

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E
BIOLÓGICAS
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA PROGRAMA DE
PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS
CURSO DE MESTRADO**

**BIOMETRIA E PROTOCOLO DE EXTRAÇÃO DE
DNA EM *Myrciaria caerulescens* J.M.A.Braga,
M.T.C.Lacerda & Stadnik
(Myrtaceae): NOVA ESPÉCIE DE FRUTÍFERA
OCORRENTE EM UM TRANSECTO DA FERROVIA
DE INTEGRAÇÃO OESTE-LESTE**

Marluce Santana de Oliveira

**CRUZ DAS ALMAS-BAHIA
AGOSTO/2023**

**BIOMETRIA E PROTOCOLO DE EXTRAÇÃO DE DNA EM
Myrciaria caerulescens J.M.A.Braga, M.T.C.Lacerda &
Stadnik (Myrtaceae): NOVA ESPÉCIE DE FRUTÍFERA
OCORRENTE EM UM TRANSECTO DA FERROVIA DE
INTEGRAÇÃO OESTE-LESTE**

MARLUCE SANTANA DE OLIVEIRA

Tecnológico em Agroecologia
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2020.

Dissertação submetida ao Colegiado de Curso do Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e Embrapa Mandioca e Fruticultura, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Recursos Genéticos Vegetais.

Orientadora: Prof^a Dr^a Simone Alves Silva
Coorientador: Dr. Ricardo Franco Cunha Moreira
Coorientadora: Dr^a Hellen Cristina da Paixão
Moura

CRUZ DAS ALMAS-BAHIA
AGOSTO/2023

FICHA CATALOGRÁFICA

O48b

Oliveira, Marluce Santana de.

Biometria e protocolo de extração de dna em *Myrciaria caerulescens* J. M. A. Braga, M. T. C. Lacerda & Amp; Stadnik (Myrtaceae): nova espécie de frutífera ocorrente em um transecto da Ferrovia de Integração Oeste-Leste / Marluce Santana de Oliveira_ Cruz das Almas, BA, 2023.

70f.; il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais.

Orientadora: Profª Drª Simone Alves Silva.

Coorientador: Dr. Ricardo Franco Cunha Moreira.

Coorientadora: Drª Hellen Cristina da Paixão Moura.

1. Myrtaceae – Variabilidade genética. 2. Myrtaceae – Plantas – Análise. I. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II. Título.

CDD: 573.4

Ficha elaborada pela Biblioteca Universitária de Cruz das Almas - UFRB. Responsável pela Elaboração Antonio Marcos Sarmiento das Chagas (Bibliotecário - CRB5/ 1615).

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA CENTRO DE CIÊNCIAS
AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA PROGRAMA DE PÓS-
GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS
VEGETAIS CURSO DE MESTRADO

BIOMETRIA E PROTOCOLO DE EXTRAÇÃO DE
DNA EM *Myrciaria caerulescens* J.M.A.Braga,
M.T.C.Lacerda & Stadnik (Myrtaceae): NOVA ESPÉCIE DE
FRUTÍFERA
OCORRENTE EM UM TRANSECTO DA FERROVIA DE
INTEGRAÇÃO OESTE-LESTE

Cruz das Almas, 30 de Agosto de 2023.

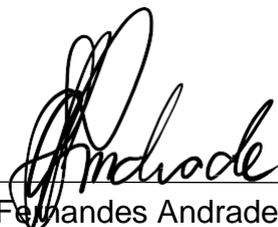
Comissão Examinadora da Defesa de Dissertação de
Marluce Santana de Oliveira

Documento assinado digitalmente
 SIMONE ALVES SILVA
Data: 21/11/2023 22:12:08-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^a. Dr^a. Dra. Simone Alves Silva Universidade Federal do
Recôncavo da Bahia, BA (Orientador (a))

Documento assinado digitalmente
 TAMARA ROCHA DOS SANTOS
Data: 14/09/2023 16:17:19-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dra. Tamara Rocha dos Santos Universidade Federal
de Goiás, GO(Examinador interno)



Dr. Leandro Fernandes Andrade Universidade Federal do Rio
de Janeiro, RJ(Examinador externo)

DEDICATÓRIA

A Deus agradeço todos os dias por ser benção na minha vida e por nunca me deixar sem o seu amor. As minhas razões de viver, paiinho e mainha amo vocês, os meus irmãos Maricelma, Adailton e João Nilton obrigada por existirem. A Ernandes meu noivo, pelo afeto e paciência.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus pela dádiva da vida, por ser o meu porto seguro. Aquele que guia meus caminhos, me levantando a cada dia, quando eu penso em desistir Ele restaura as minhas forças e a minha fé todos os dias e me faz lembrar que a vida é feita de fases. Obrigada Pai por nunca desistir da tua filha.

Aos meus pais Zenilda Maria e Manoel Frutuoso por ser meu porto seguro durante a minha caminha e por toda a minha vida. Se eu tivesse que fazer um único pedido a Deus, eu pediria para que vocês tivessem VIDA ETERNA.

Aos meus irmãos Maricelma Santana, Adailton Márcio e João Nilton por estarem presentes na minha vida, mesmo com toda essa distância, cada um vivendo em cidades diferentes, estado diferente o meu amor por vocês sempre será o mesmo.

Ao meu companheiro Ernandes Oliveira por todo carinho, paciência e afeto durante esses anos.

A Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB) que me recebeu durante esse período da graduação, e me proporcionou uma grande oportunidade para o meu aprendizado é essencial para o crescimento da minha vida acadêmica e profissional.

A agência de fomento da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsas mestrado, ao Programa de Pós-graduação em Recursos Genéticos Vegetais e ao Núcleo de melhoramento Genético e Biotecnologia (NBIO) pelo grande apoio durante a minha formação científica e acadêmica.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo recurso disponibilizado durante minha pesquisa.

Ao Projeto da Ferrovia de Integração Oeste Leste (FIOL) pelo financiamento durante a minha pesquisa em campo, materiais laboratoriais, entre outras despesas.

A minha orientadora Dr^a Simone Alves Silva, gratidão pela orientação, pelo tempo de dedicação e por acreditar no meu potencial.

Aos meus co-orientadores Dr^a Hellen Cristina da Paixão Moura, Dr. Ricardo Franco pelosuporte durante o meu processo acadêmico.

Ao Dr. Diego Marmolejo pela contribuição na análise estatística.

A amiga e irmã Lorena da Paixão, o destino me presenteou ao colocá-la em minha vida, obrigada por tudo e por tanto.

