

**DIVERSIDADE GENÉTICA EM UM TESTE DE PROCEDÊNCIA E PROGÊNIE DE BARU**  
**(*Dipteryx alata* VOG.).**

ALVARO AUGUSTO VIEIRA SOARES<sup>1</sup>, ALISSON MOURA SANTOS<sup>2</sup>; DULCINEIA DE  
CARVALHO<sup>3</sup>, SEBASTIÃO CARLOS DA SILVA ROSADO<sup>4</sup>

**RESUMO**

O objetivo deste estudo foi estudar a variabilidade genética de um teste de procedência e progênie e o sistema reprodutivo desta espécie. Efetuaram-se as análises por meio de eletroforese de isoenzimas em gel de poliacrilamida. O teste de procedência/progênie estudado apresentou grande variabilidade genética nas três procedências. Estas procedências expressam grande potencial para busca de genótipos para melhoramento genético, principalmente devido à grande variabilidade dentro das populações. Em concordância com estudos prévios, detectou-se sistema reprodução misto com predominância de cruzamento.

**Palavras-chave:** Diversidade genética, *Dipteryx alata*, Melhoramento genético, Cerrado

**INTRODUÇÃO**

O Cerrado é o segundo maior bioma brasileiro e uma das áreas de maior biodiversidade no mundo (MITTERMEIER *et al.*, 2004), sendo, inclusive, destacado como um *hotspot* da conservação da biodiversidade (MYERS *et al.*, 2000). Com ritmo de devastação cada vez maior e mais acelerado na sua área de abrangência, têm-se observado grandes mudanças na paisagem do Cerrado. Estas mudanças têm consequências marcantes nos aspectos físicos, biológicos e sociais (POTZERNHEIN, 2005), podendo levar à perda de recursos ainda desconhecidos que podem ser explorados de forma consciente e sustentável. Com o crescimento da agricultura, novas áreas de vegetação nativa são devastadas para dar lugar a grandes áreas de monocultura, intensificando-se o processo de fragmentação. Uma das principais consequências desse processo é o impacto na variabilidade genética das populações deste bioma.

O baru (*Dipteryx alata* Vog.) é uma espécie de grande potencial devido aos seus usos múltiplos, amplitude de ocorrência e relevante potencial econômico, além das suas boas características silviculturais. A espécie é muito utilizada pelas populações tradicionais, fornecendo alimento, por meio de seus frutos, com alto valor calórico (OLIVEIRA, 1998).

O objetivo deste trabalho é estudar a variabilidade genética e o sistema reprodutivo do baru em um teste de procedência e progênie.

**MATERIAL E MÉTODOS**

**Área de estudo**

Este trabalho foi realizado no município de Brasilândia de Minas/MG, em um teste combinado de procedência/progênie com 11 anos de idade. O experimento está localizado numa área denominada de Borá, dentro da fazenda Brejão, propriedade da empresa V&M Florestal. A

---

<sup>1</sup> Mestrando em Engenharia Florestal, DCF/ UFLA, alvarovsoares@gmail.com

<sup>2</sup> Doutorando em Engenharia Florestal, DCF/UFLA

<sup>3</sup> Professor Associado, DCF/UFLA

<sup>4</sup> Professor Associado, DCF/UFLA

Projeto financiado pela FAPEMIG: CAG APQ 3838.3-10/07

fitofisionomia é de Cerrado com precipitação média anual de 1441,5mm e temperaturas máxima e mínima de 26°C e 18°C, respectivamente.

O experimento foi composto por 66 famílias de meio-irmãos, sendo que 25 foram procedentes de Capinópolis-MG, 25 de Brasilândia de Minas-MG e 16 de Jequitaiá-MG. Este menor número de famílias de Jequitaiá foi devido problemas de germinação.

De todos os indivíduos, foram coletadas amostras foliares as quais foram, preferencialmente as mais jovens, sadias e sem lesões. Para o procedimento de análise eletroforética do teste, realizou-se uma amostragem, sorteando-se 10 famílias por procedência e 10 indivíduos por família (por família, entende-se o conjunto dos indivíduos originados pelas sementes coletadas de uma mesma árvore matriz).

### **Extração das isoenzimas e análise eletroforética**

Para a extração das enzimas foram utilizados 200 mg de tecido foliar para 1 mL de solução extratora. Testes foram feitos com diferentes soluções extradoras e foi escolhida a que melhor assegurou a integridade das enzimas (Tabela 1).

TABELA 1. Solução para extração de isoenzimas, segundo Alfenas et. al. (1998) com alguns ajustes.

