

## Origem do albinismo em *Ceiba pentandra* (L) Gaertn. (Malvaceae)

Elisa Sena MICHILES<sup>1</sup>; Fernanda Okamura ABENSUR<sup>2</sup>; Maristerra Rodrigues LEMES<sup>3</sup>; Rogério GRIBEL<sup>4</sup>;

<sup>1-2</sup>Bolsista PIBIC/INPA; <sup>3</sup>Colaborador CPEC/INPA; <sup>4</sup>Orientador CPBO/INPA.

*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn. (Malvaceae) é uma árvore emergente, com crescimento rápido e de distribuição pantropical ocorrendo naturalmente na América Tropical e na África. As populações asiáticas foram provavelmente introduzidas pelo Homem. Na Bacia Amazônica é encontrada nas florestas inundadas ou pantanosas da várzea dos rios, porém apresenta bom desenvolvimento quando plantada em terra firme (Lorenzi, 1998; Loureiro *et al.*, 1979). O isolamento de indivíduos geralmente resulta em aumento da endogamia, o que pode acarretar efeitos danosos sobre as gerações subseqüentes da população. A falta de pigmentos como a clorofila é fatal para as plântulas, pois quando acabam as reservas de nutrientes, elas não realizam o processo fotossintético, o que as impede de sintetizar carboidratos e se desenvolver. Genes do albinismo podem ser utilizados como marcadores para examinar padrões de dispersão de sementes das árvores que possuem esses genes (Zasada, 1980). Apesar da vida curta de plântulas albinas, elas podem ser usadas em estudos genéticos que visem compreender como mutações deletérias ou letais podem ser mantidas em populações naturais. O objetivo principal deste trabalho foi quantificar o nível de albinismo em progênies de árvores nativas de *C. pentandra* na região de Manaus e avaliar se o albinismo está relacionado com a endogamia nesta espécie. Para tal foi realizado um experimento de germinação de sementes e uma análise genética das progênies de nove árvores de *C. pentandra*, por meio de genotipagem usando marcadores microssatélites. Os frutos foram coletados diretamente das nove árvores e em seguida armazenados em sacos plásticos individualizados. As sementes coletadas do chão foram separadas por árvores. Após o beneficiamento, seguiu-se à sementeira. As sementes foram postas para germinar em bandejas plásticas (30cm x 20cm) usando vermiculita como substrato. Os experimentos foram conduzidos no viveiro localizado no Bosque da Ciência do INPA, em condições ambiente de temperatura e luminosidade, com irrigação diária. No experimento de germinação, foram usadas sementes de todas as árvores, sendo semeadas 100 sementes de cada árvore. Como em duas árvores já era conhecida a ocorrência de albinismo entre as plântulas, foram semeadas posteriormente mais 200 sementes de cada uma dessas árvores, a fim de se obter um número maior de sementes albinas para as análises genéticas. Para a realização das análises genéticas foram coletadas folhas das matrizes de *C. pentandra* e das plântulas. As plântulas obtidas no experimento de germinação foram classificadas como albinas, anormais e normais. As plântulas foram acondicionadas em sílica gel e estocadas à -20°C até extração do DNA. As análises foram realizadas com 48 plântulas, dentre elas 10 albinas, 14 defeituosas e 24 normais. O DNA genômico total foi extraído pelo método CTAB (Doyle & Doyle, 1987) otimizado por Ferreira & Grattapaglia (1998). Após extração, o DNA foi quantificado por comparação com marcadores de massa molecular conhecida (DNA do phago  $\lambda$ ), em gel de agarose 1,5% , corado com brometo de etídio. Em seguida, precedeu-se à diluição das amostras de DNA na concentração de 2,5 ng/ $\mu$ l para utilização nas reações de amplificação. Das 1200 sementes postas para germinar, 607 germinaram, representando 50,6% do total. Dentre as sementes germinadas obtivemos indivíduos de três categorias quanto ao desenvolvimento da plântula: (a) normais, que apresentaram um bom desenvolvimento pós-seminal e uma boa morfologia de suas estruturas em relação ao todo, (b) albinos, caracterizadas pela ausência de pigmentos fotossintetizantes, apresentando-se assim, completamente brancas e (c) anormais, que apresentam alguma deformidade em sua morfologia em um mesmo período de tempo em que há plântulas vigorosas e saudáveis. Para as análises genéticas foi efetuada a extração do DNA de 24 plântulas normais, 14 anormais e 10 albinas. Baseado na análise dos géis de quantificação verificou-se que o DNA extraído apresentou boa qualidade e quantidade (Figura 1). As concentrações do DNA obtidas das amostras analisadas variaram de 10 a 400ng/ $\mu$ l (Tabela 1). A auto-fecundação pode realçar características não desejáveis para o desenvolvimento das plântulas, pois as chances de ocorrer homozigotos recessivos é maior. O albinismo pode ser oriundo de endogamia, de uma base genética restrita ou de falhas na polinização. A ocorrência de plântulas albinas, plântulas com cotilédones defeituosos e plântulas nanicas no presente estudo, pode ser uma consequência genética da incapacidade de *C. pentandra* de evitar a auto-fecundação. Em *C. pentandra*, e outras plantas quiropterófilas, é necessária a produção de grande quantidade de pólen para cobrir com carga polínica adequada a grande superfície ventral dos morcegos polinizadores (Gribel *et al.*, 1999). Desta forma, a deposição do próprio pólen no estigma deve ocorrer de forma inevitável. Análises genéticas posteriores, que indiquem claramente o evento de fecundação de cada semente, são necessárias para confirmar ou não se a endogamia é a principal responsável pelo surgimento de plântulas albinas nas progênies de *C. pentandra*.