Aos meus amigos e colegas que estiveram presentes durante a minha pós-graduação, nos momentos alegres e tristes, onde tive a honra de rirmos juntas (os) a vocês: Josué Pinheiro, Ilneide, Denise, Bruna, Roseane, Francielle, João e Magda Verônica, sou muitíssima grata.

O Calmito e o Dr. Everton Hilo por todo suporte em campo.

Aos técnicos do Núcleo de Melhoramento Genético e Biotecnologia (NBIO) que não poderia faltar, obrigada por me auxiliarem e me ajudarem no decorrer da minha pesquisa, a vocês Dr.Ciro e Rosenir.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais. Foi um prazer adquirir conhecimento ao lado de vocês.

**A todos a minha eterna gratidão, Deus
abençoe!**

EPÍGRAFE

“O maior inimigo do conhecimento não é a ignorância, é a ilusão do conhecimento”.

Stephen Hawking

Sumário

1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1. Fruteiras nativas não tradicionais	13
2.2 Ferrovias de integração oeste-leste da Bahia (FIOL)	15
2.3 Espécies encontradas ao entorno da ferrovia Leste-Oeste da Bahia	17
3.0 Gênero <i>Myrciaria</i> (<i>Myrtaceae</i>)	19
4.0 Caracterização morfológica em plantas	21
5.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA	24
CAPÍTULO 1	31
1. INTRODUÇÃO	34
2. MATERIAL E MÉTODOS	36
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
4. CONCLUSÕES	44
5. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	46
CAPÍTULO 2	48
1. INTRODUÇÃO	52
2. MATERIAIS E MÉTODOS	53
2.1 Otimização da extração do DNA:	57
2.2 Eletroforese:	60
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	60
3.1 AVALIAÇÃO MOLECULAR	60
4. CONCLUSÃO GERAL	65
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65

BIOMETRIA E PROTOCOLO DE EXTRAÇÃO DE DNA EM *Myrciaria caerulescens* J.M.A.Braga, M.T.C.Lacerda & Stadnik (Myrtaceae): NOVA ESPÉCIE DE FRUTÍFERA OCORRENTE EM UM TRANSECTO DA FERROVIA DE INTEGRAÇÃO OESTE- LESTE

Autora: Marluce Santana de Oliveira

Orientadora: Dr^a Simone Alves Silva

RESUMO: O Brasil é um país riquíssimo pela vasta variabilidade de espécies de valor econômico e pela diversidade em recursos biológicos. Sua vasta diversidade de espécies frutíferas endêmicas de ocorrência espontânea em grande parte do Brasil destaca-se a família Myrtaceae como uma das maiores riquezas das famílias de angiospermas e a terceira com maior taxa de endemismo. As myrtaceae são representadas por 29 gêneros e aproximadamente 1.193 espécies, das quais 784 são endêmicas, distribuídas em todos os biomas brasileiros. Desta forma, o objetivo do trabalho foi estimar a variabilidade genética mediante avaliações biométricas de indivíduos e definir um protocolo de extração de DNA de *Myrciaria caerulescens* ocorrente em um transecto da ferrovia de integração Oeste Leste. A coleta dos materiais foi realizada em dois locais na Bahia, nas cidades de Caetité e Lagoa Real, municípios por onde passará a linha da ferrovia de integração oeste-leste. Foram avaliados 20 indivíduos por localidade, totalizando em 40 unidades amostrais. Cada indivíduo foi identificado e georreferenciado com o auxílio de um GPS. As variáveis analisadas foram: altura da planta (cm), diâmetro da copa (cm) e número de ramos. Ao comparar as duas localidades nota-se uma ampla variabilidade genética entre as populações de Lagoa Real (LR) para todas as variáveis quando comparadas a Caetité (CA). Os indivíduos de Lagoa Real são mais altos, com maior diâmetro e maior número de ramos. As análises sugerem que os indivíduos coletados em CA e em LR pertencem a duas populações diferentes. Para o protocolo de extração de DNA foram coletadas folhas jovens de 40 indivíduos em três formas: sílica no papel alumínio, sílica no tubo de ensaio e no gelo. Foram testados três protocolos de extração: Lodhi (1994), Doyle & Doyle (1987) com modificações e Murry e Thompson (1980). A utilização de sílica durante a coleta das folhas para extração de DNA melhorou a preservação dos tecidos com melhoras na qualidade e quantidade de DNA extraído. A partir dos três protocolos testados, foi possível determinar que Lodhi (1994) é o melhor protocolo para a extração de DNA de folhas de *M. Caerulescens*. O DNA extraído foi armazenado em ultrafreezer para validação de marcadores de DNA com o intuito de estudar a diversidade genética da espécie nos locais de ocorrência.

Palavras chave: Espécie endêmica, quantificação de DNA, populações.

BIOMETRY AND DNA EXTRACTION PROTOCOL IN *Myrciaria caerulescens* J.M.A.Braga, M.T.C.Lacerda & Stadnik (Myrtaceae): NEW SPECIES OF FRUIT OCCURRING ON A TRANSECT OF THE WEST-EAST INTEGRATION RAILWAY

Autora: Marluce Santana de Oliveira

Orientadora: Dr^a Simone Alves Silva

ABSTRACT: Brazil is a very rich country due to the vast variability of species of economic value and diversity in biological resources. Its vast diversity of endemic fruit species that occur spontaneously in much of Brazil highlights the Myrtaceae family as one of the greatest wealth of angiosperm families and the third with the highest rate of endemism. The myrtaceae are represented by 29 genera and approximately 1,193 species, of which 784 are endemic, distributed in all Brazilian biomes. Thus, the objective of the work was to estimate genetic variability through biometric assessments of individuals and to define a protocol for extracting DNA from *Myrciaria caerulescens* occurring on a transect of the West East integration railway. The materials were collected in two different locations in Bahia, in the cities of Caetité and Lagoa Real, municipalities through which the west-east integration railway line will pass. 20 individuals were evaluated per location, totaling 40 sampling units. Each individual was identified and georeferenced with the aid of a GPS. The variables analyzed were: plant height (cm), crown diameter (cm) and number of branches. When comparing the two locations, there is a wide genetic variability between the populations of Lagoa Real (LR) for all variables when compared to Caetité (CA). The individuals from Lagoa Real are taller, with a larger diameter and greater number of branches. Analyzes suggest that individuals collected in CA and LR belong to two different populations. For the DNA extraction protocol, young leaves were collected from 40 individuals in three ways: silica in aluminum foil, silica in a test tube and on ice. Three extraction protocols were tested: Lodhi (1994), Doyle & Doyle (1987) with modifications and Murry and Thompson (1980). The use of silica during leaf collection for DNA extraction improved tissue preservation with improvements in the quality and quantity of extracted DNA. From the three protocols tested, it was possible to determine that Lodhi (1994) is the best protocol for DNA extraction from *M. Caerulescens* leaves. The extracted DNA was stored in an ultrafreezer to validate DNA markers in order to study the genetic diversity of the species in the places of occurrence.