<b>Componentes</b>	<b>Quantidade</b>
Fosfato de Sódio bibásico	0,60g
Sacarose	7,00g
PVP-40	2,56g
L-ácido ascórbico	0,10g
DIECA	0,10g
Bissulfito de sódio	0,05g
b-mercaptanol	0,20g
Polietilenoglicol-6000	1,00mL
Água destilada	100,00mL

Na maceração foi utilizado um conjunto de pistilo e almofariz limpos e resfriados para cada amostra e adicionados PVP insolúvel e areia própria para este fim. Após a maceração, os extratos obtidos foram centrifugados a 12.000 rpm a 4°C por 5 minutos.

Para as corridas eletroforéticas, 30 µL do sobrenadante foram aplicados nas canaletas dos géis. Foi utilizado gel de poliacrilamida confeccionado fundamentado em Alfenas et al. (1998) com algumas modificações.

A eletroforese foi conduzida em cuba vertical. Neste procedimento, utilizou-se amperagem constante de 20 mA por gel com duração de cerca de três horas e meia. Após a corrida dos géis, estes foram mergulhados em 100 mL de solução reveladora previamente selecionada através de um teste de revelações de 20 sistemas isoenzimáticos. Deste teste foram escolhidos os sistemas que resultaram em um maior número de locos e melhor qualidade de visualização dos dados.

### **Análise dos dados**

#### **Variabilidade genética**

No processamento dos dados foram utilizados os *softwares* TFPGA (MILLER, 1997) para o cálculo das frequências alélicas e a partir delas, obtiveram-se os índices de diversidade calculados por meio do software GDA (LEWIS E ZAYKIN, 2000). Calcularam-se assim: heterozigidade média esperada ( $\hat{H}_e$ ), estatística F de Wright (1951), coeficiente de coancestralidade de Cokerham, e decomposição da heterozigidade total em componentes entre e dentro de populações ( $\hat{F}_{IT}$ ,  $\hat{F}_{IS}$  e  $\hat{F}_{ST}$ ).

#### **Sistema reprodutivo**

A análise do sistema reprodutivo seguiu o modelo de cruzamento misto de Ritland & Jain (1981), usando o programa “MLTR” de Ritland (1997).

Da análise, foram estimadas a taxa de cruzamento multilocos ( $t_m$ ) pelo método da máxima verossimilhança, a taxa de cruzamentos unilocos ( $t_s$ ), a taxa de cruzamento entre aparentados ( $t_m-t_s$ ), a correlação de autofecundação entre dois irmãos ( $r_s$ ), a correlação de paternidade entre dois irmãos ( $r_p$ ) e as proporções de autofecundação ( $P_{IA}=1-t_m$ ) meio-irmãos ( $P_{IC}=t_m(1-r_p)$ ) e irmãos completos ( $P_{IM}=r_p t_m$ ).

Para estimar o erro padrão da média para todos os parâmetros, o programa utilizou o procedimento de amostragem *bootstrap*, com 1.000 reamostragens, com base em Vencovsky et al. (1997).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 20 sistemas testados, 12 foram selecionados devido à qualidade de revelação: ACP,  $\alpha$ -EST,  $\beta$ -EST, GOT, GTDH, G6PDH, MDH, PO, SDH, SOD, PGI e PGM. Considerando que nos estudos de diversidade genética por isoenzimas, recomenda-se um mínimo de dez locos polimórficos (BERG & HAMRICK, 1997), destes sistemas selecionados, foram sendo utilizados até que se atingisse o mínimo recomendado que foi obtido com o uso de cinco sistemas sendo: PO, com dois locos polimórficos; SOD e SDH com dois locos polimórficos e um monomórfico,  $\beta$ -EST com três locos polimórficos e,  $\alpha$ -EST com quatro locos polimórficos. Todos os sistemas apresentaram locos com segregação de dois alelos.

Para estimativas da variabilidade genética dentro e entre as procedências, foram estimadas as frequências alélicas para os 30 alelos distribuídos nos quinze locos encontrados. Os maiores valores de frequências alélicas foram obtidos no primeiro alelo para a maioria dos locos nas três procedências (13 locos para Capinópolis e Jequitai e 12 para Brasilândia). Os outros locos tiveram frequências semelhantes entre os alelos 1 e 2 com exceção do loco,  $\beta$ -EST3 onde a frequência do segundo alelo (0,634) foi maior que a do primeiro (0,365). Os locos SDH3 e SOD3 foram os únicos que apresentaram frequências iguais para os dois alelos nas três populações.

