

# Diversidade genética de uma população natural de cambuizeiro e avaliação pós-colheita de seus frutos

L. R. Pinheiro<sup>1</sup>; C. S. Almeida<sup>2</sup>; A. V. C. da Silva<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia em Recursos Naturais, Universidade Federal de Sergipe – Embrapa Tabuleiros Costeiros, Cidade Universitária Prof. José Aloísio de Campos, 49100-000, São Cristóvão, Se.

<sup>2</sup>Departamento de Agronomia, Universidade Federal de Sergipe, Cidade Universitária Prof. José Aloísio de Campos 49100-000, São Cristóvão, Se

<sup>3</sup>Programa de Pós-Graduação Biotecnologia em Recursos Naturais, UFS, Pesquisadora Embrapa Tabuleiros Costeiros, Av. Beira Mar, 3250, 13 de julho, 49025-040, Aracaju, Se

lucaspinho@hotmail.com, kmilinhafsa@hotmail.com, anaveruska@cpatc.embrapa.br

(Recebido em 19 de agosto de 2010; aceito em 01 de junho de 2011)

---

O cambuizeiro é uma espécie frutífera nativa do Brasil, pertencente à família Myrtaceae, e que apresenta frutos do tipo bagas de coloração vermelha ou violácea escura quando maduras. O objetivo do presente trabalho foi realizar o estudo da diversidade genética de uma população natural de cambuizeiro localizada em Itaporanga d'Ajuda, SE e caracterizar seus frutos após a colheita. Utilizou-se marcadores RAPD para o estudo da diversidade, e para a avaliação pós-colheita dos frutos, utilizou-se os parâmetros de coloração, peso (g), diâmetro (cm), atividade de água, pH, conteúdo de vitamina C (mg. 100<sup>-1</sup>MF), ATT (% ácido cítrico) e sólidos solúveis (°Brix). O uso de 18 primers sugere que a população estudada apresenta alta diversidade genética (53,63 % de polimorfismo). Os marcadores RAPD mostraram-se eficientes para estudos de diversidade genética em cambuizeiro. Os frutos de cambuí podem ser considerados como boa fonte de vitamina C, destacando-se os de cor roxa, que também apresentaram maior teor de sólidos solúveis.

Palavras-chave: *Myrciaria tenella* O. Berg, marcadores moleculares, pós-colheita.

The cambuizeiro is a fruit species native to Brazil, belonging to the Myrtaceae the fruits like berries are red or dark purple when ripe. We performed molecular characterization by RAPD markers and evaluation post-harvest, using the parameters of color, weight (g), diameter (cm), water activity, pH, vitamin C (100-1MF MG. ), TTA (% citric acid) and soluble solids (° Brix), coming from a natural population of Cambuizeiro located in Itaporanga d'Ajuda, Sergipe. The fruits of Cambuí can be considered as a good source of vitamin C, highlighting the color purple, which also had higher soluble solids. RAPD markers were efficient for genetic diversity studies in cambuizeiro. The population investigated showed high genetic variability, and should be maintained and preserved.

Keywords: *Myrciaria O. tenella* Berg, molecular markers, post-harvest.

---

## 1. INTRODUÇÃO

O cambuizeiro (*Myrciaria tenella* O. Berg) é uma espécie frutífera nativa do Brasil. Pertencente à família Myrtaceae, e seus frutos são do tipo bagas globosas, glabras e brilhantes, de cor vermelha ou violácea escura quando maduras. Além da produção de frutos apresenta importância ao paisagismo e à produção de madeira [3].