Keywords: Populations, endemic species, DNA quantification.

1. INTRODUÇÃO

A fruticultura vem se destacando em maior proporção na economia do agronegócio brasileiro, sendo o Brasil um dos países com maior potencialidade. Uma série de fatores está relacionada com o clima favorável e espaço para o cultivo das frutíferas nos climas subtropical, tropical e temperado. A área ocupada por frutas no Brasil colocou o país no ranking como o terceiro maior produtor mundial, atrás da China e da Índia. A área de produção no ano de 2018 alcançou o valor de 40 milhões de toneladas de frutas frescas (Anuário Brasileiro de Horticultura, 2020).

O Brasil é um país riquíssimo pela vasta variabilidade de espécie de valor econômico e pela diversidade em recursos biológicos (COSTA *et al.*, 2009). As fruteiras estão entre os recursos genéticos que possuem importância econômica, social e ambiental para agricultura familiar, sendo responsável pela geração de renda. Além do mais, as frutíferas podem se tornar uma grande oportunidade de ganharem espaço no mercado competitivo, gerando empregos e promovendo, portanto, o desenvolvimento regional (SUCUPIRA *et al.*, 2012, FONSECA, 2022).

De acordo com Lorenzi *et al.* (2015), as espécies frutíferas nativas do Brasil ainda não são comercializadas e consumidas em grande escala, por serem frutas de pouco consumo ou até mesmo não conhecidas pela sua restrita presença em mercados. Entretanto, a agregação de valor destas frutíferas aliada à capacidade de geração de renda aos agricultores podem ser importantes catalisadores para a disseminação da produção, distribuição e consumo das frutas nativas (OZELAME, 2019).

Em sua megadiversidade, as espécies frutíferas endêmicas e de ocorrência espontânea em grande parte do Brasil, a família da Myrtaceae, possui ampla ocorrência de espécies comestíveis e produtoras de frutas, dentre elas estão as *Plinia peruviana* (Poir) Govaerts (*sinonímia Plinia trunciflora* (O. Berg) Kausel.) e *Plinia cauliflora* (Mart. Kausel (SOBRAL *et al.*, 2015) e pelo uso medicinal, as folhas e frutos possuem alto teor de compostos bioativos benéficos à saúde humana, indicados para prevenção de doenças (UEDA, 2020). A exploração das frutíferas nativas é feita em geral, de forma extrativista, com pouca transposição para o mercado nacional e internacional (VIEIRA *et al.*, 2018).

No Brasil, a família Myrtaceae vem se destacando como uma das maiores riquezas das famílias de angiospermas e a terceira com maior taxa de endemismo (FORZZA *et al.*, 2012). A sua representatividade é composta por 29 gêneros e aproximadamente 1.193 espécies, das quais 784 são endêmicas, distribuída em todos os biomas brasileiros com maior representatividade na Floresta Atlântica, Cerrado e Caatinga (THE BRAZIL FLORA GROUP – BFG, 2015). Essa família possui maior representação na sua maioria (MARCHIORI, 1997). Essa família possui maior representatividade dentre as angiospermas e se desenvolvem nas regiões presentes nas zonas tropicais e subtropicais de todos os continentes. Tais plantas são representadas por árvores e arbustos que têm a presença de folhas simples de coloração verde, troncos de casca lisa, com renovação (JOLY, 2002).

O gênero Myrciaria pode ser caracterizado pelas inflorescências axilares, glomeruli formes, com brácteas e bractéolas geralmente persistentes. Na sua estrutura floral são compostas de com 4 partes, hipanto prolongado acima do ovário, com lobos do cálice decíduos após a antese e formando uma cicatriz circular típica dos frutos, ovário bicocular com 2 óvulos por lóculo. Quanto aos frutos são classificados como globosos, sementes 1 - 2 com embrião do com cotilédones espessos e hipocótilo curto (LANDRUM & KAWASAKI 1997; KAWASAKI, 2011; SOBRAL *et al.*, 2012). O gênero compreende algumas espécies amplamente cultivadas no Brasil como o jambo (*Syzygium jambo*), Jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) Goiaba (*Psidium guajava*),_dentre outras, principalmente devido aos seus frutos carnudos comestíveis (BRAGA *et al.*, 2023; PIERI, 2012).

Os parâmetros avaliativos dos caracteres biométricos em plantas permitem o conhecimento da qualificação e diferenciação fisiológica e morfológica de diferentes espécies vegetais (VIEIRA; GUSMÃO, 2008). Constituem um importante instrumento para detectar a variabilidade genética dentro de populações de uma mesma espécie e as relações entre essa variabilidade e os fatores ambientais (GUSMÃO; VIEIRA; FONSECA JÚNIOR, 2000). As avaliações fornecem informações que auxiliam na conservação e exploração dos recursos genéticos de valor econômico (COSTA *et al.*, 2012).

A conservação vegetal envolve a caracterização morfológica, citogenética e molecular entre outros. Nos estudos moleculares o ponto de partida quando se trata de uma espécie nova, como é o caso de *M.caerulescens*, é um protocolo para extrair o DNA e estudar a diversidade genética. A padronização de técnicas de extração é

importante, pois muitas vezes os procedimentos padrão não se aplicam adequadamente a todas as espécies e um protocolo direcionado para determinado grupo pode facilitar e acelerar as pesquisas e estudos. Para trabalhos de diversidade genética, além de um protocolo de extração de DNA, é exigido um grande número de indivíduos, necessitando de métodos confiáveis de armazenamento do material vegetal. Sempre que possível, é indicado o uso de material fresco. Entretanto, em trabalhos com populações nativas, as amostras podem estar distantes dos centros de pesquisa, levando, por vezes, tempo considerável de transporte (DIAZ *et al.*, 2011). Portanto, é essencial formas de coletas que possam manter a integridade do material vegetal para ser utilizado no processo de extração de DNA, evitando a degradação do material genético.

Os trabalhos com as frutas tropicais justificam-se pela preservação da espécie para usos atuais e futuros, com a preservação ecológica, gerando emprego e renda para produção de polpa (MENEZES *et al.*, 2017), além do uso da espécie como fonte de variabilidade para programas de melhoramento genético. Desta forma, o objetivo do trabalho foi estimar a variabilidade genética mediante avaliações biométricas de indivíduos e definir um protocolo de extração de DNA de *Myrciaria caerulescens* ocorrente em um transecto da ferrovia de integração Oeste Leste.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Fruteiras nativas não tradicionais

O alimento é de extrema importância para a sobrevivência humana devido às suas diversas fontes nutritivas. Os vegetais são diversos em fontes de vitaminas, tanto em açúcares, sais minerais e fibras, essenciais para a manutenção da saúde do organismo. Portanto, o consumo de frutas é um dos recursos de grande relevância para a melhoria da saúde da população mundial (AMOROSO *et al.*, 2019).

