

CARACTERIZAÇÃO DA DIVERSIDADE GENÉTICA INTRAESPECÍFICA DE SUBAMOSTRAS POPULACIONAIS DE CEDRO DOCE

Luiz Alberto Pessoni¹, Thiago H. J. S. do Nascimento¹, Adrya Samy Cardoso¹, Cássia Ângela Pedrozo², Flávia Antunes³

¹Universidade Federal de Roraima - e-mails: luiz.pessoni@ufr.br; thiago6412p@gmail.com; adryasamy@hotmail.com; ²Embrapa Roraima - e-mail: cassia.pedrozo@embrapa.br; ³Universidade Estadual de Roraima - e-mail: flavia.antunes@uerr.edu.br.

Palavras-chave: análise multivariada, *Pochota fendleri*, recursos genéticos florestais

Introdução

O cedro doce (*Pochota fendleri* - (Seem.) W. S. Alverson & M. C. Duarte), anteriormente denominada de *Bombacopsis quinata* ou *Pachira quinata*, é uma espécie arbórea da família Malvaceae [1] produtora de madeira de elevada qualidade, com distribuição natural na América Central e Norte da América do Sul [2, 3]. Entretanto, ela foi alvo de intensa atividade extrativista predatória nas últimas décadas, resultando em sua inclusão na lista de espécies florestais em vulnerabilidade ou ameaçadas de extinção em certas localidades [4, 5], inclusive em Roraima. Paralelamente, muitos trabalhos visando sua caracterização, cultivo e melhoramento já foram executados em países como a Costa Rica, Colômbia e Venezuela [3, 6, 7].

A Embrapa Roraima mantém uma coleção *in vivo* e *ex-situ* da espécie, formada por 400 indivíduos, aproximadamente, originados de sementes coletadas de plantas matrizes pertencentes a subpopulações nativas de quatro municípios do estado [8]. Assim, o presente trabalho visou estimar a divergência genética da coleção, por meio da caracterização fenotípica e molecular de parte desses indivíduos, contribuindo com informações tanto para o melhoramento quanto na definição de estratégias de conservação regional dos recursos genéticos de *P. fendleri*.

Material e Métodos

As informações foram obtidas de 82 indivíduos, pertencentes a 16 famílias de meios irmãos de diferentes localidades (Tabela 1). As extrações de DNA foram realizadas a partir de amostras de botões florais [9] e algumas de tecido de câmbio vascular, utilizando o protocolo baseado no detergente CTAB, com diversas modificações, considerando as dificuldades na purificação do DNA da espécie. Os dados moleculares foram gerados por meio de sete *primers* ISSR, cujos produtos amplificados foram resolvidos em eletroforese horizontal em gel de agarose a 1,5%. Enquanto os dados fenotípicos foram obtidos a partir da avaliação individual de 20 caracteres de variação discreta, relativos à morfologia foliar, presença e densidade acúleos no fuste, arquitetura da planta, taxas de crescimento e CAP.

Tabela 1 - Progênies de meios irmãos de *Pochota fendleri*, originadas de 16 plantas matrizes nativas de quatro municípios de Roraima, mantidas pela Embrapa Roraima

Município de origem	Código do município	Identificação das Matrizes (nº ind. avaliados da progênie)	Total de Matrizes (Total ind. avaliados)
Normandia	1	1 (1); 3 (3); 4 (8); 17 (2)	4 (14)
Mucajaí	2	5 (10); 6 (2); 7 (12); 8 (3); 15 (3);	5 (30)
Alto Alegre	3	9 (5); 10 (9); 14 (3);	3 (17)
Bonfim	4	11 (7); 12 (4); 13 (7)	3 (18)
Indeterminado	5	16 (3)	1 (03)
Total			16 (82)

A divergência ou distância genética foi estimada entre todos os pares de indivíduos, a partir dos dados fenotípicos e de dados moleculares. As matrizes de distâncias obtidas foram utilizadas em processos de agrupamento pelos métodos Tocher sequencial e UPGMA [10]. No caso das informações moleculares, foi também estimado o número ótimo de marcadores requeridos para determinar a divergência total entre os genótipos avaliados [10].

Todas as análises estatísticas foram realizadas empregando o *software* GENES [11].

Resultados e Discussão

O conjunto de *primers* empregado produziu um total de 74 bandas ou locos amplificados, todos apresentando algum grau de polimorfismo. O número ótimo de locos amplificados, para obter a divergência real entre todas as plantas, foi estimado em 64. Portanto, abaixo do número total obtido (dados não apresentados). Os agrupamentos formados pelo método de Tocher sequencial, a partir das diferentes matrizes de distâncias estimadas, são apresentados na Tabela 2. Apesar de terem produzidos o mesmo número de grupos, as informações fenotípicas evidenciaram um nível de divergência superior ao proporcionado pelos dados moleculares. Dado que, no primeiro caso, mais de 50% dos indivíduos foram alocados nos grupos 02 a 07, enquanto no segundo, esse valor foi de 30%. Mesmo assim, um total de 12 indivíduos (destacados em negrito) foram apontados entre os mais divergentes nos dois casos. Eles pertencem a cinco progênies diferentes, oriundas de matrizes das diferentes localidades de coleta. Por sua vez, níveis mais elevados de divergência foram observados no agrupamento produzido a partir da soma das duas matrizes de distâncias. Entretanto, com poucas exceções, os indivíduos alocados nos grupos 02 a 12, por meio desse procedimento, são os mesmos alocados nos grupos 02 a 07 dos procedimentos anteriores.

