenciado significativamente na amplificação dos *primers* e consequentemente no resultado final.

A proporção de locos polimórficos foi de 1 para ambas as populações. A heterogozidade esperada (H*e*) e observada (H*o*), para o loco MF 17, foi de 0,177 e 0,193, respectivamente; enquanto para as populações a H*e* teve média de 0,181 e a H*o* obteve-se valor médio de 0,207. A relação entre H*e* e H*o* resulta no índice de fixação (*f*), que para a população 1 (População de Jequitaí) apresentou índice igual a zero, indicando que não há endogamia; enquanto a população 2 (População da APA-Pandeiros), apresentou índice negativo igual a -0,151, ou seja, indicando excesso de heterozigotos. O baixo Fst=0,094 (índice de fixação), mostra que há fluxo gênico dentro da população ou com outras populações próximas. O fato das duas populações em estudo não se formarem continuamente na natureza, e estando tão distantes, com um número distinto de indivíduos, pressupõe que não haja fluxo gênico entre elas.

Para os testes feitos por Menezes et al. (2012) no desenvolvimento de *primers*, nenhum par de locos mostrou-se expressivamente em desequilíbrio de ligação. Após uma correção sequencial de Bonferroni para diversos testes, todos os locos foram encontrados para distanciar significativamente do equilíbrio de Hardy-Weinberg, indicando menos heterozigotos (Menezes et al., 2012). Contudo as populações podem ter sofrido variações no tamanho e/ou desigual nos níveis de endogamia, pois, de acordo com este trabalho o índice de fixação, o número de heterozigotos pode estar em excesso.

Os 9 primers SSRs desenvolvidos, foram provenientes da análise de DNA genômico de 2 populações naturais da Área de Proteção Ambiental do Rio Pandeiros (APA-Pandeiros) (Menezes et al, 2012), sendo uma dessas populações utilizada no presente estudo. A outra área situada próxima ao município de Jequitaí, encontra-se a aproximadamente, 300 Km de distância da área localizada na APA-Pandeiros, tendo sido os primers SSRs desenvolvidos para a população da APA-Pandeiros. O fato de pouco menos de 45% dos primers não ter amplificado para uma população diferente (Jequitaí) ou até para a mesma população (APA-Pandeiros) sugere uma diferenciação genética interpopulacional e intrapopulacional (Rossi et al, 2014).

Em um estudo feito com a *Mauritia flexuosa* puderam confirmar que espécies autógamas se caracterizam com baixa diversidade genética dentro de populações e alta diferenciação genética entre as populações, se comparadas a espécies alógamas. Para espécies alógamas (reprodução cruzada) a diferenciação genética, segundo dados obtidos na AMOVA (Análise da Variância Molecular), para diferentes populações de *M. flexuosa*, é bem menor do que plantas autógamas, por possuir reprodução cruzada, esta sofre muito mais diferenciação genética intrapopulacional do que interpopulacional (Rossi et al., 2014). É conhecido que a dispersão das sementes de *M. flexuosa* por animais e pela água é fator importante que pode ajudar a determinar a estrutura populacional, porém, não o suficiente para evitar o processo de diferenciação entre as populações (Lima, 2012).

Conclusões

Os resultados quanto as amplificações não foram satisfatórios, pois, dos nove *primers* testados, somente cinco amplificaram com as populações que se encontram em Jequitaí e APA-Pandeiros, tendo destaque apenas o primer MF17. A análise desses primers em outras populações torna-se importante de modo a verificar sua eficiência em amplificar os locos gênicos para os quais foram desenvolvidos.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro e a Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) pela bolsa BIPDT de Marcio A. S. Pimenta.

ISSN 1806-549 X

Referências bibliográficas

CONTE, R. Estrutura genética de populações de *Euterpe edulis* Mart. submetidas a ação antrópica utilizando marcadores alozímicos e microssatélites. 2004. 135p. (Curso de Pós-Graduação) – ESALQ, Piracicaba. 2004.

DOYLE, J,J.; DOYLE, J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus** 12: 13- 15. 1990.

FERREIRA, M.G.R. Buriti (*Mauritia flexuosa*). Embrapa, Porto Velho, RO.

LEWIS, P.O.; ZAYKIN, D.Genetic data analysis: Computer program for the analysis of allelic data. Version 1. 0 (d15). 2000.

LIMA, N.E. 2012. Filogeografia de populações naturais do buriti (*Mauritia flexuosa* l. F., Arecaceae) do brasil central. Master's thesis, Escola de Agronomia e Engenharia de Alimentos, UFG, Goiânia.

MACHADO, F.R.B. *et al*. Extração de DNAgenômico de câmbios de espécies madeireiras tropicais. Em: Anais do 53° Congresso Nacional de Botânica, Recife.

MENEZES, E.V. *et al*. Development and characterization of DNA microsatellite primers for buriti (Mauritia flexuosa L.f.). **Genet Mol Res**, v. 11, n. 4, 4058-4062. 2012.

PETERS, S.M. *et al*. Oligarchic forests of economic plants in Ammonia: Utilization and conservation of an important tropical resource. **Conserv Biol**. v. 3, p. 341. 1989.

ROSSI, F.S. *et al*. Diversidade genética em populações naturais de *Mauritia flexuosa* L. f.(Arecaceae) com uso de marcadores ISSR Genetic diversity in natural populations of Mauritia flexuosa (Arecaceae) using ISSR markers. Scientia Forestalis, v. 42, n. 104, p.631-639. 2014.