



## DIVERSIDADE GENÉTICA DE POPULAÇÕES NATURAIS DE CASTANHEIRA (*Bertholletia excelsa*) COM MARCADORES ISSR.

VANESSA SANTOS SILVA<sup>1</sup>; KARINA MARTINS<sup>2</sup>; TATIANA DE CAMPOS<sup>3</sup>; LÚCIA HELENA DE OLIVEIRA WADT<sup>4</sup>;  
1.UFAC, RIO BRANCO, AC, BRASIL; 2.UFSCAR, SOROCABA, SP, BRASIL; 3,4.EMBRAPA, RIO BRANCO, AC, BRASIL;  
[vanessa.ssilva@yahoo.com.br](mailto:vanessa.ssilva@yahoo.com.br)

**Resumo:** A castanheira possui um grande valor econômico devido à exploração de suas sementes. Consequentemente, é uma espécie arbórea muito visada para fins de extrativismo. Nesse sentido, as análises genéticas são de grande importância, pois geram um conhecimento sobre a estrutura genética relevante para a elaboração de projetos de conservação da espécie. Os marcadores moleculares ISSR têm sido utilizados para estudos genéticos por serem altamente informativos, multilocos e de baixo custo, permitindo a caracterização da diversidade genética da espécie. O objetivo deste trabalho foi avaliar a estrutura genética populacional da castanheira nas regionais do Baixo e Alto Acre, no Estado do Acre. Nas seis populações analisadas utilizando seis marcadores ISSR, obteve-se 45 locos com polimorfismo intrapopulacional de 65 a 85%. As populações avaliadas dividiram-se em dois agrupamentos: baixo acre e alto acre. A análise de diversidade genética mostrou que 74,29% da variação encontrada esteve dentro das populações, contribuindo, assim, para o conhecimento da biologia da espécie.

**Palavras-chave:** Castanha-do-brasil, Variabilidade Genética, Conservação Genética.

### Introdução

A floresta amazônica possui uma grande riqueza de espécies vegetais com potencial para o uso econômico, dentre as quais destaca-se a castanheira (*Bertholletia excelsa*), com um grande valor comercial devido à exploração de suas sementes conhecidas como castanha-do-brasil ou castanha-do-pará. Em decorrência da pressão de exploração, as análises genéticas são de grande importância, já que o conhecimento gerado por estudos de estrutura genética de populações é fundamental para a realização de programas de conservação, gerando dados úteis na definição de áreas de conservação e mostrando as áreas com prioridades para o manejo dos recursos genéticos. Nesse sentido, os marcadores moleculares têm auxiliado bastante no estudo genético de populações florestais, como o caso do marcador ISSR (Williams *et al.*, 1990). O ISSR é um marcador altamente informativo, multiloco e de baixo custo (Salimath *et al.*, 1995) que pode apresentar dados úteis para caracterizar a diversidade genética e avaliar o impacto da coleta das sementes na estrutura genética das populações, dentre outras funções. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a estrutura genética de populações naturais e exploradas de Castanheira por meio de marcadores ISSR.