Esta espécie apresenta riquezas ainda não conhecidas, podendo se constituir em fonte de alimentos e de compostos diversos para diferentes aplicações tecnológicas. Apesar de sua importância e potencial, poucas informações sobre o cambuizeiro foram elucidadas e publicadas. A caracterização molecular detecta diferenças na sequência de DNA e quantifica a diversidade, sua interpretação é realizada por meio de diferentes medidas de dissimilaridade, sendo visualizada por métodos de agrupamento. Vários marcadores moleculares estão disponíveis para este tipo de estudo, como os marcadores RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*), que apresentam herança dominante, utilizam *primers* de composição arbitrária com 10 nucleotídeos e amplificam regiões aleatórias no genoma [1]. Esses marcadores

têm vantagens por permitir a análise de marcas polimórficas de um número ilimitado de amostras sem a influência do ambiente, em um curto espaço de tempo, utilizando pouca quantidade de DNA, além de não necessitar de informações prévias da seqüência do DNA [1, 5].

Ressalta-se, neste contexto, a necessidade de sua caracterização molecular com o intuito de prover estratégias para a conservação, evitando-se, assim, a erosão genética de suas populações e, até mesmo, a sua extinção. Em âmbito distinto, deve-se caracterizar e avaliar seus frutos, em seus aspectos sensoriais, físico-químicos e nutricionais.

Com base no exposto, o objetivo da presente pesquisa consistiu no estudo da diversidade genética de uma população natural de cambuizeiro e na caracterização pós-colheita de seus frutos.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

A população natural de cambuizeiro investigada se localiza no município de Itaporanga d'Ajuda, Sergipe, Brasil (11° 07' de latitude Sul e 37° 10' de longitude Oeste).

O DNA foi extraído de folhas jovens de 20 genótipos desta população pelo procedimento semelhante ao de Nienhuis [6]. A concentração e qualidade de cada amostra de DNA foi estimada em géis de agarose com padrões de DNA do fago Lambda.

As reações de amplificação do DNA para obtenção dos marcadores RAPD foram realizadas em um volume total de 20 uL contendo 0,4 mM de *primer*; 0,2 mM de dNTPs; 1,0 unidade de *Taq* polymerase; 10 mM de Tris-HCl (pH 8,0); 1,5 mM de MgCl<sub>2</sub> e 50 mM de KCl. O programa utilizado na amplificação consistiu de uma desnaturação a 96°C por 5 minutos, seguidos de 35 ciclos constando de uma desnaturação a 94°C por 45 segundos, anelamento a 36°C por 45 segundos e extensão a 72°C por 45 segundos, seguidos de uma extensão final a 72°C por 10 minutos. Os dados obtidos pelos marcadores RAPD foram identificados por meio de bandas polimórficas, cuja presença foi representada por "1", e a ausência por "0", sendo organizados em uma matriz binária.

As estimativas da diferenciação genética foram obtidas pelo procedimento da análise de variância molecular (AMOVA) pelo software NTSYS pc 2.11 [7].

Para a caracterização dos frutos, realizou-se a colheita manual de frutos ainda presos a planta, classificando-os de acordo com a sua coloração – laranja, vermelha ou roxa (Figura 1).



Figura 1. Frutos de Cambuí classificados quanto à coloração (amarela, vermelha e roxa).

O experimento foi realizado no Laboratório de Tecnologia de Alimentos (LTA), pertencente à Universidade Federal de Sergipe (UFS). As avaliações ocorreram no dia da colheita e a cada três dias de armazenamento para as seguintes características:

**a) Peso total:** os frutos foram pesados utilizando uma balança digital GEHAKA, modelo B64400 de 0,1g de precisão.

**b) Diâmetro:** usando paquímetro digital, expresso em mm.

**c) Teor de Sólidos Solúveis (SS):** utilizou-se um refratômetro manual, modelo WYA ABBE, conforme normas da AOAC (1992), e os conteúdos expressos ° Brix.

**d) Acidez Total Titulável (ATT):** foi determinada por titulação, com solução de NaOH 0,1N e fenolftaleína a 1% como indicador, e os valores expressos em porcentagem de ácido cítrico.

**e) Vitamina C:** foi determinada através da técnica de titulação com DCPIP (Diclorofenolendofenol) e os valores expressos em mg de ácido ascórbico x 100<sup>-1 g</sup> de matéria fresca;

**f) pH da polpa:** a leitura foi realizada com um potenciômetro eletrônico, utilizando-se cinco gramas de polpa diluída em 50 mL de água destilada.

