

Variabilidade genética de *Euterpe edulis* em fragmento de Floresta Estacional Semidecidual, Paraná.

Genetic variability of *Euterpe edulis* in Semi-deciduous Seasonal Forest fragment, Paraná.

RESUMO

Caroline Naomi Nakao
carol.naomi@hotmail.com
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, Paraná, Brasil.

Raquel de Oliveira Bueno
quelloliveira@gmail.com
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, Paraná, Brasil.

Paulo Alves Bueno
pauloaabueno@gmail.com
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, Paraná, Brasil.

Yumi Munetiko
yumi.munetiko@hotmail.com
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, Paraná, Brasil.

Karine Mares de Oliveira
maresmares472@gmail.com
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, Paraná, Brasil.

Recebido: 19 ago. 2019.

Aprovado: 01 out. 2019.

Direito autorial: Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



O desmatamento e a fragmentação florestal ameaçam a fauna e flora brasileira, como é o caso da *Euterpe edulis* Mart., espécie chave que contribui na dieta de diversos animais e se encontra na lista de espécies ameaçadas devido a sua alta exploração, indicando a necessidade de estratégias de manejo adequado, como é o caso do emprego de técnicas biotecnológicas. O presente trabalho possui como objetivo analisar a variabilidade genética de indivíduos de *Euterpe edulis* e sua correlação entre distância genética e distância geográfica no Parque Estadual Lago Azul, no município de Campo Mourão. Foram coletados 16 indivíduos em 4 pontos distintos. Para tratamento do material genômico, utilizou-se o *kit Invitrogen Pure Link® plant total DNA purification* seguidos por PCR e eletroforese em gel de agarose. Utilizou-se o *primer* ISSR04, com temperatura de anelamento de 54,9°C. Houve anelamento de 100% da amostra, gerando um total de 30 bandas, sendo 47% polimórficas, apresentando valor considerável quanto a diversidade genética. A correlação demonstrou-se fraca positiva, possuindo correlação entre os parâmetros de distância genética e geográfica, indicando que indivíduos mais distantes possuem maior variabilidade genética.

PALAVRAS-CHAVE: DNA. Biologia molecular. Reação em cadeia de polimerase.

ABSTRACT

Deforestation and forest fragmentation threaten Brazilian's fauna and flora, as is the case with *Euterpe edulis* Mart., keystone specie that contributes to the diet of various animals and is on the list of endangered species due to their high exploration indicating the need of appropriate management strategies, such as the use of biotechnological techniques. Thus, the objective of this work is to analyze the genetic variability of specimens of *Euterpe edulis* and its correlation between genetic distance and geographical distance in the Lago Azul State Park, in Campo Mourão. Were collected 16 specimens at 4 distinct points. For the treatment of genomic material, the Invitrogen PureLink® plant total DNA purification kit was used, followed by PCR and agarose gel electrophoresis. Primer ISSR04 was used, with annealing temperature of 54.9 ° C. There was 100% annealing of the sample, generating a total of 30 bands, 47% polymorphic. The correlation was weak positive, with correlation between the genetic and geographic distance parameters, indicating that more distant individuals have greater genetic variability.

KEYWORDS: DNA. Molecular biology. Polymerase chain reaction.

INTRODUÇÃO

O desmatamento e as fragmentações florestais vêm causando grandes prejuízos ao meio ambiente, entre eles a ameaça da fauna e da flora brasileira, como é o caso da *Euterpe edulis* Mart., conhecida popularmente como palmitero juçara (AGUIAR, 1990).

Nativa da Floresta Atlântica, *Euterpe edulis* possui extrema importância quanto ao papel ecológico pelas relações interespecíficas, contribuindo na dieta de diversos vertebrados sendo assim considerada uma espécie chave (SILVA, 2011). Possui também um alto valor econômico devido a sua alta exploração por ser muito utilizada no consumo culinário pelo seu broto apical, ou palmito, pelo Brasil e pelo mundo (TEIXEIRA, 1966), que, associada à fragmentação e perda de *habitat*, demonstra-se inserida na categoria vulnerável do Livro Vermelho da Flora do Brasil (LEITMAN et al. 2013).

A aplicação de técnicas biotecnológicas vem sendo amplamente difundida, sobretudo em relação a minimização de impactos antrópicos como no caso da genética de conservação aplicada, sobretudo na elaboração de estratégias que visem ao manejo e conservação adequados das espécies (SANTOS, 2004). De acordo com Frankham (1995) a aplicação da genética dentro da conservação de espécies parte de que, a perda de variabilidade genética aumenta o risco de extinção.

