

Variabilidade Genética de Umbuzeiro na Região Norte do Estado de Minas Gerais

Patrícia de Abreu Moreira¹, Marcio Antonio Silva Pimenta², Heloísa Mattana Saturnino³,
Nívio Poubel Gonçalves³ e Dario Alves de Oliveira²

Introdução

O umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arr. Cam.) é uma dicotiledônea pertencente à família Anacardiaceae [1]. É uma árvore xerófila, caducifolia que atinge uma altura média de cinco metros e apresenta uma copa umbeliforme que atinge até quinze metros de diâmetro, iniciando-se cerca de um metro acima do solo [2,3]. O umbuzeiro é típico do sertão e do agreste e tem sua origem no Brasil, precisamente na região semi-árida nordestina [2]. É uma espécie endêmica de ocorrência restrita às caatingas [1], não existindo relatos de sua ocorrência em outras regiões do mundo [4]. Está presente desde o Ceará até o Norte do Estado de Minas Gerais [5]. O fruto, umbu ou imbu, tem sido explorado comercialmente para consumo “in natura” e industrialmente na elaboração de geléias, sorvetes, doces, polpas congeladas e sucos prontos para consumo. Plantios comerciais são inexistentes [6] e a exploração de seus frutos é baseada no extrativismo. Esta prática aliada ao processo de ocupação do semi-árido brasileiro tem provocado a perda da variabilidade genética da espécie [6].

Em 1996 a Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado de Minas Gerais (EPAMIG), a Empresa de Assistência Técnica Rural de Minas Gerais (EMATER) e a Fundação de Desenvolvimento Tecnológico do Norte de Minas Gerais (FUNDETEC) iniciaram trabalhos de pesquisa com o umbuzeiro na região Norte do Estado de Minas Gerais, com o objetivo de selecionar matrizes cujos frutos apresentem características desejáveis para o consumo “in natura” e/ou industrial. O projeto tem também as finalidades de multiplicar e manter o material selecionado em uma coleção de germoplasma para avaliação de desempenho. Desta forma o conhecimento da variabilidade genética entre as plantas da coleção da EPAMIG torna-se importante em estratégias de melhoramento da fruteira.

A RAPD distingue-se das demais técnicas de *Polymerase Chain Reaction* (PCR) por utilizar primers decâmeros com seqüência nucleotídica arbitrária, ao contrário de outras técnicas que requerem informações a respeito da seqüência do DNA alvo para a construção de primers específicos [7]. A RAPD tem se mostrado eficiente na identificação da diversidade genética em diversos grupos de plantas [8,9,10,11]. Todavia, poucos

exemplos do uso de RAPD têm sido mostrados na literatura em frutíferas [12].

O objetivo deste trabalho foi determinar a diversidade genética existente entre os materiais de umbuzeiros prospectados no jardim clonal da EPAMIG na região Norte do Estado de Minas Gerais por meio da técnica *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD).

Material e Métodos

A - Coleta do material vegetal

O material analisado foi composto por vinte e cinco acessos de umbuzeiro obtidos da coleção da EPAMIG. Os acessos correspondem a clones obtidos das matrizes provenientes das seguintes localidades: Jaíba, Janaúria, Janaúba, Lontra, Mamonas, Matias Cardoso, Monte Azul, Nova Porteirinha, Porteirinha e Verdelândia (Tabela 1).

B - Extração do DNA genômico

O DNA genômico foi obtido por meio de folhas jovens recém-coletadas de acordo com a metodologia de extração descrita por Doyle & Doyle [13] e modificada por Faleiro et al. [14]. A quantidade de DNA foi estimada em espectrofotômetro por leitura da absorbância a 260 nm e a integridade do DNA extraído foi determinada em gel de agarose 0,8%.

C - Amplificação do DNA

Foi realizada extração do DNA que em seguida foi diluído para concentração de trabalho de 10 ng/μL. A PCR foi realizada com 50 ng de DNA. Amostras de DNA representativas dos acessos de cada localidade foram, então, submetidas à técnica de RAPD. A separação dos produtos amplificados foi feita por meio de eletroforese em gel de agarose 1,2%. Após a eletroforese os géis foram visualizados e fotografados em equipamento de fotodocumentação.

