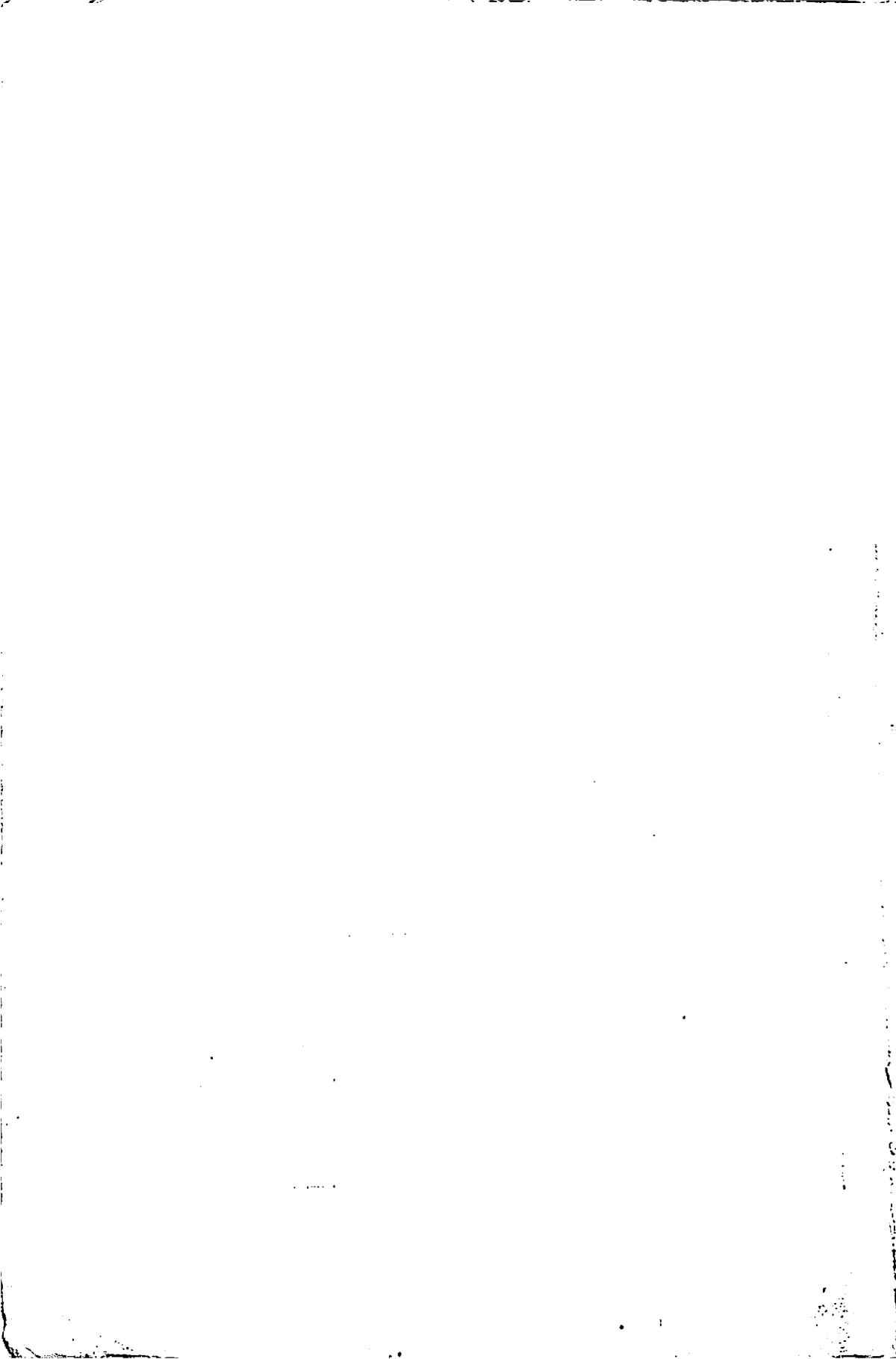


**VARIAÇÕES EM POPULAÇÕES NATURAIS  
DE *Caryocar brasiliense* Camb. (Caryocaraceae):  
FENOLÓGICAS, GENÉTICAS E DE  
VALORES NUTRICIONAIS DE FRUTOS**

GISELE FREITAS VILELA

1998



**GISELE FREITÁS VILELA**

**VARIAÇÕES EM POPULAÇÕES NATURAIS DE *Caryocar brasiliense*  
Camb. (Caryocaraceae): FENOLÓGICAS, GENÉTICAS E DE VALORES  
NUTRICIONAIS DE FRUTOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do curso de Mestrado em Engenharia Florestal, área de concentração em Produção Florestal, para obtenção do título de "Mestre".

Orientadora:

Profa. Dulcinéia de Carvalho

**LAVRAS**  
**MINAS GERAIS - BRASIL**  
1998

Ficha Catalográfica preparada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca Central da UFLA

Vilela, Gisele Freitas

Variações em populações naturais de *Caryocar brasiliense* Camb.  
(Caryocaraceae): fenológicas, genéticas e de valores nutricionais de  
frutos / Gisele Freitas Vilela. – Lavras : UFLA, 1998.

88 p. : il.

Orientador: Dulcinéia de Carvalho.

Dissertação (Mestrado) - UFLA.

Bibliografia.

1. Pequi. 2. Variação genética. 3. Fenologia. 4. RAPD. 5. Teor  
nutricional. 6. Melhoramento genético. I. Universidade Federal de  
Lavras. II. Título.

CDD-634.973166

**GISELE FREITAS VILELA**

**VARIAÇÕES EM POPULAÇÕES NATURAIS DE *Caryocar brasiliense*  
Camb. (Caryocaraceae): FENOLÓGICAS, GENÉTICAS E DE VALORES  
NUTRICIONAIS DE FRUTOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do curso de Mestrado em Engenharia Florestal, área de concentração em Produção Florestal, para obtenção do título de "Mestre".

**APROVADA em 2 de outubro de 1998**

**Sebastião Carlos da Silva Rosado**

**UFLA**

**Giovana Augusta Torres**

**UFLA**

**Marco Aurélio Leite Fontes**

**UFLA**

*Dulcinéia de Carvalho*  
**Profa. Dulcinéia de Carvalho**  
**UFLA**  
**(Orientadora)**

**LAVRAS**  
**MINAS GERAIS - BRASIL**

Ao meu pai, José Aurélio (*in memoriam*), que me ensinou a amar as árvores e seus frutos maravilhosos;

A minha mãe, Célia Maria, que me mostrou o valor do estudo e o gosto da leitura;

E ao Marcos e a minha filha Sara, pela força que me deram para a conclusão deste trabalho.

**DEDICO**

## **AGRADECIMENTOS**

**Agradeço a Deus, pela ajuda de todos os momentos;**

**As minhas irmãs, Regina Célia e Lilian, pelo exemplo de coragem em enfrentar o novo;**

**Ao órgão financiador, Capes, pela concessão da bolsa de estudos;**

**Ao Departamento de Ciências Florestais, pelo apoio no decorrer do curso;**

**A Mannesman Agroflorestal, pela concessão da área para a realização das coletas de material, em Brasilândia, e pelo suporte de infraestrutura e apoio cedidos;**

**Ao Centro de Agricultura Alternativa do Norte de Minas, pela concessão da área para a realização das coletas de material, em Montes Claros, e pelo suporte de infraestrutura e apoio cedidos;**

**Aos pesquisadores Nilton Junqueira e José Antônio da Silva, pela valiosa contribuição dada nas etapas iniciais do trabalho;**

**Ao professor José Roberto Scolforo, incansável batalhador, que muito incentivou este trabalho;**

**A professora Dulcinéia de Carvalho, pela orientação e dedicada colaboração ao longo dos trabalhos;**

**Ao professor Sebastião Carlos da Silva Rosado, pela co-orientação e ajuda nas várias etapas do trabalho;**

**Ao professor Manuel Losada Gavilanes, pela co-orientação dos estudos fenológicos;**

**Ao professor Nilton Cury e ao pesquisador Paulo Emílio Mota, pela disposta colaboração na realização da classificação dos solos;**

**Aos professores Ary Oliveira Filho e Marco Aurélio Leite Fontes, pelas correções do estudo fenológico;**

**Ao professor Luís Gonzaga, pela colaboração na realização do balanço hídrico do período de estudos;**

**Ao Setor de Sementes do Departamento de Agricultura da UFLA, pela concessão dos equipamentos, infraestrutura e apoio para a realização da análise de RAPD;**

**Ao Laboratório de Genética Molecular do Departamento de Biologia da UFLA, pelo uso dos equipamentos e apoio dado durante as etapas de extração e contagem do DNA;**

**Ao Laboratório de Análises Vegetais do Departamento de Ciências dos Alimentos da UFLA, em especial às funcionárias Tina e Sandra, pelas análises dos nutrientes;**

**As professoras Vania Déa e Celeste, pela colaboração nas análises de nutrientes;**

**À pesquisadora Renata Silva, pelas sugestões e ajuda na análise de RAPD;**

**Ao colega Adelson Nascimento Oliveira, pela grande ajuda e paciência em acompanhar os trabalhos de coleta de material no norte de Minas e de dados fenológicos;**

**Ao Gil D. Vilela Junqueira, pela generosa disposição em colaborar nas visitas às populações de pequi na região de Lavras;**

**Ao Pezinho e Donizete, pelos esforços na construção da máquina de limpar sementes;**

**Ao professor Eduardo Bearzoti, pela colaboração na análise dos dados moleculares;**

**Aos funcionários: Sr. Geraldinho, Sr. Onofre, Claret, Chica, Lilian e Magali, do Departamento de Ciências Florestais da UFLA pela ajuda em alguma etapa do trabalho;**

**Aos colaboradores Anderson, Giuliana, Batman, Cubatão, Alemão, Barbacena, Skilate(Ricardo), Luciana, Cláudio, Osmar, Tais, Kalinka, Dinara, Léo e Jair, pela ajuda prestada em alguma etapa do trabalho.**

## SUMÁRIO

### Página

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
1 INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	3
2.1 Cerrado e <i>Caryocar brasiliense</i> Camb.....	3
2.2 Fenologia.....	6
2.3 O fruto do pequi.....	9
2.4 Caracterização dos principais constituintes nutricionais do pequi....	10
2.4.1 Carotenóides e vitamina A.....	10
2.4.2 Lipídios.....	12
2.4.3 Proteínas.....	13
2.4.4 Glicídios.....	14
2.5 Variabilidade genética.....	14
2.5.1 Variação entre origens.....	15
2.5.2 Fragmentação.....	16
2.6 Marcadores genéticos.....	17
2.7 Divergência genética.....	22
CAPÍTULO 1: Fenologia de <i>Caryocar brasiliense</i> Camb. (Caryocaraceae) no sul de Minas Gerais.....	24
RESUMO.....	24
ABSTRACT.....	25
1 INTRODUÇÃO.....	25
2 OBJETIVOS.....	26
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	27
3.1 Descrição dos locais e do material de estudo.....	27

3.2 Características dos solos.....	28
3.3 Clima e dados meteorológicos no período de estudos fenológicos...	29
3.4 Coleta de dados fenológicos.....	29
<b>1.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>31</b>
4.1 Balanços hídricos.....	31
4.2 Fenologia de <i>Caryocar brasiliense</i> .....	33
<b>5 CONCLUSÕES.....</b>	<b>43</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>43</b>
<b>CAPÍTULO 2: Teor nutricional dos frutos de <i>Caryocar brasiliense</i></b> <b>Camb. (Caryocaraceae): variação entre e dentro de populações naturais</b> <b>de Minas Gerais .....</b>	<b>45</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>45</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>46</b>
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>46</b>
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>48</b>
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>48</b>
3.1 Descrição da área de estudo e obtenção de amostras.....	48
3.2 Análise dos teores nutricionais.....	48
3.3 Análises dos dados.....	50
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>50</b>
<b>5 CONCLUSÕES.....</b>	<b>55</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>56</b>
<b>CAPÍTULO 3: Estudo da variação genética em populações naturais de</b> <b><i>Caryocar brasiliense</i> através de RAPD.....</b>	<b>58</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>58</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>59</b>
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>59</b>
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>61</b>

<b>3 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>61</b>
<b>3.1 Material biológico.....</b>	<b>61</b>
<b>3.2 Extração do DNA.....</b>	<b>63</b>
<b>3.3 Amplificação do DNA.....</b>	<b>63</b>
<b>3.4 Eletroforese.....</b>	<b>66</b>
<b>3.5 Análise dos dados moleculares.....</b>	<b>66</b>
<b>3.5.1. Obtenção das distâncias genéticas e agrupamento.....</b>	<b>66</b>
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>67</b>
<b>5 CONCLUSÕES.....</b>	<b>78</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>78</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS GERAL.....</b>	<b>78</b>

## RESUMO

VILELA, Gisele Freitas. **Variações em populações naturais de *Caryocar brasiliense* Camb. (Caryocaraceae): fenológicas, genéticas e de valores nutricionais de frutos.** Lavras: UFLA, 88p. (Dissertação - Mestrado em Engenharia Florestal)

Para subsidiar programas de melhoramento genético vegetal são necessários estudos sobre a variabilidade natural da espécie de interesse. Portanto, estudos fenológicos foram realizados em indivíduos de pequi (*Caryocar brasiliense* subsp. *brasiliense*) nos municípios de Itumirim e Itutinga, ambos em Minas Gerais, envolvendo indivíduos de porte arbóreo e subarbustivo com o objetivo de registrar os eventos de enfolhamento/desfolhamento, floração e frutificação dos indivíduos. Os resultados mostraram que *C. brasiliense* porte arbóreo e porte subarbustivo apresentaram fenofases semelhantes. O fruto de pequi é reconhecidamente uma das mais ricas fontes de vitamina A existente, além de possuir altos teores de óleo e proteínas. Por esta razão, avaliou-se a variação natural existente entre e dentro de populações de pequi com relação aos teores de vitamina A, lipídios, proteínas e glicídios. Os resultados mostraram que existe variação natural no teor nutricional de vitamina A, lipídios, proteínas e glicídios, e estas variações podem ser empregadas em programas de melhoramento genético. O uso de marcadores moleculares tem se expandido em pesquisas de genética florestal pelo fato de fornecerem informações da estrutura genética das populações e dos padrões de diversidade genética de uma forma precisa e rápida. Quatro "bulks" dos municípios de Brasilândia, Montes Claros e Itumirim (A e B), foram analisados usando-se marcadores RAPD. O estudo das similaridades genéticas obtidas utilizando-se os índices Simple Matching, Jaccard e Sorensen-Dice, e das distâncias genéticas obtidas com o índice de Jaccard mostrou maiores similaridades entre as populações Brasilândia e Montes Claros e entre as populações Itumirim A e B. Estes resultados foram confirmados pelo dendrograma obtido pelo método UPGMA. Os indivíduos de porte arbóreo e os indivíduos de porte arbustivo/subarbustivo localizados em Itumirim apresentaram-se mais próximos geneticamente.

---

Comitê Orientador: Dulcinéia de Carvalho - UFLA (Orientadora), Sebastião Carlos da Silva Rosado, Manuel Losada Gavilanes.

## ABSTRACT

### VARIATIONS IN NATURAL POPULATION OF *CARYOCAR BRASILIENSE* CAMB (CARYOCARACEAE): PHENOLOGICAL, GENETICAL AND OF NUTRICIONAL VALUES OF FRUITS

In order to support plant genetical breeding programs, studies about the natural variability in the species concerned are necessary. Therefore, phenological studies were undertaken on individuals of pequi (*Caryocar brasiliense* subsp *brasiliense*) in the cities of Itumirim and Itutinga, both in Minas Gerais, involving individual of tree and subbush size. The objective of this work is to study the leafing/deleafing, blooming and fruit set events of the individuals were recorded. The results showed that tree and subbush sized *C. brasiliense* presented similar phenophases. The pequi fruit is admittedly one of the richest existing sources of vitamin A, besides bearing high contents of oil and proteins. Thus, the natural existing variation between and within of pequi population with relation to the contents of vitamin A, lipids, proteins and glycidis was evaluated. The results showed that there is a natural variation in the nutritional content of vitamin A, lipids, glycidis and proteins and these variations can be employed in genetical breeding programs. Use of molecular markers has increased in forest genetical research by the fact of their supplying information of the genetical structure of the populations and genetical diversity patterns in a accurate and fast way. Four "bulks" from the cities of Brasilia, Montes Claros and Itumirim (A and B) were analysed by using RAPD markers. The study of genetical similarities obtained through of the Simple Matching, Jaccard and Sorensen-Dice method showed greater similarities between the Brasilia and Montes Claros populations and between the Itumirim A and B populations. These results were confounding by the dendrogram obtained by the UPGMA and Single Linkage methods. The tree sized individuals and the subbush sized individual situated at Itumirim presented themselves closer genetically.

---

Guidance Committee: Dulcinéia de Carvalho - UFLA (Major Professor), Sebastião Carlos da Silva Rosado, Manuel Lozada Gavilanes.

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

O cerrado, que constitui numa grande fonte natural de recursos biológicos de flora e fauna, ocupa aproximadamente 22% do território nacional, dos quais cerca de 90% estão situados nos estados de São Paulo, Minas Gerais, Mato Grosso, Goiás e Bahia (Fonseca e Muniz, 1992).

O *Caryocar brasiliense* Camb. é típico deste bioma, encontrando-se bem distribuído em, pelo menos, sete estados, a maioria nas regiões central e sudeste do Brasil (Araújo, 1995). Em Minas Gerais, ocupa amplamente as áreas de cerrado, as quais englobam quase toda a região norte, oeste e central e ocorre em manchas localizadas no sul e ao leste do Estado. Na região sul de Minas Gerais, a espécie muitas vezes aparenta porte arbustivo e subarbustivo. Os frutos e produtos derivados são muito utilizados na culinária regional, contribuindo para o suprimento de parte das exigências nutricionais da população (Almeida e Silva, 1994), além de ser uma das fontes mais ricas fontes de vitamina A existentes e produzir óleo comestível de alto valor.

Nas últimas décadas, a vegetação natural do cerrado vem sofrendo redução devido à expansão agrícola, pecuária, demográfica, além da exploração de carvão vegetal. Devido a estes fatores, existe risco de perda de material genético importante, sem que se tenha conhecimento científico dele.

Iniciativas de melhoramento genético de plantas do cerrado têm se dirigido para coleções de germoplasma e seleção de materiais superiores. A determinação da variabilidade genética existente na espécie é sempre o primeiro passo em um programa de melhoramento. No caso do pequi é grande a variabilidade fenotípica, envolvendo variações de tipo de fruto, produção, sabor e porte da planta.

Atualmente, além da determinação da variabilidade genética através do fenótipo, cada vez mais se faz uso de técnicas que quantificam a variabilidade genética diretamente do DNA da espécie. Dentre estas técnicas, a análise de RAPD (DNA polimórfico amplificado ao acaso) tem sido muito utilizada por apresentar vantagens como a rapidez, relativa simplicidade e não ser influenciada pelas condições ambientais.

Este trabalho tem por objetivo avaliar a variabilidade natural de *Caryocar brasiliense* em populações existentes no Estado de Minas Gerais, tendo sido dividido da seguinte forma:

- no capítulo 1 fez-se um estudo da fenologia de *Caryocar brasiliense* no sul de Minas Gerais, traçando comparações das diferentes fenofases de exemplares de indivíduos de porte arbóreo e de porte subarbustivo;
- no capítulo 2 avaliou-se o teor nutricional dos frutos de *Caryocar brasiliense* em diferentes populações naturais de Minas Gerais;
- no capítulo 3 estudou-se a variação genética em populações naturais de *Caryocar brasiliense* usando a análise de RAPD como marcador genético.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Cerrado e *Caryocar brasiliense* Camb.

O cerrado "lato sensu" é um complexo de formações vegetacionais que vão desde o campo limpo (formação campestre) até o cerradão (formação florestal), apresentando suas formações intermediárias (campo sujo, campo cerrado e cerrado "stricto sensu") como gradientes de vegetação entre aquelas duas formações extremas. Essas formações diferenciam-se devido a variações físicas ou químicas do solo, geomorfologia, topografia, frequência de queimadas ou pastoreio (Coutinho, 1978). Também pertencem ao bioma cerrado as veredas e a mata de galeria. Nas veredas encontramos os buritis (palmeira) e árvores distribuídas em campo limpo, em locais de solo úmido. Na mata de galeria a vegetação é densa e com árvores grandes, distribuída ao longo dos vales e rios (Ribeiro et al., 1986).

A flora do cerrado, arbórea e arbustiva, pode ser considerada como formada por cerca de 42% de espécies peculiares, provenientes dos cerradões, e de 58% de espécies acessórias oriundas de outras formações vegetais (Rizzini, 1963). O *Caryocar brasiliense* Camb. faz parte desta flora considerada peculiar e está presente na fisionomia transicional cerradão-cerrado, no cerrado s.s. e no campo cerrado (Brandão, 1980; Ribeiro et al., 1982).

*Caryocar brasiliense* pertence à família Caryocaraceae (exclusivamente neotropical), consistindo de 23 espécies em dois gêneros: *Caryocar* L. e *Anthodiscus* G. F. W. Meyer, das quais 16 pertencem ao gênero *Caryocar*. A família se estende da Costa Rica ao sul do Brasil e Paraguai, e a maioria das espécies é importante por sua madeira, frutos ou sementes. No Brasil, a espécie *C. brasiliense* está bem distribuída nas regiões central e sudeste, abrangendo os

Estados de Goiás, Tocantins, Pará, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, São Paulo e Paraná (Prance e Silva, 1973).

O *C. brasiliense* geralmente cresce como uma árvore frondosa, de altura variável, podendo ultrapassar 10m. Raramente pode surgir como um arbusto ou subarbusto. O tronco é tortuoso, a casca espessa, fendida, cinza escura; os ramos grossos, as folhas são trifolioladas, folíolos com margem crenada, rugosos e aveludados na face superior. As inflorescências apresentam-se em racemos terminais; os botões são globosos com tons rosados no ápice das sépalas; as flores são hermafroditas e actinomorfas. As pétalas são alvas ou amareladas e os estames muito numerosos, superando em tamanho as pétalas (Ferri, 1969; Vitta, 1992). O fruto do pequizeiro é uma drupa com epicarpo verde-claro, levemente amarelado quando maduro e apresentando endocarpo espinhoso. O mesocarpo interno é geralmente amarelo-alaranjado, oleaginoso e aromático (Barradas, 1973). Este mesocarpo interno, que é a polpa comestível, possui uma variação de coloração (Figura 1), que pode ser laranja, rósea, amarela e branca, e de sabor (Gomes e Amâncio, 1995).



FIGURA 1. Variação da coloração do mesocarpo interno do fruto de pequi, vermelha, rosa, amarela e branca.

A espécie *C. brasiliense* está dividida em duas subespécies: a subespécie *brasiliense*, que se caracteriza por apresentar os pedúnculos, pedicelos e folíolos densamente velutinos ou hirsutos, e por seus indivíduos possuírem porte arbóreo e a subespécie *intermedium*, que apresenta tais estruturas pubérrulas ou glabras, além de seus indivíduos serem subarbustos ou arbustos (Prance e Silva, 1973). É conhecido popularmente como pequi, piqui, piquiá ou piqui-do-cerrado. O nome pequi origina-se do Tupi "pyqui", onde py=casca e qui=espinho, referindo-se aos espinhos do endocarpo do fruto.

O pequi tem, no valor nutritivo dos seus frutos e sementes, a sua principal importância, sendo rico principalmente em vitamina A e óleo (Ribeiro et al., 1986). Ele faz parte da alimentação popular e tem espaço importante na economia extrativista das regiões de cerrado, principalmente em Minas Gerais e Goiás (Chávez, 1997).

As flores do pequi são de antese noturna e funcionais por uma noite. O *C. brasiliense* é uma planta auto-compatível, produzindo, porém, significativamente maior quantidade de frutos quando há polinização cruzada. Pelo menos 5 espécies de morcego já foram observadas como agentes polinizadores potenciais (Gribel, 1993).