Neste caso incluem-se as frutíferas nativas não tradicionais, como os recursos alimentares não convencionais que, quando presentes na alimentação, contribuem na segurança alimentar das famílias e garante a soberania alimentar e nutricional (FILHO, 2015). Entre a gama de diversidades em frutíferas nativas e

exóticas existentes no Brasil, destaca-se as que fazem parte da família Myrtaceae (MEIRA *et al.*, 2017). Essa família possui uma grande importância ecológica devido às suas características para polinizadores e por ter ampla ocorrência de espécies comestíveis e de frutas que são comumente utilizadas na medicina tradicional (PLAZA *et al.*, 2007) por atuar como anti-inflamatórias e antioxidantes (SOUZA, 2013).

O Brasil é um país de grande extensão de espécies nativas e diversidade vegetal do mundo com aproximadamente 55.000 espécies catalogadas (SANTOS, 2020). Na agricultura o uso desse material genético possui um grande potencial, tanto para o melhoramento dessas espécies frutíferas quanto para a domesticação (SANTOS, 2020). Entretanto, muitas espécies frutíferas de grande potencial econômico são pouco estudadas, como as nativas e muitas dessas espécies são poucas consumidas ou não consumidas por desconhecimento do potencial nutracêutico ou estão em extinção devido a erosão genética pela falta de estudos de conservação. (ARAÚJO *et al.*, 2009; SILVA *et al.*, 2016; PADILHA *et al.*, 2017).

A produção das espécies frutíferas nativas do Brasil, segundo Lorenzi *et al.* (2015), ainda ocorre uma restrição nos mercados e a produção é realizada em pequena escala. Contudo, a agregação de valor destas frutíferas aliada à capacidade de geração de renda aos agricultores pode ser importante para o consumo e distribuição da produção.

As fruteiras não tradicionais são consumidas in natura como também processadoras nas indústrias de alimentos, devido ao seu grande potencial nutricional, bem como na produção de cosméticos e fármacos. Além disso, para as populações locais podem usá-las como fonte de renda, tornando uma grande oportunidade para produtores locais ganharem espaço no mercado competitivo de frutas, por meio da oferta de produtos com propriedades biologicamente funcionais (SUCUPIRA *et al.*, 2012).

A procura por alimentos com propriedades funcionais, tem de certa forma contribuído para o aumento da fruticultura brasileira e na produção de fruteiras nativas tradicionais não conhecidas e/ou pouco conhecidas, dentre as frutíferas estão: araçá-boi (*Eugenia stipitata* McVaugh), araçá-pera (*Psidium acutangulum* DC.), murici (*Byrsonima verbascifolia* (L.) Rich), Maçaranduba (*Manilkara salzmannii* (A. DC.) H. J. Lam.) e trapiá (*Crateva tapia* L.).

Outra espécie nativa que vem se destacando por populações locais é a jabuticabeira, seu consumo se dá tanto in natura, seja em preparações doces ou salgadas, quanto no ramo industrial na preparação de cosméticos sob a forma de insumo, o que possibilita o aumento de sua importância econômica, seja em âmbito nacional, seja como produto de exportação (DONADIO, 2000; SALES; 2002). Apesar disso, mesmo com seu elevado potencial de comercialização de aproveitamento, a alta perecibilidade desse alimento prejudica seu preço, já que, uma vez colhida, a jabuticaba dura até três dias (SATO; CUNHA, 2007).

De acordo com OLIVEIRA *et al.*, (2021) se as pessoas tivessem consciência da relevância das espécies nativas, e compreendessem as dificuldades presentes para a introdução das mesmas no mercado, e se demonstram interesse em consumir as frutas nativas, caso fossem encontradas com mais frequência e quantidade a procura em mercados seriam maiores.

2.2 Ferrovia de integração oeste-leste da Bahia (FIOL)

A ferrovia de Integração Oeste- Leste da Bahia (FIOL) é voltada para a exportação, e irá interligar os municípios de Figueirópolis (TO) e Ilhéus (BA), abrangendo as regiões Norte e Nordeste do Brasil. O empreendimento tem como objetivo transportar cargas de produtos que agregam grande valor econômico como: minério ferro, grãos e farelo de soja para escoamento no Porto Sul (em fase final de licenciamento), de onde serão exportados para o mercado internacional (JÚNIOR *et al.*, 2015).

A Ferrovia com extensão de 1527 km propõe percorrer os estados do Tocantins, de Goiás (apenas o extremo nordeste do município de Campos Belos) e da Bahia no porto de Ilhéus. Seu ponto de partida será uma intersecção em um futuro pátio da Ferrovia com distância equivalente de 7,2 km do Norte-Sul, a cidade de Figueirópolis-To (OIKOS, 2009).

O sistema de transporte é essencial para a utilização de diferentes tipos, sejam eles: ferroviário, marítimo, rodoviário, aéreo e etc. Esse sistema implica com as formas e necessidades de reduzir os custos logísticos (KIRCH, 2021). Ainda, de acordo com Martins; Caixeta Filho (1998), o sucesso do desenvolvimento e a estratégia do crescimento da nação são determinados, em parte, com base na escolha e necessidade entre os diferentes sistemas alternativos de transporte.

De acordo com o Departamento Nacional de Infraestrutura de Transportes (DNIT) (2016), as demandas de cargas, são realizadas com base na coleta de dados existente sobre a área de influência do projeto; a área do projeto ocorrerá levantamento no que se refere ao potencial de produção, além de dados sobre quais as possíveis cargas serão transportadas através da ferrovia; pesquisa de origem e destino; coletas de estimativas disponíveis da demanda atual e potencial e projeções.

A FIOOL proporcionará ao mercado interno grande desenvolvimento, mas também ao mercado externo, com a realização das trocas dos produtos da região. (OIKOS, 2009). O transporte ferroviário causará impacto diretamente na economia da região e na comunidade, transportando a produção de minério de ferro produzido no sul da Bahia (Caetité e Tanhaçu) e de grãos do oeste baiano. Entretanto, faz-se necessário que estudos para que seja identificado o mínimo das variáveis que carregam os riscos, principalmente devido às incertezas que se tem quanto ao futuro e o impacto dessa variação na rentabilidade do projeto, ainda durante o processo da tomada de decisão (KIRCH, 2021).