Com relação à equidade gênica, que se caracteriza pela baixa amplitude de variação das frequências entre dois alelos, diz-se que um loco está em equidade gênica quando as frequências de seus alelos estiverem entre 0,350 e 0,650 (FRANKEL ET AL., 1995). Segundo este mesmo autor, esta característica é um indicador de grande diversidade genética que pode fazer com que populações sejam menos susceptíveis a fixação e perda de alelos quando submetidas a perturbações. No geral, 66,67% dos locos avaliados apresentaram seus alelos em equidade gênica. Analisando-se separadamente por procedência, os valores não se distanciam consideravelmente, sendo que em Capinópolis, Jequitai e Brasilândia de Minas apresentaram, respectivamente, 73,3%, 60% e 66,67% de locos em equidade gênica.

As procedências também apresentaram quantidades próximas de alelos de alta frequência, ou seja, maiores que 0,650. Ao todo, foram encontrados 15 alelos de alta frequência: quatro em Capinópolis, seis em Jequitai e seis em Brasilândia. Os alelos de maior frequência foram o  $\alpha$ -EST (alelo1=0,913) e SOD1 (alelo1=0,808) de Brasilândia de Minas e  $\alpha$ -EST (alelo1=0,831) de Jequitai.

De modo geral, não houve diferença marcante nas frequências alélicas entre as três procedências, bem como o conjunto de alelos apresentou-se balanceado sem nenhum caso de fixação de alelos. Entretanto, alguns tiveram frequências altas, como é o caso do alelo 1 do loco  $\alpha$ -EST4 (0,913) da procedência Brasilândia, alelo 1 do loco  $\alpha$ -EST4 (0,831) de Jequitai e alelo 1 do loco SOD1 (0,808) de Brasilândia.

Pode-se inferir que a espécie estudada apresenta baixa divergência entre estas três procedências tomando por base a semelhança nas frequências alélicas das populações, juntamente com as proporções similares de equidade gênica.

A heterozigosidade média esperada ( $\hat{H}_e$ ) e observada ( $\hat{H}_o$ ) variaram de 0,467 a 0,433 e 0,649 a 0,638, respectivamente. Estes valores estão de acordo com obtidos em outros estudos feitos com espécies arbóreas de Cerrado e outras espécies arbóreas tropicais. Moraes *et al.* (2005), estudando *Myracrodruon urundeuva*, encontraram valores de  $\hat{H}_o$  variando de 0,333 a 0,511 e  $\hat{H}_e$  0,317 a 0,408. Souza *et al.* (2005) apresentaram valores de  $\hat{H}_o$  de 0,492 a 0,550 e  $\hat{H}_e$  de 0,413 a 0,440 para a

**XIX CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UFLA**  
**27 de setembro a 01 de outubro de 2010**

espécie *Stryphnodendron adstringens* e Gonçalves (2006), estudando *Dimorphandra mollis* encontrou valores de  $\hat{H}_o$  e  $\hat{H}_e$  nas faixas de 0,449 a 0,494 e 0,459 a 0,470, respectivamente.

Valores de  $\hat{H}_o$  maiores que  $\hat{H}_e$  (Tabela 2) geraram índices de fixação negativos para as três procedências o que evidencia um excesso de heterozigotos em relação ao Equilíbrio de Hardy-Weinberg, exceto para a procedência Brasilândia de Minas onde este índice não se mostrou significativo. No entanto, seu valor denota a mesma tendência das outras procedências. Valores altos de heterozigosidade como os observados sugerem a existência de mecanismos de seleção atuando a favor dos heterozigotos

TABELA 2. Índices de diversidade genética em três populações de *Dipteryx alata* Vog, baseados em 15 locos e cinco sistemas enzimáticos.

Índices	Populações		
	Capinópolis	Jequitaiá	Brasilândia
$\hat{A}$	2	2	2
$P$	100	100	100
$\hat{H}_o$	0,649(0,033)	0,694(0,060)	0,639(0,096)
$\hat{H}_e$	0,468(0,198)	0,459(0,202)	0,4339(0,2718)
$\hat{f}$	-0,3918*	-0,516*	-0,4758
	[-0,751; -0,032]	[-0,702; -0,082]	[-0,797; 0,013]
n	114,27	94,93	94,80

Onde  $\hat{A}$ = número médio de alelos por loco ;  $P$ = percentgem de loci poliórficos ;  $\hat{H}_o$  = heterozigosidade média observada;  $\hat{H}_e$  = heterozigosidade média esperada;  $\hat{f}$  = índice de fixação; n= tamanho médio da amostra por locos ; ( )= erro padrão; [ ]= intervalo de confiança (nível de probabilidade de 5%);\* = significativo ao nível de 5% de probabilidade.