O método UPGMA produziu, essencialmente, os mesmos padrões de agrupamentos resultantes da aplicação do método Tocher (dados não apresentados). Isto é, o número e o

tamanho dos grupos formados foram análogos, assim como os genótipos alocados nos respectivos grupos.

Tabela 2 - Agrupamentos pelo método de otimização sequencial (Tocher modificado) de 82 indivíduos de *Pochota fendleri*, pertencentes a 16 progênes¹ de meios irmãos, utilizando matrizes de distâncias obtidas a partir de dados moleculares, dados fenotípicos e dados moleculares e fenotípicos combinados.

G ²	DADOS MOLECULARES					DADOS FENOTÍPICOS					DADOS COMBINADOS				G ³	
	01	3.9C	2.15C	5.16C	3.10B	2.8B	2.8A	3.10B	4.12A	4.11E	4.11F	4.11G	4.11E	2.5J		01
	3.10A	2.7A	4.13B	1.4G	1.3B	2.5J	4.13E	4.12C	2.5I	2.8A	3.10B	2.8B	4.12A			
	3.14C	4.11G	4.11F	2.8A	1.4A	4.11G	4.11F	5.16B	1.3C	4.12C	5.16C	1.3C	2.5I			
	3.9A	4.12B	3.10F	3.10H	2.6B	5.16C	1.4C	3.10G	2.15A	4.13E	5.16B	1.4C	2.7I			
	2.7K	4.11B	4.11D	1.1A	3.9B	4.13A	1.4D	1.4F	2.6B	4.11C	1.4F	2.5A	3.9B	2.6B		
	2.5J	2.7I	2.5C	2.5G	4.11C	4.11E	1.1A	2.7I	4.11C	4.11D	2.5G	3.9C	4.11D	1.1A		
	2.5H	1.4C	2.7C	4.12C	2.5A	1.3C	3.9C	3.9D	3.9E	4.13F						
	2.7F	3.10C	1.4B	1.4H	4.12D	2.5A	2.7G	3.9B	3.14B							
	3.14A	2.5B	1.4F	1.4E	2.5F	2.7J	2.8B	2.5G	2.5D	3.14C						
	2.15B	4.13F	4.13D	4.11A	2.7L	1.4H	3.9A	2.7J								
	2.8C	2.6A	3.10I	5.16B	2.7H											
02	2.5D	2.7E	3.10E	2.7B	4.13C	2.7F	3.10I	1.3A	5.16A	2.7F	3.10I	2.8C	2.6A	4.12D	02/	
	2.7G	2.15A				2.6A	2.15B	4.12D	2.7A	2.7A	2.15B	1.3A	/	4.13B	03	
						2.8C				2.15C	3.10A	4.11A				
03	2.5I	3.9E	4.13A	4.12A	4.13E	2.7H	3.10E	2.7C	2.5B	2.7H	3.10E	2.7C	2.5B	1.4H	04/	
	3.9D	2.7D	1.17B	4.13G		4.13C	2.7D	2.7K	4.13B	3.9A	4.13C	2.7K	2.7D	05		
						2.5F	4.11A	3.10A	2.15C	4.13A	/	2.5C	4.13G	2.7L		
						2.5E				1.4B	2.7B	1.4A				
04	3.10D	1.17A	3.14B			2.5C	4.13G	2.7L	1.4B	4.13F	3.9D	3.9E	3.14B	2.7J	06/	
						2.7B	3.10H	1.4A	4.13D	2.7G	1.4E	3.14C	2.5F	/	1.3B	07
						3.14A	1.3B	3.10D		3.10H	1.4G					
05	2.5E	3.10G				4.12B	3.10F	2.5H	1.17A	2.5D	2.15A	1.4D	3.10G	08/		
						1.4E				3.10F	3.14A	/	3.10D	4.13D	09	
										4.12B						
06	5.16A	1.4D				4.11B	1.17B	3.10C		2.5H	1.17A	2.5E	4.11B	10/		
										1.17B	5.16A	2.7E	11			
07	1.3A					2.7E	1.4G			3.10C				12		

¹ Primeiro dígito: município de origem da planta matriz (1 - Normandia, 2 - Mucajaí, 3 - Alto Alegre, 4 - Bonfim e 5 - desconhecido); segundo dígito: nº da matriz; letra: indivíduo da respectiva progênie. ² Grupos formados a partir de dados moleculares e fenotípicos, respectivamente. ³ Grupos formados a partir da soma das matrizes de distâncias de dados moleculares e fenotípicos. Negrito indivíduos comuns aos grupos mais divergentes.