Segundo Oikos (2009), ressalta que com a construção da ferrovia, ocorrerão impactos positivos para as pessoas das comunidades, como o aumento na geração de empregos, em que ocorrerá o recrutamento de mão de obra local não especializada. O autor enfatiza também que ocorrerão pontos negativos como a construção de barreiras, causando modificação na biodiversidade da vegetação existente, no comportamento e na reprodução dos animais. Outra possível questão é a alteração das condições de vida das comunidades, as quais a ferrovia vai passar, logo que a mesma atravessa áreas rurais e áreas afastadas de cidades e vilas.

A implantação de uma ferrovia contribui para diversos impactos ambientais, tais como: desmatamento da vegetação, alterações de comportamento dos animais silvestres, mudanças no uso do solo, risco de perda de patrimônio arqueológico e de interferência com cavernas (VICENTINI, 2006). Um dos impactos mais recorrentes na implantação de uma ferrovia implica a modificação da cobertura do solo. Ao se retirar a cobertura vegetal de um solo, ele irá perder sua consistência, ou seja, a água, que antes era absorvida pelas raízes das árvores e plantas, passa a infiltrar em menor quantidade devido à falta de cobertura vegetal, podendo gerar instabilidade do solo e/ou erosão causada pelo aumento da parcela de escoamento superficial (ALMEIDA *et al.*, 2019).

Contudo os possíveis impactos ambientais, segundo a empresa, serão

justificados pelos inúmeros benefícios com a instalação da ferrovia. De modo geral, serão muitos impactos, entre eles podem-se destacar o desmatamento de áreas que estão na trajetória de construção, na qual as espécies nativas serão extraídas, os terrenos serão cortados, os rios e lagos serão aterrados ou desviados de seu curso natural (OLIVEIRA, 2017) prejudicando a biodiversidade local, medidas mitigadoras serão realizadas a fim de reverter os impactos causados e recuperação da área (SANTOS *et al.*, 2017).

A vida da comunidade também é um ponto de vista muito crítico no que se refere ao bem estar, as famílias estão tendo bastantes transtornos com a construção da ferrovia. Segundo MAMNACIONAL (2021) o dano mais visível consiste nas moradias danificadas pela chuva de pedras das explorações comuns no processo de extração de minério. As obras da FIOOL trazem prejuízos ao desenvolvimento agrícola e à saúde das pessoas que se sentem reféns desse empreendimento.

Moradores reclamam muito de eventos que ocorrem na comunidade que convivem a partir da chegada de uma mineradora como a Bahia Mineração Ltda (BAMIN), no momento das detonações o barulho é intenso, causando estresse e sofrimento mental, tanto para a comunidade ao redor quanto para os animais, além da circulação dos maquinários. Diante disso, com o uso dos detonadores nas minas vêm os resultados negativos como o excesso de pó que é espalhado pelo vento para dentro das residências, telhados furados, estruturas rachadas, além da cobertura dos vegetais com o pó das rochas (MAMNACIONAL, 2021).

Para MAMNACIONAL (2021), no Brasil o modelo de mineração tem causado danos para as comunidades locais na qual se refere a qualidade de vida em todas as fases da mineração, são atividades que aumentam os conflitos socioambientais notadamente no que se refere à especulação fundiária, os impactos sobre o patrimônio material e imaterial, à imigração com seus consequentes efeitos sobre os serviços públicos de saúde, educação, segurança, habitação e o inadequado uso dos recursos hídricos.

2.3 Espécies encontradas ao entorno da ferrovia Leste-Oeste da Bahia

As árvores estão presentes em todos os lugares e atuam na proteção das

margens das nascentes, rios e córregos, auxiliando no assoreamento e catástrofes ambientais e nas matas, entre essas espécies estão presentes: Jatobá, Amescla, Pombeiro, Amescla-aroeira, Cega-machado, Santa-rita Canjerana-preta. As mesmas atuam em diferentes ecossistemas e se adaptam a diferentes climas e possuem importância devido o seu valor econômico como, por exemplo, as que se encontram matas secas, usadas na produção madeireira, como Aroeira, Braúna e Cerejeira, que são espécies ameaçadas de extinção de acordo com dados obtidos através do Ministério do Meio Ambiente, além dos Ipês, Perobas e Angicos. Na Bahia, ocorre também na parte central da região de influência da vegetação Caatinga (RIMA *et al.*, 2009).

Algumas espécies possuem característica predominante durante o período da seca, como a perda total das folhagens, além da presença de muitas espécies espinhentas, como cactos e bromélias. Características essas que é um meio para evitar perda de água. Entretanto, existem as que mais se sobressaem em algumas regiões, as Amburanas- de- espinho, Peroba-rosa, Jurema Branca e preta, Pinhão-bravo, Cansação, Imbiruçu, Aroeira, Braúna, Umbuzeiro, Juazeiro, Cerejeira, Barriguda-lisa e Barriguda-de-espinho. Apesar do domínio da Caatinga nesta região, próximo à cidade de Brejinho das Ametistas e Caetité, ocorre a predominância do cerrado e dos campos rupestres. Essas vegetações caracterizam-se por serem compostas de árvores de pequeno porte, geralmente em forma de arbustos, desenvolvem-se sobre as rochas (RIMA *et al.*, 2009).

Na Bahia, ocorre a predominância de vegetações distintas, como por exemplo, a presença de restinga das florestas da Mata Atlântica devido ao clima úmido gerado pelo Oceano Atlântico, como também a Caatinga e o Cerrado. No decorrer do tempo, modificações florestais ocorreram com a influência da ação do homem na região, como os desmatamentos da vegetação predominante, substituindo para a implantação do sistema agroflorestal de produção de cacau (cabucas). Essa substituição é realizada para que a árvore de cacau se desenvolva embaixo da sombra das árvores que ali permanecem. As áreas da Mata Atlântica compostas pelas espécies como o Vinhático, Pombeiro, Matatuba ou Mandiocão, Favoco, Louro, Pati, Pau- sangue, Cajueiro-bravo, incluindo também as de Jacarandá-da- Bahia, Louro-precioso, Cedro, Maçaranduba, Cabreúna, Carvoeiro, Ipê-roxo e outras que são espécies ameaçadas de extinção que pertencem a locais com bom estado de conservação nos topos de morro e áreas de relevo movimentado (RIMA *et al.*,

2009).