Os coeficientes de endogamia dentro das procedências e para o conjunto foram negativos e significativos a 5%. Isto mostra que, além de não existir endogamia em nenhum destes dois níveis de observação, tem-se um excesso de heterozigotos, contrariando as proporções do Equilíbrio de Hardy-Wienberg.

Foi obtido um baixo valor de divergência genética entre populações ( $\hat{\theta}_p=0,015$ ), porém, significativos, indicando que 1,55% da variação genética deste teste encontra-se entre as procedências. Por conseguinte, 98,5% da variação encontra-se dentro das procedências. A maioria das espécies florestais apresenta, segundo Oliveira (2000), divergência genética entre populações menor que 5%, comumente apresentando valores em torno dos 3%. Algumas espécies de Cerrado estudadas valores de divergência acompanhando esta mesma tendência. Como exemplos tem-se: *Caryocar brasiliensis* (0,020), *Dimorphandra mollis* (0,025), *Macherium villosum* (0,061), estudadas por Melo Júnior *et al.* (2004) , Gonçalves (2007) e Botrel *et al.* (2004), respectivamente.

Para o melhoramento genético, a alta diversidade dentro de uma população é um fator importante, pois mais indivíduos dentro da população devem ser coletados de modo que esta tenha seus alelos mais bem representados possível, aumentando as possibilidades de incremento no ganho genético de determinado caráter.

Áreas de Cerrado, especialmente no Norte e Triângulo mineiro, tem um histórico recente de invasão por grandes monoculturas, como soja, eucalipto, cana-de-açúcar. Provavelmente, devido a isso, não tenha decorrido tempo suficiente para as populações dessas localidades expressarem geneticamente as alterações antrópicas no ambiente, ressaltando o longo tempo de crescimento e reprodução característico de espécies.

Os altos valores das taxas de cruzamento multilocus demonstram que *D. alata* Vog. apresenta sistema de reprodução misto e predominantemente por cruzamento. Além disso, estes

valores estão acima da média quando comparados aos valores médios para 49 espécies arbóreas tropicais ( $t_m = 0,880$ ) encontrado por Sebbenn (2001).

Todas as taxas de cruzamento unilocus foram menores do que as respectivas taxas multilocus, fato que evidencia a ausência de mecanismos de auto-incompatibilidade em *D. alata*. Entretanto, como as avaliações foram feitas numa idade já avançada (11 anos) no teste, pode ter ocorrido uma seleção a favor dos heterozigotos, reduzindo a taxa de autofecundação e, por consequência, superestimando a taxa de cruzamento multilocus.

A diferença entre as taxas de cruzamento multilocus e a unilocus resulta na taxa de cruzamento entre indivíduos endogâmicos ou entre aparentados (GUSSON, 2006). Esta taxa variou entre as populações de 0,012 para Capinópolis a 0,004 para Jequitaiá, sendo que, somente para esta, não foi significativamente diferente de zero. Entre as famílias das três procedências, essas taxas variaram de 0,066 a 0,034 em Brasilândia; 0,072 a 0,058 em Jequitaiá e 0,073 a 0,042 em Capinópolis. Os valores de  $t_m-t_s$  foram significativamente diferente de zero exceto para a família 25 (Brasilândia). Estes valores são considerados relativamente baixos e não se divergem entre procedências.

As proporções de irmãos de autofecundação, meio-irmãos e irmãos completos evidenciaram a predominância de irmãos completos, cujas taxas mantiveram-se na faixa dos 90%, sendo que para as procedências Capinópolis e Jequitaiá, a proporção de autofecundação foi nula. As famílias que se destacaram pelas maiores proporções de autofecundação foram a J25 (7,80%) e B25 (6,70%), para as quais obteve-se os menores valores de meio-irmãos 80,86% e 81,26% respectivamente. Os maiores valores de irmãos completos foram encontrados na procedência Capinópolis.

## CONCLUSÃO

- Alta variabilidade genética entre as procedências
- Sistema reprodução misto com predominância de cruzamento

## REFERÊNCIAL BIBLIOGRÁFICO

ALFENAS, C. A. et al. **Eletroforese de proteínas e isoenzimas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microorganismos**. Viçosa: UFV, 1998. 574 p.

BERG, E. E.; HAMRICK, J. L. Quantification of genetic diversity at allozyme loci. **Canadian Journal Forest Research**, Ottawa, v. 27, n. 3, p. 415-424, Mar. 1997.