**g) Atividade de água (Aw):** foi obtida pela leitura através do determinador de umidade Aqualab (DECAGON) onde 2 g de frutos foram colocados diretamente nas células de análise do aparelho.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com três tratamentos representados pela coloração dos frutos (laranja, vermelha ou roxa), cada um com quatro repetições de 10 frutos. Os dados obtidos foram analisados estatisticamente utilizando o programa computacional ASSISTAT, versão 7.4 beta, onde foi aplicado o teste de Tukey ao nível de 5% de significância.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os 18 iniciadores de síntese utilizados amplificaram um total de 76 fragmentos de DNA sendo 52,63 % polimórficos (Tabela 1).

*Tabela 1. Relação dos iniciadores selecionados, com suas respectivas seqüências, número de fragmentos totais (NFT) e número de fragmentos polimórficos (NFP) gerados.*

<i>Iniciadores de síntese (primers)</i>	<i>Seqüência 5' – 3'</i>	<i>NFT</i>	<i>NFP</i>
X01	CTGGGCACGA	8	3
A10	GTGATCGCAG	7	5
A04	AATCGGGCTG	4	2
A08	GTGACGTAGG	5	5
A11	CAATCGCCGT	5	2
A16	AGCCAGCGAA	2	1
A13	CAGCACCCAC	2	1
A18	AGGTGACCGT	6	3
IDT18	GGAGGAGAGG	5	1
B18	CCACAGCAGT	5	3
A02	TGCCGAGCTG	4	1
A03	AGTCAGCCAC	2	0
A09	GGGTAACGCC	3	0
A12	TCGGCGATAG	2	1
A15	TTCCGAACCC	3	3
A20	GTTGCGATCC	5	3
X03	TGGCGCAGTG	5	3
W4	CAGAAGCGGA	3	3
<i>TOTAL DE BANDAS</i>			76
<i>TOTAL DE BANDAS POLIMÓRFICAS</i>			40

A figura 2 exemplifica o polimorfismo gerado pelo primer A20 (RAPD) na população natural de cambuizeiro. A primeira canaleta representa o marcador de peso molecular, sendo as canaletas de 2 a 21 representantes dos genótipos 1 a 20 de cambuizeiro, e a última canaleta o controle negativo.

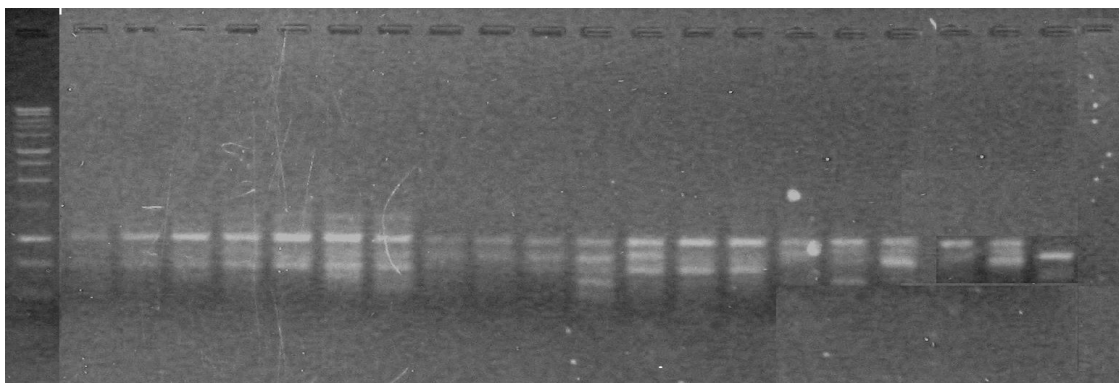


Figura 2. Gel de agarose contendo exemplos de polimorfismos detectados pelo primer A20 (RAPD)

Na Figura 3 é apresentado o dendrograma de dissimilaridade, referente à caracterização molecular de DNA. O genótipo C20 mostrou-se como o mais divergente em relação aos demais, sendo os pares de genótipos C1 e C3, C4 e C5, C13 e C14 bem próximos entre si.