3.O Gênero *Myrciaria* (*Myrtaceae*)

No Brasil o gênero *myrciaria* é encontrado em diversos biomas, como na Caatinga, Floresta Atlântica, Amazônica, e Pantanal, sendo também encontrado domínio Cerrado (BORGES; CONCEIÇÃO; SILVEIRA, 2014; FAITANIN *et al.*, 2018). Desenvolve em solos com boa disponibilidade de água, seu período de floração ocorre dois meses ao ano, entre agosto a setembro e de janeiro a fevereiro (ANDRADE, 2022).

As *myrtaceae* são representadas com cerca de 150 gêneros e aproximadamente 6000 espécies (WCSP, 2018), a sexta família com mais diversidade na Floresta Atlântica, com um total de 636 táxons, sendo *Eugenia* (241 espécies) e *Myrcia* (132 espécies) os gêneros de maior riqueza, das quais respectivamente, 202 e 101 são endêmicas (STEHMANN *et al.* 2009), na sua maioria é composta por vegetais não frutíferos, característica comum entre os gêneros e espécies (MENEZES *et al.*, 2021).

O gênero está distribuído em diversas regiões do país, América do Sul, Argentina, Paraguai, Venezuela e Bolívia, na América Central como Belize, Guatemala, El Salvador e Honduras e na América do Norte, como principais representantes restritas ao Sul do estado da Flórida nos Estados Unidos (FAITANIN *et al.*, 2018). No Brasil o gênero está sendo cultivado nos Estados do Rio de Janeiro, São Paulo, Minas Gerais, Goiás, Bahia e Espírito Santo (BORGES; CONCEIÇÃO; SILVEIRA, 2014).

Dentre as diversas espécies de *Myrciaria* nativas do Brasil, podemos citar em especial a *M. glazioviana* (Kiaersk.) G. M. Barroso ex Sobral, com sinônimo *Eugenia* cabeluda, *Myrciaria glomerata* e *Plinia glomerata*, que é conhecida popularmente por “cabeludinha”, sendo cultivada em pomares domésticos (PEREIRA *et al.*, 2020), a *Myrciaria strigipes* O. Berg. Popularmente conhecida por “cambucá da praia e cabeludinha da praia” (FAITANIN *et al.*, 2018), e *M. trunciflora* (Berg.) com sinônimo *P. peruviana* ou *P. trunciflora* conhecida por “jaboticaba” (SILVEIRA *et al.*, 2006; QUATRIN *et al.*, 2020). Outra espécie encontrada na região Nordeste, sobretudo na Chapada Diamantina, é uma nova espécie com recente classificação. Esforços recentes com o objetivo de identificar uma espécie frutífera cultivada de *Myrciaria*, introduzida em 2018 a partir de sementes coletadas por um colecionador no município

de Lagoa Real, localizado no estado da Bahia, resultaram na descoberta de uma nova espécie dentro do gênero *Myrciaria*. Essa espécie havia sido previamente catalogada em herbários como *Myrciaria. guaquiea* (Kiaersk.) Mattos & D.Legrand.

Outros autores enfatizam também as dificuldades existentes para a classificação da taxonômica do gênero *Myrciaria* (CITADIN, DANNER, SASSO, 2010; BORGES, CONCEIÇÃO, SILVEIRA, 2014), relatam a difícil classificação e reclassificação do gênero e toda a família Myrtaceae, devido à diversidade das espécies.

Algumas espécies do gênero *Myrciaria* foram descritas por Mattos, citado por Donadio (2000), as quais foram mencionadas com as seguintes características:

a) ***Myrciaria coronata* Mattos:** Ocorrência em São Paulo, a árvore possui pequeno porte com 3m de altura com ramos terminais achatados, folhas com pecíolos curtos, frutos globosos com aproximadamente 2,7 cm de diâmetro, identificada por consumidores como jabuticaba coroada, ou jabuticaba de coroa.

b) ***Myrciaria oblongata* Mattos:** árvore conhecida popularmente como jabuticaba azeda, de ocorrência no estado de São Paulo, altura de 5m; ramos terminais sub achatados; folhas de pecíolo curto, avermelhadas, muito glandulosas; frutos ovado-elípticos a elípticos auto purpúreos de 2 a 3,2 cm de comprimento por 2 a 2,7 cm de diâmetro; o número de sementes varia 1 a 4 sementes.

c) ***Myrciaria spirito-santensis* Mattos:** a ocorrência dessa espécie é principalmente no Espírito Santo, quanto ao porte alcança 4m de altura, ramos castanhos, com raminhos terminais e novos pilosos; quanto às folhas são opostas ou subopostas de pecíolos curtos.

d) ***Myrciaria grandifolia* Mattos:** porte de aproximadamente 5m de altura, os ramos são em cilíndricos, possuindo em sua extremidade com característica subachatada, acinzentados e ramos terminais seríceos. Folhas com pecíolos de 5 a 6 mm de comprimento; frutos com 2,2 cm de diâmetro, globosos, lisos, atropurpúreos. Conhecida como jabuticaba graúda, ou jaboticatuba, ocorre principalmente em Minas Gerais.

e) ***Myrciaria peruviana* (Poir) Var. *trunciflora* (Berg) Mattos**: a espécie possui cerca de 8m de altura; ramos cilíndricos, e raminhos novos achatados; folhas com colorações escuras com pecíolos de aproximadamente 3mm de comprimento; bagas globosas, com cerca de 2cm de diâmetro, negras; 1 a 4 sementes. Conhecida popularmente como jaboticaba de cabinho, ocorre nos Estados de MG e ES, no Brasil, e também no Paraguai e Argentina.

f) ***Myrciaria aureana* Mattos**: aproximadamente 3 m de altura; casca amarelada; ramo cilíndrico ocorre o processo de ritidoma, ou seja, desprendimento de casca sendo os ramos terminais e novos cinza-amarelados possuindo pilosidade seriácea; folhas opostas, com pecíolos de 3 mm de comprimento, cactáceas, possuem glândulas escuras, numerosas e pouco visíveis; frutos subgloboso-oblíquos, de 15 a 18mm de comprimento por 19 a 21 mm de diâmetro, verde-claros; 1 a 4 sementes lisas, amarelo-claras. Conhecida como branca, ocorre em São Paulo.

g) ***Myrciaria phitrantha* (Kiaersk) Mattos**: porte de aproximadamente 7m de altura; ramos cilíndricos; o comprimento das folhas com pecíolos é de aproximadamente 5 a 10mm de comprimento, possuindo pontuações semi-translúcidas; bagas com cerca de 2,4 cm de diâmetro, sub globosas. Conhecida como costada. Ocorre em São Paulo.

h) ***Myrciaria jaboticaba* (Vell) Berg**: A árvore possui estrutura de 6 a 9m de altura; ramos finos e formatos em cilíndricos, sendo os ramos terminais e novos, achatados; nas folhas o pecíolo apresenta dimensões de 1,5 a 2 mm de comprimento, ciliadas quando novas; frutos de 1,6 a 2,2 cm de diâmetro, subglobosos ou globosos, cor negros e lisos; 1 a 4 sementes, como o sabará, que ocorre no Brasil, Paraguai e Argentina.

i) ***Myrciaria cauliflora* (DC) Berg**: presença de ramos terminais glabros e achatados; folhas com pecíolos de 3 mm de comprimento, membranáceas; frutos globosos, de coloração negra, 2,2 a 2,8 cm de comprimento por 2,2 a 2,9 cm de diâmetro; 1 a 4 sementes. Conhecida popularmente como paulista, assu (ou açu), e ponhema. Ocorre no Brasil, de forma geral.