Em populações marginais do Estado de São Paulo o *C. brasiliense* apresenta porte subarbusitivo (Barradas, 1972). Neste caso, um dos principais atributos da síndrome de quiropterofilia, ou seja, o porte arbóreo ou arbustivo, não mais se observa nestas populações. A floração durante o período chuvoso é fato incomum em plantas quiropterófilas tipo "píncel". Durante as noites chuvosas os filetes molhados ficam presos uns aos outros e a liberação de pólen pulverulento é prejudicada, o que fornece indícios de uma menor participação de morcegos na polinização da espécie nestas áreas (Gribel, 1986).

➤ Apesar de tipicamente zoocóricos, os frutos de *C. brasiliense* não são facilmente enquadrados em qualquer determinada síndrome de dispersão. Entre os

consumidores dos frutos, a ema (*Rhea americana*) é a espécie com maior potencial como agente dispersor, com capacidade de dispersar os diásporos por endozocoria, seguida da gralha (*Cyanocorax cristatellus*) e da cotia (*Dasyprocta sp*), as quais podem atuar como dispersoras de sementes a pequenas distâncias por sinzocoria (Gribel, 1986).

Segundo informação pessoal fornecida por Gil Junqueira, morador da região de Itumirim, MG, alguns consumidores e dispersores do fruto são o gavião carcará, a saúva, o cupim e um tipo de besouro não identificado por ele.

Oliveira (1997) investigou a relação entre a presença de formigas em arbustos de *C. brasiliense* e a intensidade de ataque de predadores da planta, e mostrou que formigas são atraídas pela presença de nectários nos botões florais do pequi e que isto significava uma redução da infestação por *Eunica bechina* (borboleta), *Edessa rufomarginata* (hemíptero sugador de botões) e *Prodiplosis floricola* (mosca predadora de botões). As formigas mais atuantes neste sentido pertencem ao gênero *Camponotus*, mas outros gêneros comuns como *Pheidole*, *Zacryptocerus*, *Wasmannia* e *Brachymyrmex* também são atuantes. Além dessas formigas atacarem e removerem esses predadores, as fêmeas evitam colocar ovos nos locais visitados por essas formigas.

## 2.2 Fenologia

Fenologia é o estudo da ocorrência de eventos biológicos repetitivos, suas causas bióticas e abióticas e da interrelação entre fases caracterizadas por estes eventos numa mesma e em diferentes espécies (Lieth, 1974). Este ramo da ecologia estuda as causas e manifestações fisionômicas dos fenômenos de floração, frutificação e de queda e brotamento de folhas nas plantas, denominados fenofases (Fournier, 1976).

No campo da silvicultura, as observações fenológicas permitem prever a época de reprodução das árvores, seu ciclo de crescimento vegetativo e outras

características, como deciduidade, conhecimentos importantes em se tratando de manejo da flora (Fournier, 1974).

Estudos fenológicos podem ter caráter qualitativo, com a determinação das épocas das fenofases, e também quantitativo, quando a intensidade das fenofases é medida (Fournier, 1974). Fournier e Charpantier (1975) recomendam, para o estudo fenológico de árvores tropicais, o emprego de uma amostra de 10 indivíduos por espécie.

Arrigoni (1993) estudou a fenologia e germinação da casaqueira [*Campomanesia rufa* (Berg) Nied.], uma fruteira presente nos cerrados Minas Gerais. As observações fenológicas foram realizadas em 30 indivíduos no período de um ano. Observou-se que a brotação e a floração ocorreram simultaneamente no final da estação seca e a frutificação se desenvolveu durante a estação chuvosa.

Dias (1995) estudou a fenologia de quatro espécies arbóreas (*Amaioua guianensis*, *Copaifera langsdorffii*, *Miconia pepericarpa* e *Xylopia brasiliensis*) de uma floresta estacional semidecídua montana em Lavras, MG. Neste trabalho foi utilizado o balanço hídrico seqüencial quinzenal, além do balanço hídrico com base nas normais climatológicas para auxiliar no estudo das fenofases. Houve uma grande variação entre os balanços hídricos, sugerindo que o balanço hídrico do período de estudos fornece melhores informações do que o das normais climatológicas, na análise dos eventos fenológicos.

Dutra (1987) descreveu a fenologia de dez espécies arbóreas nativas do cerrado de Brasília (DF) em estudo que relatou a forte deciduidade de *C. brasiliense*. A floração, frutificação e liberação das sementes foram observadas durante a estação chuvosa. A época mais indicada para a coleta de frutos e obtenção de sementes de *C. brasiliense* nesta região foi janeiro.

Mantovani e Martins (1988) estudaram variações fenológicas de espécies do cerrado em uma reserva de Moji Guaçu, SP e relataram que a maioria das espécies perderam suas folhas na estação seca. Neste período há diminuição das

chuvas nem sempre acompanhada de deficiência hídrica do solo, ocorrendo queda da temperatura, diminuição do fotoperíodo e da umidade relativa do ar.

Para Rizzini (1976), a deciduidade foliar representaria uma adaptação vegetativa contra a perda de água e também a sobrevivência da espécie por um período desfavorável, havendo translocação de nutrientes das folhas.

Para Barros e Caldas (1980), o padrão de comportamento das espécies do cerrado em relação aos fatores ambientais não está totalmente na dependência dos fatores hídricos e sim de uma interação entre os fatores edafoclimáticos e as características peculiares deste bioma.

Gribel (1986), realizando estudos fenológicos em *C. brasiliense* da região de Brasília, DF, por 2 anos em 96 árvores, relata a ocorrência da maior parte dos eventos fenológicos durante a estação seca, enquanto que na estação chuvosa as atividades morfogênicas aparentemente cessam, exceto o desenvolvimento e a maturação dos frutos.

Para Dutra (1987), que acompanhou espécies arbóreas nativas do cerrado também da região de Brasília, DF, o *C. brasiliense* apresenta queda foliar e brotação durante o período seco, a floração foi observada no período inicial e durante as chuvas e a produção dos frutos na estação chuvosa mais intensa. Ele observou também a ocorrência de frutos verdes em junho em algumas árvores.

Araújo (1994), investigando o período de floração e frutificação de *C. brasiliense* por 3 anos em 30 árvores da região de Montes Claros, MG, relata que a floração geralmente ocorreu antes e no início da estação chuvosa, semelhantemente ao observado por Gribel (1986). O desenvolvimento e maturação dos frutos terminaram antes do final da estação chuvosa. O mesmo autor relatou também a ocorrência eventual de uma produção temporã menos abundante em julho e agosto.

Já Barradas (1972), estudando uma população de *C. brasiliense* em cerrados de Cajuru, SP, observou ocorrência de floração nos meses de outubro a

Internacionais (U.I.) de vitamina A (Tabela 1), enquanto a quantidade diária exigida na dieta é de 4.500U.I.

TABELA 1. Composição química de alguns alimentos.

Frutos, raízes e sementes	Glicídios (g/100g)	Proteína (g/100g)	Lipídios (g/100g)	Vitamina A <sup>(a)</sup> (U.I.)
Abacate	6.4	1.8	16.0	-
Açaí	36.6	3.8	12.2	-
Araticum	10.3	0.4	1.6	183.33
Azeitona	-	-	19.0	-
Babaçu (amêndoa)	13.3	3.9	29.5	-
Banana-ouro	36.8	2.39	0.2	-
Banana-prata	22.8	1.3	0.3	-
Buriti	2.16	2.95	10.5	20000.00
Caju	8.4	0.8	0.2	413.33
Cenoura	-	-	-	3666.67
Coco da Bahia (carnaúba)	27.9	5.7	50.6	-
Coco macaúba	27.9	4.4	27.9	-
Dendê	2.53	0.91	48.47	36720.00
Goiaba branca	2.0	1.09	0.56	111.33
Jaca	10.0	2.2	0.3	130.00
Mamão	14.5	0.2	1.0	406.67
Manga	0.4	0.4	0.3	733.33
Melancia	6.9	0.5	0.2	-
Milho	-	-	4.5	-
Pupunha	19.4	2.0	2.2	5000.00
Pequi (polpa)	-	-	-	66667.00
Soja	-	-	17.7	-

Fonte: Tabela de composição química dos alimentos (Franco, 1982).

Pequi (polpa) <sup>(c)</sup>	6.76	2.65	10.0	200000 <sup>(b)</sup>
Pequi (polpa) <sup>(d)</sup>	5.81	1.61	14.83	-

(a) = Dados em Unidade Internacional (U.I.) a partir de  $\mu\text{g}$  de retinol.

(b) = Dados em U.I. a partir de  $\mu\text{g}$  de  $\beta$ -caroteno.

(c) = Fonte: Carvalho e Burger (1960), frutos coletados em Brasília (DF).

(d) = Fonte: Ferreira et al. (1987), frutos coletados em Luziânia (GO).

## **2.4.2 Lipídios**

Um dos subprodutos do pequi é o óleo retirado da polpa comestível dos putâmens. O óleo de pequi é um produto de relevada importância, tanto em suas virtudes medicinais como no variado uso na culinária, substituindo outros tipos de óleo. Handro e Barradas (1971) demonstraram que o óleo é de excelente qualidade, ou seja, a sua maior parte está constituída por ácidos graxos insaturados. O óleo de pequi é utilizado contra resfriados, bronquites e edemas (Gavilanes, 1992). Além disso, como a temperatura do ponto de fusão completa do óleo é igual ao do corpo humano (37°C), é recomendado para o preparo de cosméticos (Peixoto, 1973).

Em Minas Gerais, o óleo de pequi é um produto elaborado artesanalmente por pequenos produtores e trabalhadores rurais que o vendem aos atacadistas regionais ou varejistas. Chévez (1997), em sua pesquisa sobre a importância sócio-econômica do pequi no norte de Minas Gerais, fez as seguintes constatações:

- a quantidade de óleo vendida pelos varejistas do mercado de Montes Claros pode chegar a 5000 litros por ano, podendo o preço variar de R\$4,00 a R\$10,00 por litro;
- além de ser vendido no varejo, o óleo também é vendido por atacado a comerciantes de Belo Horizonte (MG) e dos Estados de São Paulo, Goiás e Ceará;
- a contribuição do pequi na renda anual aumenta significativamente quando o trabalhador rural vende o óleo, além do pequi "*in natura*", os ganhos obtidos chegam a representar 54,7% da renda anual deste segmento de trabalhadores rurais da região;
- o consumo de óleo vem aumentando nos últimos anos.

Estes dados reafirmam, portanto, a importância de maiores informações a respeito do óleo de pequi, entre elas, a de conhecer a variação do teor de óleo nos frutos.

Araújo (1995) cita recomendações da FAO para maiores pesquisas em coleção de germoplasma incluindo frutos maiores, com mais mesocarpo por total de fruto, maiores teores de óleo e maior produção. Peixoto (1973) afirma que em teores de lipídios, o pequi figura entre o abacate, açaí e buriti. Ferreira et al. (1987) obtiveram teores de lipídios de 14,83g/100g, que é considerado um valor alto comparado aos valores obtidos de outras espécies (Tabela 1).

### 2.4.3 Proteínas

Atualmente, devido a importância das proteínas na alimentação humana, tidas como os elementos principais dos tecidos orgânicos, em muitos locais, por iniciativa dos governos e instituições como a FAO, OMS e outras, diversos alimentos que fazem parte dos hábitos alimentares acham-se enriquecidos de proteínas como as da soja, milho, etc (Franco, 1982). Dos frutos tropicais comumente consumidos, podemos observar, pela Tabela 1, que o pequi possui taxas de proteínas superiores a algumas espécies. Tanto quanto ocorre com a vitamina A, a dieta básica do brasileiro de baixa renda é geralmente deficiente em proteína, portanto, torna-se relevante a seleção de materiais que também possuam teores mais elevados de proteína, com a finalidade de contribuir para suprir esta deficiência na alimentação.

Peixoto (1973) compara o teor protéico do pequi como sendo de mesma grandeza que o do abacate, banana ouro e prata, jaca e pupunha. Ferreira et al. (1987) obtiveram um valor de 1.61g/100g de proteína em frutos procedentes de Luiziana (GO), enquanto Carvalho e Burger (1960) constataram 2,65g/100g de proteína em frutos procedentes de Brasília (DF) (Tabela 1). Estes dados indicam o

potencial para produção de proteína que pode vir a ser explorado em estudos genéticos.

#### **2.4.4 Glicídios**

Os glicídios representam a principal fonte de energia para o organismo humano, além de exercerem ação de poupança sobre as proteínas, ou seja, o organismo utiliza os glicídios prioritariamente antes de gastar as reservas de proteína como fonte de energia (Franco, 1982). O teor de açúcares nos frutos lhes confere o sabor agradável. Para o pequi, esta afirmação também está de acordo com a opinião de consumidores quando afirmam que “aquele pequi é tão bom que chega a ser doce” (Gomes e Amâncio, 1995). Portanto, um teor de açúcar mais elevado está diretamente relacionado a um fruto mais apreciado pelos consumidores.

Carvalho e Burger (1960) e Ferreira et al. (1987) citam valores do teor de glicídios na polpa de pequi, os quais não diferem muito entre si (Tabela 1). Analisando frutos de origens diferentes, estes valores são comparados como semelhantes aos níveis de glicídios detectados em frutos como o abacate e a melancia.

#### **2.5 Variabilidade genética**

O sucesso de programas de melhoramento genético e conservação genética depende diretamente dos níveis de variabilidade genética das populações de interesse.

Uma população pode ser definida, de um ponto de vista genético, por um grupo de indivíduos da mesma espécie, que se intercasalam, possuindo por isso propriedades comuns, ocupando o mesmo espaço, bem como tendo continuidade no tempo. A troca de alelos que ocorre entre os seus membros e a transmissão deles de uma geração para outra são os aspectos mais importantes na definição de

“população”. Portanto, um reservatório ou conjunto gênico (“pool gênico”) se constitui de toda informação contida num grupo de indivíduos que se intercasalam e é reconstituído a cada geração (Mettler & Gregg, 1973).

Ao nível molecular, a variabilidade genética natural manifesta-se em indivíduos dentro de população, em população dentro de espécie, ao nível de espécie e ao nível de ecossistema. A estrutura genética das populações envolve o conhecimento dos níveis de variabilidade genética e de sua distribuição entre e dentro de populações, sendo este conhecimento muito importante por permitir a adoção de estratégias de manejo mais adequadas para a conservação genética e também na exploração desta variabilidade em melhoramento vegetal (Kageyama, 1987; Dias e Kageyama, 1991).

Para a realização do estudo da variabilidade genética em populações naturais são necessárias duas etapas fundamentais: uma é descrever os níveis de variação genética mantida dentro das populações de espécies; a outra é descrever o caminho pelo qual a variação genética é partida entre e dentro de populações. (Loveless e Hamrick, 1987; Kageyama, 1987).

### **2.5.1 Variação entre origens**

Para a realização da atividade de melhoramento florestal é necessário que exista variabilidade para as características a serem melhoradas e que estas sejam herdáveis. A seleção de árvores superiores só poderá ser realizada se houver variação genética. Um esquema de melhoramento deverá utilizar todos os níveis de variabilidade existentes, tais como a variação entre origens e a variação dentro das populações.

As diferenças observadas entre origens estão sob controle ambiental e sob forte controle genético, especialmente quando se considera características relacionadas à adaptabilidade e um programa de melhoramento depende do conhecimento e uso da variação entre origens dentro das espécies de interesse. Em

um nível intraespecífico, a seleção entre origens possibilita a detecção das raças geográficas e dos ecotipos, e em um nível individual, de selecionar os melhores indivíduos nas melhores procedências (Zobel, 1984).

O coeficiente de variação estimado em populações naturais é uma medida estatística que fornece informação sobre a magnitude de variabilidade natural dentro e entre populações. Coeficientes de variação maiores em uma dada população significam que esta apresenta uma maior variabilidade relativa do que as demais. Para o melhoramento genético, este é um dado muito importante, pois ganhos de seleção são superiores em populações cuja variabilidade é maior, sendo que a variabilidade fenotípica expressa a variabilidade genética somada à influência do ambiente. Portanto, do ponto de vista genético, o coeficiente de variação é uma medida relativa, pois o seu valor expressa uma variação causada por fatores genéticos e ambientais.

### **2.5.2 Fragmentação**

A expansão da população humana e suas atividades tem resultado na destruição, degradação e fragmentação dos habitats a tal ponto que este processo é agora a maior causa do declínio da biodiversidade. A fragmentação do habitat introduz uma quebra na continuidade da distribuição da vegetação original, reduz o habitat disponível às plantas e animais silvestres e acrescenta bordas a uma paisagem até então contínua. Desta maneira, a fragmentação da floresta pode influenciar os padrões locais e regionais de biodiversidade devido à perda de micro-habitats únicos, à insularização do habitat e às mudanças associadas aos padrões de dispersão e migração.

A compreensão dos padrões e processos ecológicos ocorrendo nos fragmentos florestais é crucial para o manejo e conservação da biodiversidade neles contida. Portanto, torna-se necessário os estudos de estrutura genética de

populações em espécies de ambientes fragmentados, para que sejam estabelecidas populações-base para conservação genética *in situ*.

## 2.6 Marcadores genéticos

Marcadores genéticos são características qualitativas com herança mendeliana simples, facilmente reconhecidas e cuja expressão não é influenciada pelo ambiente. Os marcadores genéticos bioquímicos são produtos da expressão de genes (proteínas ou compostos secundários como os terpenóides) enquanto que os marcadores genéticos de DNA derivam da análise do polimorfismo presente no próprio DNA (Robison, 1998).

O avanço no melhoramento genético vegetal tem se baseado, desde o início, somente na análise dos fenótipos. Fatores genéticos, influência do ambiente e o tempo necessário para a avaliação fenotípica em culturas perenes, frequentemente limitam a eficiência desta análise. A identificação direta de genótipos, além de superar as dificuldades da análise fenotípica, pode fornecer informação molecular útil na análise da diversidade genética em germoplasma não domesticado, e facilitar o monitoramento e a ampliação da base genética de populações em melhoramento. A tecnologia de marcadores moleculares, aliada às técnicas clássicas do melhoramento, pode contribuir significativamente para o conhecimento básico da cultura e do caráter estudado, e para a geração e desenvolvimento de produtos melhorados (Ferreira e Grattapaglia, 1995).

Espécies arbóreas possuem alta variabilidade genética, a qual fornece a base para a seleção e cruzamentos em programas de melhoramento florestal (Forrest, 1994). Visando analisar esta variabilidade genética, muitas técnicas têm sido utilizadas tais como a dos marcadores isoenzimáticos e marcadores de DNA.

Marcadores isoenzimáticos representam as diferentes formas de proteínas separadas eletroforéticamente e visualizadas em um substrato de coloração específica (Shaw & Wendel, 1989). A variação fenotípica detectada na forma de

bandas está diretamente relacionada com a variação genética, já que as proteínas são produtos sintetizados diretamente dos genes (Alfenas et al., 1991). Marcadores isoenzimáticos possuem expressão co-dominante, isto é, em cada loco estudado é possível identificar genótipos heterozigotos e homozigotos.

Araújo (1995) realizou testes preliminares com enzimas em tecidos da semente de *Caryocar brasiliense* para estudar a variabilidade genética natural da espécie. Não foram obtidos resultados satisfatórios com esse tipo de material, recomendando a utilização de tecidos com maior atividade enzimática, tal como o meristemático.

Os primeiros marcadores moleculares de DNA a serem utilizados foram os fragmentos produzidos pela digestão do DNA com enzimas de restrição. Nesta classe de marcadores denominada RFLP (polimorfismo de tamanho de fragmento de restrição), a detecção dos fragmentos polimórficos é realizada pela hibridação com sondas radioativas ou não (marcação a frio) e pela avaliação dos RFLP's em auto-radiogramas. Marcadores RFLP possuem expressão co-dominante. O RFLP tomou-se útil e importante, principalmente em estudos de filogenia e diversidade em vários níveis, na construção de mapas genéticos e no mapeamento genético de características de interesse. No entanto, possui a desvantagem de ser uma técnica cara, demorada, complexa, além de envolver algumas vezes o uso de radioisótopos (Ferreira e Grattapaglia, 1995; Forrest, 1994; Bórem, 1997).

Um novo impulso ocorreu com o surgimento da tecnologia da reação da polimerase em cadeia "PCR"- (Polymerase Chain Reaction). Esta técnica se baseia na amplificação da sequência alvo de DNA, a qual é delimitada por um par de oligonucleotídeos (pequenas moléculas de DNA de fita simples utilizados como iniciadores, denominados "primers") que hibridam em direções opostas a sequência-alvo. Através de ciclos de desnaturação, anelamento do primer e extensão pela DNA polimerase, é produzido um aumento exponencial de fragmentos. A análise baseada na PCR requer informação prévia da sequência de

nucleotídeos dos fragmentos de DNA, sendo o tempo e o custo para se obter essa informação limitantes para sua aplicação em larga escala em mapeamento genético.

O grande avanço na área de marcadores moleculares baseados em PCR ocorreu com o aperfeiçoamento desta técnica, a partir da idéia de se utilizar “primers” mais curtos e de sequência arbitrária para dirigir a reação de amplificação, não exigindo, portanto, o conhecimento prévio da sequência. Isto foi desenvolvido paralelamente e independentemente por dois grupos de pesquisa: Willian et al. (1990), que denominaram essa técnica da forma mais utilizada RAPD (“Random Amplified Polymorphic DNA”) e Welsh & McClelland (1990), que a denominaram por AP-PCR (“Arbitrarily Primed-Polymerase Chain Reaction”). O RAPD utiliza-se de um “primer” como iniciador do processo de amplificação, produzindo um polimorfismo detectado na forma de presença ou ausência de bandas de DNA, sendo, portanto, de expressão dominante (Bórem, 1997).

Os marcadores de DNA em relação aos isoenzimáticos têm as vantagens de poderem detectar muito mais polimorfismo, de não serem afetados por condições ambientais e de possibilitarem a extração em qualquer idade da planta. Além disso, RAPD é tecnicamente simples: a obtenção de dados é rápida, requer pequena quantidade de DNA e não envolve radioatividade como outras técnicas (Ferreira e Grattapaglia, 1995; Levi et al., 1993).

A detecção de RAPD tem gerado grande interesse entre os geneticistas de plantas por ser uma técnica útil na construção de mapas genéticos, em análises de diversidade genética em populações naturais e estudos filogenéticos, identificação de variedades e caracterização de bancos de germoplasma. Esta técnica é valiosa na determinação da diversidade genética em populações naturais para a determinação de prioridades de conservação. Ela também tem acelerado a aplicação da tecnologia de marcadores genéticos moleculares em melhoramento

florestal, principalmente em *Eucalyptus*, *Pinus* e *Populus* (Tingey, 1992; Grattapaglia et al., 1992).

A técnica de marcadores RAPD tem sido utilizada na detecção de variação genética de variedades, clones e sementes em árvores provenientes de programas de melhoramento (Anastassopoulos, 1996) e de reservas biológicas (Heinze, 1996). Kleinschmit (1995) usou-a para comparar características morfológicas e genéticas de stands de carvalho, conseguindo separar variações intraespecíficas de variações ecotípicas. Barker (1995) utilizou RAPD para determinar diversidade genética entre 5 populações diferentes de uma espécie arbórea africana (*Prunus africana*) usando 7 primers. Populações de uma mesma região não puderam ser separadas, indicando que não possuíam uma base genética própria e a possibilidade da existência de fluxo gênico entre elas.

Barbosa (1997) analisou a variabilidade genética em progênies de pupunha através de RAPD. Neste trabalho, foram testados 100 primers e selecionados 5. Para a análise de agrupamento dos dados genéticos foi empregado o método de otimização de Tocher e o método hierárquico aglomerativo do UPGMA, no programa NTSYS (Rohlf, 1992). A análise RAPD foi eficiente para acessar a variabilidade genética em segregantes obtidos de dois parentais maternos da mesma população e também para separar as progênies de duas famílias com características de crescimento e produção diferentes.