Dessa forma, o seguinte estudo tem por objetivo a análise da variabilidade genética de indivíduos de *Euterpe edulis* no Parque Estadual Lago Azul (PELA), e a correlação entre distância genética e distância geográfica, visto sua extrema importância e a necessidade da expansão de seu conhecimento genético.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado dentro do perímetro do Parque Estadual Lago Azul (PELA), localizado, no município de Campo Mourão, pertencente ao terceiro Planalto Paranaense, compreendido na latitude 24 ° 02 ' 44 " S Longitude 52 ° 22 ' 59 " W, com altitude de 585 metros (IPARDES, 2019). Foram coletados dados geográficos e amostras foliculares de 16 indivíduos dispersos em quatro pontos do parque, sendo quatro indivíduos em cada ponto.

O material então foi encaminhado para o laboratório do campus onde o DNA foi extraído com o kit *Invitrogen Pure Link® plant total DNA purification*, após ser macerado com auxílio de nitrogênio líquido. Após a extração, o material seguiu para a Reação em Cadeia de Polimerase (PCR), utilizada para a amplificação da sequência de interesse por meio de um iniciador com sequência de nucleotídeos já conhecida, o *primer*, sendo neste estudo utilizado o ISSR04 ((GACA)₄). O material genômico então foi agregado com o *primer*, a enzima *Taq DNA* polimerase, as dNTPs e íons de magnésio, formando uma mistura tamponada de 25µl, que passou por um gradiente de temperatura para o ajustamento do anelamento. Na espécie analisada em questão utilizou-se a temperatura proposta por BASTOS (2017). Após a amplificação o material seguiu para a eletroforese em gel de agarose onde

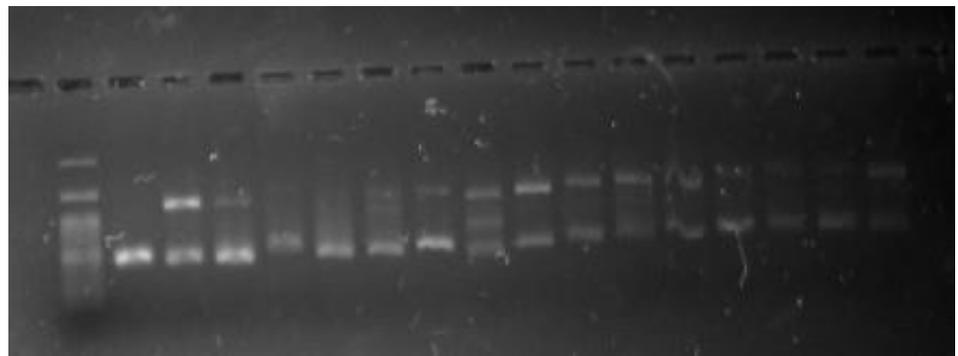
passou pela leitura dos dados por meio de corante e *ladder* com pesos conhecidos (100-3000bp). Os produtos amplificados foram visualizados por meio de transiluminador UV, sendo quantificadas e posteriormente analisadas por meio de índice de similaridade de Bray-Curtis e correlação de Pearson.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O primer utilizado apresentou um bom padrão de amplificação para as amostras analisadas, possuindo anelamento de 100% das amostras coletadas (16 indivíduos), com variação de 500 a 3000bp nos tamanhos dos alelos localizados nos *locus* ISSR (Figura 1). Foram geradas um total de 30 bandas, das quais 14 se apresentaram polimórficas (47%), fator utilizado por Lorenzoni et al. (2013) como medida de diversidade genética, demonstrando variabilidade genética considerável em relação à dissimilaridade de indivíduos de biribazeiro analisados pelo autor.

Houve variação de 0 a 1 quanto a dissimilaridade dos indivíduos de *E. edulis*, tendo uma média de 0,34, valor também apresentado por SILVA *et al.* (2012) no estudo de 64 acessos na variabilidade genética de *Capsicum chinense* Jaq.

