

VARIABILIDADE GENÉTICA DE ACESSOS DE BARU COM BASE EM MARCADORES RAPD E CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE FRUTOS, SEMENTES E FOLHAS

Marcela Versiani Venancio Pires¹, Fábio Gelape Faleiro², Sueli Matiko Sano², Bernardo Coutinho de Almeida³, João Gilberto Alves Villela³, Fabiana Tavares de Ramos³, Renato Andrade Dallasta³, José Teodoro de Melo², Nilton Tadeu Vilela Junqueira², Graciele Bellon³

¹Estudante de mestrado em Agronomia da Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro, 70910-900 Brasília, DF, e-mail: maversiani@yahoo.com.br,

²Embrapa Cerrados, BR 020, Km 18, Caixa Postal 08223, 73010-970 Planaltina, DF, e-mail-ffaleiro@cpac.embrapa.br,

³Bolsistas de IC/Estagiários, CNPq/Embrapa Cerrados/UnB/FTB/UPIS.

Introdução

O baru (*Dipteryx alata* Vog.), árvore da família Leguminosae, é uma fruteira amplamente disseminada no Cerrado. Apresenta várias utilizações na alimentação humana e animal, na medicina, indústrias de cosméticos, bioenergia, artesanato, fonte de madeira e usos no reflorestamento e recuperação de áreas degradadas. O baru apresenta também, grande importância ecológica, sendo classificado como espécie-chave do Cerrado, devido ao amadurecimento de seu fruto na época seca alimentar várias espécies da fauna dessa região, incluindo o gado. Seu uso sustentável pode contribuir na conservação da biodiversidade desse bioma, podendo ser valorizado como produto que contribui para a conservação da natureza (SANO, et. al. 2004).

O fruto possui alto valor calórico e nutricional, sendo a polpa e a semente usadas como fonte de carboidrato, proteína, e óleo (VALLILO, et.al. 1990). Diante desse potencial, a caracterização genética de diferentes acessos de baru com base em diferentes características é de grande importância para programas de conservação e uso de recursos genéticos visando ao desenvolvimento, domesticação e melhoramento genético da cultura (FALEIRO, 2007). Neste contexto, objetivou-se, nesse trabalho, estudar a variabilidade genética de acessos de baru com base em características morfológicas de frutos, sementes e flores e com base em marcadores moleculares RAPD.

Material e Métodos

Os materiais genéticos analisados no presente trabalho foram 10 acessos de baru, da coleção de trabalho da Embrapa Cerrados. Para obtenção de marcadores RAPD, folhas de cada material foram coletadas e o DNA genômico extraído utilizando o método do CTAB, com modificações (Faleiro et al., 2003). As reações de amplificação foram feitas em um volume total de 13 uL, contendo Tris-HCl 10 mM (pH 8,3), KCl 50 mM, MgCl₂ 3 mM, 100 uM de cada um dos desoxiribonucleotídeos (dATP, dTTP, dGTP e dCTP), 0,4 uM de um “primer” (Operon Technologies Inc., Alameda, CA, EUA), uma unidade da enzima Taq polimerase e,

aproximadamente, 15 ng de DNA. Foram utilizados 10 *primers* decâmeros: OPD-02, OPD-07, OPD-08, OPD-16, OPF-14, OPG-15, OPH-04, OPH-12, OPH-16 e OPH-19. As amplificações foram efetuadas em termociclador programado para 40 ciclos, cada um constituído pela seguinte seqüência: 15 segundos a 94 °C, 30 segundos a 35 °C e 90 segundos a 72 °C. Após os 40 ciclos, foi feita uma etapa de extensão final de seis minutos a 72 °C, e finalmente, a temperatura foi reduzida para 4 °C. Após a amplificação, foram adicionados, a cada amostra, 3 µl de uma mistura de azul de bromofenol (0,25%) e glicerol (60%) em água. Essas amostras foram aplicadas em gel de agarose (1,2%), corado com brometo de etídio, submerso em tampão TBE (Tris-Borato 90 mM, EDTA 1 mM). A separação eletroforética foi de, aproximadamente, quatro horas, a 90 volts. Ao término da corrida, os géis foram fotografados sob luz ultravioleta. Os marcadores RAPD gerados foram convertidos em uma matriz de dados binários, a partir da qual foram estimadas as distâncias genéticas entre os diferentes acessos, com base no complemento do coeficiente de similaridade de Nei e Li, utilizando-se o Programa Genes (CRUZ, 1997).

