

# Comunicado 170

---

## Técnico

ISSN 9192-0099  
Dezembro, 2007  
Brasília, DF

### ANÁLISE GENÉTICA EM POPULAÇÕES DE *Butia eriospatha* (Mart. ex Drude) Becc UTILIZANDO MARCADORES MOLECULARES RAPD.

Gavião, C.F.C.<sup>1</sup>  
Sujii, P.S.<sup>2</sup>  
Inglis, P.W.<sup>3</sup>  
Ciampi, A.Y.<sup>4</sup>

---

#### Introdução

Na região Sul do Brasil, restam apenas cerca de 3,4% das florestas nativas e a freqüente ação antrópica nessas florestas, tanto para a extração de madeira, como para a implantação de pastagens, lavoura e construção de áreas urbanas, tem contribuído para a redução de recursos naturais (FUPEF & SEMA, 2002). *Butia eriospatha* (Mart. ex Drude) Becc. (Arecaceae) é uma espécie endêmica da Região Sul do Brasil, que ocorre em Florestas abertas e Florestas de Araucária e foi considerada vulnerável de acordo com a lista da IUCN *red list 2007 – The World Conservation Union*. Seus valor comercial é decorrente do consumo dos frutos ao natural ou usados na produção de bebidas.

Estudos em nível genético-populacional são de suma importância para a definição de programas de manejo e conservação de espécies, principalmente para aquelas sob pressão antrópica e/ou com alto potencial econômico e ecológico. O uso de marcadores moleculares, como o RAPD (Random Amplified Polimorphism DNA) vem possibilitando análise de variabilidade genética, com rapidez e simplicidade em espécies com pouca ou nenhuma informação genética prévia.

A técnica RAPD consiste na utilização de um iniciador com 10 nucleotídeos de seqüência arbitrária que permite a amplificação de DNA via PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Trata-se de

---

<sup>1</sup> Bióloga, Bolsista, Centro Universitário de Brasília, Brasília, DF, Brasil.

<sup>2</sup> Bióloga, Bolsista, Universidade de Brasília, Brasília, DF, Brasil.

<sup>3</sup> Biólogo, Doutor, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF, Brasil.

<sup>4</sup> Bióloga, Doutora, Pesquisadora, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF, Brasil.

uma técnica de baixo custo que possibilita a análise de um grande número de indivíduos em curto prazo (Ferreira & Grattapaglia, 1998). O trabalho teve como objetivo avaliar

## **Material e Métodos**

### **Área de estudo e amostragem**

Da área de Aproveitamento Hidroelétrico (AHE) de Barra Grande SC/RS, foram coletadas folhas adultas de 40cm de *B. eriospatha* de 3 regiões separadas por no mínimo 50 km, totalizando 76 indivíduos de 3 populações. Estes foram transportados refrigerados em caixas de isopor com gelo.

### **Extração de DNA**

O DNA genômico foi extraído a partir de folhas frescas de acordo com o protocolo CTAB (Doyle & Dolye, 1987), adaptado por

### **Análise de dados**

As marcas RAPD polimórficas selecionadas foram analisadas quanto a presença (1) e ausência (0) de fragmentos nos géis e foi gerada uma matriz de valores binários, 0 e 1. A matriz foi analisada pelo programa NTSYS 2.1 (Rohlf, 1992), utilizando o coeficiente DICE pelo método de agrupamento UPGMA. A estabilidade dos agrupamentos foi testada pela reamostragem pelo procedimento de

a variabilidade genética entre e dentro de populações de *B. eriospatha*, da área de Aproveitamento Hidroelétrico de Barra Grande, SC/RS.

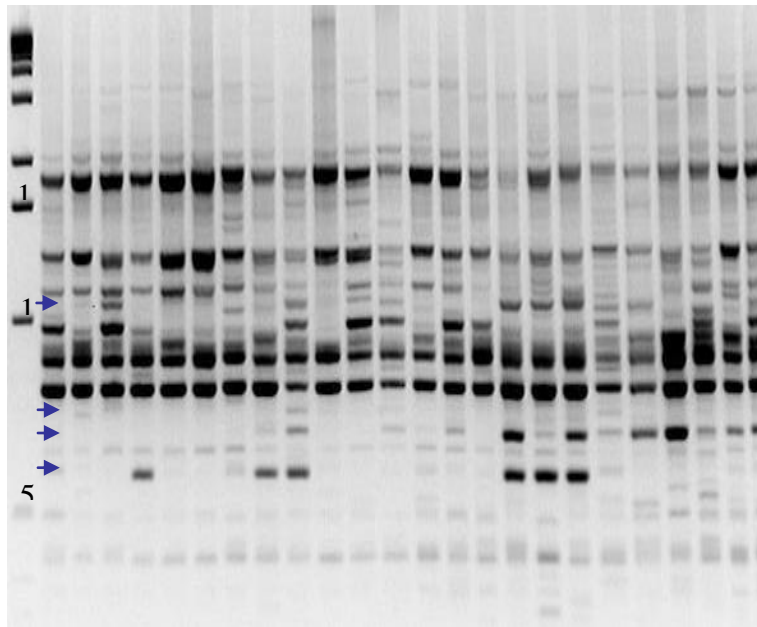
Machado *et al.*, (2002) que utilizou Fastprep – BIO 101 SAVANT para trituração das amostras.