4.0 Caracterização morfológica e biométrica em plantas

A caracterização morfológica pode ser definida como a coleta de dados qualitativos e quantitativos de um vegetal com a capacidade de descrever os atributos que permitem diferenciar os acessos mantidos em um banco de germoplasma ou uma população. A caracterização morfológica é a coleta de dados relacionada ao fenótipo do indivíduo e faz uso de descritores morfológicos.

De acordo com Rodrigues *et al.*, (2010) as informações das caracterização morfológica apresenta algumas vantagens como a praticidade, eficiência no manejo dos dados, o baixo custo, podendo ainda quantificar a divergência genética entre os acessos.

As jabuticabeiras pertencem à família Myrtaceae e ao gênero Myrciaria é uma das famílias de maior importância no Brasil (LANDRUM, KAWASAKI, 1997). Considerada uma planta de origem subtropical com boa adaptação ao clima tropical (ANDERSEN, ANDERSEN, 1988; PHILLIPS, GOLDWEBER, 1978, DONADIO (2000)).

As espécies das Myrtaceae são classificadas quanto ao seu porte, sendo compostas por plantas lenhosas, arbustivas ou arbóreas, com folhas inteiras, de disposição alterna ou oposta e às vezes oposta cruzada, com estípulas muito pequenas (JOLY, 1966). Nesta família pode ser encontrados arbustos de pequeno porte com apenas 2 m de altura como, por exemplo, a *myrcia salzmanni*, até grandes portes como altura de 100m, geralmente algumas espécies de *Eucalyptus* nativas das florestas australianas (CRONQUIST, 1981).

Nas *Myrtaceae* suas flores são compostas de cor branca ou às vezes vermelha efêmera hermafrodita (JOLY, 1966), estames numerosos, corola e cálice 4-5-mero (tetrâmero/pentâmero), iguais ou desiguais entre si e ovário ínfero (BARROSO, 1991 e NIC LUGHADHA & PROENÇA, 1996). As flores mais comuns são as menores, embora o tamanho varie de pequeno 26 (< 1,5 cm de diâmetro), como em *Calypttranthes* e *Myrcia* a relativamente grande (> 2,0 cm), como em *Acca* e *Campomanesia* (GRESSLER *et al.*, 2006). Entretanto, para que ocorra o surgimento de suas belas flores é necessário que esteja em baixas temperaturas (DONADIO, 2000). Porém, consegue suportar temperaturas até -3 °C, porém, curto período de falta de água, e requerendo boa umidade do solo (DONADIO, 2000).

Para Maués & Couturier (2002), estudos envolvendo a biologia floral do gênero *Myrciaria* são raros. Entretanto, estudos relacionados os aspectos e a biologia floral, a polinização e fenologia reprodutiva do camucamu (*Myrciaria dubia*), foram

desenvolvidos, o camu camu é uma espécie frutífera nativa do Brasil, típica Amazônia, se desenvolve nas margens de rios e lagos, mas está sendo domesticada, com o intuito de ser cultivada em terra firme.

Poucas espécies desta família têm sido estudadas quanto ao sistema reprodutivo. Sendo assim, é importante conhecer os mecanismos reprodutivos das espécies de jabuticabeiras e como estes mecanismos se refletem na diferenciação genética entre as diferentes espécies. O sistema reprodutivo da planta é resultante de suas próprias características e interação com o meio que vive (DAFINI *et al.*, 2005).

O desenvolvimento das estruturas reprodutivas ocorre quando a planta está em período de repouso, a qualidade e quantidade consumidas e disponibilizadas durante o consumo das reservas tem influência direta na fertilidade das gemas florais, durante esse período ocorre à redução do crescimento vegetativo durante o período de floração (ROSA *et al.*, 2014).

5.0 Extração de DNA em plantas

A Biologia molecular têm se tornado relevante em diversas áreas devido ao seu potencial de uso na caracterização genética das espécies, para que a técnica molecular ocorra o primeiro passo é por meio da extração de DNA, a qualidade do material e o acondicionamento é fundamental para obter sucesso na extração, na análise é observado à qualidade e integridade do DNA é um ponto importante para ter sucesso nas próximas etapas. Outra etapa importante é o protocolo a ser usado, isso irá depender da espécie e do tecido vegetal a ser utilizado (COSTA, *et al.*, 2012). Os ajustes de protocolo são realizados para obter DNA de alta qualidade para as análises moleculares e baixo custo durante a extração (DANNER, *et al.*, 2011).

Com base no protocolo a ser utilizado a solução de extração variam de acordo com o protocolo, sendo que cada solução deve conter um tampão para atuar como estabilizador do pH, um sal para dissociar as proteínas, um detergente para solubilizar as membranas e um agente inativante das DNases cuja função é proteger o DNA genômico. Após a obtenção do material vegetal, torna-se necessário quantificar o DNA para verificar a quantidade e a ocorrência de degradação no mesmo, por meio da leitura em espectrofotômetro e a análise comparativa em gel de agarose corado com brometo de etídio, e assim ter confiabilidade nos resultados. (FRUEHWIRTH, 2015).

5. 0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, A. N. D; RODRIGUES, N. G. VIEIRA, L. C. G., & COUTO JUNIOR, A. F. Problemas nos estudos de impacto ambiental de rodovias e ferrovias. **Revista Brasileira de Gestão Ambiental e Sustentabilidade**, João Pessoa, v. 6, n. 12, p. 129-136, 2019.

AMOROSO, L.; RIZZO, V.; MURATORE, G. "Nutritional values of potato slices added with rosemary essential oil cooked in sous vide bags,". **International Journal of Gastronomy and Food Science**, v.15, p. 1–5. 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1878450X1830129X>. Acesso em: 09 jul. 2023.

ANDERSEN, O. & ANDERSEN, V.U. 1988. **As frutas silvestres brasileiras**. Globo, Rio de Janeiro. 203p.