**Figura 1.** Gel de agarose 1,5% corado com brometo de etídio contendo DNA extraído de amostras de folhas e plântulas de *Ceiba pentandra*. As três primeiras colunas do gel referem-se aos marcadores de massa molecular do fago Lambda ( $\lambda$ ) 50, 100 e 200 ng/ $\mu$ l, respectivamente. As colunas que seguem no gel referem-se ao DNA extraído

**Tabela 1** - Quantificação do DNA extraído das amostras de *Ceiba pentandra*.

Amostra	Concentração do DNA (ng/ $\mu$ l)	Classificação	Amostra	Concentração do DNA (ng/ $\mu$ l)	Classificação	Amostra	Concentração do DNA (ng/ $\mu$ l)	Classificação
1	50	albino	25	300	albino	41	50	normal
2	300	albino	26	350	albino	42	20	normal
9	400	nanica	27	250	albino	43	20	normal
10	300	nanica	28	300	albino	44	20	normal
11	325	nanica	29	200	albino	45	30	normal
12	75	nanica	30	350	albino	46	20	normal
13	150	nanica	31	350	albino	47	25	normal
14	100	nanica	32	20	normal	48	20	normal
15	150	nanica	33	25	normal	49	25	normal
16	375	nanica	34	25	normal	50	25	normal
18	10	nanica	35	10	normal	53	20	normal
19	250	nanica	36	20	normal	54	20	normal
20	200	nanica	37	20	normal	55	50	normal
22	400	albino	38	20	normal	56	100	normal
23	300	nanica	39	50	normal	57	50	normal
24	50	nanica	40	50	normal			

**Palavras-chave:** Microsatélites, sumaúma, variabilidade genética.

#### Bibliografias citadas

Rogério Gribel, Peter E. Gibbs, Aldenora L. Queiroz. Journal of Tropical Ecology, Vol. 15, No. 3 (May, 1999), pp. 247-263

Lorenzi, H. 1998. Árvores Brasileiras: manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas Nativas do Brasil. São Paulo: Ed. Plantarum, 1: 60.

Loureiro, A. A.; Silva, M. F. da.; Alencar, J.C. 1979. Essências Madeireiras da Amazônia. Manaus: INPA / SUFRAMA, 2: 136-139.

Zasada, J. 1980. Albino plants. Geophysical Institute, University of Alaska Fairbanks.

Ferreira, M. E. & Grattapaglia, D. 1998. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. 3ª edição. Brasília (EMBRAPA-CENARGEN). 222p.

Doyle, J. J. and Doyle, J. L. 1987. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus, 12: 13-15.