Seleção de iniciadores e amplificação RAPD  
Foram testados 48 iniciadores *Operon Technology* escolhidos ao acaso, utilizando uma amostras de cada população. Foram selecionados aqueles que apresentaram bandas polimórficas e de melhor intensidade e nitidez quando visualizados em géis de agarose (1,5%) com detecção com brometo de etídio e luz ultra violeta, após a eletroforese a 120 V, por cerca de 4h e 30min. A amplificação do DNA foi feita por RAPD com 21 iniciadores e os 76 indivíduos.

bootstrap, comm 10.000 repetições, utilizando o programa BooP (Coelho, 2002). A Análise de variância molecular (AMOVA) foi realizada usando o programa Arlequim.

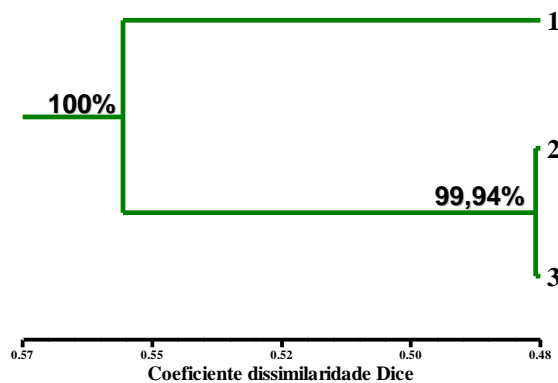
### **Resultados e discussão**

Dos 48 iniciadores RAPDs, foram selecionados 21 que apresentaram maior número de fragmentos polimórficos, os quais geraram 71 marcadores RAPD com alta reprodutibilidade e nitidez (Figura 1).



**Figura 1.** Gel em agarose 1,5% corado com brometo de etídeo, evidenciando a amplificação do DNA por iniciador RAPD (OPAA2). As setas indicam os marcadores RAPD polimórficos dos 24 indivíduos de uma população de *Butia eriospatha*. Na pista 1 o marcador DNA 1 Kb Ladder evidencia os polimorfismos entre 1636kb e 500kb.

O dendrograma construído pelo programa NTSYS, utilizando a matriz gerada evidenciou a formação de dois grupos distintos: o primeiro formado por indivíduos da população 1 e o segundo por indivíduos das populações 2 e 3, com alto grau de consistência dos agrupamentos (**Figura 2**).



**Figura 2.** Dendrograma gerado pelo critério de agrupamento UPGMA representando a dissimilaridade de Dice entre 3 populações de *Butia* analisadas com 71 locos RAPD.

A análise de variância molecular (AMOVA) evidenciou que 89,86% da variabilidade genética está dentro das populações e 10,14% ( $p < 0,005$ ) entre as

populações. Esses resultados concordam com os resultados obtidos com espécies tropicais arbóreas nativas, assim como observado em *Hymenaea spp.* e *Tabebuia*

(Ciampi *et al.*, 2001 e 2003) . Com esses dados espera-se poder indicar áreas prioritárias dentro da AHE Barra Grande para coleta de material vegetal para banco de germoplasma da espécie.

Os modelos de preservação e manejo sustentado de *B. eriospatha* devem considerar os aspectos de variação genética da espécie, existentes nos diferentes locais de ocorrência.

## Referências

CIAMPI, A.Y. & MAGALHÃES, M.T.O. Análise da variabilidade genética de três espécies arbóreas utilizando marcador molecular RAPD. Comunicado técnico, Embrapa Cenargen, Brasília DF. 2001. 60: 1-8.

CIAMPI, A.Y.; AZEVEDO, V.C.R. & SILVA, V.P. Análise genética populacional de *Tabebuia impetiginosa* utilizando marcadores

moleculares RAPD. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2003. 18p. Boletim de Pesquisa e desenvolvimento, 55.

COELHO, A.S. BoodP Avaliação dos erros associados a estimativas de distância/similaridades através do procedimento de bootstrap com número de variáveis de marcadores (software). Goiânia UFG. Instituto de ciências Biológica. Laboratório de Genética vegetal. 2002.

Fotos (fonte):

<http://www.pacsoa.org.au/palms/Butia/eriospatha.html>

FUPEF & SEMA. Mapeamento dos Remanescentes da Floresta Estacional Semidecidual. Curitiba: FUPEF – SEMA, 2002. 69 p. Relatório técnico.

WILLIAMS, J.G.K.; KUBELIK, A.R.; LIVAK, R.J.; RAFALSKI, J.A. & TINGEY, S.V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers user useful as genetic markers. Nucleic Acid Research. 1990. 18: 6531-6535.

### Comunicado Técnico, 170

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia Serviço de Atendimento ao Cidadão Parque Estação Biológica, Av. W/5 Norte (Final) – Brasília, DF CEP 70770-900 – Caixa Postal 02372 PABX: (61) 3448-4673 Fax: (61) 3340-3624 <http://www.cenargen.embrapa.br> e.mail:sac@cenargen.embrapa.br

1ª edição  
1ª impressão (2007):

### Comitê de Publicações

**Presidente:** Sergio Mauro Folle  
**Secretário-Executivo:** *Maria da Graça Simões Pires Negrão*

**Membros:** Arthur da Silva Mariante  
Maria da Graça S. P. Negrão  
Maria de Fátima Batista  
Maurício Machain Franco  
Regina Maria Dechechi Carneiro  
Sueli Correa Marques de Mello  
Vera Tavares de Campos Carneiro

### Expediente

**Supervisor editorial:** *Maria da Graça S. P. Negrão*  
Normalização Bibliográfica: *Maria Iara Pereira Machado*  
**Editoração eletrônica:** *Daniele Alves Loiola*