Jezovsek (1995), trabalhando com o gênero *Cassia*, fez uso da análise de isoenzimas e da técnica de RAPD para estudos de similaridade genética. O material utilizado para as análises constou da parte aérea de plântulas. Neste trabalho, de 40 primers testados, 11 foram selecionados com um total de 78 bandas polimórficas. Aplicou-se o coeficiente de Jaccard e a análise de agrupamento por UPGMA, concluindo que o resultado obtido por RAPD foi semelhante ao obtido pela análise de isoenzimas.

dezembro, ou seja, durante a estação chuvosa. A frutificação ocorreu geralmente nos meses de janeiro a março e também em dezembro e abril. Nesta região do Estado de S. Paulo estudada por Barradas, o porte de alguns indivíduos raramente ultrapassava 1,5m de altura e em cerrados que são normalmente roçados, observou-se exemplares pequenos de pequi carregados de flores em épocas fora do período normal de floração.

### 2.3 O fruto do pequi

O fruto do pequizeiro é uma drupa com epicarpo verde-claro e levemente amarelado quando maduro e apresenta endocarpo espinhoso (Figura 2). O mesocarpo interno é amarelo-alaranjado, oleaginoso e aromático (Barradas, 1973) e pode apresentar de 1 a 6 putâmens no seu interior, sendo o mais comum apresentar dois.

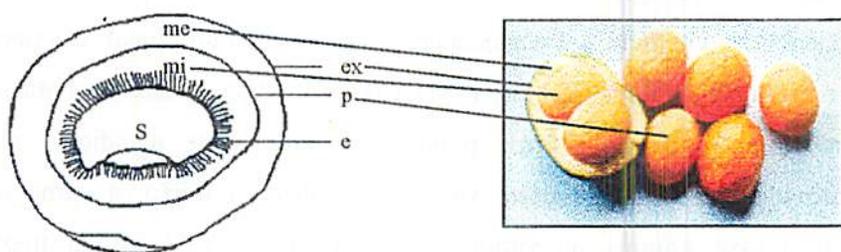


FIGURA 2. Fruto com uma semente de *Caryocar brasiliense*. S - semente; e - endocarpo; mi - mesocarpo interno ou polpa do caroço; p - putâmen (semente + endocarpo + mesocarpo interno); me - mesocarpo externo; ex - exocarpo

## **2.4 Caracterização dos principais constituintes nutricionais do pequi**

### **2.4.1 Carotenóides e vitamina A**

Nas plantas, a atividade da vitamina A está contida em um número de carotenóides os quais são metabolicamente convertidos em vitamina A após a absorção pela ingestão animal. Os carotenóides são pigmentos amplamente distribuídos na natureza, tanto no reino animal quanto no vegetal, sendo que neste último estão presentes em folhas, em outros tecidos verdes e em frutos maduros. A importância de alguns carotenóides como precursores da vitamina A na nutrição humana é bastante conhecida e a mais potente provitamina é o  $\beta$ -caroteno (Fennema, 1976).

Nos países em desenvolvimento, uma grande parte da vitamina A da dieta humana se encontra na forma de provitamina A proveniente de alimentos de origem vegetal como alguns frutos, verduras e legumes. A contribuição das provitaminas A chega a 82% da vitamina A da dieta nestes países. No Brasil, a deficiência de vitamina A é considerada um problema nutricional das populações das regiões mais pobres (Ramos, 1991), em decorrência do fato de o brasileiro ter como base alimentar o arroz polido e a farinha de mandioca, alimentos desprovidos praticamente desta vitamina; também o feijão, a carne e o pão possuem taxa mínima de vitamina A (Peixoto, 1973). Além da importância nutricional, os carotenóides também são considerados por outras funções, tais como: prevenção de determinados tipos de câncer, ação inibidora nas mucosas contra úlceras gástricas, prevenção a certas doenças de pele e a alguns tipos de infecção (Ramos, 1991).

Segundo Franco (1982), o pequi é o fruto no qual foi encontrado o maior teor de vitamina A, sendo este valor quase vinte vezes superior ao da cenoura e pupunha, e duas vezes ao do dendê (Tabela 1). Segundo Carvalho e Burger (1960), o teor em caroteno é igual a 120.000 $\mu$ g/100g ou 200.000 Unidades

Grattapaglia et al. (1992), usaram a técnica de “população bulking” em marcadores RAPD para estudos filogenéticos com espécies de *Pinus*. Esta técnica consistia em proceder as análises a partir da mistura de DNAs das famílias procedentes das populações, utilizando um exemplar de cada família por população. A vantagem deste procedimento de “população bulking” é permitir, através de um método simples, determinar os marcadores de DNA específicos dos grupos que constituem o “bulk” e encontrar a distância ou similaridade entre estes grupos. O resultado indicou que a combinação da técnica RAPD com a análise de população “bulk” pode ser útil para análises de relacionamentos filogenéticos.

Silva (1996) avaliou o grau de parentesco entre *Pinus* de Tecun Umán e espécies de *Pinus* relacionadas usando técnicas citogenéticas e RAPD. Na amplificação do DNA aplicando RAPD, as reações foram otimizadas para a obtenção de produtos de amplificação de maior qualidade. A estimativa das similaridades genéticas foi obtida através do método Simple Matching e a pesquisa de agrupamento através dos métodos UPGMA e Tocher utilizando a distância Euclidiana Quadrada, sendo verificadas maiores similaridades entre *Pinus* de Tecun Umán com certos genótipos do que com os outros.

Garcia et al. (1997) estudaram três populações de *C. brasiliense* no cerrado próximo a Brasília (DF), utilizando análise RAPD com 5 primers. Foram gerados 29 marcadores moleculares, sendo 27 deles polimórficos. A análise de agrupamento utilizando o índice de Jaccard mostrou alta similaridade entre os indivíduos das três populações e um alto nível de dissimilaridade dentro de populações.

A classe de marcadores moleculares mais polimórfica atualmente disponível é a dos marcadores baseados na amplificação de microssatélites. Sequências simples repetidas (SSR-Simple Sequence Repeats), mais tarde denominadas também de “microssatélites”, consistem de pequenas sequências com 1 a 4 nucleotídeos repetidos no genoma. Em eucariotos, estas sequências simples são mais frequentes, distribuídas ao acaso e formam locos gênicos mais

polimórficos. Marcadores baseados em microssatélites são de expressão co-dominante e estão sendo utilizados no mapeamento genético de culturas anuais expressivas como soja, arroz e trigo e de arbóreas florestais como *Pinus* e frutíferas como *Citrus* (Ferreira e Grattapaglia, 1995).

A tecnologia mais recente para a obtenção de um grande número de marcadores moleculares em genomas de procariotos e eucariotos é a análise de AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism ou polimorfismo de comprimento de fragmentos amplificados). A técnica AFLP possui a especificidade, resolução e poder de amostragem da digestão com enzimas de restrição aliada à velocidade e praticidade de detecção dos polimorfismos via PCR. Como os marcadores RAPD, a análise de AFLP é de expressão dominante. Ela tem sido utilizada cada vez mais para fins de “fingerprinting”, mapeamento genético localizado (Bulk Segregant Analysis) e construção de mapas genéticos, principalmente em espécies de plantas cultivadas com baixa taxa de polimorfismo de DNA (Ferreira e Grattapaglia, 1995).

## 2.7 Divergência genética

A análise de divergência genética tem sido utilizada em programas de melhoramento genético na seleção de genitores e de populações que relacionem alta média para os caracteres de interesse com uma ampla variabilidade genética.

A divergência pode ser avaliada por estudos genealógicos, diversidade ecogeográfica, análise dialélica e técnicas de análise multivariada (Duarte, 1993). Em princípio, caracteres pouco influenciados pelo ambiente, como os moleculares, são os mais adequados para estimação de divergência genética por técnicas multivariadas (Dias, 1994).

No estudo da divergência genética a partir de marcadores moleculares são utilizadas análises de agrupamento, também denominadas análise de “cluster”, com o objetivo de agrupar itens diversos como populações, clones, variedades, de

tal forma a existir homogeneidade dentro e heterogeneidade entre os grupos. Primeiramente, faz-se o cálculo de uma medida de similaridade ou dissimilaridade entre os itens utilizando-se um coeficiente  $e$ , a partir dele, é construída a matriz de dissimilaridade.

Os mais simples coeficientes de similaridade relacionam-se com variáveis em que cada uma possui somente dois valores. Marcadores do tipo RAPD, que são binários, são assim incluídos nesse tipo de variável. Para estes marcadores, as quatro possíveis observações de comparação entre dois genótipos são classificadas baseadas na presença (1) ou ausência (0) de um marcador para cada genótipo (Duarte, 1998). Alguns coeficientes de similaridade mais utilizados são o coeficiente de Jaccard, coeficiente Simple Matching e coeficiente de Sorensen-Dice, entre outros.

Num segundo momento, são empregadas as análises de agrupamento para melhor visualização e análise dos dados. Dentre os métodos de agrupamento mais utilizados no melhoramento de plantas, destacam-se os hierárquicos e os de otimização. Nos métodos hierárquicos, os genótipos são agrupados por um processo que se repete em vários níveis, até que seja estabelecido um dendrograma ou diagrama de árvore. Os métodos hierárquicos são também divididos em métodos aglomerativos e divisivos. Um dos métodos aglomerativos mais utilizados para a construção destes dendrogramas é o da média aritmética entre pares não ponderados chamado de UPGMA (Sneath e Sokal, 1973) e o método do vizinho mais próximo. Dentre os métodos divisivos, existem os métodos de partição e os de otimização. Os de otimização diferem dos métodos hierárquicos pelo fato de os grupos serem mutuamente exclusivos e dividem os genótipos estabelecendo os grupos pela adequação de algum critério de agrupamento. Um dos mais utilizados é o método de otimização de Tocher, citado por Rao (1952), que estabelece grupos cujas médias das distâncias intragrupos são sempre menores que as distâncias médias intergrupos (Cruz, 1997).

## CAPÍTULO 1

### FENOLOGIA DE *Caryocar brasiliense* Camb. (Caryocaraceae) NO SUL DE MINAS GERAIS

#### RESUMO

VILELA, Gisele Freitas. Fenologia de *Caryocar brasiliense* Camb. (Caryocaraceae) no Sul de Minas Gerais. Lavras: UFLA, 88p. (Dissertação - Mestrado em Engenharia Florestal)

Estudos fenológicos fornecem subsídios para a compreensão da dinâmica dos ecossistemas florestais e para o manejo de espécies nativas. No cerrado do sul de Minas Gerais, o *Caryocar brasiliense* está presente e apresenta porte arbóreo e em certos locais um porte reduzido (cerca de 1,0m de altura). Não existem registros sobre a fenologia do *C. brasiliense* nesta região. O objetivo deste trabalho é estudar o padrão fenológico de *C. brasiliense* subsp *brasiliense* presente no sul do Estado, abrangendo indivíduos de porte arbóreo e arbustivo. Foram realizados levantamentos fenológicos de indivíduos de *C. brasiliense* nos municípios de Itumirim e Itutinga, ambos em Minas Gerais, no período de novembro de 1995 a abril de 1997. Em Itumirim foram amostrados 10 indivíduos de porte arbóreo e 10 de porte arbustivo. Em Itutinga foram amostrados 10 indivíduos de porte arbóreo. Utilizou-se o balanço hídrico do período de estudos para auxiliar na análise dos dados fenológicos. A floração e frutificação ocorreram durante a estação chuvosa, sendo esta última mais acentuada em um ano do que no outro. A espécie é caducifólia e o enfolhamento cessou durante o período mais seco. A coleta de frutos maduros ocorreu nos meses de fevereiro e março. Os resultados mostraram que *C. brasiliense* porte arbóreo e porte subarbustivo apresentaram fenofases semelhantes.

---

Comitê Orientador: Dulcinéia de Carvalho - UFLA (Orientadora), Sebastião Carlos da Silva Rosado, Manuel Losada Gavilanes.

## ABSTRACT

### PHENOLOGY OF *CARYOCAR BRASILIENSE* CAMB. (CARYOCARACEAE) IN THE SOUTH OF MINAS GERAIS

Phenological studies provided support for the understanding of forest ecosystems and for the management of native species. In the cerrado of the south of Minas Gerais, *Caryocar brasiliense* is present showing tree size and on some spots a reduced size (about 1.0m tall). There are no records about the phenology of *C. brasiliense* in this region. The objective of this work is to study the phenological pattern of *C. brasiliense* subsp *brasiliense* present in the south of the state encompassing tree and subbush-sized individuals. Phenological surveys of *C. brasiliense* individuals were undertaken in the cities of Itumirim and Itutinga, both in Minas Gerais, in the period of november 1995 to april 1997. At Itumirim were screened 10 tree-sized individuals and 10 subbush-sized. At Itutinga were sampled 10 tree-sized individuals. The water balance of the study period was utilized to help in the analysis of phenological data . Both the blooming and fruit set occurred during the rainy season being the latter more marked in a year than in the other. The species is caducifoly and leafing stopped during the driest period. The results showed the tree and subbush-sized *C. brasiliense* presented similar phenophases.

## 1 INTRODUÇÃO

O cerrado é uma unidade ecológica típica da zona tropical, caracterizada por uma vegetação de fisionomia e flora próprias. A sua área abrange aproximadamente 204 milhões de hectares, distribuída principalmente nos Estados de Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Tocantins, Bahia, Piauí e Maranhão e também no Distrito Federal. As terras do cerrado vêm sendo

---

Guidance Committee: Dulcinéia de Carvalho - UFLA (Major Professor), Sebastião Carlos da Silva Rosado, Manuel Losada Gavilanes.

ocupadas de modo desordenado e estima-se que hoje aproximadamente 37% da sua área já perderam sua cobertura primitiva (Pinto, 1993).

Os estudos ecológicos básicos dos ecossistemas florestais podem fornecer importantes subsídios para futuros estudos da ciência aplicada, como silvicultura de espécies nativas e manejo de florestas tropicais mistas, auxiliando na preservação das espécies desses ecossistemas (Dias, 1995).

Um destes estudos, a fenologia, é muito importante para a compreensão da dinâmica dos ecossistemas florestais e das muitas relações das plantas com seu ambiente climático e edáfico, assim como no estudo das relações entre plantas e animais de uma comunidade biótica e seus vizinhos (Fournier, 1976). Estudos fenológicos também são necessários por permitirem trabalhos experimentais posteriores visando a identificação dos fatores responsáveis pelas transições fenológicas.

O bioma cerrado encontra-se também presente na região sudoeste de Minas Gerais, na qual o pequi (*Caryocar brasiliense*) é uma espécie arbórea de ampla ocorrência. Nesta região, o pequi se apresenta, em alguns locais, com altura e porte variados na maturidade reprodutiva, ao contrário dos indivíduos comumente encontrados nos cerrados do norte do Estado, que se reproduzem ao atingirem porte arbóreo. Segundo Barradas (1972), indivíduos de pequi de porte reduzido, observados em São Paulo, e que sofrem podas frequentes, podem apresentar floração em épocas fora do período normal da espécie.

## 2 OBJETIVOS

Portanto, neste trabalho propôs-se estudar o padrão fenológico, reprodutivo e de crescimento de *Caryocar brasiliense* Camb. na região sul de Minas Gerais, através da floração, frutificação, queda de folha e reenfolhamento, englobando indivíduos de porte arbóreo e subarbustivo

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Descrição dos locais e do material de estudo

Os locais de estudo escolhidos foram dois: um localizado no município de Itumirim (local 1) e o outro no município de Itutinga (local 2) (Figura 1). Um critério adotado na seleção dos locais foi o de que estes deveriam estar aparentemente preservados, mas o local 1, em Itumirim, também foi selecionado por possuir indivíduos de porte subarborescente, enquanto o local 2, em Itutinga, também foi escolhido por possuir um grande número de pequizeiros.

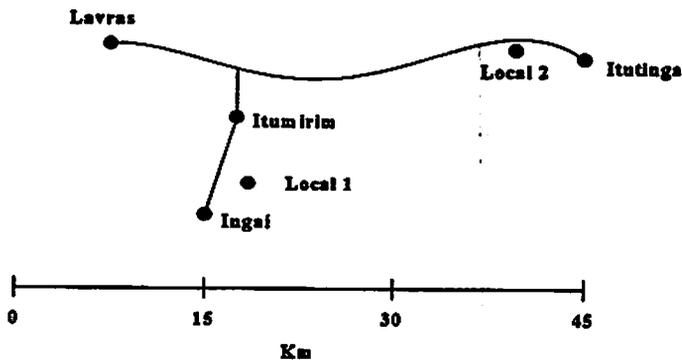


FIGURA 1. Localização dos locais de coleta de dados, (local 1, Itumirim e local 2, Itutinga) no sul de Minas Gerais.

Os exemplares do material botânico dos indivíduos de porte arbóreo e subarbustivo de Itumirim e de Itutinga foram coletados e identificados no herbário do Departamento de Biologia da UFLA. A análise botânica determinou que os indivíduos de porte arbóreo e subarbustivo de Itumirim e Itutinga pertencem à mesma subespécie, ou seja, à subespécie *brasiliense*.

### 3.2 Características dos solos

A classificação e descrição dos solos nos dois locais (Tabela 1) foram realizadas especificamente para este trabalho pelo professor e pesquisador Nilton Curi e pelo pesquisador Paulo Emilio F. Mota, do Departamento de Ciências do Solo da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

TABELA 1. Classificação e descrição dos solos de Itumirim (local 1) e Itutinga (local 2) onde foram realizados os estudos fenológicos.

	Itumirim (local 1)	Itutinga (local 2)
Tipo de solo	Areia quartzosa rasa; superfície arenosa; afloramento de rochas de quartzito com fragmentos pedregosos de mica xisto.	Cambissolo de textura média e cascalhento. Rocha original é o gnaisse.
Profundidade efetiva (cm)	65	105
Horizonte A (cm)	0-18	0-35
Horizonte BA	18-40	-
Horizonte Bi (incipiente)	40-65	35-105
Horizonte Cr	quartzito em alteração	quartzito em alteração
Vegetação	campo cerrado	campo cerrado/cerrado
Drenagem	forte Este tipo de solo retém pouca água devido à combinação da textura arenosa, drenagem forte e pouca profundidade aliados à baixa fertilidade.	boa

### **3.3 Clima e dados meteorológicos no período de estudos fenológicos**

A exemplo dos estudos fenológicos realizados por Dias (1995), o balanço hídrico para um certo período de estudo oferece melhores interpretações dos fenômenos fenológicos do que o balanço hídrico das normais climatológicas. Por isso, neste trabalho utilizou-se, para a análise dos dados, o balanço hídrico do período de estudos, de novembro de 1995 a abril de 1997.

O clima dos municípios de Itumirim e Itutinga é do tipo Cwb de Köppen (mesotérmico com verões brandos e suaves e estiagem de inverno). A precipitação anual média da região é de 1529mm e a temperatura média é de 19,5°C. Para os cálculos do balanço hídrico do período de estudos foram utilizados dados fornecidos pela Estação Climatológica Principal de Lavras, localizada no campus da UFLA (Universidade Federal de Lavras). Utilizou-se o método de Thornthwaite-Mather para os cálculos do balanço hídrico e Thornthwaite para os cálculos da evapotranspiração potencial, segundo Vianello e Alves (1991). Foi utilizada a capacidade de campo de 300mm, calculada por Tubelis e Nascimento (1986) para plantas latifoliadas nativas.

### **3.4 Coleta de dados fenológicos**

Em cada local foram marcados dez indivíduos de pequi de porte arbóreo, segundo recomendação de Fournier e Charpantier (1975). No local 1 (Itumirim) também foram marcados dez indivíduos de pequi de porte subarbustivo. Os indivíduos de *C. brasiliense* de porte arbóreo amostrados possuíam altura variando de 4 a 6m, enquanto que os de porte subarbustivo variavam de 0,90 a 1,10m. A demarcação dos indivíduos no campo foi feita com plaquetas de metal numeradas.

O levantamento fenológico de *C. brasiliense* foi realizado no período de novembro de 1995 a abril de 1997, com observações feitas quinzenalmente. Registrou-se, para cada árvore, a presença ou ausência dos eventos fenológicos,

obtendo-se uma porcentagem de indivíduos que apresentavam os eventos. As categorias fenológicas registradas foram adaptadas das metodologias utilizadas por Araújo (1970), Ribeiro et al. (1982) e Arrigoni (1993). Cada característica fenológica foi considerada quando ocorriam as seguintes interpretações:

#### **Folhagem:**

1. **Brotação:** formação inicial (aspecto de folha enrolada) antes de possuir o formato de folha.
2. **Folhas novas:** folhas pequenas e de coloração avermelhada ou verde clara.
3. **Folhas adultas:** folhas que perdiam a tonalidade avermelhada ou verde clara.
4. **Folhas velhas:** folhas com sinais de senescência como amarelecimento e manchas escuras.
5. **Desfolha:** ocorrência de alguma queda de folhas.

#### **Floração:**

1. **Sem flores:** não havia a presença de flores.
2. **Botões florais:** presença de botões florais.
3. **Início de floração:** as primeiras flores se abriam.
4. **Plena floração:** mais da metade das flores da árvore estavam abertas.

#### **Frutificação:**

1. **Sem fruto:** não havia a presença de frutos.
2. **Início de frutificação:** queda da flor até os frutos apresentarem tom avermelhado.
3. **Frutos imaturos:** frutos perdiam a tonalidade avermelhada e se tomavam verdes.
4. **Frutos maduros:** frutos caíam no chão ou se abriam ainda presos à árvore.
5. **Queda de frutos:** a maioria dos frutos se encontrava madura e caía da árvore.

6. Fruto mumificado: presença de fruto com aspecto mumificado (seco, escuro e duro) preso à árvore.

Os seguintes itens foram agrupados na elaboração dos gráficos das fenofases para facilitar a visualização dos eventos fenológicos: enfolhamento foi considerado quando havia presença de brotação e folhas novas, e desfolhamento incluiu desfolha desde o início até a árvore totalmente desfolhada. Os demais itens como botões florais, floração, frutos imaturos e frutos maduros foram considerados quando havia a presença ou ausência do evento fenológico nos indivíduos.

Em outubro de 1996, as inflorescências de 9 indivíduos de *C. brasiliense* de porte arbóreo e de 4 indivíduos de porte subarbustivo de Itumirim (local 1) foram marcadas e contadas para determinação do índice de formação de frutos. Para realizar uma amostragem da produção de botões por planta foram selecionados dois galhos por árvore, em posições opostas e os botões de cada inflorescência foram contados. Em fevereiro de 1997, os frutos formados por estas inflorescências selecionadas foram contados.

Observações complementares, como visita de insetos, foram também registradas no momento dos levantamentos, somente com objetivo de adquirir informações adicionais relacionadas à espécie em estudo.

## **4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **4.1 Balanço hídrico**

Os trabalhos de coleta de dados fenológicos para o período dos levantamentos, entre novembro de 1995 e abril de 1997, se iniciaram já numa estação chuvosa ocorrendo excesso hídrico no início de janeiro, como pode ser visualizado no balanço hídrico (Figura 2). No final de janeiro ocorreu um

verânico, ou seja, um curto período de déficit hídrico, mas em fevereiro, com a precipitação de 274mm, o excesso hídrico chega no seu máximo, decrescendo até início de março. O período de seca do ano de 1996 se estendeu de final de março a agosto, sendo mais acentuado o déficit hídrico deste ano se comparado às normais climatológicas. A partir daí o período chuvoso iniciou e prosseguiu até início de março, ocorrendo durante o período um pequeno déficit hídrico em meados de outubro e no final de janeiro. No princípio de março de 1997, teve início o período de seca que começou comparativamente mais cedo do que no ano de 1996.