BOTREL, M. C. G. ; CARVALHO, D. . Variabilidade isoenzimática em populações naturais de jacarandá paulista (*Machaerium villosum* Vog). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 27, p. 621-628, 2004.

FRANKEL, O. H.; BROWN, A. H. D.; BURDON, J. J. **The conservation of plant biodiversity**. Cambridge: Cambridge University Press, 1995. p 299.

MORAES, M. L. T. de; KAGEYAMA, P. Y. & SEBBENN, A. M.. Diversidade e estrutura genética espacial em duas populações de *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. sob diferentes condições antrópicas. **Revista Árvore**. 2005, vol.29, n.2, pp. 281-289. ISSN 0100-6762.

GONÇALVES, A. C.. **Estrutura genética em populações naturais de *Dimorphandra mollis* Benth. (Fabaceae)**. Lavras, UFLA, 2007.83 p. : il. Tese (Mestrado)

GUSSON, E.; SEBBENN, A.M.; KAGEYAMA, P.Y. Sistema de reprodução em populações de *Eschweilera ovata* (Cambess.) Miers. **Revista Árvore**, Viçosa, v.30, n.4, p.491-502, 2006.

JAEGER, P..**Caracterização genética e demográfica de populações de *Xylopia emarginata* Mart. (Annonaceae)**. Lavras. UFLA, 2004. 113 p. : il. Tese (Mestrado)

LEWIS, P. O.; ZAYKIN, D. **Genetic Data Analysis: Computer program for the analysis of allelic data**. Version 1.0 (d15). Free program distributed by the authors over the internet from the GDA Home Page at <http://alleyn.eeb.uconn.edu/gda/2000>.

**XIX CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UFLA**  
**27 de setembro a 01 de outubro de 2010**

---

MELO JÚNIOR, A. F. ; CARVALHO, D. ; POVOA, J. R. S. ; BEARZOTI, E. . Estrutura Genética em populações Naturais de Pequiheiro (Caryocar brasiliense Camb.). **Scientia Forestalis** (IPEF), Ribeirão Preto, p. 56-65, 2004.

MILLER, M.P. **TTPGA – Tools for populations genetics analyses**. V 1.3 A Window program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data, 1997.

MITTERMEIER, RUSSEL A. *et al.* Hotspots revisited. **Conservation International**, Cidade do México: CEMEX, 2004.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R.A.; MITERMEIER, C.G.; FONSECA, G.A.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v.403, p.853-858, 2000.

OLIVEIRA, A.F. **Estrutura genéticas de populações naturais de *Copaifera langsdorffii* Desf. A partir de isoenzimas**. Lavras, UFLA 2000. 114p. Tese (Mestrado)

OLIVEIRA, A.N. **Variabilidade genética entre e dentro de procedências de baru (*Dipteryx alata* Vog.)**. 1998. 80p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

POTZERNHEIN, M. C. L. (2005). **Análise quantitativa e qualitativa do óleo essencial do gênero *piper* L. na região do Distrito Federal**. Dissertação de Mestrado em Ciências Florestais, Departamento de Engenharia Florestal, Universidade de Brasília, Brasília, DF, 75p

RITLAND, K. **Multiloci mating system program MLTR: version 1.1**. 1997. Disponível em: <http://genetics.forestry.ubc.ca/ritland/programs.html>.

RITLAND, K.; JAIN, S. **A model for the estimation of outcrossing rate and gene frequencies using independent loci**. *Heredity*, v. 47, p. 35-52, 1981.

SEBBENN, A.M. **Estrutura genética de populações de jequitibá-rosa (*Cariniana legalis* (Mart.) O. Ktze.) por caracteres quantitativos e isoenzimáticos**. 2001. 210p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2001.

SOUZA, A. M. ; CARVALHO, D. . **Genetic variability in natural populations os *Stryphnodendron adstrigens* (Mart) Cov.**. In: Annual meeting of the association for tropical biology e conservation, 2005, Uberlândia. The association for tropical biology and conservation meeting frontiers in tropical biology and conservation, 2005.

VENCOVSKY, R.; DIAS, C.T.S.; DEMÉTRIO, C.G.B.; LEANDRO, R.A.; PIEDADE, S.M.S. **Reamostragem por “bootstrap” na estimação de parâmetros baseados em marcadores genéticos**. In: ENCONTRO SOBRE TEMAS DE GENÉTICA E MELHORAMENTO, 14., Piracicaba, 1997. Anais. Piracicaba: ESALQ, Depto. de Genética, 1997. p.59-72.

WRIGHT, S. **The genetical structure of populations**. *Aun. Eugen.* 15, 313-354, 1951.