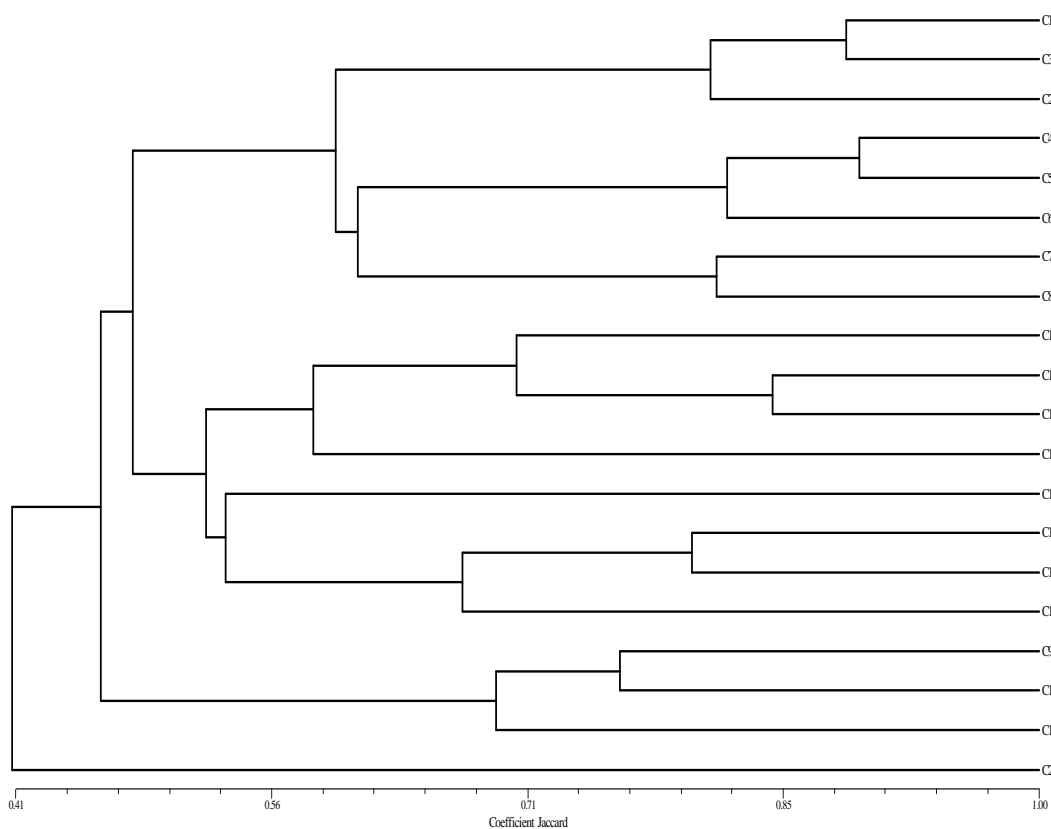


Figura 3. Dendrograma gerado pelo método UPGMA a partir das estimativas de dissimilaridade com base em 53 bandas polimórficas de RAPD geradas nos 20 genótipos de cambuizeiro.

Na Tabela 2 são apresentados os valores médios de todas as características avaliadas. Não houve diferença significativa para as características físicas entre os tipos de frutos. Entretanto, para os atributos físico-químicos, houve influência da coloração dos mesmos.

A massa fresca média foi de 0,6g, e diâmetro médio foi de 0,9 cm. Esses valores foram superiores aos encontrados [8] sendo o peso de 0,13 g e o diâmetro de 0,6 cm.

Os frutos alaranjados apresentaram maior atividade de água - Aw (0,97), e os roxos, se destacaram pelo maior teor de SS (16,31° Brix) e vitamina C (170.21 mg. 100<sup>-1</sup>MF). Os teores de SS variaram entre 10,75 a 16,31 ° Brix, superiores ao valor médio encontrado em jabuticaba

(9° Brix) – também uma mirtácea ães, 1991). Esse alto conteúdo de sólidos solúveis sugere que o fruto possui baixo potencial de conservação, pois de acordo com Barros et al. (1996), o excesso de açúcar no fruto pode estar associado a uma rápida deterioração e fermentação e, por consequência, redução na vida útil.