D - Análise dos dados

Para análise dos dados foi construída uma matriz binária com presença (um) e ausência (zero) de bandas, características de cada iniciador para cada um dos clones. O agrupamento dos acessos de umbuzeiro foi realizado de acordo com a diversidade genética expressa pela

1. Estudante de graduação em Ciências Biológicas-Bacharelado, Bolsista de Iniciação Científica-PROBIC/FAPEMIG, Laboratório de Biotecnologia, Universidade Estadual de Montes Claros. Campus Universitário Prof. Darcy Ribeiro, prédio 6, Montes Claros, MG, CEP 39.401-089. e-mail: dario.oliveira@unimontes.br

2. Professor do Departamento de Biologia Geral, Bolsista de Incentivo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Tecnológico – BIPDT/FAPEMIG, Laboratório de Biotecnologia, Universidade Estadual de Montes Claros. Campus Universitário Professor Darcy Ribeiro, prédio 6, Montes Claros, MG, CEP 39.401-089.

3. Pesquisador da Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado de Minas Gerais-EPAMIG. Rodovia MGT, 122 – Km 155 – Caixa Postal:12 – Zona Rural, Nova Porteirinha, MG, CEP 39525-000.

Apoio financeiro: Banco do Nordeste do Brasil S.A. - BNB - FUNDECI e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais - FAPEMIG.

distância euclidiana. A representação das distâncias genéticas foi efetuada por meio de dendrograma obtido pelo método UPGMA (Método de média aritmética não ponderada).

Resultados e Discussão

Foram testados 35 oligonucleotídeos (primers) que apresentaram um nível satisfatório de informação genética, pois cada um deles gerou, pelo menos, uma banda polimórfica. O cálculo da distância genética foi feito com base nas bandas polimórficas obtidas. O dendrograma foi obtido pela análise dos produtos de amplificação gerados por 35 primers. A Figura 1 mostra o dendrograma obtido pelo método de agrupamento UPGMA. O dendrograma permitiu a observação de três grupos distintos nos acessos estudados. O grupo 1 foi representado apenas pelos indivíduos C12, C23 e C26. Os indivíduos C12 e C23 foram prospectados no município de Janaúba e o indivíduo C26 no município de Jaíba. O grupo dois foi representado pelos indivíduos C01, C14, C15 e C19. Os indivíduos 14 e 19 foram prospectados no município de Monte Azul e os indivíduos 01 e 15 nos Municípios de Lontra e Janaúba respectivamente. O grupo 3 foi constituído pelos indivíduos C06, C09, C10, C18, C21 e C28. Os indivíduos C09 e C10 prospectados em Janaúria, os indivíduos C21 e C28 em Nova Porteirinha e os indivíduos C06 e C18 nos municípios de Mamonas e Janaúba respectivamente. Foram observados indivíduos da localidade de Janaúba distribuídos nos três grupos observados (grupos 1, 2 e 3). Não foram observados agrupamentos entre os outros indivíduos estudados. No entanto, o posicionamento dos clones nos grupos poderá ser alterado à medida que novos produtos de amplificação forem gerados. Embora o número de primers analisados até o momento não tenha sido grande, foi observada a distribuição de clones únicos (os quais representam localidades distintas) em diferentes grupos. Atualmente outros primers estão sendo utilizados, no entanto é importante destacar que, os acessos de umbuzeiro foram prospectados em dez localidades relativamente próximas em termos geográficos, o que pode demandar a avaliação de um número maior de primers para que os clones de uma mesma localidade formem grupos distintos.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Banco do Nordeste do Brasil S.A. – BNB-FUNDECI, pelo apoio financeiro

para realização do trabalho e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG pelas bolsas concedidas.