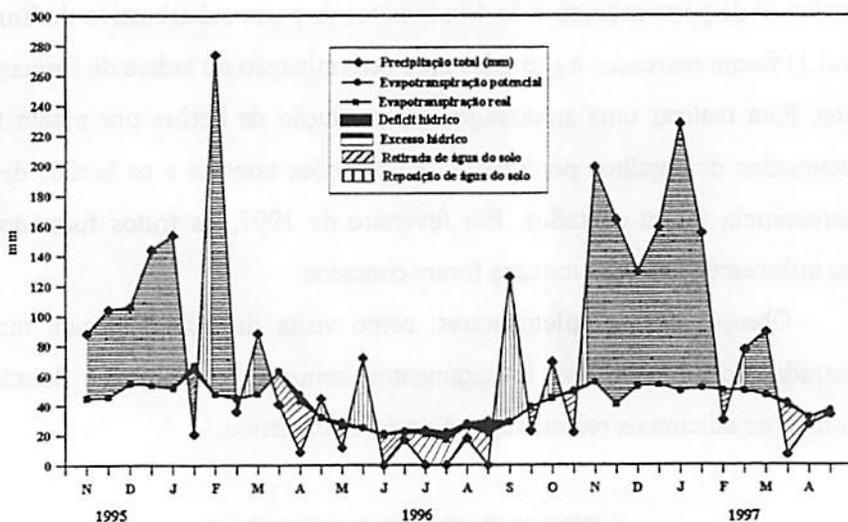


FIGURA 2. Balanço hídrico quinzenal para o período de novembro de 1995 a abril de 1997 estimado pelo método de Thornwaite-Mather, a partir de registros da Estação Climatológica Principal de Lavras ( $21^{\circ}13'40''S$ ,  $44^{\circ}57'50''W$ , 918m de altitude). Capacidade de armazenamento de água no solo considerado = 300mm.

#### 4.2 Fenologia de *Caryocar brasiliense*

As Figuras 3, 4 e 5 mostram as fenofases de *C. brasiliense* no período de estudos nas duas áreas estudadas. As fenofases estão divididas em três categorias: a Figura 3 mostra a fenofase de folhagem, a Figura 4 mostra a fenofase de floração e a Figura 5 mostra a fenofase de frutificação. Em todas as Figuras temos (A) representando o local de Itumirim e os dez indivíduos de porte arbóreo, (B) representando o local de Itutinga e os dez indivíduos de porte arbóreo e (C) o local de Itumirim e os dez indivíduos de porte subarbustivo.

Observou-se que a queda de folhas começou no início da estação seca, ou seja, em abril/maio de 1996 e março de 1997, ocorrendo em (Figura 3A) um desfolhamento precoce em fevereiro em 1996 e 1997. O desfolhamento intensificou-se entre junho e agosto. Em junho, as folhas novas tomaram-se amareladas e as adultas entraram em senescência por toda a árvore. No final do período seco (agosto), as plantas encontravam-se com poucas folhas ou completamente caducas, sendo que a brotação de folhas novas iniciou-se logo em seguida em toda a árvore. O enfolhamento foi máximo em setembro em (Figura 3A) e meados de agosto em (Figura 3B), prolongando-se até novembro em (Figura 3A) e até meados de outubro em (Figura 3B). Algumas plantas tiveram as suas brotações neste período totalmente predadas por insetos e algumas secaram e morreram. O enfolhamento se estendeu até maio em 1996. Neste ano em (Figura 3B), houve uma elevação, a partir de março, nos níveis de enfolhamento, chegando a 90% entre março e maio, apesar de já ser o início do período de seca. Em (Figura 3A) o enfolhamento foi decrescente a partir de dezembro de 1995 e 1996. O solo de Itutinga tem melhor capacidade de armazenamento de água do que o de Itumirim, o que talvez possa estar facilitando o enfolhamento por um período de tempo maior. A fenofase de folhagem dos indivíduos de porte subarbustivo (Figura 3C) se mostrou semelhante à dos indivíduos de porte arbóreo, apenas ocorrendo em um período

de tempo mais curto. O desfolhamento iniciou em maio, com intensidade maior em julho e prolongou-se até setembro. O enfolhamento iniciou logo após a queda total das folhas em agosto e estendeu-se até maio de 1996 e março de 1997. Em 1996, de janeiro a maio, no máximo 10% dos indivíduos apresentaram enfolhamento. Em 1997, o enfolhamento foi máximo em outubro, decrescendo até terminar em março.

Em 1996, os botões florais apareceram em início de setembro em (Figura 3A) e em meados de agosto em (Figura 3B), atingindo 90 a 100% até outubro e terminaram até fevereiro em (Figura 3A) e janeiro em (Figura 3B) de 1997. Em 1995, havia botões florais até meados de dezembro em (Figura 3A) e (Figura 3B). Possuíam coloração arroxeada e alguns poucos eram verdes. Houve formação de botões florais temporários entre fevereiro e abril (40 a 50%) nos dois locais em 1996. Em (Figura 3B) não houve formação de botões temporários em 1997. Tanto os botões formados no meio da estação chuvosa quanto os do seu final foram muito predados por lagartas e outros insetos. A maioria dos botões formados no final da estação chuvosa secou ou foi consumida por insetos.

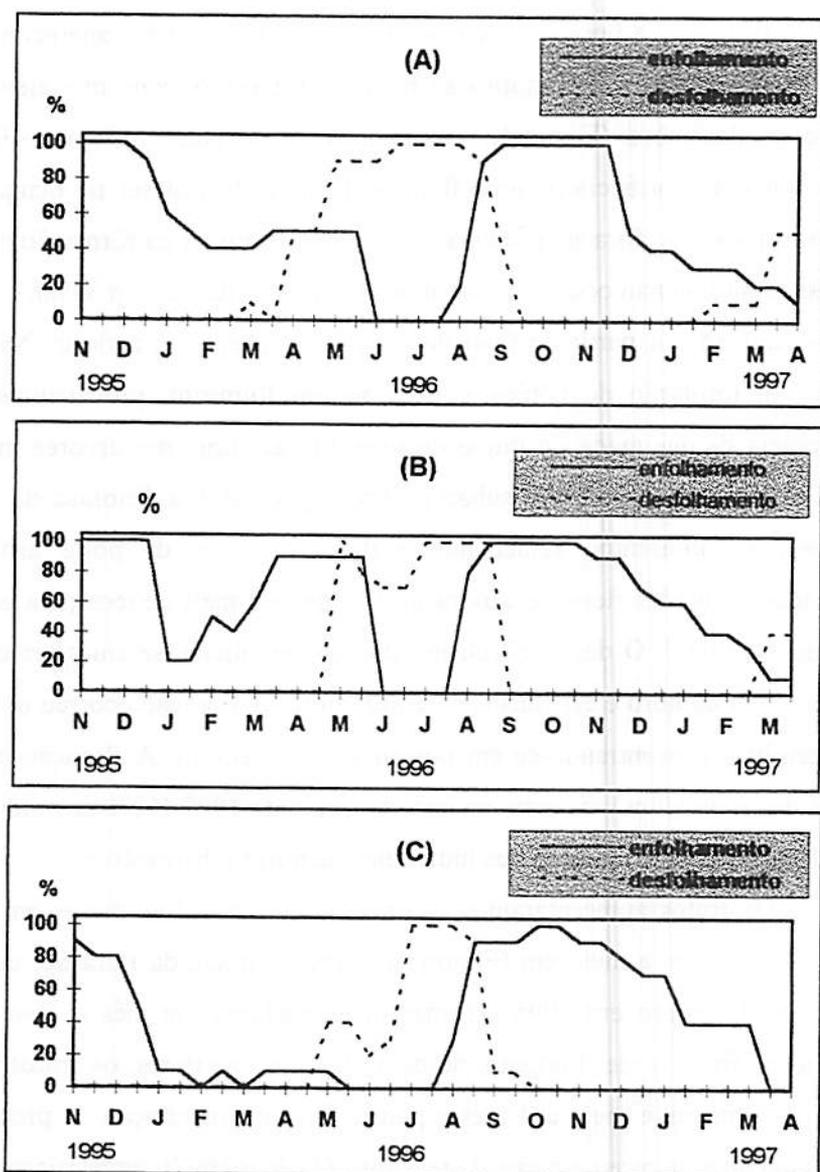


FIGURA 3. Fenofases enfolhamento e desfolha de *Caryocar brasiliense* em: (A) Local 1 (Itumirim, MG) - 10 árvores; (B) Local 2 (Itutinga, MG) - 10 árvores; (C) Local 1 (Itumirim, MG) - 10 subarbustos. As fenofases foram expressas como porcentagem de indivíduos por característica fenológica registrada quinzenalmente no período de novembro de 1995 a abril de 1997. Meses representados pela sua inicial na primeira quinzena.

Em 1996, a floração iniciou-se um mês e meio após o aparecimento dos botões e se estendeu de outubro ao final de dezembro, com uma elevação em início de dezembro (Figura 4A) e em meados de outubro (Figura 4B). Neste ano, houve a ocorrência de uma floração temporã nos meses de março e abril nos dois locais. A floração principal se igualou aos níveis da formação de botões florais, o mesmo não ocorrendo na floração temporã (entre 20 a 30%), em que os botões iniciados a partir de final de março não chegaram a florir. Não houve 100% de formação de botões e floração em Itumirim, provavelmente pela ocorrência de queimada no início de setembro em uma das árvores marcadas. Para os indivíduos de porte subarbustivo (Figura 4C), a fenofase de floração também se apresentou semelhante à dos indivíduos de porte arbóreo. A formação de botões florais e a floração foi maior e mais concentrada em 95/96 do que em 96/97. O desenvolvimento dos botões iniciou-se em setembro, com um pico em outubro e estendeu-se até dezembro. A floração ocorreu de outubro a dezembro, concentrando-se em novembro e dezembro. A floração em 1996 (80% dos indivíduos) foi mais intensa do que a de 1997 (50% dos indivíduos). Não houve floração temporã nos indivíduos de porte subarbustivo.

Os frutos apresentaram-se verdes ou imaturos dois meses em (Figura 4A) e dois meses e meio em (Figura 4B), após o início da floração, ou seja, a partir de dezembro em 1996 e tomaram-se maduros um mês e meio após o estágio de fruto verde. Portanto, desde a abertura das flores, os frutos levaram cerca de 3 meses e meio a 4 meses para alcançar a maturação. A produção de frutos maduros ocorreu a partir de fevereiro (1996 e 1997), intensificando-se no final de fevereiro e início de março. Uma característica observada na maioria dos frutos desta região é que abriam-se estando ainda fixos nos galhos, expondo os caroços, quando alcançam o estágio de maturação. Isto faz com que a coleta de caroços se torne limitada no tempo, pois os frutos, ao se abrirem, deixam cair os caroços no chão, os quais são vorazmente predados e disseminados,

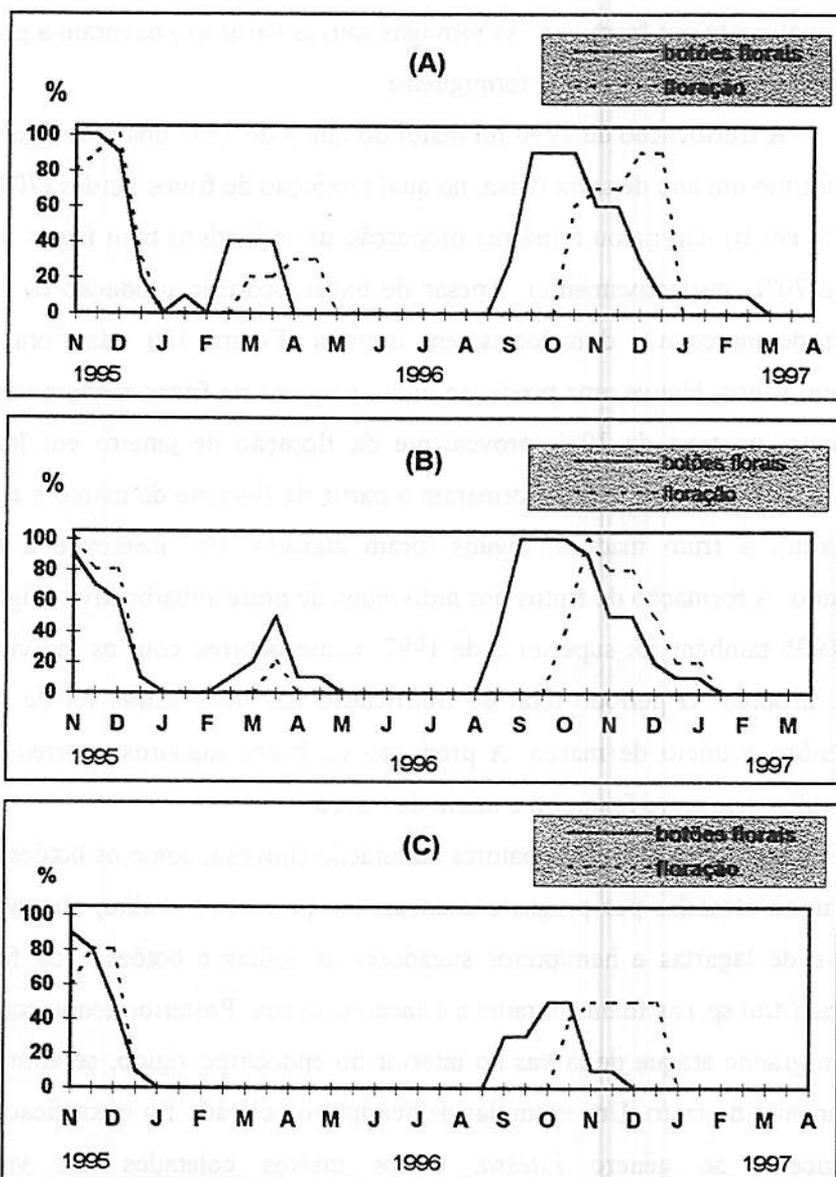


FIGURA 4. Fenofases presença de botões florais e floração de *Caryocar brasiliense* em : (A) local 1, Itumirim, MG - 10 árvores; (B) local 2, Itutinga, MG - 10 árvores; (C) local 1, Itumirim, MG - 10 subarbustos. As fenofases foram expressas como porcentagem de indivíduos por característica fenológica registrada quinzenalmente no período de novembro de 1995 a abril de 1997. Meses representados pela sua inicial na primeira quinzena.

principalmente por formigas. As formigas saúvas (*Atta sp.*) devoram a polpa dos caroços e os carregam para o formigueiro.

A frutificação de 1996 foi maior do que a de 1997 nos dois locais, sendo este último um ano de safra baixa, no qual produção de frutos verdes (70% em A e 90% em B) não gerou a mesma proporção de indivíduos com frutos maduros (20 e 70%, respectivamente). Apesar de haver ocorrido produção de flores a partir de março nos dois locais, em Itutinga (Figura 4B) esta floração não formou frutos. Houve uma produção muito pequena de frutos maduros no início de maio, na taxa de 10%, proveniente da floração de janeiro em Itumirim. Porém, frutos verdes que se formaram a partir da floração de março e abril não chegaram a fruto maduro; alguns foram atacados por insetos e a maioria secando. A formação de frutos nos indivíduos de porte subarbustivo (Figura 4C) em 1996 também foi superior à de 1997, como ocorreu com os indivíduos de porte arbóreo. O período total de frutificação nas duas safras foi de final de dezembro a início de março. A produção de frutos maduros ocorreu em um intervalo curto entre fevereiro e início de março.

Em geral, os frutos imaturos da estação chuvosa, como os botões florais, são muito atacados por pragas e doenças. No presente trabalho, observou-se o ataque de lagartas e hemípteros sugadores às folhas e botões e de formigas saúvas (*Atta sp.*) às folhas durante a estação chuvosa. Posteriormente, constatou-se um grande ataque de larvas no interior do endocarpo rígido, se alimentando da semente do fruto. Um exemplar de hemíptero coletado foi identificado como pertencente ao gênero *Edessa*; outros insetos coletados nas visitas e identificados foram formigas do gênero *Zacryptocerus*, que andavam sobre a planta, e abelhas do gênero *Trigona*.

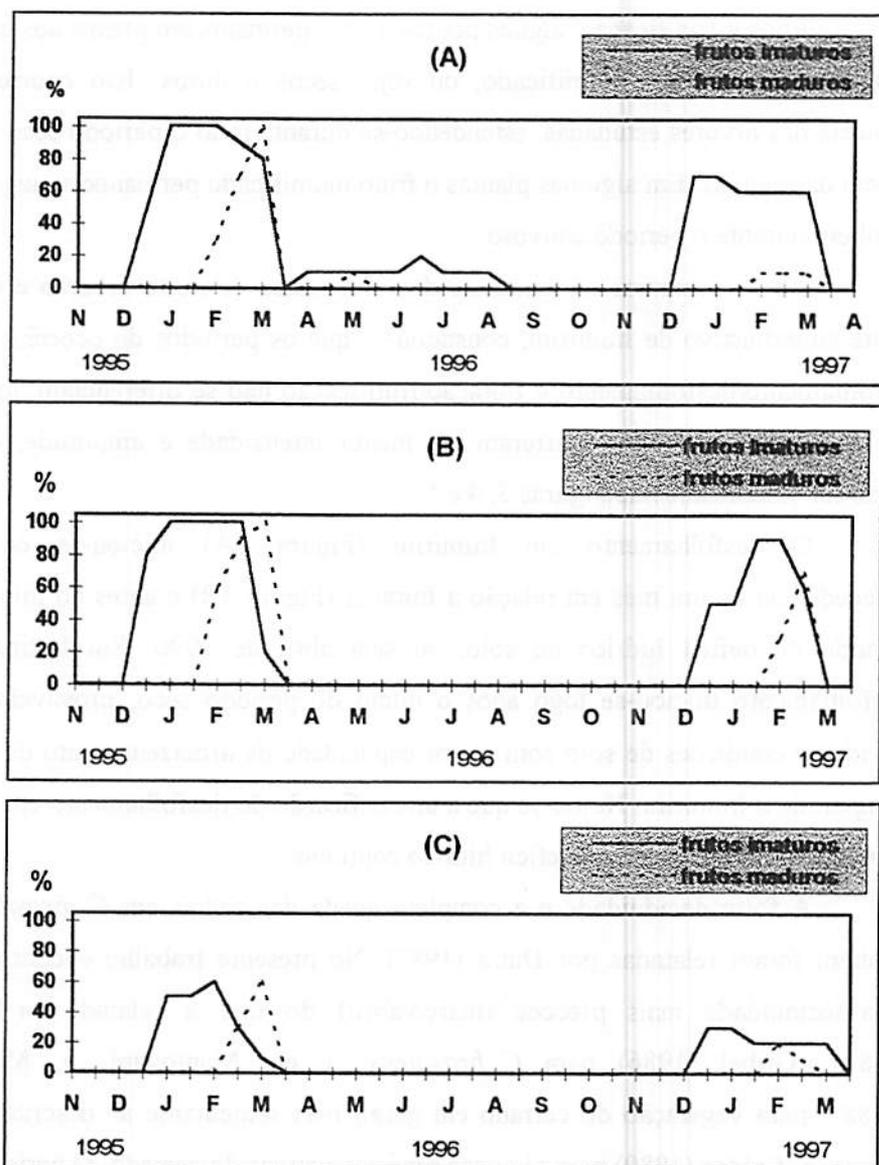


FIGURA 5. Fenofases presença de frutos imaturos e maduros de *Caryocar brasiliense* em : (A) Local 1 (Itumirim, MG) - 10 árvores; (B) Local 2 (Itutinga, MG) - 10 árvores; (C) Local 1 (Itumirim, MG) - 10 subarbustos. As fenofases foram expressas como porcentagem de indivíduos por característica fenológica registrada quinzenalmente no período de novembro de 1995 a abril de 1997. Meses representados pela sua inicial na primeira quinzena.

Após a frutificação, alguns poucos frutos permanecem presos aos galhos apresentando aspecto mumificado, ou seja, secos e duros. Isto ocorreu na maioria das árvores estudadas, estendendo-se durante todo o período seco até o início das chuvas. Em algumas plantas o fruto mumificado permaneceu na planta também durante o período chuvoso.

Ao se comparar as fenofases dos indivíduos de porte arbóreo e os de porte subarbustivo de Itumirim, constatou-se que os períodos de ocorrência de enfolhamento/desfolhamento e floração/frutificação não se diferenciam, apenas as fenofases geralmente ocorreram em menor intensidade e amplitude, como pode ser visualizado nas Figuras 3, 4 e 5.

O desfolhamento em Itumirim (Figura 3A) iniciou-se com a antecedência de um mês em relação a Itutinga (Figura 3B) e antes do início do período de déficit hídrico no solo, ou seja abril de 1996. Em Itutinga, o desfolhamento iniciou-se logo após o início do período seco, provavelmente devido às condições de solo com maior capacidade de armazenamento de água comparado a Itumirim. Notou-se que a intensificação do desfolhamento em 1996 coincidiu com o período de déficit hídrico contínuo.

A forte deciduidade e a completa queda das folhas em *C. brasiliense* também foram relatadas por Dutra (1987). No presente trabalho encontrou-se uma deciduidade mais precoce (março/abril) do que a relatada por Dutra (1987) e Gribel (1986) para *C. brasiliense* e em Mantovani e Martins (1988) para vegetação do cerrado em geral, mas semelhante à descrita por Barros e Caldas (1980) para algumas espécies nativas do cerrado. O período de desfolhamento máximo (junho e agosto) foi semelhante ao encontrado por estes autores.

A ocorrência da queda das folhas com vigorosa emissão de brotos e de botões, de modo simultâneo ou logo em seguida, observada neste trabalho, também foi relatada por Gribel (1986). O mesmo período de floração e o

desenvolvimento simultâneo de gemas foliares e botões florais também foram verificados por Arrigoni (1993) em *Campomanesia rufa* (casaqueira). A floração na região de Itumirim foi mais tardia do que a relatada por Gribel (1986), Dutra (1987) e Araújo (1994), mas coincidiu com o período indicado por Barradas (1972).

Os botões formados em abril em Itutinga (Figura 4B) não chegaram à floração, provavelmente por ser este mês o início do período de seca com ocorrência de déficit hídrico no solo. Com relação à safra, notou-se que a de 1996 foi superior a de 1997 nos dois locais (Figura 5). Esta irregularidade na produção de frutos também foi observada em *C. brasiliense* por Barradas (1972), Araújo (1994) e por Mantovani e Martins (1988) para diversas espécies do cerrado de Mogi Guaçu, SP.

O resultado da contagem de botões, inflorescências e frutos em indivíduos de porte arbóreo e subarbustivo se encontram na Tabela 2. Foi observado um índice de formação de frutos de zero por cento em cinco árvores e em dois subarbustos.

TABELA 2. Contagem de botões, inflorescências e índice de formação de frutos em 9 árvores e 4 subarbustos de *Caryocar brasiliense* em Itumirim, MG.

Indivíduos	Número de inflorescências	Média botão/inflorescências	Índice de formação de frutos (%)
4 subarbustos	22	12,2	0 a 5
9 árvores	102	13	0 a 5,8

O intenso ataque às folhas, botões florais e frutos por lagartas, formigas e outros insetos observados também foi constatado por Barradas (1972), Gribel (1986) e Araújo (1994). A presença de representantes do gênero *Zacryptocerus* encontrada neste trabalho indica, de acordo com Oliveira (1997), que esta formiga pode estar provocando alguma redução do índice de predação nos indivíduos de *C. brasiliense* por ela visitados.

O desenvolvimento incompleto dos botões e flores produzidos até o estágio de fruto também pode ter ocorrido devido a processos de aborto de frutos que, segundo Gribel (1986), fazem com que somente 3% dos ovários produzidos desenvolvam-se até o estágio de fruto maduro e que somente cerca de 1% dos óvulos produzidos desenvolvam-se até o estágio de semente.

A ocorrência de maturação dos frutos no final da estação chuvosa foi semelhante à encontrada por Barradas (1972) e Arrigoni (1993).

A distribuição da frutificação concentrada nos meses de fevereiro e março e a temporã no mês de maio revelam o potencial para seleção e melhoramento genético do pequi para gerar cultivares que propiciem maior tempo de oferta de frutos. Isto poderia propiciar mais renda às comunidades rurais que já utilizam o pequi como fonte econômica. Do ponto de vista nutricional, tal cultivo também poderia fornecer uma fonte altamente rica em nutrientes, principalmente a vitamina A, com uma maior distribuição ao longo do ano.

Durante as visitas a Itumirim, pôde-se observar que o local, apesar de permanecer isolado, estava sujeito a alguma ação antrópica, pois ocorreu uma queimada durante o período de estudos, que não chegou a prejudicar o levantamento de dados fenológicos.