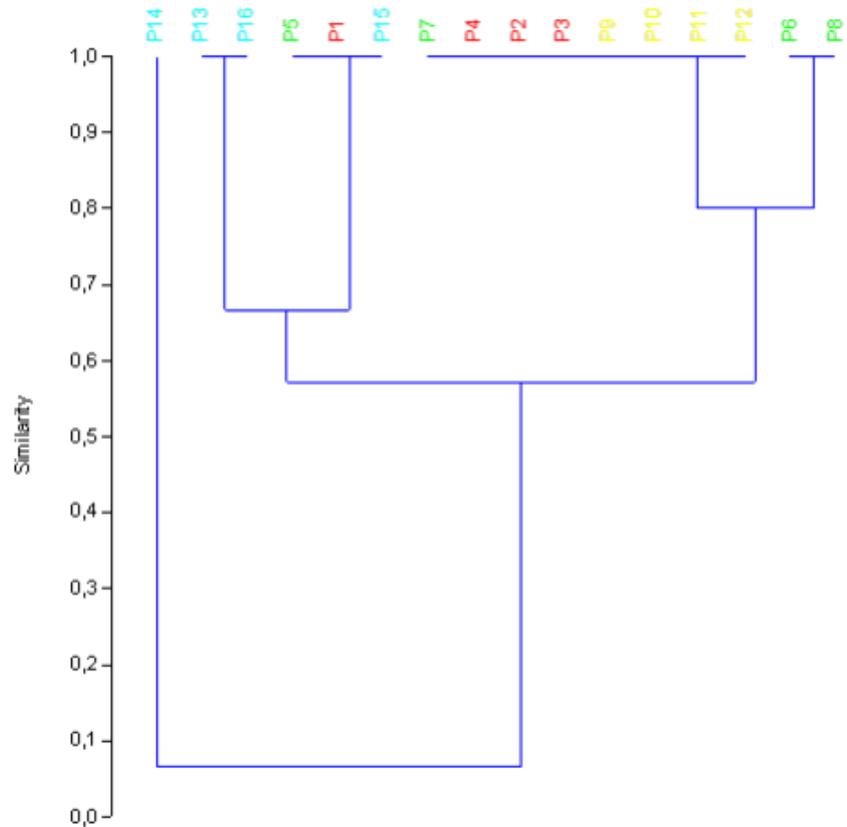
Figura 1 – Resultados da eletroforese em indivíduos de *Euterpe edulis* no Parque Estadual Lago Azul, Campo Mourão, Paraná



Fonte: Autoria própria (2019).

O dendograma gerado a partir da similaridade (Figura 2), apresentou dois grupos distintos contendo menos de 10% de similaridade, apresentando dissimilaridade superior a 90% entre a P14 e os demais indivíduos amostrados, que formaram outro grupo (aproximadamente 60% de similaridade) com dois subgrupos contendo entre 55 e 85% de similaridade entre os indivíduos e com indivíduos similares (100%) dos quatro pontos de coleta distintos.

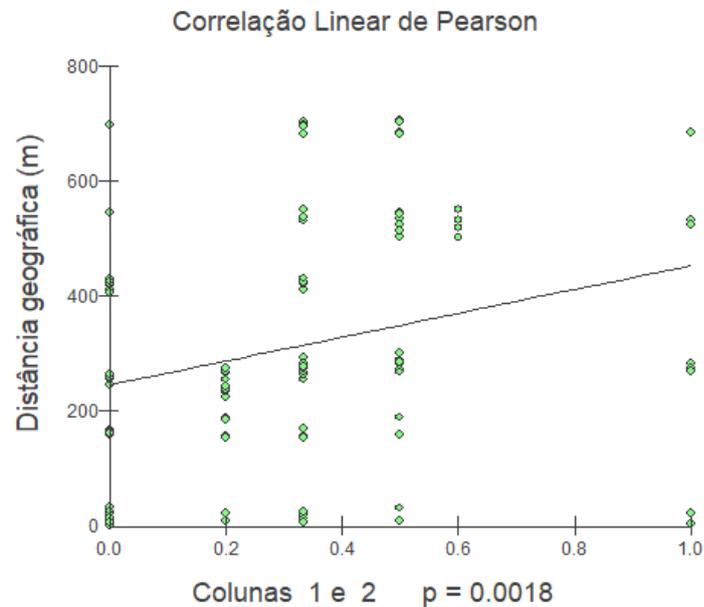
Figura 2 – Dendograma de similaridade de indivíduos de *E. edulis* no Parque Estadual Lago Azul, Campo Mourão, Paraná



Fonte: Autoria própria (2019).