Em todos os processos de agrupamento, por outro lado, não foi verificado qualquer tendência sistemática de inclusão, em um mesmo grupo, de indivíduos pertencentes a uma mesma progênie e/ou provenientes de um mesmo município ou região, indicando que variabilidade genética acessada encontra-se, fundamentalmente, concentrada dentro das populações locais, havendo pouca ou nenhuma divergência entre populações. Resultados semelhantes foram obtidos com populações de espécies arbóreas tropicais, geograficamente

pouco distanciadas ($d < 200$ Km) e que apresentam elevada taxa de autoincompatibilidade genética [12], como é o caso do cedro doce [3] e das populações aqui investigadas.

Conclusões

O uso conjunto de informações moleculares e fenotípicas possibilitou determinar, com maior precisão, os genótipos com maior grau de divergência entre si, os quais poderiam ser empregados em cruzamentos contralodados para o melhoramento regional da espécie.

A divergência genética observada parece não ser geograficamente estruturada.

Novas coletas de germoplasma deverão ser orientadas para amostrar mais matrizes de uma mesma localidade, especialmente em áreas pouco e/ou ainda não amostradas.

Agradecimentos e Apoio Financeiro

Embrapa Roraima; CNPq (processo 457834/2014-5); Universidade Federal de Roraima (Edital PRPPG/UFRR/001/2018 Pró-Pesquisa).

Referências Bibliográficas

- [1] ALVERSON, W. S.; DUARTE, M. C. Hello again *Pochota*, farewell *Bombacopsis* (Malvaceae). **Novon: A Journal for Botanical Nomenclature**, v. 24, n. 2, p.115-119, 2015.
- [2] CORDERO, J.; BOSHIER, D.H. 2003. Descripción de la especie y distribución natural. In: CORDERO, J. & D.H. BOSHIER (Eds.). ***Bombacopsis quinata*, un árbol maderable para reforestar**. Tropical Forestry Papers 39. Oxford Forestry Institute, Alden Publishers, Osney Mead, Oxford, p. 3-12, 2003.
- [3] CASTELLANOS, M.C.; STEVENSON, P.R. Phenology, seed dispersal and difficulties in natural recruitment of the canopy tree *Pachira quinata* (Malvaceae). **Rev. Biol. Trop.** (Int. J. Trop. Biol.) v. 59, n. 2, p. 921-933, 2011.
- [4] FAO. **Databook on endangered tree shrub species and provenances**. FAO, Rome, Italy, p.155-162, 1986.
- [5] FAO. **Report of eighth meeting of the FAO Panel of Experts on Forest Genetic Resources**. FAO, Rome, Italy.1993.
- [6] VALLEJO, A. Quince años de mejoramiento genético de la ceiba tolúa (*Bombacopsis quinata*) en Monterrey forestal. **Cronica Forestal y del Medio Ambiente**, v.13 n., p. 1-10, 1998.
- [7] RAMÍREZ, N.; VALERA, L.; GARAY, V.; BRICEÑO, H.; QUIJADA, M.; MORET de PENA.; MONTILLA, J. Eficiencia reproductiva de clones de *Pachira quinata* (Jacq.) W. Alverson (Bombacaceae) bajo condiciones de cultivo. **Acta Bot. Venez.**, Caracas, v. 31, n. 2, p. 367-386, 2008.
- [8] SMIDERLE, O. J.; SOUZA, A.G.; PEDROZO, C.A.; LIMA, C.G. Nutrient solution and substrates for 'cedro doce' (*Pochota fendleri*) seedling production. **Rev. bras. eng. agríc. ambient.**, Campina Grande, v. 21, n. 4, p. 227-231, 2017.
- [9] PESSONI, L. A.; CARDOSO, A. S.; BARROS-WILSON, E.; PEDROZO, C. A. Botões florais como fonte de extração de DNA em *Pochota fendleri* (Seem.) W. S. Alverson & M. C. Duarte (Malvaceae) In: Congresso Nacional de Botânica, 2018, 69, Cuiabá -MT. **Anais [...]**, 2018. s/p. Disponível em: <https://www.botanica.org.br/congressos-nacionais/anais/anais-do-69cnbot>.
- [10] CRUZ, C. D.; FERRERA, F. M.; PESSONI, L. A. **Biometria aplicada ao estudo da diversidade genética**. 2ª Ed: Viçosa, MG - UFV, 2020. 614p
- [11] CRUZ, C.D. Genes Software – extended and integrated with the R, Matlab and Selegen. **Acta Scientiarum**. v.38, n.4, p.547-552, 2016.
- [12] SUJII, P. S.; MARTINS, K.; WADT, L. H. O.; AZEVEDO, V. C. R.; SOLFERINI, V. N. Genetic structure of *Bertholletia excelsa* populations from the Amazon at different spatial scales. **Conservation Genetics** (Dordrecht. Online), v. 16, p. 955-964, 2015.