Foram avaliadas seis características morfológicas de frutos (massa, largura, comprimento, espessura do fruto, espessura do endocarpo e espessura da polpa), quatro de sementes (massa, largura, comprimento e espessura) e cinco de folhas (número de folhas por ramo, comprimento, massa e largura da raque e massa dos folíolos). As médias das características foram obtidas utilizando um total de 20 frutos, 20 sementes e mínimo de 15 folhas de cada acesso. Estatísticas descritivas foram calculadas para cada característica e com base nas médias de cada característica avaliada em cada acesso foi calculada uma matriz de distâncias genéticas, utilizando a Distância Euclidiana Média Padronizada (DEMP) com o auxílio do Programa Genes (CRUZ, 1997).

As matrizes de distâncias genéticas calculadas com base em marcadores RAPD e nas características morfológicas foram utilizadas para realizar análises de agrupamento com o auxílio do Programa Statistica (Statsoft Inc., 1999), utilizando como critério de agrupamento o método do UPGMA. A contribuição relativa de cada característica morfológica para a diversidade genética também foi avaliada, utilizando o método de Singh (1981), com o auxílio do Programa Genes.

Resultados e Discussão

Foram obtidos 96 marcadores RAPD com os 10 *primers* decâmeros, perfazendo uma média de 9,6 marcadores por *primer*. Os acessos CPAC BA-08 e CPAC BA-09 foram os mais divergentes dos demais (Figura 1). Além da divergência desses dois acessos, a análise de agrupamento mostrou a formação de dois grupos de similaridade, um formado pelos acessos CPAC BA-01, CPAC BA-02 e CPAC BA-03 e o outro pelos acessos CPAC BA-05, CPAC BA-06, CPAC BA-07 e CPAC BA-10.

Com relação aos dados morfológicos de frutos, sementes e folhas, observa-se diferenças fenotípicas entre os acessos (Tabela 1). As características que mais contribuíram para a diversidade genética foram o peso do fruto (41,3%), o seu comprimento (21,2%) e largura (11,1%). Com relação às características de sementes e folhas, as que mais contribuíram para a diversidade genética foram o comprimento da semente (5,3%) e o comprimento da raque (8,4%). A análise de agrupamento evidencia os acessos CPAC BA-01, CPAC BA-02, CPAC BA-08, CPAC BA-06, CPAC BA-05 como os mais divergentes. Dois grupos de similaridade podem ser observados, um formado pelos acessos CPAC BA-03, CPAC BA-04 e CPAC BA-09 e outro pelos acessos CPAC BA-07 e CPAC BA-10.

Tabela 1. Estatísticas descritivas de 15 características morfológicas de frutos, sementes e folhas de 10 acessos de baru e contribuição relativa de cada característica para a diversidade genética. Brasília, Embrapa Cerrados, 2010.

Orgão	Característica	Mínimo	Máximo	Média	DP	Variância	CRDG ¹ (%)
Fruto	Massa (g)	17,65	37,19	27,06	6,59	43,42	41,3
	Largura (mm)	30,56	40,27	36,17	3,41	11,65	11,1
	Comprimento (mm)	45,07	58,67	51,80	4,72	22,31	21,2
	Espessura (mm)	25,19	31,77	28,38	2,25	5,07	4,8
	Esp. endocarpo (mm)	3,71	8,85	5,86	2,05	4,20	4,0
	Esp. polpa (mm)	3,62	6,03	4,73	0,91	0,83	0,8
Semente	Massa (g)	0,79	1,57	1,17	0,25	0,06	0,06
	Largura (mm)	8,64	11,31	9,92	0,80	0,64	0,61
	Comprimento (mm)	20,16	26,19	23,59	2,37	5,62	5,3
	Espessura (mm)	7,45	10,09	8,55	0,84	0,71	0,7
Folha	Número por ramo	2,36	3,44	2,87	0,34	0,11	0,1
	Comp. raque (cm)	22,72	32,23	25,99	2,96	8,79	8,4
	Larg. raque (mm)	3,80	6,70	5,13	0,80	0,64	0,6
	Massa raque (g)	0,42	0,88	0,58	0,15	0,02	0,02
	Massa folíolo (g)	2,10	4,62	3,10	0,97	0,94	0,9

¹Contribuição Relativa para a Diversidade Genética, utilizando-se o método de Singh (1981).