## 5 CONCLUSÕES

A floração e frutificação ocorreram durante a estação chuvosa. A produção parece ser bianual, sendo mais acentuada num ano e menor no ano seguinte. A espécie é caducifolia com perda total de folhas na estação seca. O enfolhamento cessou durante o período mais seco e iniciou-se logo após a queda total das folhas estendendo-se por toda a estação chuvosa.

A época ideal para coleta de frutos maduros nos locais estudados foi nos meses de fevereiro e março.

*Caryocar brasiliense* porte arbóreo e porte subarbutivo apresentaram as fenofases em épocas semelhantes.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAÚJO, F.D. The ecology, ethnobotany and management of *Caryocar brasiliense* Camb. around Montes Claros, MG, Brazil. Oxford: University of Oxford, 1994. 175p. (Tese Doutorado).
- ARAÚJO, V.C. de. Fenologia de essências florestais amazônicas I. Manaus, Boletim do INPA, Pesquisas Florestais, n. 4, abril, 1970.
- ARRIGONI, M. de F. Fenologia e germinação da casaqueira (*Campomanesia rufa*(Berg) Mied) uma fruteira dos cerrados. Lavras: ESAL, 1993. 58p. (Tese Mestrado).
- BARRADAS, M.M. Informações sobre floração, frutificação e dispersão do piqui, *Caryocar brasiliense* Camb. (Caryocaraceae). Ciência e Cultura, São Paulo, n.24, p.1063-1068, 1972.
- BARROS, M.A.G.; CALDAS, L.S. Acompanhamento de eventos fenológicos apresentados por cinco gêneros nativos do cerrado (Brasília-DF). Brasil Florestal, Rio de Janeiro, v.10, n.42, p.7-14, abr./jun. 1980.

- DIAS, H.C.T. Fenologia de quatro espécies arbóreas e variação temporal e espacial da produção de serrapilheira em uma área de floresta estacional semidecídua montana em Lavras, MG. Lavras: UFLA, 1995. 50p. (Tese Mestrado).
- DUTRA, R.de C. Fenologia de dez espécies arbóreas nativas do cerrado de Brasília - DF. Brasil Florestal, Rio de Janeiro, v. 62, p. 23-41, out./dez. 1987.
- FOURNIER, L.A. El dendrofenograma, una representación gráfica del comportamiento fenológico de los árboles. Turrialba, Turrialba, v.26, n.1, 1976.
- FOURNIER, L.A.; CHARPANTIER, C. El tamaño de la muestra y la frecuencia de las observaciones en el estudio de las características fenológicas de los árboles tropicales. Turrialba, Turrialba, v.25, n.1, 1975.
- GRIBEL, R. Ecologia da polinização e da dispersão de *Caryocar brasiliense* Camb. (Caryocaraceae) na região do Distrito Federal. Brasília: UnB, 1986. (Tese Mestrado).
- MANTOVANI, W.; MARTINS, F.R. Variações fenológicas das espécies do cerrado da Reserva Biológica de Moji Guaçu, Estado de São Paulo. Revista Brasileira de Botânica, São Paulo, v. 11, p. 101-112, 1988.
- OLIVEIRA, P.S. The ecological function of extrafloral nectaries: herbivore deterrence by visiting ants and reproductive output in *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae). Functional Ecology, British Ecological Society, v. 11, p. 323-330, 1997.
- PINTO, M.N. (org.). Cerrado: caracterização, ocupação e perspectivas. Brasília. Edunb. 1993. 681p. 2ª edição.
- RIBEIRO, J.F.; GONÇALVES, M.I.; OLIVEIRA, P.E.A.M.; MELO, J.T.de. Aspectos fenológicos de espécies nativas do cerrado. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 32, Teresina-PI, 1982. Anais: Sociedade Botânica do Brasil, p.181-198.
- TUBELIS, A.; NASCIMENTO, F. J. L.do. Meteorologia descritiva: fundamentos e aplicações brasileiras. São Paulo: Nobel, 1986. 374p.
- VIANELLO, R.L.; ALVES, A.R. Meteorologia Básica e Aplicações. Imprensa UFV, Viçosa, 1991. 449p.

## CAPÍTULO 2

### **TEOR NUTRICIONAL DOS FRUTOS DE *Caryocar brasiliense* Camb. (Caryocaraceae): VARIAÇÃO ENTRE E DENTRO DE POPULAÇÕES NATURAIS DE MINAS GERAIS**

#### **RESUMO**

**VILELA, Gisele Freitas. Teor nutricional dos frutos de *Caryocar brasiliense* Camb. (Caryocaraceae): variação entre e dentro de populações naturais de Minas Gerais. Lavras: UFLA, 88p. (Dissertação - Mestrado em Engenharia Florestal)**

O fruto de *Caryocar brasiliense* é, reconhecidamente, uma das mais ricas fontes de vitamina A, além de possuir altos teores de óleo e proteínas. O conhecimento da variabilidade existente para estes aspectos nutricionais é importante para a implantação e otimização de programas de melhoramento vegetal. Dessa forma, o objetivo deste trabalho é avaliar a variação natural existente entre e dentro de populações naturais do norte de Minas Gerais e fornecer subsídios a futuros programas de seleção e melhoramento genético. Foram realizadas análises dos teores de vitamina A, lipídios, proteínas e glicídios da polpa do fruto de *C. brasiliense*. As amostras foram retiradas de 22 árvores do município de Montes Claros e 17 árvores do município de Brasilândia, ambos em Minas Gerais. As comparações entre as origens para cada constituinte nutricional foram realizadas pelo teste de t. Os resultados mostraram que existe variação natural no teor nutricional de vitamina A, lipídios, proteínas e glicídios. Os indivíduos amostrados em Montes Claros foram superiores com relação ao teor de lipídios e glicídios e os indivíduos amostrados em Brasilândia foram superiores em relação ao teor de vitamina A. Cada origem deve ter maior preferência para a seleção genética nos aspectos em que foram superiores.

---

Comitê Orientador: Dulcinéia de Carvalho - UFLA (Orientadora), Sebastião Carlos da Silva Rosado, Manuel Losada Gavilanes.

## ABSTRACT

### NUTRICIONAL CONTENT OF CARYOCAR BRASILIENSE CAMB. (CARYOCARACEAE) FRUITS BETWEEN AND WITHIN POPULATIONS NATIVE TO MINAS GERAIS

The fruit of *Caryocar brasiliense* is admittedly one of the richest existing sources of vitamin A, in addition to possessing high contents of oil and proteins. The knowledge of the existing variability for these nutritional features is important to both the establishment and optimization of plant breeding programs. Thus, the purpose of this work is to evaluate the existing natural variation both between and within natural populations in northern Minas Gerais and provide support to future programs of selection and genetic improvement. Analyses of the contents of vitamin A, lipids, proteins and glycidic of the pulp of the *C. brasiliense* fruit. The samples belonged to 22 trees from the city of Montes Claros and 17 trees from the city of Brasilândia, both in Minas Gerais. The comparisons among the origins to each nutritional constituent were performed by t test. The results showed that there is a natural variation in the nutritional content of vitamin A, lipids, proteins and glycidic. The individuals screened in Montes Claros were superior concerning the content of lipids and glycidic and the individuals sampled at Brasilândia were superior concerning the vitamin A content. Each origin must have its preference to genetical selection in the features in which they were superior.

## 1 INTRODUÇÃO

*Caryocar brasiliense*, conhecida popularmente como pequi, é uma árvore típica do cerrado brasileiro de grande interesse ecológico e econômico. A principal importância do pequi reside no valor nutritivo dos seus frutos e sementes, largamente utilizados na alimentação popular (Ribeiro et al., 1986). A polpa dos putâmens ou caroços (Figura 1) é pastosa, farinácea e oleaginosa

---

Guidance Committee: Dulcinéia de Carvalho - UFLA (Major Professor), Sebastião Carlos da Silva Rosado, Manuel Losada Gavilanes.

(Ferreira et al., 1987). Desta polpa se obtém óleo culinário e licor, podendo também ser empregada na saboaria ou na cosmetologia. Os putâmens e sementes podem ser consumidos na forma de vitaminados e doces e também são reconhecidos como tônicos e popularmente reputados como afrodisíacos (Embrapa, 1985; Gavilanes e Brandão, 1992).

A polpa e a semente são ricas em caroteno (pro-vitamina A), proteínas, gorduras, vitamina B2 e minerais como o P, Fe e Cu (Almeida e Silva, 1994; Ferreira et al., 1987). O teor de pro-vitamina A é muito superior ao encontrado na maioria dos frutos e muitas vezes superior ao da cenoura, conhecida como a maior fornecedora desta vitamina (Franco, 1982).

Levantamentos etnobotânicos realizados no norte de Minas Gerais têm evidenciado a grande variabilidade fenotípica existente na espécie quanto às características de produção, tamanho e espessura dos frutos, coloração e sabor da polpa dos caroços. A polpa comestível possui uma variação de coloração (laranja, rósea, amarela e branca) e de sabor (Gomes e Amâncio, 1995).

O pequi é considerado um produto extrativista de grande importância sócio-econômica nas regiões de cerrado. O extrativismo sem controle e a rápida expansão da fronteira agrícola dos cerrados nas últimas décadas podem estar comprometendo a variabilidade desta espécie, o que pode resultar em uma perda de materiais potencialmente importantes como fonte nutricional para a alimentação humana e animal. Um conhecimento maior das potencialidades de produtos de espécies arbóreas do cerrado, como o pequi, poderia viabilizar sua maior utilização econômica, facilitando a preservação dessas áreas e de sua riqueza em recursos naturais.

## **2 OBJETIVOS**

Este trabalho buscou avaliar a variação fenotípica dos teores de vitamina A, lipídios, proteínas e glicídios de *C. brasiliense* entre e dentro de populações naturais de Minas Gerais, para subsidiar programas de melhoramento vegetal e a conservação de germoplasma.

## **3 MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.1 Descrição da área de estudo e obtenção de amostras**

Os frutos dos pequizeiros foram colhidos em dois locais de origem, sendo 22 árvores do município de Montes Claros e 17 de Brasilândia. As árvores foram tomadas ao acaso, procurando-se respeitar uma distância mínima de 100 metros entre elas, conforme recomendação de Ferreira e Araújo (1981). A população de pequizeiros de Montes Claros localiza-se no Centro de Agricultura Alternativa e a de Brasilândia na Fazenda Brejão, pertencente à Mannesman Agroflorestal.

De cada árvore foi retirada uma amostra constituída da polpa dos putâmens de, no mínimo, 5 frutos colhidos no chão, maduros e intactos. Este procedimento foi realizado no mesmo dia da coleta e a amostra colocada em nitrogênio líquido a  $-80^{\circ}\text{C}$ . O congelamento em nitrogênio líquido é recomendado na conservação dos carotenóides para análises laboratoriais posteriores.

### **3.2 Análise dos teores nutricionais**

Todas as análises foram realizadas no Laboratório de Produtos e Vegetais do Departamento de Ciências dos Alimentos da UFLA. As análises foram feitas em duas repetições. Para a vitamina A foram determinados os teores de  $\beta$ -caroteno segundo a técnica de Nagata e Yamashita (1992). As amostras foram dissolvidas em mistura acetona:hexano (4:6) e o extrato sobrenadante foi usado

para leitura da absorbância em espectrofotômetro Shimadzu UV - 190, nos seguintes comprimentos de onda, 453, 505, 645 e 663nm. O cálculo da concentração de  $\beta$ -caroteno foi feito segundo a seguinte equação, em que A= absorbância (Nagata e Yamashita, 1992):

$$\beta\text{-caroteno(mg/100ml)} = A_{663} \times 0.216 - A_{645} \times 1.22 - A_{505} \times 0.304 + A_{453} \times 0.45.$$

A transformação dos dados para serem expressos em Unidade Internacional (U.I) de vitamina A foi feita pela equação:

$$\text{U.I. de vitamina A} = \frac{\text{mg /100g de } \beta \text{ - caroteno}}{0,0006\text{mg de } \beta \text{ - caroteno}} \times 100$$

Para as determinações dos teores de lipídios, as amostras foram previamente liofilizadas para a retirada total da umidade. A extração de óleo das amostras foi realizada em aparelho tipo Soxhlet (modelo TE - 044-8/50 - sistema macro) usando-se éter etílico como solvente (Schmidt-Hebbel, 1970). A quantidade de lipídios para 100g de amostra dessecada foi relacionada para 100g da amostra integral. O teor de umidade de cada amostra foi anteriormente obtido para se chegar ao valor final.

A determinação da fração protéica foi feita a partir da amostra, seca e desengordurada, pelo método Micro-Kjeldahl descrito pela Association of Official and Agricultural Chemists (1965). Os valores de proteína total obtidos em g/100g de amostra seca foram convertidos em porcentagem de amostra fresca.

Os teores de glicídios foram obtidos a partir do extrato preparado por maceração a quente do homogenato da amostra e determinados segundo a técnica de Somogyi adaptada por Nelson (1944). Os resultados foram expressos em g/100g, ou seja, porcentagem de amostra fresca

### **3.3 Análises dos dados**

Para cada constituinte nutricional da polpa dos frutos de pequi, procedeu-se às comparações entre as origens utilizando-se o teste de t de student ( $p>0.05$ ). Em cada origem, cada árvore foi considerada como uma repetição, sendo 22 em Montes Claros e 17 em Brasilândia, no total. Foi verificado também o coeficiente de variação dos nutrientes para possibilitar a comparação entre a variação existente nas origens. Este coeficiente de variação utilizado é uma medida de dispersão dos valores em relação à média que permite comparações entre características variáveis.

## **4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

As origens dos frutos (Montes Claros e Brasilândia) foram significativamente diferentes somente para os teores de lipídios e proteínas, sendo que para estes o maior valor médio foi constatado na população de Brasilândia (Figura 2).

Em relação aos teores de vitamina A e glicídios, não houve diferenças significativas entre as origens estudadas ( $p>0,05$ ).

Comparando-se os valores médios apresentados na Figura 2 com aqueles apresentados na Tabela 1, pode-se verificar que os valores médios para os teores de lipídios em polpa de pequi (26,2g/100g para a origem Brasilândia e 20,6g/100g para a origem Montes Claros) foram superiores aos valores de 10,0g/100g e 14,83g/100g relatados nos trabalhos de Carvalho e Burger (1960) e de Ferreira et al. (1987) respectivamente. De acordo com tais teores de lipídios detectados neste estudo, o pequi se compara ao coco macaúba, amêndoa de babaçu e abacate, que apresentam alto teor deste constituinte (Tabela 1). Em relação aos outros alimentos tradicionalmente fornecedores de óleo comercial, como a soja, com 17,7g/100g em lipídios, o milho, com 4,5g/100g e a azeitona,

com 19,0g/100g, pode-se observar que o teor de lipídios em pequi foi considerado elevado, o que faz com que ele possa ser utilizado na indústria de cosméticos, como já foi anteriormente mencionado ( Peixoto, 1973).

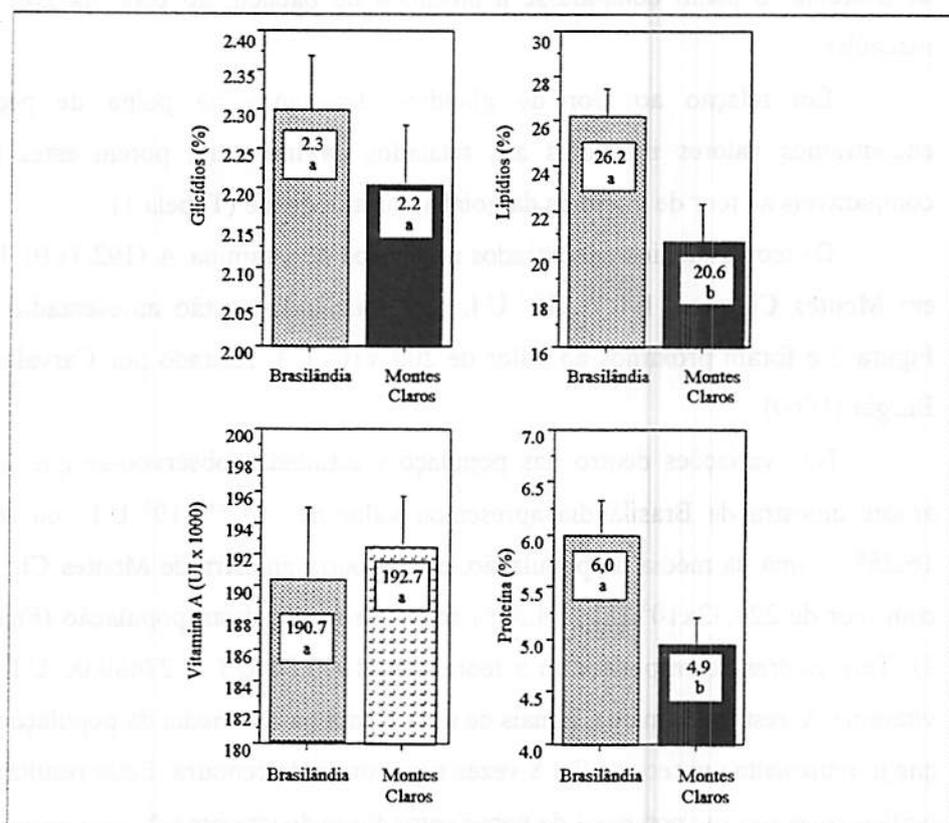


FIGURA 2. Valores médios das origens Brasilândia e Montes Claros para os teores de glicídios, lipídios, vitamina A e proteínas. As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de t de student ( $p>0.05$ ). O erro padrão da média está representado pelas barras.

Os valores médios para os teores de proteína em polpa de pequi (6,0g/100g em Brasilândia e 4,9g/100g em Montes Claros) também foram superiores aos valores de 2,65g/100g e 1,61g/100g relatados nos trabalhos de Carvalho e Burger (1960) e de Ferreira et al. (1987), respectivamente. Em teor de proteína, o pequi compara-se à amêndoa de babaçu, ao coco da Bahia e macaúba.

Em relação ao teor de glicídios detectados na polpa de pequi, encontramos valores inferiores aos relatados na literatura, porém estes são comparáveis ao teor de glicídios da goiaba, buriti e dendê (Tabela 1).

Os teores médios encontrados nos frutos de vitamina A ( $192,7 \times 10^3$  U.I. em Montes Claros e  $190,7 \times 10^3$  U.I. em Brasilândia) estão apresentados na Figura 2 e foram próximos ao valor de  $200 \times 10^3$  U.I. relatado por Carvalho e Burger (1960).

Nas variações dentro das populações estudadas observou-se que uma árvore amostra de Brasilândia apresentou valor de  $221,67 \times 10^3$  U.I., ou seja, 16,25% acima da média da população, e uma outra amostra de Montes Claros, com teor de  $220,33 \times 10^3$  U.I., 14,36% acima da média desta população (Figura 2). Tais valores corresponderam a teores de 31000.00 U.I. e 27680.00 U.I. de vitamina A, respectivamente, a mais de uma planta para a média da população, o que já representa um teor de 7 a 8 vezes superior ao da cenoura. Estes resultados reafirmam o enorme potencial do pequi como fonte de vitamina A.

Chévez (1997) relata informações fornecidas pela EMBRAPA-CPAC, de que a polpa do fruto de pequi tem sido alvo de interesse de laboratórios internacionais para a produção de cápsulas de vitamina A, o que demonstra o grande potencial de uma população, o que pode ser explorado quando se faz seleção para melhoramento genético, quando caracteres nutricionais são importantes.

A Figura 3 mostra o coeficiente de variação para as populações de Brasilândia e Montes Claros, o qual foi maior para os teores de lipídios, glicídios e proteína em indivíduos oriundos de Montes Claros. Nas populações de Brasilândia, este coeficiente de variação para vitamina A foi superior aos indivíduos de Montes Claros. A amplitude de variação para teores de lipídios foi de 14,5% a 33,9%; para glicídios foi de 1,8% a 2,9%; de proteína foi de 2,7% a 8,0% e para vitamina A foi de  $148,3 \times 10^3$  a  $221,7 \times 10^3$  U.I para indivíduos de Brasilândia. Na população de Montes Claros, a amplitude de variação para teores de lipídios foi de 1,8% a 33,9%; em glicídios foi de 1,5% a 3,0%; de proteína foi de 1,8% a 6,8% e para vitamina A foi de  $154,5 \times 10^3$  a  $220,3 \times 10^3$  U.I (Figura 3).

Os frutos de pequi da árvore 17 de Brasilândia e os da árvore 21 de Montes Claros são de coloração branca. Os frutos de pequi da árvore 22 de Montes Claros são de coloração laranja acentuada. Em muitos casos, frutos em geral, com alto teor de  $\beta$ -caroteno, costumam apresentar coloração alaranjada. Como podemos observar na Figura 3, não existiu, neste caso, uma correlação direta entre coloração laranja acentuada do fruto de pequi com um teor de vitamina A maior. Isto se deve ao fato de ser a coloração do fruto decorrente da presença de muitos carotenóides que não possuem, necessariamente, ação pró-vitamina A como o  $\beta$ -caroteno

Apesar das médias de Montes Claros e Brasilândia serem estatisticamente iguais em relação ao teor de vitamina A, deve-se procurar selecionar materiais genéticos em Brasilândia, pois nesta origem o coeficiente de variação (CV) foi superior, significando maior variabilidade. Por outro lado, em relação às características como teor de lipídios e glicídios, árvores da origem de Montes Claros devem ter maior preferência de amostragem. Para os teores de proteína, os coeficientes de variação detectados foram equivalentes, mostrando que não existiu diferença entre as populações para esta característica.

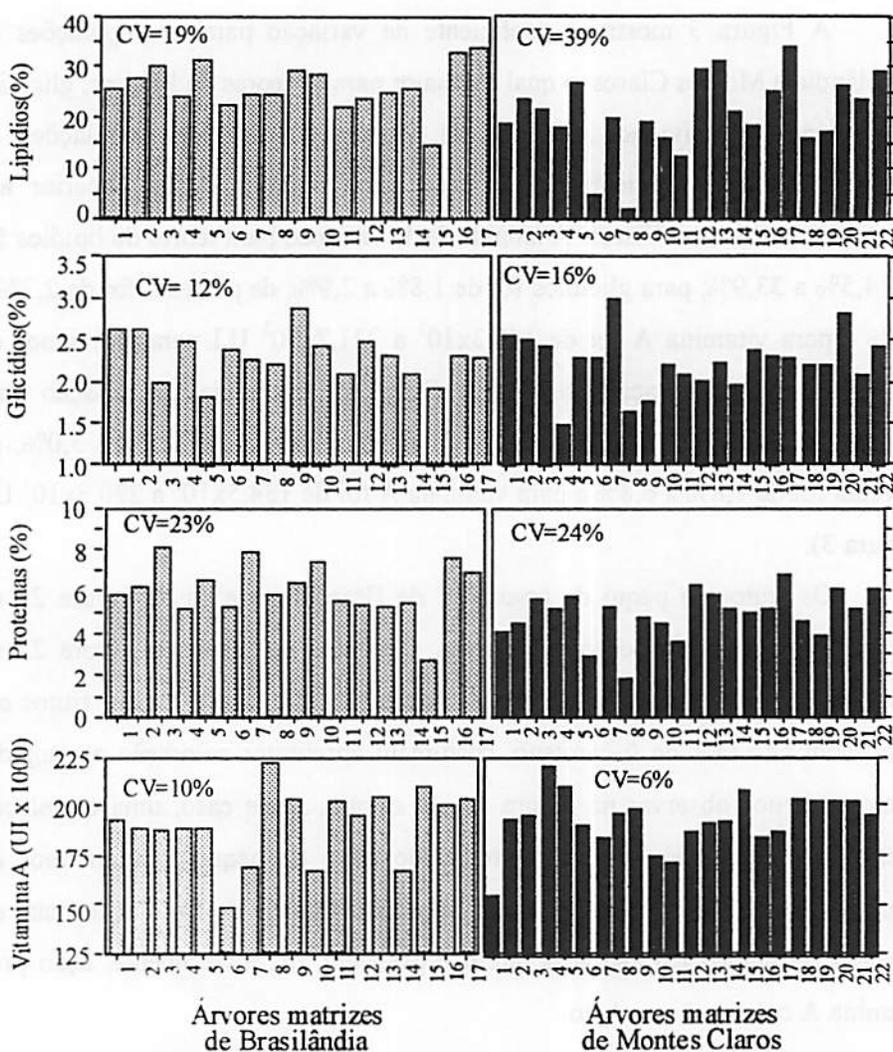


FIGURA 3. Teores de lipídeos, glicídios, proteínas e vitamina A e coeficientes de variação (CV) observados em pequi (*Caryocar brasiliense*) nas origens de Brasilândia e Montes Claros, Minas Gerais.