Referências

- [1] SOUZA, J. C. 2000. Variabilidade genética e sistema de cruzamento em populações naturais de umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arr. Cam.). Tese de Doutorado, Curso de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, UFV, Viçosa.
- [2] LIMA, L. F. N.; ARAÚJO, J. E. V.; ESPÍNDOLA, A. C. M.; 2000. Série frutas nativas UMBU (*Spondias tuberosa* Arr. Cam.). Jaboticabal, Funep. 29 p.
- [3] SILVA, C. M. M. S.; PIRES, I. E.; SILVA, H. D.; 1987. Caracterização dos frutos de umbuzeiro. Petrolina, PE: EMBRAPA-CPATSA, 17 p. (EMBRAPA-CPATSA. Boletim de Pesquisa, 34).
- [4] SANTOS, C. A. F.; 1997. Dispersão da variabilidade fenotípica do umbuzeiro no semi-árido brasileiro. Rev. Pesq. Agropec. Bras., Brasília, v.32, n.9, p.923-930, set...
- [5] LORENZI, H. 1992. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Ed. Plantarum. 352p.
- [6] SANTOS, C. A. F.; NASCIMENTO, C. E. S.; 1998. Relação entre caracteres quantitativos do umbuzeiro (*Spondias tuberosa* Arr. Cam.). Rev. Pesq. Agropec. Bras., Brasília, v.33, n.4, abril.
- [7] WILLIAMS, J. G. K.; KUBELIK, A.; LIVAK, K. J.; RAFALSK, J. A.; TINGEY, S. V.; 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Res., v.18, p. 6531-6535.
- [8] OLIVEIRA, R. P.; CRISTOFANI, M.; MACHADO, M. A., 2001. Marcadores RAPD para mapeamento genético e seleção de híbridos de citros, Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal, v. 23, n.3, p. 477-481, dez.
- [9] COSTA, M. R.; OLIVEIRA, M. S. P.; MOURA, E. F.; 2001. Variabilidade genética em açazeiro (*Euterpe oleraceae* Mart.), Biotec. Ciência e Desen., n.21, p. 46-50, jul./ago.
- [10] PEREIRA, C. D.; KERR, W. E.; 2001. Divergência genética entre doze genótipos de abacaxizeiro (*Ananás comosus*, L. Merrill.) estimada por análise de marcadores RAPD, Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal, v. 23, n.3, p. 335-338, ago.
- [11] XAVIER, G. R.; MARTINS, L. M. V.; RUMJANEK, N. G.; FILHO, F. R. F.; 2005. Variabilidade genética em acessos de caupi analisada por meio de marcadores RAPD. Rev. Pesq. Agropec. Bras., Brasília, v.40, n.4, p. 353-359, abril.
- [12] SALLA, M. F. S.; RUAS, C. F.; RUAS, P. M.; CARPENTIERI-PÍPOLO, V.; 2002. Uso de marcadores moleculares na análise da variabilidade genética em acerola (*Malpighia emarginata* D.C.), Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal, v. 24, n.1, p. 15-22, abr.
- [13] DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L., 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus, v.12, n.1, p.13-15.
- [14] FALEIRO, F.G.; ARAÚJO, I.S.; BAHIA, R.C.S.; SANTOS, R.F.; YAMADA, M.M.; ANHERT, D., 2002. Otimização da extração e amplificação de DNA de *Theobroma cacao* L. visando obtenção de marcadores RAPD, Agrotrópica, v.14, n.2, p.31-34.

Tabela 1. Procedência e códigos utilizados pela EPAMIG na identificação dos 25 acessos de umbuzeiro (*Spondias tuberosa*) prospectados no Norte do Estado de Minas Gerais.