A correlação entre distância genética e distância geográfica (Figura 3) demonstrou-se fraca positiva ($r \neq 0$), ou seja, há uma relação, ainda que ínfima entre a distância genética dos indivíduos de *Euterpe edulis* e a sua distância geográfica ($p < 0,05$), dando a entender que, conforme aumenta-se a distância geográfica, maior será a distância genética. Tal fato, de acordo com Pickersgill (1997), possui relação com a distância genética dos progenitores, seja pela diversidade referente a origem das mudas implantadas no Parque, ou mesmo pela eficácia de dispersão dos frutos pela ampla interação da fauna com a espécie (SILVA et. al., 2017) sendo um fator que pode auxiliar nas etapas de melhoramento da genética e vigor de populações presentes em unidades de conservação.

Figura 3 – Correlação da distância genética e geográfica em indivíduos de *E. edulis*, Campo Mourão, Paraná



Fonte: Autoria própria (2019).

CONCLUSÃO

O *primer* ISSR se mostrou eficiente na análise da variabilidade genética.

Progenitores distantes geneticamente, ou seja, de origens distintas, possuem potencial maior de heterose, fator relevante quando se trata de estratégias de melhoramento e manutenção de populações, uma vez que enriquece o vigor das progênies evitando a depressão por endogamia e auxiliando no planejamento das Unidades de Conservação.

AGRADECIMENTOS

À UTFPR pelo financiamento do projeto. Um agradecimento em especial pelas orientações da Raquel e Paulo Bueno e à Karine e Yumi por tornar o projeto possível.

REFERÊNCIAS

AGUIAR, F. F. A. Efeito de diferentes substratos e condições ambientais na germinação de sementes de *Euterpe edulis* Mart. e *Geonoma schottiana* Mart. Acta Botanica Brasílica, [s.l.], v. 4, n. 21, p.1-7, 1990. FapUNIFESP (SciELO). Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-33061990000300001&lng=pt&tlng=pt>. Acesso em: 15 mar. 2019.

BASTOS, Maria Carolina Rossi. Variabilidade genética de *Euterpe edulis* Mart. em área de recuperação no Parque Estadual Lago Azul - PR. 2017. 52 f. Trabalho de

Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2017.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Instrução Normativa no. 6, de 23 de setembro de 2008. Diário Oficial da União, 25 set. 2008.

FRANKHAM, R.; Inbreeding and extinction: a threshold effect. *Conservation Biology* 9, p.792–799, 1995.

IPARDES: Caderno estatístico município de Campo Mourão, 2019. Disponível em <<http://www.ipardes.gov.br/cadernos/MontaCadPdf1.php?Municipio=87300>>. Acesso em 06 jul. 2019

LEITMAN, P.; Judice, D.M.; Barros, F.S.M. & Prieto, P.V. 2013. Arecaceae. In: Martinelli, G. & Moraes, M.A. (orgs). Livro Vermelho da Flora do Brasil. Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. p. 187-195.

PICKERSGILL, B. Genetic resources and breeding of *Capsicum* spp. *Euphytica*, Berlin, v.96, n.1, p.129-133, 1997.

SANTOS, F. R. Biotecnologia aplicada à conservação de espécies silvestres. *Ação Ambiental*, Viçosa, MG, v. 1, p. 19-22, 2004.

SILVA, A. R.; SILVEIRA, R. R.; AUMOND, A.; SILVEIRA, A. B.; CADEMARTORI, C. V. Frugivoria e dispersão de sementes de *Euterpe edulis* mart. (Arecaceae) por mamíferos e aves silvestres na Mata Atlântica do Sul do Brasil. *Revista Brasileira de Zoociências*, [s.l.], v. 18, n. 3, p.138-158, 10 set. 2017. Semestral. Universidade Federal de Juiz de Fora. <http://dx.doi.org/10.34019/2596-3325.2017.v18.24681>.

SILVA, D. J. B.; REIS, E. F.; PINTO, J. F. N. Divergência Genética entre acessos de pimenta utilizando marcadores moleculares ISSR. *Anais do Congresso de Pesquisa, Ensino e Extensão- CONPEEX*, UFG. p. 5844 – 5849.

SILVA, J. Z. Fundamentos da produção e consumo de frutos em populações naturais de *Euterpe edulis* Mart. 2011. 262 p. Tese de Doutorado – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011.

TEIXEIRA, C. G. Palmito - fino alimento vegetal brasileiro é industrializado em condições precárias. *Alimentos e Bebidas*, São Paulo, 2(3):12-13, 1966.