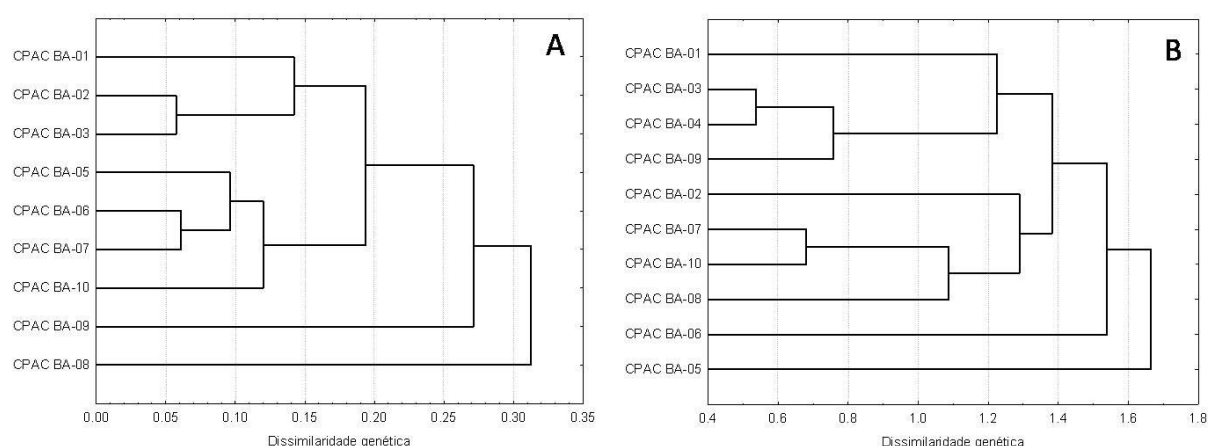


Figura 1. Análises de agrupamento de 10 acessos de baru, com base na matriz de distâncias genéticas calculadas utilizando-se 96 marcadores RAPD (A) e 15 características morfológicas de frutos, sementes e folhas (B). O método do UPGMA foi utilizado como critério de agrupamento.

Conclusões

Os resultados mostraram a diversidade genética dos acessos analisados, evidenciando a importância desses materiais. As características morfológicas permitiram uma maior diferenciação dos acessos em relação aos dados moleculares. Possivelmente, parte dessa diferenciação é devida ao efeito do ambiente, uma vez que os acessos estão localizados em diferentes locais com diferentes condições edáficas. Para os trabalhos de caracterização morfo-agronômica é essencial diminuir os efeitos ambientais nas características e para isso, a montagem de um banco ativo de germoplasma com repetições (progênies ou clones) dos diferentes acessos em um mesmo local assume importância estratégica.

Referências Bibliográficas

CRUZ, C.D. Programa genes: aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa : UFV, 2001. 648p.

FALEIRO, F.G. MARCADORES GENÉTICO-MOLECULARES aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2007. 102 p.

FALEIRO, F.G.; FALEIRO, A.S.G.; CORDEIRO, M.C.R., KARIA, C.T. Metodologia para operacionalizar a extração de DNA de espécies nativas do cerrado. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2003. (Comunicado Técnico N°92) 6p.

NEI, M.; LI, W. H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America, Washington, v. 76, n. 10, p. 5269-5273. 1979.

SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F.; BRITO, M. A. Documento 116 - Barú: Biologia e Uso. Planaltina: Embrapa Cerrados, ISSN 1517 – 5111, 2004.

SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic diversity. Indian Journal of Genetics and Plant Breeding, New Delhi, v. 41, n. 2, p. 237-245, 1981.

STATSOFT INC. Statistica for Windows [Computer program manual] Tulsa, OK. StatSoft Inc. 2300 East 14th Street, Tulsa. 1999.

VALLILO, M. I.; TAVARES, M.; AUED, S. Composição química da polpa e da semente do fruto do cumbaru (*Dipteryx alata* Vog.) – Caracterização do óleo e da semente. Revista do Instituto Florestal. São Paulo, v.2, p. 115-125, 1990.