O teor de vitamina C é uma característica especialmente importante nos frutos destinados ao consumo *in natura*, e seus valores variaram de 106,38 (laranja) a 170,21 (roxo) mg de ácido ascórbico. 100g<sup>-1</sup> MF. A disponibilidade de frutos ricos em vitamina C é muito importante no tocante à prevenção e manifestação de doenças, tornando a mesma um dos componentes nutricionais mais importantes, utilizada como índice de qualidade. Observou-se que os valores encontrados para a acidez titulável das variedades de cambuí foram menores aos encontrados na avaliação do teor de acidez da polpa *in natura* de outras frutas nativas, como umbu [2,4]. Os valores médios do pH da polpa do cambuí foram de 3,28 (vermelhos); 3,32 (alaranjados) e 3,35 para os roxos. Esses valores foram semelhantes aos obtidos por Lima et al. (1995) avaliando frutos de pitanga, onde constataram um valor de 3,3.

Tabela 2: Características físicas e físico-químicas de frutos de cambuizeiro.

Características	Coloração dos frutos		
	Roxa	Vermelha	Laranja
Peso (g)	0.52 a	0.61 a	0.68 a
Diâmetro (cm)	0.92 a	0.97 a	0.10 a
Atividade de água	0.96 b	0.97 b	0.97 a
Ph	3.35 a	3.28 a	3.32 a
Vitamina C (mg. 100 <sup>-1</sup> MF)	170.21 a	111.70 b	106.38 b
ATT ( % ácido cítrico)	1.00 a	1.11 a	0.97 a
SS (°Brix)	16.31 a	10.75 b	12.62 b

\* Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

#### 4. CONCLUSÃO

A população natural de cambuizeiro investigada apresenta alta diversidade genética, devendo ser mantida e conservada.

Marcadores RAPD são eficientes para estudos de diversidade genética em cambuizeiro.

Os frutos de cambuí podem ser considerados como boa fonte de vitamina C, destacando-se os de cor roxa, que também apresentaram maior teor de sólidos solúveis.

1. FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. *Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética*. Brasília, DF: Embrapa/CENARGEN, 1998. 220 p.
2. FERREIRA, J.C., CAVALCANTI-MATA, M.E.R.M., BRAGA, M.E.D. Cinética de congelamento de polpa de umbu a duas temperaturas criogênicas In: *Congresso Latino americana y del Caribe de Ingeniería Agrícola*, 2000, Irapuato. Anais..., 2000.
3. LORENZI, H. *Árvores Brasileiras*. 3. ed. São Paulo: Plantarum, v.1, p.264, 2000.
4. MAGALHÃES, M.M. Desenvolvimento e carboidratos constituintes do fruto de jabuticaba (*Myrciaria jabuticaba* Berg, cv. Sabará). Universidade Federal de Viçosa, 1991. 77p. Dissertação de Mestrado em Ciências de Alimentos.
5. MILACH, S. C. K. Principais tipos de marcadores moleculares e suas características. In: \_\_\_\_\_. *Marcadores moleculares em plantas*. Porto Alegre: UFRGS, 1998. p. 17-28.
6. NIENHUIS, J.; TIVANG, J.; SKROCH, P.; SANTOS, J. B. Genetic relationships among cultivars and landraces of lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) as measured by RAPD markers. *Journal of the America Society for Horticultural Science*, Alexandria, v. 120, n. 2, p. 300-306, 1995.
7. ROHLF, F. 2004. *NTSYS-pc: numerical taxonomy and multivariate analysis system*, version 2.1 1T. New York, Exeter Software.
8. VRIESMANN, L.C. et al. Polissacarídeos de frutos de Cambuí (*Myrciaria tenella*, berg). UEPG: Ponta Grossa. p41-45. dez. 2004.