Entretanto, o conhecimento da proporção genética e ambiental na manifestação da referida variabilidade fenotípica somente será estimado após a realização de testes genéticos (clonal ou progênie).

## 5 CONCLUSÕES

Observa-se importante variação natural no pequi no que se refere aos teores nutricionais de vitamina A, lipídios, proteínas e glicídios, o que pode ser empregado em melhoramento genético.

Entre as duas origens dos frutos de pequi, foi significativa a variação para os teores de lipídios e proteínas. Em uma seleção por origem, a população de Brasilândia seria preferível por apresentar o maior valor médio para lipídios e proteína.

Em relação aos teores de vitamina A e glicídios, não houve variação significativa entre as origens estudadas.

Em média, os indivíduos amostrados em Montes Claros apresentaram coeficientes de variação superiores com relação ao teor de lipídios e glicídios, quando comparados aos indivíduos de Brasilândia, tendo, portanto maior potencial para seleção genética para estes nutrientes.

Em média, os indivíduos amostrados em Brasilândia apresentaram coeficientes de variação superiores em relação ao teor de vitamina A, quando comparados aos indivíduos de Montes Claros, tendo, portanto, maior potencial para seleção genética para este nutriente.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, S.P.; SILVA, J.A. **Piqui e buriti - importância alimentar para a população dos cerrados.** Planaltina: EMBRAPA - CPAC, 1994. 38p. (Documentos, 54).
- ASSOCIATION OF OFFICIAL AND AGRICULTURAL CHEMISTS. **Official methods of analysis.** 10 ed. Washington, 1965. p.744-745.
- CARVALHO, M.C.; BURGER, O.N. **Contribuição ao estudo do pequi de Brasília.** Brasília: SPS, 1960. 15p. (Coleção Estudo e Pesquisa Alimentar, 50)
- CHÉVEZ, O. V. C. **O pequi (*Caryocar brasiliense*): uma alternativa para o desenvolvimento sustentável do cerrado no norte de Minas Gerais.** Lavras, MG.: UFLA, 1997. 100p. (Tese de Mestrado em Administração Rural e Desenvolvimento)
- EMBRAPA. **Novas opções para frutas nativas dos cerrados.** Planaltina: EMBRAPA/CPAC, 1985. 2p. (Noticiário).
- FERREIRA, M.; ARAÚJO, A.J. **Procedimentos e recomendações para teste de procedência.** Documentos, 6.). Curitiba, EMBRAPA, 1981.
- FERREIRA, F.R., BIANCO, S., DURIGAN, J.F., BELINGIERI, P.A. **Caracterização física e química de frutos maduros de pequi.** In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 9, Campinas, 1987. Anais: Sociedade Brasileira de Fruticultura, v.2, p.643-646.
- FRANCO, G. **Composição química dos alimentos e valor energético.** 6.ed. In: **Nutrição: texto básico e tabela de composição química de alimentos.** Rio de Janeiro: ATHENEU, 1982. p.180-193.
- GAVILANES, M.L.; BRANDÃO, M. **Frutos, folhas e raízes de plantas do cerrado, suas propriedades medicinais, tendo como veículo a cachaça.** Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v.16, n.173, p.40-44, mar./abr. 1992.
- GOMES, M.A.O.; AMÂNCIO, R. (coordenadores). **Relatório do Diagnóstico Participativo de Agroecossistemas.** Lavras: UFLA-DAE, 1995. 196p. (mimeografado).

**NAGATA M.; YAMASHITA, I. Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomato fruit. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi, Tokio, v. 39, n. 10, p. 925-928, 1992.**

**NELSON, N.A. A photometric adaptation of Somogyimethod for the determination of glucose. J. Biol. Chem. Baltimore, n.135, 375p, 1944.**

**PEIXOTO, A.R. Plantas Oleaginosas Arbóreas. São Paulo: NOBEL, 1973. p. 207-210.**

**RIBEIRO, J.F.; SILVA,C.S.; BATMANIAN, G.J. Fitossociologia de tipos fisionômicos do cerrado em Planaltina-DF. Revista Brasileira de Botânica, São Paulo, v.8, n.2, p.131-142, 1986.**

**SCHMIDT-HEBBEL, H. et alii. Curso de Análise de Alimentos. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1970. 189p.**

### CAPÍTULO 3

## ESTUDO DA VARIAÇÃO GENÉTICA EM POPULAÇÕES NATURAIS DE *Caryocar brasiliense* ATRAVÉS DE RAPD\*

### RESUMO

VILELA, Gisele Freitas. Estudo da variação genética em populações naturais de *Caryocar brasiliense* através de RAPD. Lavras: UFLA, 88p. (Dissertação - Mestrado em Engenharia Florestal)

O uso de marcadores moleculares tem se expandido em pesquisas de genética florestal pelo fato de fornecer informações da estrutura genética das populações e dos padrões de diversidade genética de uma forma precisa e rápida. Este trabalho tem o objetivo de estudar a variabilidade genética em três populações naturais de *Caryocar brasiliense* em Minas Gerais utilizando marcadores RAPD. Utilizou-se a técnica de "bulk" para a análise dos genótipos, que constituíram os 4 bulks dos municípios de Brasilândia, Montes Claros e Itumirim (A e B), em Minas Gerais. Nas populações de Brasilândia e Montes Claros, foram amostrados indivíduos de porte arbóreo e em Itumirim foram analisados indivíduos de porte arbóreo e subarbustivo. Com o estudo das similaridades genéticas obtidas através dos índices Simple Matching, Jaccard e Sorensen-Dice utilizando-se a técnica de RAPD, observou-se maiores similaridades entre as populações Brasilândia e Montes Claros e entre as populações Itumirim A e B. No dendrograma obtidos pelos métodos UPGMA e vizinho mais próximo, foram observadas as distâncias entre estas populações. Os indivíduos de porte arbóreo e os indivíduos de porte arbustivo/subarbustivo localizados em Itumirim apresentaram-se muito próximos geneticamente.

---

Comitê Orientador: Dulcinéia de Carvalho - UFLA (Orientadora), Sebastião Carlos da Silva Rosado, Manuel Losada Gavilanes.

## ABSTRACT

### STUDY OF GENETICAL VARIATION IN NATURAL POPULATIONS OF CARYOCAR BRASILIENSE THROUGH RAPD\*

The use of molecular markers has enlarged in forest genetical research for the fact of their providing information of the genetical structure of the populations and genetical diversity patterns in a accurate and fast way. This work aim to study the genetical variability in three natural populations of *Caryocar brasiliense* in Minas Gerais by utilizing RAPD markers. The "bulk" technique was utilized for the analysis of the genotypes which made up the four "bulks" of the cities of Brasilândia, Montes Claros and Itumirim (A and B). In the populations of Brasilândia and Montes Claros were sampled tree-sized individuals. At Itumirim were analysed tree and subbush-sized individuals. With the study of the genetical similarities obtained through the Simple Matching, Jaccard and Sorensen-Dice method using the RAPD technique, greater similarities between the Brasilândia and Montes Claros populations and between the Itumirim A and B populations. The distances among these populations were observed in the dendrogram obtained by the UPGMA and Single Linkage method. The tree-sized individuals and subbush-sized individuals situated at Itumirim presented themselves very close genetically.

## 1 INTRODUÇÃO

O cerrado brasileiro possui inúmeras espécies de plantas arbóreas utilizadas como fonte de alimento, remédio e madeira pela população, envolvendo importantes recursos vegetais passíveis de serem integrados em programas de melhoramento genético.

Entre as espécies arbóreas do cerrado, o *Caryocar brasiliense* tem apresentado grande potencial para o uso em plantios comerciais. O fruto é muito

---

Guidance Committee: Dulcinéia de Carvalho - UFLA (Major Professor), Sebastião Carlos da Silva Rosado, Manuel Losada Gavilanes.

utilizado e apreciado pela população na alimentação regional e uma das mais ricas fontes de vitamina A que existe, além de produzir óleo comestível de alto valor nutricional e comercial (Almeida e Silva, 1994).

Entretanto, o conhecimento dos aspectos relacionados à produção, dispersão e germinação de sementes, além da fisiologia do desenvolvimento das espécies, é fundamental quando se procura compreender a distribuição e o comportamento destas espécies dentro de uma população. A maioria das espécies arbóreas tropicais apresenta um ciclo vegetativo longo e não existe tecnologia silvicultural que permita o cultivo adequado de árvores para constituir os testes genéticos "clássicos" (procedência e teste de progênies). Por estas razões, tornam-se necessário desenvolver estudos na área de genética molecular para conhecer, de uma forma precisa e rápida, a estrutura genética das populações, principalmente pela definição dos padrões de diversidade genética inter e intrapopulacional, dispersão dos indivíduos e prejuízos decorrentes da redução da base genética proveniente do processo de fragmentação.

O uso de marcadores moleculares tem se expandido em pesquisas de genética florestal. As principais aplicações de técnicas eletroforéticas têm ocorrido principalmente, em padrões de variação genética (Lundkvist & Rudin, 1977) e em sistemas de cruzamento (Brown et al., 1975). Estas aplicações aumentam o conhecimento da estrutura genética em povoamentos naturais, aumentando a eficiência do melhoramento e esforços de conservação de germoplasmas de árvores ameaçadas de extinção.

Diversas técnicas de biologia molecular estão hoje disponíveis para a detecção de variabilidade genética ao nível de sequência de DNA, ou seja, para a detecção de polimorfismo genético. Dentre estas, a técnica de RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA ou DNA polimórfico amplificado ao acaso) baseada na PCR (reação da polimerase em cadeia) consiste em utilizar o polimorfismo de DNA como marcador genético e apresenta vantagens como:

rapidez, podendo processar um grande número de amostras por dia; não utilização de sondas e radioisótopos, proporcionando redução nos custos e aumento na segurança; a utilização de pequenas quantidades de DNA (em ng) e também de não serem necessárias informações prévias sobre as sequências nucleotídicas do genoma para detectar um grande polimorfismo genético.

## **2 OBJETIVOS**

O objetivo deste trabalho foi o de utilizar marcadores RAPD para detectar a variabilidade genética entre populações naturais de *Caryocar brasiliense* em três populações naturais existentes em Minas Gerais.

## **3 MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.1 Material biológico**

Foram analisadas árvores provenientes de três localidades do Estado de Minas Gerais (Figura 1). A população de Brasilândia localiza-se na Fazenda Brejão pertencente à Mannesman Agroflorestal e a população de Montes Claros no Centro de Agricultura Alternativa. As árvores foram tomadas ao acaso procurando-se manter uma distância mínima de 100 metros entre elas, conforme recomendação de Ferreira e Araújo (1981). Somente na população de Itumirim isto não foi possível, pois os indivíduos de porte subarbustivo estão localizados muito próximos aos indivíduos de porte arbóreo e a população no total não abrangia uma área suficiente para tal amostragem. As árvores foram marcadas com plaquetas de alumínio numeradas.

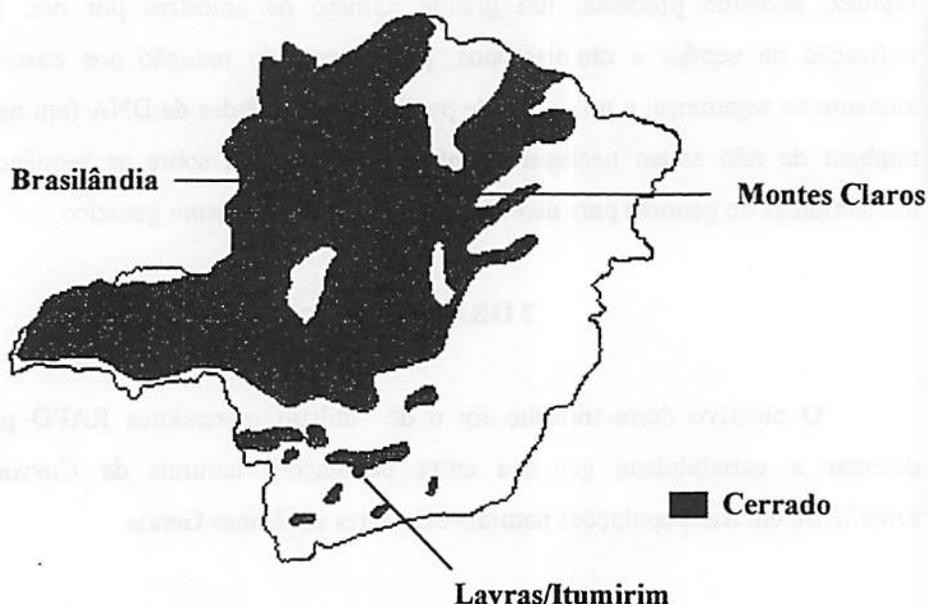


FIGURA 1. Mapa das três localidades do Estado de Minas Gerais (Brasilândia, Montes Claros e Itumirim) onde foram selecionados os genótipos e coletadas as amostras para análises de RAPD.

Dez árvores de cada local foram selecionadas para análises da variabilidade interpopulacional, que foram efetuadas em bulks 1, 2, 3 e 4 pertencentes, respectivamente, aos municípios de Brasilândia, Montes Claros, Itumirim A (árvores com porte arbóreo) e Itumirim B (arbustos e subarbustos). As árvores e os arbustos e subarbustos coexistem lado a lado no local, portanto, consideramos um total de três populações, mas englobando quatro possíveis genótipos diferentes.

O material para análise do DNA constou de folhas jovens e adultas coletadas das árvores no campo. As folhas recém-colhidas foram congeladas diretamente em nitrogênio líquido no campo. No laboratório foram conservadas em freezer a  $-80^{\circ}\text{C}$  até o momento da extração.

### 3.2 Extração do DNA

As extrações de DNA foram feitas de acordo com o procedimento descrito por Nienhuis et al. (1995) por maceração do material vegetal com nitrogênio líquido, utilizando-se 2,0g de folhas sendo adicionados 10ml de tampão de extração CTAB. Após maceração, foram adicionados 20 $\mu$ l de 2- $\beta$ -mercaptoetanol para retardar a oxidação de metabólitos secundários, permanecendo em banho-maria a 65°C por 30 minutos.

Após este período, foram adicionados 10ml de mistura de clorofórmio-álcool isoamílico-fenol (24:1:2), e os tubos foram agitados lentamente 50 vezes para a obtenção de uma emulsão, que foi posteriormente centrifugada a 7000 rpm, em centrífuga Fanen (modelo 206-R), por 10 minutos. O sobrenadante foi pipetado, vertido em 30ml de álcool 95%-acetato de amônio 7,5M (6:1) e condicionado no freezer (-20°C) por uma noite para a precipitação dos ácidos nucleicos.

Os ácidos nucleicos precipitados foram recolhidos com uma pipeta, transferidos para eppendorfs e dissolvidos em TE (1,0mM Tris-HCl, 0,1mM EDTA) seguindo-se uma nova purificação em clorofórmio álcool isoamil (24:1), uma nova precipitação com álcool acetato de sódio e dissolução final em TE.

A quantificação da concentração de DNA das amostras foi determinada através de um fluorímetro (HOEFER-TKO 100). Utilizou-se para cada amostra 2 $\mu$ l de DNA e 2ml de tampão TNE 10x (1,3% Tris base; 0,37% Na<sub>2</sub>EDTA. 2 H<sub>2</sub>O; 11,68% NaCl- pH = 7,4).

### 3.3 Amplificação do DNA

Na literatura foi encontrada somente uma referência sobre estudos de RAPD para a espécie *Caryocar brasiliense* (Garcia et al., 1997), no qual os poucos primers indicados não geraram polimorfismos neste trabalho. Então, a

primeira etapa do trabalho foi selecionar alguns primers que pudessem ser utilizados como fonte de polimorfismos para as amostras estudadas.

A amplificação foi baseada em método descrito por Williams et al. (1990) usando primers de 10 bases de sequência arbitrária (Tabela 1), com algumas modificações, em que as reações foram otimizadas para a obtenção de produtos de amplificação de melhor qualidade (Silva, 1996; Levi et al., 1993). Cada reação continha 2,0µl de DNA de concentração 10ng/µl e mais 8,0µl do mix (3,96µl de água pura; 1,1µl de tampão otimizado de reação-Pharmacia; 0,44µl de dNTP; 2,2µl de primer; 0,96µl de diluente e 0,125µl de Taq polimerase), obtendo-se 10µl no final de reação. O tampão otimizado continha 500µl da mistura (1ml de tampão de reação (Pharmacia) adicionando 160µl de BSA (125mg/ml), 5µl de MgCl<sub>2</sub> (1mM) e 495µl de água destilada. Foram empregados 100 primers (Kits A, B, C, E e M - Operon Technologies Inc., Alameda, Califórnia) para geração de polimorfismo (Tabela 1). As amplificações foram feitas em Termociclador GeneAmp PCR System 2400, programado para um primeiro ciclo a 94°C por 5 minutos, 40 ciclos com temperatura de desnaturação de 94°C por 15 segundos, temperatura de alongação de 36°C por 30 segundos e temperatura de renaturação de 72°C por 1 minuto. Foi acrescido a estes ciclos um ciclo final de manutenção de 72°C por 5 minutos.

TABELA 1. Oligonucleotídeos testados no "pool" de DNA de quatro genótipos de *Caryocar brasiliense*.

Código	Seqüência	Peso molecular	Código	Seqüência	Peso molecular
OPA-01	GAGGCCCTTC	2955	OPC-11	AAAGCTGCGG	3068
OPA-02	TGCCGAGCTG	3035	OPC-12	TGTCATCCCC	2930
OPA-03	AGTCAGCCAC	2988	OPC-13	AAGCCTCGTC	2979
OPA-04	AATCGGGCTG	3059	OPC-14	TGCGTGCTTG	3041
OPA-05	AGGGGTCTTG	3090	OPC-15	GACGGATCAG	3068
OPA-06	GGTCCTGAC	2995	OPC-16	CACACTCCAG	2948
OPA-07	GAAACGGGTG	3108	OPC-17	TTCCCCCAG	2915
OPA-08	GTGACGTAGG	3099	OPC-18	TGAGTGGGTG	3130
OPA-09	GGTAACGCC	3044	OPC-19	GTGCCAGCC	2995
OPA-10	GTGATCGCAG	3059	OPC-20	ACTTCGCCAC	2939
OPA-11	CAATCGCCGT	2979	OPE-01	CCCAAGGTC	2964
OPA-12	TCGGCGATAG	3059	OPE-02	GGTGCGGAA	3124
OPA-13	CAGCACCCAC	2933	OPE-03	CCAGATGCAC	2988
OPA-14	TCTGTGCTGG	3041	OPE-04	GTGACATGCC	3019
OPA-15	TTCCGAACCC	2939	OPE-05	TCAGGGAGGT	3099
OPA-16	AGCCAGCGAA	3037	OPE-06	AAGACCCCTC	2948
OPA-17	GACCGTCTCT	3010	OPE-07	AGATGCAGCC	3028
OPA-18	AGGTGACCGT	3059	OPE-08	TCACCACGGT	2979
OPA-19	CAAACGTCCG	3028	OPE-09	CTTCACCCGA	2939
OPA-20	GTTGCGATCC	3010	OPE-10	CACCAGGTGA	3028
OPB-01	GTTTCGCTCC	2961	OPE-11	GAGTCTCAGG	2964
OPB-02	TGATCCCTGG	3010	OPE-12	TTATCGCCCC	3124
OPB-03	CATCCCCTGT	2915	OPE-13	CCCGATTCCG	2988
OPB-04	GGACTGGAGT	3099	OPE-14	TGCGGGCTGAG	3019
OPB-05	TGCGCOCTTC	2946	OPE-15	ACGCACAACC	3099
OPB-06	TGCTCTGCC	2946	OPE-16	GGTGACTGTG	2948
OPB-07	GGTGACGCAG	3084	OPE-17	CTACTGCCGT	3028
OPB-08	GTCCACACGG	3004	OPE-18	GGACTGCAGA	2979
OPB-09	TGGGGGACTC	3075	OPE-19	ACGGCGTATG	2939
OPB-10	CTGCTGGGAC	3035	OPE-20	AACGGTGACC	3028
OPB-11	GTAGACCCGT	3019	OPM-01	GTTGGTGGCT	3081
OPB-12	CCTTGACGCA	2979	OPM-02	ACAACGCCCTC	2948
OPB-13	TTCCCCGCT	2906	OPM-03	GGGGGATGAG	3164
OPB-14	TCCGCTCTGG	2986	OPM-04	GGCGGTTGTC	3066
OPB-15	GGAGGGTGT	3130	OPM-05	GGGAACGTGT	3099
OPB-16	TTTGCCCGGA	3010	OPM-06	CTGGGCAACT	3019
OPB-17	AGGGAACGAG	3117	OPM-07	CCGTGACTCA	2979
OPB-18	CCACAGCAGT	2988	OPM-08	TCTGTTCCCC	2921
OPB-19	ACCCCCGAAG	2973	OPM-09	GTCTTGCGGA	3050
OPB-20	GGACCCTTAC	2979	OPM-10	TCTGGCCGAC	2995
OPC-01	TTCGAGCCAG	3019	OPM-11	GTCCACTGTG	3010
OPC-02	GTGAGGCGTC	3075	OPM-12	GGGACGTTGG	3115
OPC-03	GGGGGTCTTT	3081	OPM-13	GGTGGTCAAG	3099
OPC-04	CCGATCTAC	2939	OPM-14	AGGGTCTGTC	3050
OPC-05	GATGACCGCC	3004	OPM-15	GGTGGTCAAG	2948
OPC-06	GAACGGACTC	3028	OPM-16	GTAACCAGCC	2988
OPC-07	GTCCCGACGA	3004	OPM-17	TCAGTCCGGG	3035
OPC-08	TGGACCGGTC	3075	OPM-18	CACCATCCGT	2939
OPC-09	CTCACCGTCC	2915	OPM-19	CCTTCAGGCA	2979
OPC-10	TGCTTGGGTG	3081	OPM-20	AGGCTTGGG	3090

### 3.4 Eletroforese

Os produtos da amplificação foram separados em géis de 1,0% de agarose, posteriormente corados com brometo de etílio (0,5µg/ml) e visualizados em transiluminador de luz ultravioleta Fotodyne. Os géis foram fotografados utilizando-se filme Polaroid 667.

### 3.5 Análise dos dados moleculares

#### 3.5.1. Obtenção das distâncias genéticas e agrupamento

Na avaliação dos géis, cada banda foi considerada como um único carácter; a sua presença em um indivíduo foi designada por (+) e a ausência em outro indivíduo por (-). A partir desses dados foi construída uma matriz de zero e um.

As estimativas das similaridades genéticas ( $sg_{ij}$ ) entre cada par de população foi efetuada pelos coeficientes de similaridade: Simple Matching, através da expressão  $sg_{ij} = a + d / a + b + c + d$ ; Jaccard, através da expressão  $sg_{ij} = a / a + b + c$  e Sorensen-Dice, através da expressão  $sg_{ij} = 2a / 2a + b + c$ . As variáveis da expressão foram obtidas conforme demonstrado no seguinte esquema:

		População i	
		1	0
População j	1	a (1,1)	b (0,1)
	0	c (1,0)	d (0,0)

As similaridades foram transformadas para medidas de distâncias genéticas pela seguinte expressão:  $dg_{ij} = 1 - sg_{ij}$ . Os erros associados a cada distância foram estimados segundo Skroch, Tivang e Nienhuis (1992) pelas seguintes expressões:

$$V = nd(1-d)/(n-1)$$

$$\text{Erro padrão estimado} = (V/n)^{1/2}$$

em que:

V: variância da distância genética entre cada par de populações;

d: distância genética entre cada par de populações;

n: número total de bandas utilizadas na estimativa da distância genética.