Nº código	Procedência	Nº código	Procedência
EPAMIG-C 01	Lontra	EPAMIG-C14	Monte Azul
EPAMIG-C 02	Porteirinha	EPAMIG-C15	Janaúba
EPAMIG-C03	Porteirinha	EPAMIG-C18	Janaúba
EPAMIG- C04	Janaúba	EPAMIG-C19	Monte Azul
EPAMIG-C05	Porteirinha	EPAMIG-C21	Nova Porteirinha
EPAMIG-C06	Mamonas	EPAMIG-C23	Janaúba
EPAMIG-C07	Januária	EPAMIG-C26	Jaíba
EPAMIG-C08	Monte Azul	EPAMIG-C27	Janaúba
EPAMIG-C09	Januária	EPAMIG-C28	Nova Porteirinha
EPAMIG-C10	Januária	EPAMIG-C30	Porteirinha
EPAMIG-C11	Janaúba	EPAMIG-C32	Verdelândia
EPAMIG-C12	Janaúba	EPAMIG-C33	Matias Cardoso
EPAMIG-C13	Januária		

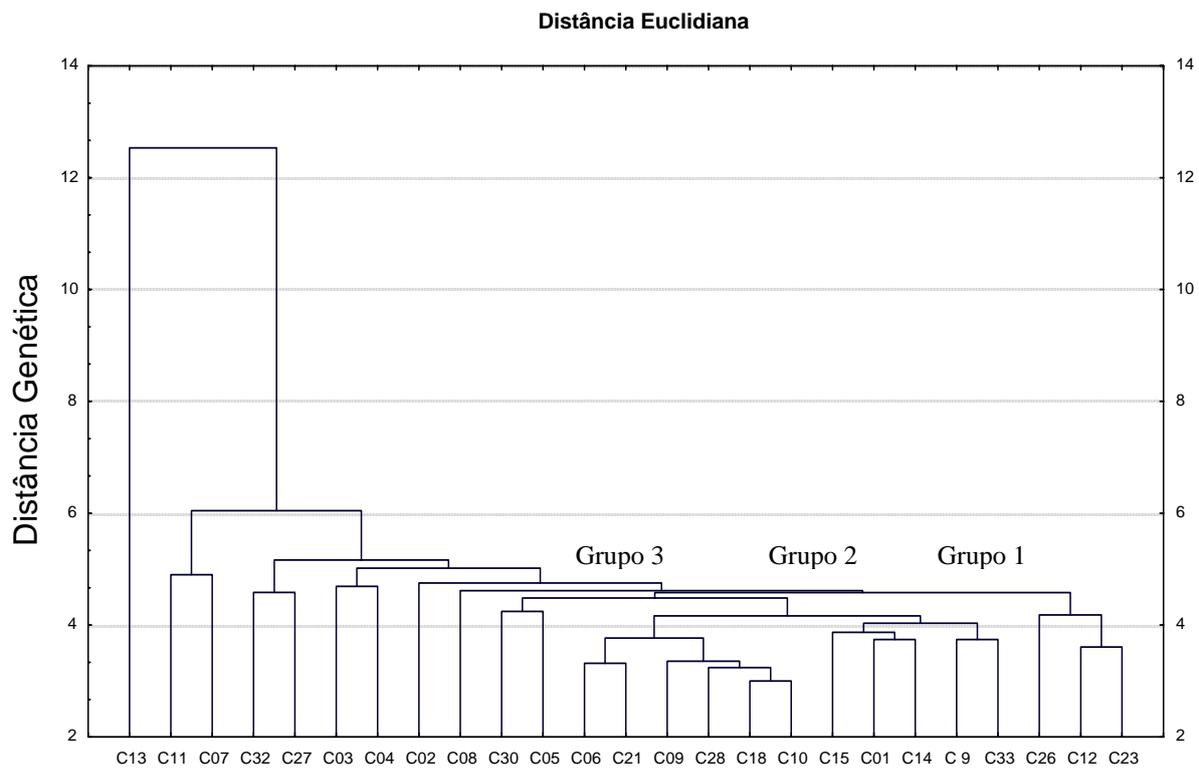


Figura 1 – Dendrograma gerado pelo método de análise cluster UPGMA a partir de uma matriz de distância euclidiana. O agrupamento dos clones de umbuzeiro foi realizado de acordo com a diversidade genética expressa pela distância euclidiana.