

GENÉTICA DA CASTANHEIRA (*Bertholletia excelsa*, Lecythidaceae): ESTUDO DA VARIABILIDADE DO GENOMA MITOCONDRIAL.

Laura Graciliana Bernardes¹, Rogério Gribel¹ & Maristerra R. Lemes¹.

¹ Laboratório de Genética e Biologia Reprodutiva de Plantas/ INPA.

A castanheira-da-Amazônia, *Bertholletia excelsa* Humb. & Bonpl. (Lecythidaceae), é uma árvore emergente com ampla distribuição em florestas de terra firme da Bacia Amazônica e Guianas. Suas sementes (castanhas) possuem grande aceitação no mercado nacional e internacional e representam importante recurso para a economia familiar das populações extrativistas. A dispersão natural das sementes é realizada por roedores em especial a cutia, que possui o hábito de enterrar as sementes (Mori & Prance, 1988). Apesar da grande importância sócio-econômica da castanheira, o conhecimento sobre a variabilidade genética desta espécie é escasso sendo que nada se sabe sobre a variabilidade do genoma não-nuclear. O genoma do cloroplasto (cpDNA) e o genoma mitocondrial (mtDNA) caracterizam-se por possuir herança materna na maioria das angiospermas e, portanto, são bons indicadores de fluxo gênico por meio de sementes. Este estudo tem como objetivo principal caracterizar e quantificar a variabilidade genética do genoma do cloroplasto e mitocondrial de *B. excelsa* abrangendo populações naturais na Amazônia Brasileira, visando compreender os padrões filogeográficos e as relações genéticas inter-populacionais. Foram analisadas populações da região amazônica, com distâncias que variam entre si de 500 a 1700 quilômetros sendo genotipados de 10 a 22 indivíduos por população (Figura 1).

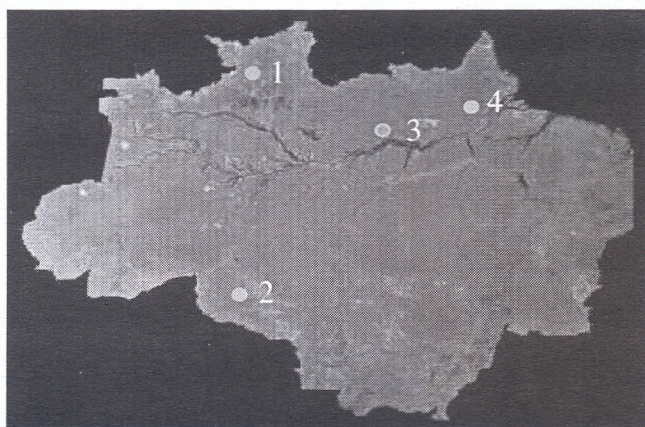


Figura 1: Populações de *B. excelsa* amostradas: 1) Serra do Aracá –AM, 2) Alto Jamarí –RO, 3) Igarapé Moura – FLONA Saracá Taquera –PA, 4) Laranjal do Jarí –AP.

O DNA total foi extraído utilizando-se protocolo CTAB (Ferreira & Grattapaglia, 1998). Para a amplificação do DNA mitocondrial utilizou-se um par de *primers* (*nad1*) desenvolvido por

Demesure *et al.*(1995). A região *rps16* do DNA do cloroplasto também foi amplificada utilizando-se marcadores desenvolvidos por Oxelman *et al.* (1997). As condições de amplificação das regiões analisadas foram otimizadas variando-se a temperatura de anelamento dos *primers*. Os produtos amplificados foram sequenciados em um seqüenciador automático de DNA ABI Prism 377. As seqüências foram analisadas utilizando-se o programa Sequencing Analysis 3.4.1 (ABI) e alinhadas no programa CLUSTAL X (Thompson *et al.*, 1994). Foram otimizadas as condições de amplificação das regiões de DNA analisadas. As temperaturas ótimas de anelamento dos *primers* foram 56 e 62⁰C respectivamente para *nad1* e *rps16*. A análise das seqüências, tanto do DNA mitocondrial como do cloroplasto, mostrou total similaridade entre os 52 indivíduos de *B. excelsa* das quatro populações amostradas. Não foram encontrados polimorfismos mesmo nas regiões constituídas por elementos repetitivos (microsatélites), que a princípio estão mais sujeitas à variação devido às altas taxas de mutação dessas regiões. A ausência de polimorfismos nas regiões analisadas corrobora estudo anterior (Bernardes *et al.* 2003), que sugere a influência do homem na dispersão dos propágulos dessa espécie, a partir de uma população original pequena e restrita geograficamente.

- Bernardes, L. G., Lemes, M. R., Queiroz, E. J. S., Sheppard, G., Silva, M. N. F., Queiroz, A. L & Gribel, R. 2003. Filogeografia da castanheira da Amazônia (*Bertholletia excelsa*): evidências da ação humana na dispersão da espécie com base na análise do genoma do cloroplasto. *Resumos do 49º Congresso Nacional de Genética*. pg. 673.
- Demesure, D.; Sodzi, N. & Petit, R.J. 1995. A set of universal primers for amplification of polymorphic non-coding regions mitochondrial and chloroplast DNA in plants. *Molecular Ecology* 4:129-131.
- Ferreira, M. E.; Grattapaglia, D. 1998. *Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética*. 3ª edição. Brasília (EMBRAPA-CENARGEN). 222p.
- Mori, S. A.; Prance, G. T. 1988 Relações entre a classificação genérica de Lecythidaceae do Novo Mundo e seus polinizadores e dispersores. *Revista Brasileira de Botânica*, v. 4, p. 31-37.
- Oxelman, B.; Liden, M. & Berglund, D. (1997) Chloroplast *rps 16* intron phylogeny on the Sileneae (Caryophyllaceae). *Plant Systematics and Evolution*, v. 206, p. 201-204.
- Thompson, J.D.; Higgins, D.G. & Gubson, T.J.(1994). CLUSTAL X :improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*. v.22, p.4673-4680.