A partir das medidas de similaridades obtidas (Simple Matching, Jaccard e Sorensen-Dice, construiu-se uma matriz de dissimilaridade, utilizando-se a distância de 1 menos (-) a medida de similaridade.

A representação simplificada das distâncias genéticas foi efetuada por meio de dendrogramas obtidos pelo método hierárquico aglomerativo da média aritmética entre pares não ponderados (UPGMA) e pelo método do Vizinho mais próximo, através do programa STATISTIC (1995) e também pelo método de TOCHER, conforme a metodologia de Cruz e Viana (1994), através do programa GENES (Cruz, 1997).

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da metodologia de extração já descrita, foram obtidas as quantidades de DNA por amostra, conforme Tabela 2. Com base nos valores obtidos, foram feitas as diluições do DNA.

**TABELA 2. Quantificação do DNA extraído das amostras estudadas (ng/ml).**

<b>Amostras</b>	<b>Brasilândia</b>	<b>Montes Claros</b>	<b>Itumirim A</b>	<b>Itumirim B</b>
1	65.75	15.5	219.25	186.75
2	104.0	318.25	145.75	360.0
3	40.75	91.25	130.0	392.5
4	70.0	275.75	420.0	135.25
5	95.0	46.25	190.75	115.25
6	32.0	130.0	121.0	388.5
7	227.75	50.25	-	181.5
8	160.75	24.50	-	198.75
9	176.50	-	70.75	134.0
10	5.75	107.0	161.25	342.0

(-) DNA não quantificado

A técnica de RAPD é caracterizada pela utilização de iniciadores de síntese (primers) de cadeia curta (10 nucleotídeos) que podem aleatoriamente encontrar regiões de homologia do DNA do organismo analisado, fornecendo, assim, um ponto de início de síntese para a DNA polimerase.

Os primeiros resultados obtidos permitiram determinar o número de bandas polimórficas a partir de diferentes primers testados. Estes resultados podem ser visualizados na Tabela 3. Dentre os 100 primers testados, 26 apresentaram padrões de bandas polimórficos, totalizando 59 bandas polimórficas. Os géis foram fotografados e as bandas foram selecionadas para a análise em função da intensidade, uma vez que bandas mais intensas apresentam maior repetibilidade.

A Figura 2 mostra o polimorfismo gerado pelos primers OPA-06, OPB-18, OPC-06, OPM-02 e OPM-17.

**TABELA 3.** Determinação da presença e ausência de polimorfismo. As populações foram agrupadas em "Bulk". Bulk 1 - Brasilândia; Bulk 2 - Montes Claros; Bulk 3 - Itumirim A; Bulk 4 - Itumirim B. (+) presença da banda; (-) ausência da banda.

<b>Primer</b>	<b>Brasilândia</b>	<b>Montes Claros</b>	<b>Itumirim A</b>	<b>Itumirim B</b>
OPA-06 - A	-	-	-	+
OPA-06 - B	+	-	-	-
OPA-06 - C	+	-	+	+
OPA-06 - D	-	-	+	+
OPA-06 - E	+	-	+	-
OPA-06 - F	-	+	-	-
OPA-18 - A	-	-	+	+
OPA-18 - B	-	+	+	+
OPA-18 - C	-	-	+	+
OPB-12 - A	+	+	+	-
OPB-14 - A	-	+	+	+
OPB-16 - A	+	+	-	+
OPB-16 - B	-	+	-	+
OPB-16 - C	-	+	-	+
OPB-20 - A	-	-	+	+
OPB-20 - B	-	-	+	+
OPC-01 - A	+	+	-	+
OPC-02 - A	-	+	+	-
OPC-02 - B	-	-	+	+
OPC-04 - A	+	+	+	-
OPC-06 - A	-	+	-	-
OPC-06 - B	-	+	-	-
OPC-06 - C	-	+	-	-
OPC-06 - D	+	-	-	-
OPC-07 - A	+	+	+	-
OPC-08 - A	-	+	-	+
OPC-09 - A	+	+	-	-
OPC-09 - B	+	+	-	-

Continua...

TABELA 3. Continuação.

Primer	Brasilândia	Montes Claros	Itumirim A	Itumirim B
OPC-14 - A	-	+	+	+
OPC-15 - A	+	-	-	-
OPC-15 - B	-	+	-	-
OPC-15 - C	-	-	+	-
OPC-15 - D	-	+	+	-
OPC-16 - A	-	-	-	+
OPC-16 - B	+	-	-	-
OPC-16 - C	+	+	-	+
OPC-17 - A	+	-	-	-
OPC-17 - B	+	+	-	+
OPC-18 - A	+	+	-	+
OPC-20 - A	+	-	-	-
OPE-04 - A	+	-	-	-
OPE-04 - B	+	-	-	-
OPE-04 - C	-	-	+	+
OPE-04 - D	+	-	+	+
OPE-20 - A	-	-	+	+
OPE-20 - B	-	-	+	+
OPE-20 - C	-	-	+	+
OPM-02 - A	-	+	+	-
OPM-02 - B	+	+	-	-
OPM-04 - A	-	+	+	-
OPM-04 - B	-	+	-	-
OPM-04 - C	-	-	+	+
OPM-04 - D	-	+	-	-
OPM-07 - A	-	+	+	+
OPM-08 - A	-	-	+	-
OPM-15 - A	-	+	+	+
OPM-16 - A	+	-	-	+
OPM-17 - A	+	+	-	+
OPM-17 - B	-	-	-	+

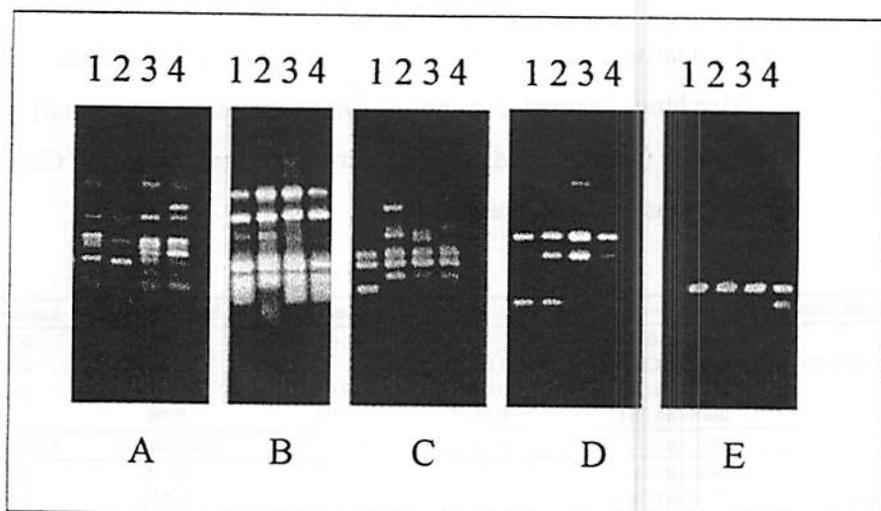


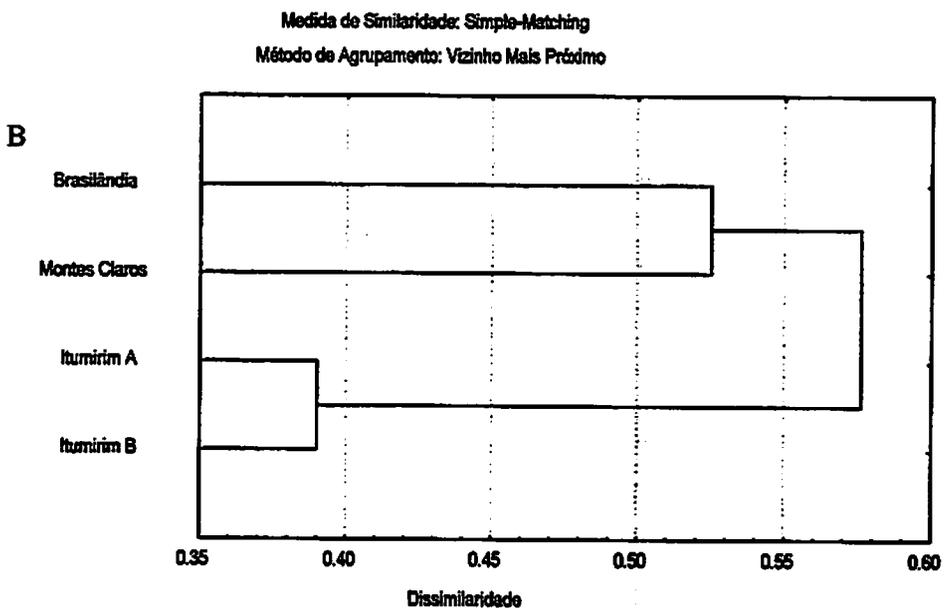
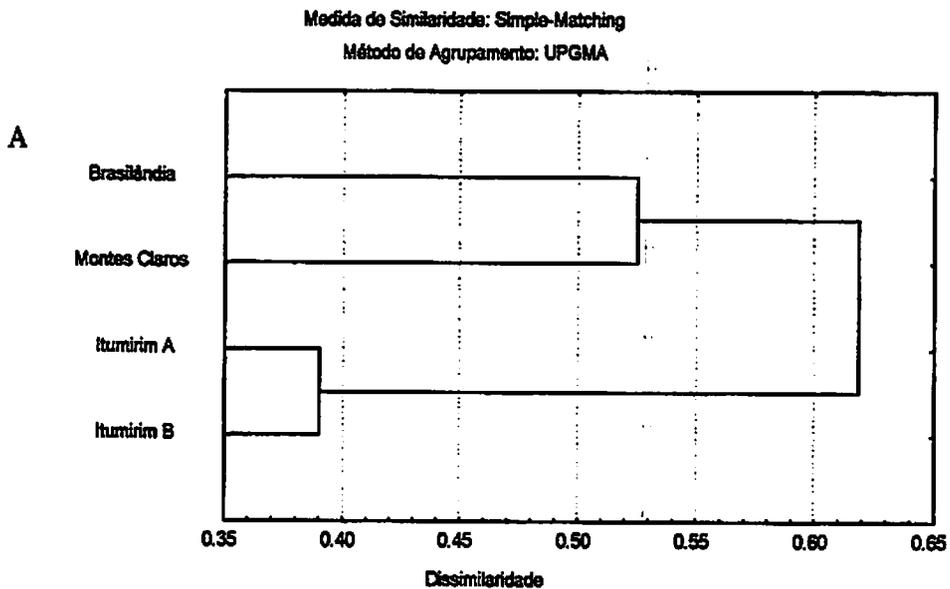
FIGURA 2. Padrões de bandeamento de fragmentos de DNA amplificados por PCR com primers aleatórios (RAPD), utilizando-se os primers OPA-06 (A), OPB-18 (B), OPC-06 (C), OPM-02 (D) e OPM-17(E). 1 - Brasilândia; 2 - Montes Claros; 3 - Itumirim A; 4 - Itumirim B.

A Tabela 4 mostra as estimativas de similaridades genéticas obtidas através do método Simple Matching, Jaccard e Sorensen-Dice e os erros associados encontrados para cada par combinado de genótipos. Os menores valores encontrados foram para os genótipos procedentes de Itumirim (A) e de Brasilândia, sendo de  $0,322 \pm 0,06$  pelo Coeficiente de Simple Matching, de  $0,130 \pm 0,06$  pelo índice de Jaccard e de  $0,231 \pm 0,05$  pelo índice de Sorensen-Dice; e os maiores valores foram de  $0,61 \pm 0,06$  pelo Coeficiente de Simple Matching, de  $0,439 \pm 0,06$  pelo índice de Jaccard e de  $0,61 \pm 0,06$  pelo índice de Sorensen-Dice para os genótipos de Itumirim (B) e Itumirim (A).

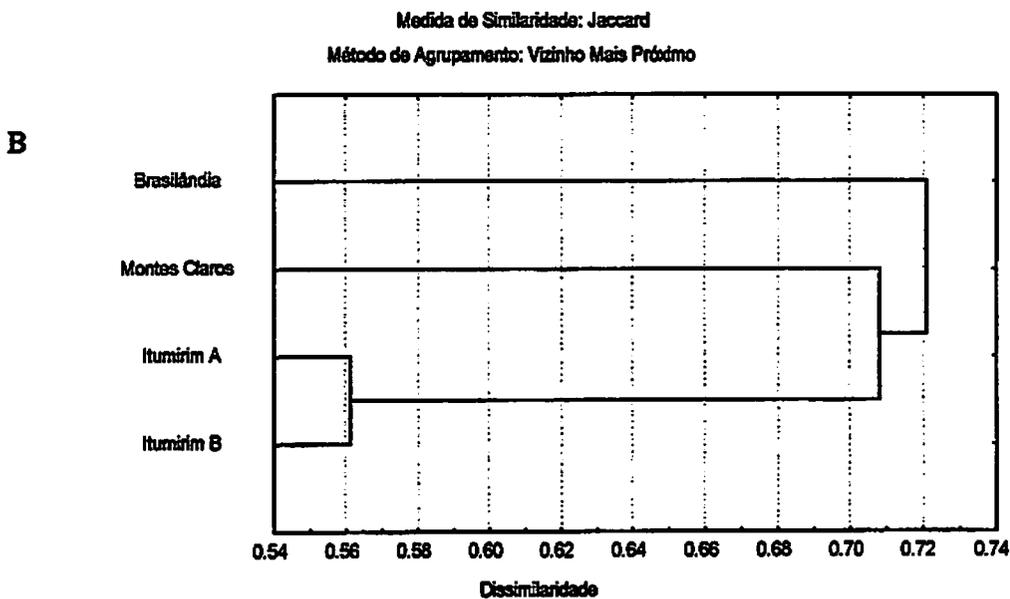
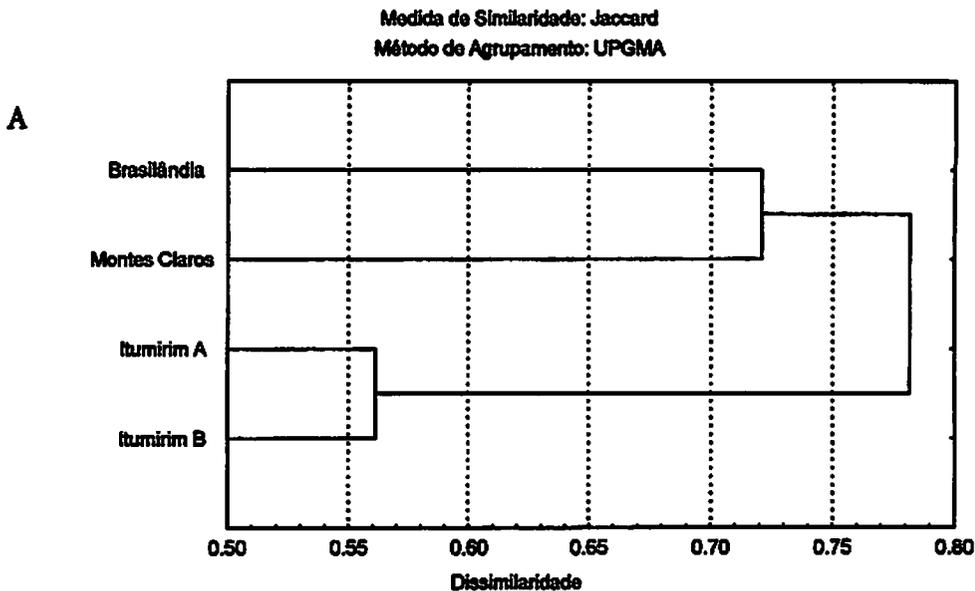
**TABELA 4.** Estimativa de similaridades genéticas (coeficientes Simple Matching, Jaccard e Sorensen-Dice) (acima da diagonal) e erro padrão (abaixo da diagonal) entre os 4 genótipos de *Caryocar*, baseadas em dados de RAPD.

<b>Coeficientes</b>	<b>Genótipos/S M</b>	<b>Brasilândia</b>	<b>Montes Claros</b>	<b>Itumirim (A)</b>	<b>Itumirim (B)</b>
<b>Simple Matching</b>	Brasilândia		0.475	0.322	0.373
	Montes Claros	0.07		0.407	0.424
	Itumirim (A)	0.06	0.06		0.610
	Itumirim (B)	0.06	0.06	0.06	
	<b>Genótipos/J</b>	<b>Brasilândia</b>	<b>Montes Claros</b>	<b>Itumirim (A)</b>	<b>Itumirim (B)</b>
<b>Jaccard</b>	Brasilândia		0.279	0.130	0.196
	Montes Claros	0.06		0.255	0.292
	Itumirim (A)	0.04	0.05		0.439
	Itumirim (B)	0.05	0.06	0.06	
	<b>Genótipos/SD</b>	<b>Brasilândia</b>	<b>Montes Claros</b>	<b>Itumirim (A)</b>	<b>Itumirim (B)</b>
<b>Sorensen-Dice</b>	Brasilândia		0.436	0.231	0.327
	Montes Claros	0.06		0.407	0.452
	Itumirim (A)	0.05	0.06		0.610
	Itumirim (B)	0.06	0.06	0.06	

A partir dos resultados obtidos pôde-se construir dendrogramas para determinar as distâncias genéticas entre as diferentes populações. Os agrupamentos usando o método UPGMA, a partir de todos os coeficientes, e o método do Vizinho Mais Próximo, baseado no coeficiente Simple Matching, mostraram duas árvores (Figuras 3A, 3B, 4A e 5A), as quais apresentaram padrão de agrupamento semelhante. Pode-se observar que as populações B1 (Brasilândia) e B2 (Montes Claros) posicionaram-se num mesmo grupo, diferentemente daquele onde foram agrupados os genótipos B3 (Itumirim A) e B4 (Itumirim B). Estes agrupamentos correlacionaram-se à distribuição geográfica das populações analisadas. Já os agrupamentos usando o método do Vizinho Mais Próximo e os coeficientes Jaccard e Sorensen-Dice (Figuras 4B e 5B) apresentaram um padrão um pouco diferente, não agrupando as populações B1 (Brasilândia) e B2 (Montes Claros). Houve uma maior variação entre os genótipos de *C. brasiliense* provenientes das populações de Montes



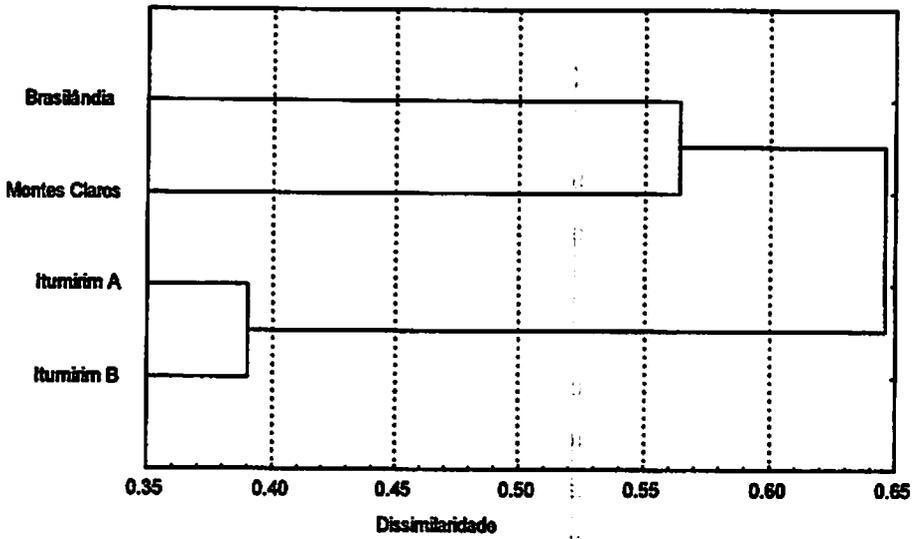
**FIGURA 3. Dendrogramas obtido pelo método de agrupamento UPGMA (A) e Vizinho Mais Próximo (B) de genótipos de *Caryocar brasiliense* baseado em coeficiente de similaridade Simple Matching.**



**FIGURA 4.** Dendrogramas obtido pelo método de agrupamento UPGMA (A) e Vizinho Mais Próximo (B) de genótipos de *Caryocar brasiliense* baseado em coeficiente de similaridade de Jaccard.

Medida de Similaridade: Sorensen-Dice  
Método de Agrupamento: UPGMA

A



Medida de Similaridade: Sorensen-Dice  
Método de Agrupamento: Vizinho Mais Próximo

B

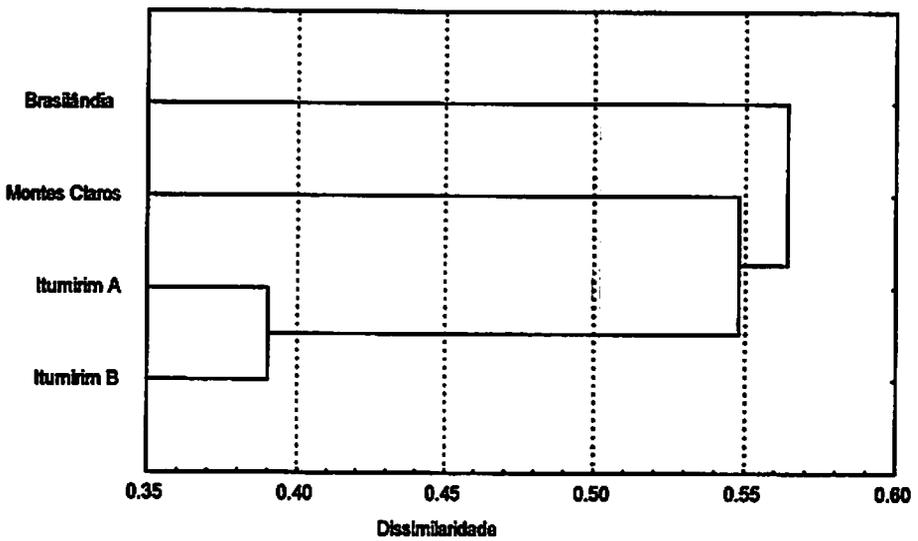


FIGURA 5. Dendrogramas obtido pelo método de agrupamento UPGMA (A) e Vizinho Mais Próximo (B) de genótipos de *Caryocar brasiliense* baseado em coeficiente de similaridade de Sorensen -Dice.

Claros e Brasilândia (noroeste de MG) do que entre os genótipos da população de Itumirim (sul de MG). Provavelmente, esta menor variação observada nestes genótipos é devido ao fato de eles estarem muito próximos, como mencionado no item Material e Métodos. Estes resultados foram semelhantes aos obtidos por Garcia et al. (1997), que detectaram uma alta similaridade entre indivíduos de três populações de *C. brasiliense* amostradas no cerrado próximo à Brasília (DF).

Utilizando o complemento da medida do índice de similaridade de Jaccard, foram observados valores máximos de 0,86 para os genótipos Itumirim A e Brasilândia (Tabela 5). O menor valor obtido foi de 0,56 para os genótipos procedentes de Itumirim A e Itumirim B.

Os grupos obtidos com o método aglomerativo de Tocher (Tabela 6) são semelhantes aos resultados dos níveis obtidos com o dendrograma, confirmando os resultados.

TABELA 5. Estimativa das distâncias genéticas (complemento da medida do índice de similaridade de Jaccard) entre 4 genótipos de *Caryocar brasiliense* baseada em dados de RAPD.

Genótipos	Brasilândia	Montes Claros	Itumirim (A)	Itumirim (B)
Brasilândia		0.72	0.86	0.80
Montes Claros			0.74	0.70
Itumirim (A)				0.56
Itumirim (B)				

**TABELA 6. Formação de grupos segundo o método aglomerativo de Tocher, (utilizando o complemento da medida do índice de similaridade de Jaccard**

<b>Grupos</b>	<b>Indivíduos</b>
<b>I</b>	<b>3 e 4</b>
<b>II</b>	<b>1 e 2</b>

**Genótipos: 1 - Brasilândia; 2 - Montes Claros; 3 - Itumirim A; 4 - Itumirim B.**

O *C. brasiliense* é polinizado por morcegos, um polinizador de longas distâncias, e disperso por mamíferos e aves grandes, o que poderia promover o alto nível de fluxo gênico acarretando uma alta similaridade entre as populações. Além disso, a fragmentação do cerrado e o isolamento de populações podem resultar em baixos níveis de variabilidade, devido ao efeito de estrangulamento genético. Este estrangulamento genético é causado principalmente pela amostragem de indivíduos mais velhos, baixa regeneração de plantas, alta ocorrência de fogo que elimina as plantas jovens e também ação antrópica.

