

# 10<sup>o</sup>

# FEPEG FÓRUM

ENSINO • PESQUISA  
EXTENSÃO • GESTÃO  
RESPONSABILIDADE SOCIAL: INDISSOCIABILIDADE  
ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA



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 Jequitaiá 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, foi 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 MgCl<sub>2</sub>, 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: 94°C por 5 minutos, para desnaturação; 35 ciclos de 94°C por 1 minuto, 30 segundos na temperatura de anelamento para cada par de primer específico; 72°C por 1 minuto e terminando com 72°C 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.



## 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 heterozigidade 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 Jequitaiá) 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  $F_{st}=0,094$  (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 Jequitaiá, 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 (Jequitaiá) 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 autógamias 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 autógamias, 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 ampliações não foram satisfatórios, pois, dos nove *primers* testados, somente cinco amplificaram com as populações que se encontram em Jequitaiá 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.

# 10<sup>o</sup>

# FEPEG FÓRUM

ENSINO • PESQUISA  
EXTENSÃO • GESTÃO

RESPONSABILIDADE SOCIAL: INDISSOCIABILIDADE  
ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA



ISSN 1806-549 X

Realização:



Apoio:



## Referências bibliográficas

- CONTE, R. Estrutura genética de populações de *Euterpe edulis* Mart. submetidas a ação antrópica utilizando marcadores alozímicos e microsatélites. 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. Burity (*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 DNA genômico de câmbios de espécies madeiras tropicais. Em: Anais do 53º 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.