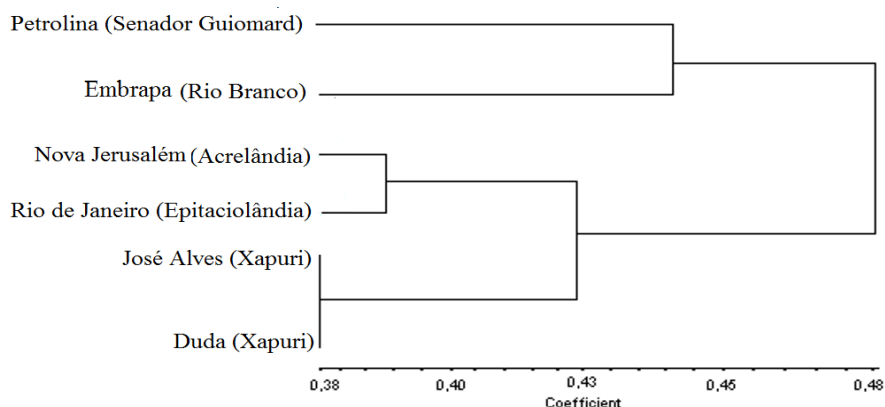
## Material e Métodos

As amostras de entrecasca do tronco foram coletadas de 226 árvores adultas situadas em seringais e áreas particulares em seis populações distribuídas nos municípios acrianos de Rio Branco, Acrelândia, Senador Guiomard, Xapuri e Epitaciolândia. Posteriormente, o DNA genômico foi extraído com base em modificações no protocolo CTAB 2% de Ferreira e Grattapaglia (1996). Para as amplificações foram utilizados seis marcadores ISSR ((CA)<sub>8</sub>GG, (CA)<sub>7</sub>GTCC, (GA)<sub>8</sub>RG, (AG)<sub>8</sub>YG, (CA)<sub>8</sub>RY E (AG)<sub>8</sub>YT). As amplificações foram realizadas com volume final de 13 µl contendo: 1,5 mM de MgCl<sub>2</sub>; 1 unidade de Taq Polimerase (Phoneutria); 5 ng de DNA; 0,25 mM de cada dNTP; 0,20 mM do primer; 50 mM de KCl; 10 mM de Tris- HCl. Os produtos da amplificação foram visualizados em géis de agarose (1,5%) corados com brometo de etídio. Na leitura dos géis, foram utilizados dados binários, com (1) para a presença e (0) para ausência. Foi calculado o percentual de polimorfismo total das populações e por população. Para estimar a variabilidade entre e dentro das populações foi realizada a Análise de Variância Molecular (AMOVA) com o *software* Arlequin. O dendrograma mostrando a estruturação dos grupos foi construído pelo programa NTSYSpc (versão 2,10z), utilizando-se o critério de agrupamento UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*). Para avaliar a estruturação espacial das populações, utilizou-se o *software* Boot para mostrar a distância genética entre os pares de populações e o programa MapSource para estimar a distância geográfica entre os pares de população.

## Resultados e Discussão

Dos 226 indivíduos avaliados com seis marcadores ISSR, obtiveram-se 45 locos. De todos os locos analisados, somente dois apresentaram a frequência maior que 98,67%, sendo considerados monomórficos. Dentro de cada população o polimorfismo ficou entre 65% e 85% mostrando diversidade genética dentro da espécie. O dendrograma apresentado na Figura 1 mostra que as populações geograficamente próximas (Petrolina, Embrapa e Nova Jerusalém) apresentam distância genética considerável. E que os grupos formados no dendrograma dividiram as populações em dois grupos: Baixo Acre e Alto Acre, que correspondem às regiões geográficas de coleta dentro do Estado.

**Figura 1.** Dendrograma formado pelo método UPGMA indicando os agrupamentos formados geneticamente baseados no índice de similaridade de Jaccard.



A análise da diversidade presente dentro das populações e entre as populações, mostrou que 25,71% de variação ocorreu entre as populações e 74,29 % está dentro das populações. Hamrick (1992) retrata que espécies arbóreas possuem a maior variação dentro das populações do que entre as populações em comparação com outras formas de vidas e que em grandes áreas geográficas, padrões de dispersão de sementes pelo vento ou por animais, como a castanheira conferem maior diversidade genética dentro do que entre as populações.

### Conclusão

*Bertholletia excelsa* apresentou alto grau de polimorfismo e dentro das populações, não foi observada estruturação da variabilidade genética. Estudos adicionais sobre a estrutura genética de populações de *B. excelsa* devem ser conduzidos a fim de auxiliar programas de melhoramento e de conservação da espécie, além de contribuir para a exploração sustentável.

### Referências Bibliográficas

- FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 2.ed.Embrapa-Cenargen,. 220p 1996. Brasília.
- HAMRICK, J. L., GODT, M. J. W., SHERMAN-BROYLES, S. L.: Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. **New Forests** 6: 95–124 (1992).
- SALIMATH, S.S., OLIVEIRA, A.C., GODWIN, I.D., BENNETZEN, J.L. Assessment of genome origins and genetic diversity in the genus *Eleusine* with DNA markers. **Genome** 38: 757-763. (1995).
- WILLIAMS, John G.K.; KUBELIK, Anne R.; LIVAK, Kenneth J.; RAFALSKI, J. Antoni and TINGEY, Scott V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, November, vol. 18, no. 22, p. 6531- 6535. (1990)