Alguns indivíduos de porte subarbustivo apresentavam na base de seu caule vestígios de uma estrutura lenhosa, podendo ser um tronco que havia sido destruído por fogo. Alguns indivíduos de porte subarbustivo aparecem em reboleiras, sugerindo a possibilidade de terem se formado a partir de brotações vegetativas que surgiram de uma estrutura lenhosa remanescente existente na superfície do solo. Em um outro local de Itumirim, que também apresentava indivíduos de porte subarbustivo, constatou-se que tal condição era devido a podas frequentes efetuadas pelo dono da área. Portanto, a proximidade genética detectada na análise molecular parece estar confirmando que o genótipo subarbustivo de Itumirim descende do genótipo arbóreo presente nesta população.

## 5 CONCLUSÕES

Com o estudo das similaridades genéticas obtidas através dos coeficientes Simple Matching, Jaccard e Sorensen-Dice usando a técnica de RAPD, observou-se maiores similaridades entre as populações Brasilândia e Montes Claros e entre as populações Itumirim A e Itumirim B.

Os indivíduos de porte arbóreo e os indivíduos de porte subarbustivo localizados em Itumirim apresentaram-se mais próximos geneticamente.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, S.P.; SILVA, J.A. Piqui e buriti - importância alimentar para a população dos cerrados. Planaltina: EMBRAPA - CPAC, 1994. 38p. (Documentos, 54).
- BROWN, A.D.H.; MATHESON, A.C.; ELDRIDGE, K.G. Estimation of mating system of *Eucalyptus obliqua* L. Hérít by using allozyme polymorphisms. Australian Journal of Botany, n.23, p. 931-49, 1975.
- CRUZ, C.D. Genes: Aplicativo Computacional em Genética e Estatística. 1997.
- CRUZ, C.D.; VIANA, J.M.S. A methodology to genetic divergence analysis based on sample unit projection on two-dimensional space. Revista Brasileira de Genética, Ribeirão Preto, v.17, n.1, p.69-73, Mar. 1994.
- FERREIRA, M.; ARAÚJO, A.J. Procedimentos e recomendações para teste de procedência. Documentos URPFCs, EMBRAPA, Curitiba, PR. n. 6, 1981.
- GARCIA, C.R.; GRATTALAGLIA, D.; HAY, J. Effects of Habitat Fragmentation on Genetic Variability and Conservation of the Brazilian "Cerrado" Tree Species, *Caryocar brasiliense* Camb (Caryocaraceae): Preliminary results. In: Symposium and Annual Meeting: Tropical Diversity Origins, Maintenance, and Conservation. San Jose, Costa Rica, 15-20 June, 1997.

- LEVI, A.; ROWLAND, L. J.; HARTUNG, J. S. Production of reliable radomly amplified polymorphic DNA (RAPD) markers from DNA of woody plants. Hortscience, Beltsville, v. 28, n. 12, p. 54, 1993.
- LUNDKWIST, K.; RUDIN, D. Genetic variation in eleven populations of *Placea abies* as determined by isozyme analysis. Hereditas, n.85, p.67-74, 1977.
- NIENHUIS, J.; TIVANG, J.; SCKROCH, P.; SANTOS, J. B. dos . Genetic relationships among cultivars and lines of lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) as measured by RAPD markers. Journal of the American Society for Horticultural Science, Alexandria, v. 120, n. 2, p. 53, 1995.
- SILVA, R. Bandeamento fluorescente e marcador de RAPD em espécies próximas ao *Pinus* de Tecun Umán. Lavras: UFLA, 1996. 55p. (Tese - Genética e Melhoramento de Plantas).
- STATISTIC, Statistic Analysis, versão 1995.
- WILLIAMS, J. G. K.; KUBELIK, A. R.; LIVAK, K. J.; RAFALSKI, J. A.; TINGEY, S. V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. Nucleic Acids Research, Oxford, v. 18, n.22, p. 6531-6535, 1990.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS GERAL

- ALFENAS, A.C.; PETERS, L.; BRUSSE, W.; PASSADOR, G.C. Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais. Viçosa: UFV, Imprensa Universitária, 1991. 242p.
- ALMEIDA, S.P.; SILVA, J.A. Piqui e buriti - importância alimentar para a população dos cerrados. Planaltina: EMBRAPA - CPAC, 1994. 38p. (Documentos, 54).
- ANASTASSOPOULOS, E.; KEIL, M. Assessment of natural and induced genetic variation in *Altoermeria* using random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. *Euphytica*, Wageningen, v.90, p.235-244, 1996.
- ARAÚJO, F.D. A review of *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae) - an economically valuable species of the central brazilian cerrados. *Economic Botany*, New York, v.49, n.1, p.40-48, 1995.
- ARAÚJO, F.D. The ecology, ethnobotany and management of *Caryocar brasiliense* Camb. around Montes Claros, MG, Brazil. Oxford: University of Oxford, 1994. 175p. (Tese de Doutorado em Filosofia).
- ARAÚJO, V.C. de. Fenologia de essências florestais amazônicas I. Manaus, Boletim do INPA, Pesquisas Florestais, n. 4, abril, 1970.
- ARRIGONI, M. de F. Fenologia e germinação da casaqueira (*Campomanesia rufa*(Berg) Mied) uma fruteira dos cerrados. Lavras: ESAL, 1993. 58p. (Tese de Mestrado em Fisiologia Vegetal).
- ASSOCIATION OF OFFICIAL AND AGRICULTURAL CHEMISTS. Official methods of analysis. 10 ed. Washington, 1965. p.744-745.
- BARBOSA, A. M. M. Análise da variabilidade genética em progênies de pupunha (*Bactris Gasipaes* H. B. K.) por caracteres agronômicos e RAPD. Jaboticabal: Unesp, 1997. 110p. (Tese de Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas)

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALFENAS, A.C.; PETERS, L.; BRUSSE, W.; PASSADOR, G.C. Eletroforese de proteínas e isoenzimas de fungos e essências florestais. Viçosa: UFV, Imprensa Universitária, 1991. 242p.
- ALMEIDA, S.P.; SILVA, J.A. Piqui e buriti - importância alimentar para a população dos cerrados. Planaltina: EMBRAPA - CPAC, 1994. 38p. (Documentos, 54).
- ANASTASSOPOULOS, E.; KEIL, M. Assessment of natural and induced genetic variation in *Altoermeria* using random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers. *Euphytica*, Wageningen, v.90, p.235-244, 1996.
- ARAÚJO, F.D. A review of *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae) - an economically valuable species of the central brazilian cerrados. *Economic Botany*, New York, v.49, n.1, p.40-48, 1995.
- ARAÚJO, F.D. The ecology, ethnobotany and management of *Caryocar brasiliense* Camb. around Montes Claros, MG, Brazil. Oxford: University of Oxford, 1994. 175p. (Tese de Doutorado em Filosofia).
- ARAÚJO, V.C. de. Fenologia de essências florestais amazônicas I. Manaus, Boletim do INPA, Pesquisas Florestais, n. 4, abril, 1970.
- ARRIGONI, M. de F. Fenologia e germinação da casaqueira (*Campomanesia rufa*(Berg) Mied) uma fruteira dos cerrados. Lavras: ESAL, 1993. 58p. (Tese de Mestrado em Fisiologia Vegetal).
- ASSOCIATION OF OFFICIAL AND AGRICULTURAL CHEMISTS. Official methods of analysis. 10 ed. Washington, 1965. p.744-745.
- BARBOSA, A. M. M. Análise da variabilidade genética em progênies de pupunha (*Bactris Gasipaes* H. B. K.) por caracteres agrônômicos e RAPD. Jaboticabal: Unesp, 1997. 110p. (Tese de Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas)

- BARKER, N. P.; CUNNINGHAM, A. B.; MORROW, C.; HARLEY, E. H.; HUNTLEY, B. J.** A preliminary investigation into the use of RAPD to assess the genetic diversity of a threatened African tree species: *Prunus africana*. In: CONFERENCE ON THE CONSERVATION AND UTILIZATION OF SOUTHERN AFRICAN BOTANICAL DIVERSITY, Cape Town, 1994. *Proceedings...* p. 221-230.
- BARRADAS, M.M.** Informações sobre floração, frutificação e dispersão do piqui, *Caryocar brasiliense* Camb. (Caryocaraceae). *Ciência e Cultura*, São Paulo, v.11, n.24, p.1063-1068, 1972.
- BARRADAS, M.M.** Morfologia do fruto e da semente de *Caryocar brasiliense* (piqui), em várias fases do desenvolvimento. *Revista de Biologia*, São Paulo, v.9, n.1-4, p.69-95, 1973.
- BARROS, M.A.G.; CALDAS, L.S.** Acompanhamento de eventos fenológicos apresentados por cinco gêneros nativos do cerrado (Brasília-DF). *Brasil Florestal*, Rio de Janeiro, v.10, n.42, p.7-14, abr./jun. 1980.
- BÓREM, A.** *Melhoramento de Plantas*. Viçosa: Editora UFV, 1997. 547p.
- BRANDÃO, M.** Frutos comestíveis nativos do cerrado em Minas Gerais. *Informe Agropecuário*, Belo Horizonte, v. 6, n.61, p. 9-18, 1980.
- BROWN, A.D.H.; MATHESON, A.C.; ELDRIDGE, K.G.** Estimation of mating system of *Fucalypthus obliqua* L. Hérit by using allozyme polymorphisms. *Australian Journal of Botany*, n.23, p. 931-949, 1975.
- CARVALHO, M.C.; BURGER, O.N.** Contribuição ao estudo do pequi de Brasília. Brasília: SPS, 1960. 15p. (Coleção Estudo e Pesquisa Alimentar, 50)
- CHÉVEZ, O.V.C.** O Pequi (*Caryocar brasiliense*): Uma alternativa para o desenvolvimento sustentável do cerrado no norte de Minas Gerais. Lavras, MG.: UFLA, 1997. 100p. (Tese de Mestrado em Administração Rural e Desenvolvimento).
- COUTINHO, L.M.** O conceito de cerrado. *Revista Brasileira de Botânica*. v.1, p. 17-23, 1978.
- CRUZ, C.D.** *Genes: Aplicativo Computacional em Genética e Estatística*. 1997.

- CRUZ, C.D.; VIANA, J.M.S.** A methodology to genetic divergence analysis based on sample unit projection on two-dimensional space. *Revista Brasileira de Genética*, Ribeirão Preto, v.17, n.1, p.69-73, m. 1994.
- DIAS, H.C.T.** Fenologia de quatro espécies arbóreas e variação temporal e espacial da produção de serrapilheira em uma área de floresta estacional semidecídua montana em Lavras, MG. Lavras: UFLA, 1995. 50p. (Tese de Mestrado em Manejo Ambiental).
- DIAS, L.A.; KAGEYAMA, P.Y.** Variação genética em espécies arbóreas e consequências para o melhoramento florestal. *Agrotropica*, n.3, p.119-127, 1991.
- DIAS, L.A.S.** Divergência genética e análise multivariada na predição de híbridos e preservação de germoplasma de Cacau (*Theobroma cacao* L.). Piracicaba: ESALQ/USP, 1994. 94p. (Tese de Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).
- DUARTE, J.M.** Estudo da divergência genética em raças de feijão por meio de marcadores RAPD. Lavras: UFLA, 1998. 76p. (Tese de Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).
- DUTRA, R.de C.** Fenologia de dez espécies arbóreas nativas do cerrado de Brasília - DF. *Brasil Florestal*, Rio de Janeiro, v. 62, p. 23-41, out./dez. 1987.
- EMBRAPA.** Novas opções para frutas nativas dos cerrados. Planaltina: EMBRAPA/CPAC, 1985. 2p. (Noticiário).
- FENNEMA, O. R.** Principles of food science. New York: M. Dekker, 1976.
- FERREIRA, F.R., BIANCO, S., DURIGAN, J.F., BELINGIERI, P.A.** Caracterização física e química de frutos maduros de pequi. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 9, Campinas, 1987. Anais: Sociedade Brasileira de Fruticultura, v.2, p.643-646.
- FERREIRA, M.; ARAÚJO, A.J.** Procedimentos e recomendações para teste de procedência. (Documentos, 6.). Curitiba: EMBRAPA, 1981.
- FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D.** Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética. Brasília: EMBRAPA/CENARGEN, 1995. 220p.

- FERRI, M.G.** Plantas do Brasil - espécies do cerrado. São Paulo: Edgard Blücher, 1969. 239p.
- FONSECA, A. G. da; MUNIZ, I. A. de F.** Informações sobre a cultura de espécies frutíferas nativas da região de cerrado. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v. 16, n. 173, p. 12-17, mar./abr. 1992.
- FORREST, G.I.** Biochemical markers in tree improvement programmes. Forestry Abstracts, Roslin, v. 55, n. 2, p. 124-153, 1994.
- FOURNIER, L.A.** El dendrofenograma, una representación gráfica del comportamiento fenológico de los árboles. Turrialba, Turrialba, v.26, n.1, 1976.
- FOURNIER, L.A.** Un método cuantitativo para la medición de características fenológicas en árboles. Turrialba, Turrialba, v.24, n.4, 1974.
- FOURNIER, L.A.; CHARPANTIER, C.** El tamaño de la muestra y la frecuencia de las observaciones en el estudio de las características fenológicas de las árboles tropicales. Turrialba, Turrialba, v.25, n.1, 1975.
- FRANCO, G.** Composição química dos alimentos e valor energético. 6.ed. In: Nutrição: texto básico e tabela de composição química de alimentos. Rio de Janeiro: ATHENEU, 1982. p.180-193.
- GARCIA, C.R.; GRATTALAGLIA, D.; HAY, J.** Effects of Habitat Fragmentation on Genetic Variability and Conservation of the Brazilian "Cerrado" Tree Species, *Caryocar brasiliense* Camb (Caryocaraceae): Preliminary results. In: Simposium and Annual Meeting: Tropical Diversity Origins, Maintenance, and Conservation. San Jose, Costa Rica, 15-20 June, 1997.
- GAVILANES, M.L.; BRANDÃO, M.** Frutos, folhas e raízes de plantas do cerrado, suas propriedades medicinais, tendo como veículo a cachaça. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v.16, n.173, p.40-44, mar./abr. 1992.
- GOMES, M.A.O.; AMÂNCIO, R.** (coordenadores). Relatório do Diagnóstico Participativo de Agroecossistemas. Lavras: UFLA-DAE, 1995. 196p. (mimeografado).

- GRATTAPAGLIA, D.; CHAPARRO, J.; WILCOX, P.; MCCORD, S.; WERNER, D.; AMERSON, H.; MCREAND, S.; BRIDGWATER, F.; WHETTEN, R.; O' MALLEY, D.; SEDEROFF, R. Mapping in woody plants with RAPD markers: Applications to breeding in forestry and horticulture. In: APPLICATIONS OF RAPD TECHNOLOGY TO PLANT BREEDING, Minneapolis, 1992. Proceedings... Minneapolis: Crop Science Society of America, 1992. p.37-40.
- GRATTAPAGLIA, D.; O' MALLEY, D.; DVORAK, W. Phylogenetic analysis of Central American and Mexican pines using RAPD markers on bulked DNA samples. In: IUFRO INTERNATIONAL CONFERENCE "Breeding tropical trees" Section 2.02-08 Proceedings... Cali: Colombia, 1992. p.132-147.
- GRIBEL, R. Ecologia da polinização e da dispersão de *Caryocar brasiliense* Camb. (Caryocaraceae) na região do Distrito Federal. Brasília: UnB, 1986. (Tese de Mestrado em Ecologia).
- GRIBEL, R.; HAY, J.D. Pollination ecology of *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae) in Central Brazil cerrado vegetation. *Journal of Tropical Ecology*. v. 9, p. 199-211. 1993.
- HANDRO, W.; BARRADAS, M. M. Sobre os óleos do fruto e da semente do piqui - *Caryocar brasiliense* Camb. (Caryocaraceae). In: SIMPÓSIO SOBRE O CERRADO, 3, São Paulo, Anais: Edgard Blücher/Universidade de São Paulo, 1971. 110-113p.
- HEINZE, B.; WESTCOTT, R.; SCHMIDT, J.; GLOSSL, J. Application of random amplified polymorphic DNA (RAPD) to detect genetic variation in Norway spruce. *New-Forests*, Seibersdorf, v. 11, n. 2, p. 173-184, 1996.
- JEZOVSEK, G. K. Utilização de marcadores moleculares na caracterização de espécies do gênero *Cassia*. Jaboticabal: Unesp, 1995. 67p. (Tese - Genética e Melhoramento de Plantas).
- KAGEYAMA, P. Y. Conservação *in situ* de recursos genéticos de plantas. IPEF. Piracicaba, n.35, p.7-37, 1987.
- KLEINSCHMIT, J. R. G.; BACILIERI, R.; KREMER, A.; ROLOFF, A. Comparison of morphological and genetic traits of pedunculate oak (*Q. robur* L.) and sessile oak (*Q. petraea* (Matt.) Liebl.). *Silvae Genetica*, Frankfurt, v. 44, n. 5-6, p. 256-269, 1995.

- LEVI, A.; ROWLAND, L. J.; HARTUNG, J. S.** Production of reliable radomly amplified polymorphic DNA (RAPD) markers from DNA of woody plants. *Hortscience*, Beltsville, v. 28, n. 12, p. 1188-1190, 1993.
- LIETH, H.** Phenology and seasonality modelling. New York: Springer-Verlag, 1974. 444p.
- LOVELESS, M. D.; HAMRICK, J.L.** Distribucion de la variacion en especies de arboles tropicales. *Revista Biologia Tropicales*, 35 (supl.1):165-75, 1987.
- LUNDKWIST, K.; RUDIN, D.** Genetic variation in eleven populations of *Pinus abies* as determined by isozyme analysis. *Hereditas*, n.85, p.67-74, 1977.
- MANTOVANI, W.; MARTINS, F.R.** Variações fenológicas das espécies do cerrado da Reserva Biológica de Moji Guaçu, Estado de São Paulo. *Revista Brasileira de Botânica*, São Paulo, v. 11, p. 101-112, 1988.
- METTLER I.E.; GREGG, T.G.** Genética de Populações e Evolução. São Paulo: Polígono, 1973. 262 p.
- NAGATA M.; YAMASHITA, I.** Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomato fruit. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, Tokio, v. 39, n. 10, p. 925-928, 1992.
- NELSON, N.A.** A photometric adaptation of Somogyimethod for the determination of glucose. *J. Biol. Chem.* Baltimore, n.135, 375p, 1944.
- NIENHUIS, J.; TIVANG, J.; SCKROCH, P.; SANTOS, J. B. dos .** Genetic relationships among cultivars and lines of lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) as measured by RAPD markers. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, Alexandria, v. 120, n. 2, p. 300-306, 1995.
- OLIVEIRA, P.S.** The ecological function of extrafloral nectaries: herbivore deterrence by visiting ants and reproductive output in *Caryocar brasiliense* (Caryocaraceae). *Functional Ecology*, British Ecological Society, v. 11, p. 323-330, 1997.
- PEIXOTO, A.R.** Plantas Oleaginosas Arbóreas. São Paulo: NOBEL, 1973. p. 207-210.

- PINTO, M.N. (org.). **Cerrado: caracterização, ocupação e perspectivas**. 2. ed. Brasília. Edumb. 1993. 681p.
- PRANCE, G.T.; SILVA, M.F. **Caryocaraceae. Flora Neotropica Monograph**, New York, v.12, p.1-75, 1973.
- RAMOS, D. M. R. **Avaliação das perdas de carotenóides e valor de vitamina A durante a desidratação e a liofilização industrial de cenoura e espinafre**. Campinas: UNICAMP, 1991. 106p. (Tese de Mestrado).
- RAO, R. C. **Advanced statistical methods in biometric research**. New York: J. Wiley, 1952. 390p.
- RIBEIRO, J.F.; GONÇALVES, M.I.; OLIVEIRA, P.E.A.M.; MELO, J.T.de. **Aspectos fenológicos de espécies nativas do cerrado**. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 32, Teresina-PI, 1982. Anais: Sociedade Botânica do Brasil, p.181-198.
- RIBEIRO, J.F.; SILVA,C.S.; AZEVEDO, L.G. **Estruturas e composição dos cerrados e sua interação com alguns parâmetros do solo**. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 32, Teresina-PI, 1982. Anais: Sociedade Botânica do Brasil, p.141-156.
- RIBEIRO, J.F.; SILVA,C.S.; BATMANIAN, G.J. **Fitossociologia de tipos fisionômicos do cerrado em Planaltina-DF**. *Revista Brasileira de Botânica*, São Paulo, v.8, n.2, p.131-142, 1986.
- RIZZINI, C.T. **A flora do cerrado**. In: SIMPÓSIO SOBRE O CERRADO, Anais: S. Paulo: USP, 1963, p.125-177.
- RIZZINI, C.T. **Tratado de fitogeografia do Brasil**. Vol. 1. Aspectos ecológicos. São Paulo. Hucitec e Edusp. 1976.
- ROBISON, I.P. **Alcoenzimas na genética de populações de plantas**. In: **Eletroforese de isoenzimas e proteínas em plantas e microorganismos**. Alfenas, A.C. Viçosa: UFV, 1998. p.329-380.
- ROHLF, F.J. **Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System**. New York version 1.70, fev. 1992, 470p.

- SCHMIDT-HEBBEL, H. et alii.** Curso de Análise de Alimentos. Campinas: Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1970. 189p.
- SHAW, D.V. ; WENDEL, J.F.** Genetics of plant isozymes. In: *Isozymes in plant biology*. London: Soltis, D.E.; Soltis, P.E. (eds.) Chapman and Hall, 1989. p.46-72.
- SILVA, R.** Bandeamento fluorescente e marcador de RAPD em espécies próximas ao *Pinus* de Tecun Umán. Lavras: UFLA, 1996. 55p. (Tese de Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).
- SKROCH, P.W.; TIVANG, J.; NIENHUIS, J.** Analysis of genetic relationship using RAPD marker data. *Proceedings to IUFRO Internacional Conference. "Breeding tropical trees"* Section 202-08, Cali, Colombia, p.26-30, 1992.
- SNEATH, P.H.; SOKAL, R.R.** Numerical taxonomy the principles and paratice of numerical classification. San Francisco: W.H Feeman, 1973. 513p.
- STATISTIC, Statistic Analysis**, versão 1995.
- TINGEY, S. V.; RAFALSKI, J. A.; WILLIANS, J. G. K.** Genetic analysis with RAPD markers. in: *APPLICATIONS OF RAPD TECHNOLOGY TO PLANT BREEDING*, Minneapolis, 1992. *Proceedings...* Minneapolis: Crop Science Society of America, 1992. p. 3-8.
- TUBELIS, A.; NASCIMENTO, F. J. L.do.** *Meteorologia descritiva: fundamentos e aplicações brasileiras*. São Paulo: Nobel, 1986. 374p.
- VIANELLO, R.L.; ALVES, A.R.** *Meteorologia Básica e Aplicações*. Viçosa: Imprensa UFV, 1991. 449p.
- VITTA, F.A.** Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Caryocaraceae<sup>(1)</sup>. *Boletim de Botânica*, São Paulo, v.13, p.165-168, 1992.
- WELSH, J.; MCCLELLAND, M.** Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Research*, Oxford, v. 18, n. 24, p. 7213-7218, 1990.

**WILLIAMS, J. G. K.; KUBELIK, A. R.; LIVAK, K. J.; RAFALSKI, J. A.; TINGEY, S. V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*, Oxford, v. 18, n.22, p. 6531-6535, 1990.**

**ZOBEL, B.; TALBERT, J. *Applied forest tree improvement*. John Wiley & Sons, Inc. 1984.**