ANDRADE, G. B., BARROSO, M.A.S., SILVA, N.C., SANTANA, R.C., SILVA, P.B **Uso de diferentes metodologias na secagem da jabuticaba e seus impactos nos compostos bioativos**. 2022.

ANUÁRIO BRASILEIRO DE HORTI&FRUTI. (2020). http://www.editoragazeta.com.br/sitewp/wpcontent/uploads/2020/05/HORTIFRUTI_2020.pdf.

ARAÚJO, R. R.; SANTOS, E. D.; LEMOS, E. E. P.; ALVES, R. E. Caracterização Biométrica de Frutos e Sementes de Genótipos de Murici (*Byrsonima verbascifolia* (L.) Rich.) do Tabuleiro Costeiro de Alagoas. **Revista Caatinga**, v.22, n. 3, p. 220-224, 2009.

BARROSO, G.M. 1991. **Sistemática de Angiospermas do Brasil** v. 2. Viçosa, Universidade Federal de Viçosa.

BFG - The Brazilian Flora Group (2018) Brazilian Flora 2020: innovation and collaboration for meet Target 1 of the Global Strategy for Plant Conservation (GSPC). **Rodriguésia** 69: 1513-1527.

BORGES, L .L., CONCEIÇÃO, E. C., SILVEIRA, D. Active compounds and medicinal properties of *Myrciaria* genus. **Food Chemistry**, v. 153, p. 224-233, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.12.064>.

BRAGA, J. M. A; FERNANDES, T; DE LACERDA, M. T.C; STADNIK, A. *Myrciaria caerulescens* (Myrtaceae), uma nova espécie frutífera da Serra do Espinhaço, Brasil, com notas históricas sobre *Myrciaria guaquiua*. **Boletim Kew**, p. 1-10, 2023.

BRASIL FLORA GRUPO - BFG. 2015. Growing knowledge: an overview of Seed Plant diversity in Brazil. **Rodriguésia**, v.66. n.4, p.1085-1113.

CITADIN, I; DANNER, M.A; SASSO, S.A.Z. Jaboticabeiras. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 1, 2010.

COSTA, A M; SPEHAR, C.R; SERENO, J.R. **Conservação de recursos genéticos no Brasil**. 2012.

COSTA, M. A. P. DE C.; SOUZA, F. V. D; LUNA, J. V. U. Conservação de fruteiras potenciais para o nordeste brasileiro. In: CARVALHO, Carlos Alfredo Lopes de et al (Org.). **Tópicos em Ciências Agrárias**. Cruz das Almas, BA: Nova Civilização, 2009. p. 3-13.

COSTA, M.R.T DA R.; BONFIM, K.; DO NASCIMENTO, S. V. **Biologia molecular aplicada aos recursos genéticos**. 2012.

DAFNI, A.; KEVAN, P.G. & HUSBAND, B.C. (Eds.). 2005. **Practical Pollination Ecology**. Cambridge: Cambridge University Press. 590p.

DANNER, M. A. SASSO, S. A. Z; BITTENCOURT, J. V. M.; CITADIN, I.; SACHET, M. R. Proposta de protocolo para extração de DNA de jaboticabeira. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 21, n. 2, p. 363-367, 2011.

DIAZ, V. S; MORENO, M.A; FERRAZ, E.M; LBAFIES, KESTRING, B; D.R; SEOANE, C.E. S; KAGEYAMA, P.Y. Extração de DNA genômico de amostras foliares de erva-mate armazenadas em sílica-gel, 2011.

DNIT. ESCOPO BÁSICO-01: ESTUDO DE VIABILIDADE TÉCNICA, ECONÔMICA E AMBIENTAL - EVTEA DE EMPREENDIMENTO FERROVIÁRIO. 2016. 110 P.

DONADIO, L. C. Jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell) Berg). Jaboticabal: **Funep**, 2000. 55p. (Série Frutas Nativas, 3).

FAITANIN, R.D., GOMES, J.V.D., RODRIGUES, P.M., MENEZES, L.F.T., NETO, Á.C., GONÇALVES, R.C.R., KITAGAWA, R.R., JAMAL, C.M. Chemical study and evaluation of antioxidant activity and α -glucosidase inhibition of *Myrciaria strigipes* O. Berg (Myrtaceae). **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v.8, n. 3, p. 120-125, 2018.<https://doi.org/10.7324/JAPS.2018.8317>.

FILHO, G. X. P. Agroecologia e recursos alimentares não convencionais: contribuições ao fortalecimento da soberania alimentar e nutricional. Campo-Território: **Revista de Geografia Agrária**, v. 10, n. 20 p. 227-245, jul., 2015.

FONSECA, L.A.B.V. **Fruticultura Brasileira: Diversidade e sustentabilidade para alimentar o Brasil e o Mundo**. CNA. Disponível em: https://www.google.com/search?q=como+citar+site+em+artigos&rlz=1C1GGRV_enBR832BR832&oq=como+citar+site+em+artigos+&aqs=chrome..69i57j0i22i30.12158j0j7&sourceid=chrome&ie=UTF-8. Acesso em: 20. set 2023.

FORZZA R.C., BAUMGRATZ, J.F.A., BICUDO, C.E.M., CARVALHO JR., A.A., COSTA, A., COSTA, D. P., HOPKINS, M., LEITMAN P. M. LOHMANN, L. G., MAIA, L.C., MARTINELLI, G., MENEZES, M., MORIM, M.P., COELHO, M.A. N, PEIXOTO, A.L., PIRANI, J. R., PRADO, J; QUEIROZ, L.P., SOUZA, V.C., STEHMANN, J. R., SYLVESTRE, L.S., WALTER, B.M.T., ZAPPI, D. 2012. **Catálogo de Plantas e Fungos do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro**, Rio de Janeiro. 1150 p.

FRUEHWIRTH, R.M.D. M, FOLHA, R.A. DE. Técnicas de Biologia Molecular aplicadas a Perícia e Ciência Forense. 2015.

GRESSLER, E; PIZO, M. A. & MORELLATO, L. P. C. 2006. Polinização e dispersão de sementes em Myrtaceae do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v.29, n.4, p.509-530, 2006.

JOLY, A. B. Botânica: **Introdução à taxonomia vegetal**. 13^o Ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional. 2002.

JÚNIOR, J. U.P; NASCIMENTO, A. N. Avaliação do desempenho logístico do futuro transporte de cargas na ferrovia de integração oeste-leste via simulação de eventos discretos. **Simpósio Brasileiro de Pesquisa Operacional**, v. 47, 2015.

KIRCH, B. P. Análise de risco da viabilidade econômico-financeira da Ferrovia de Integração Oeste-Leste trecho entre Ilhéus/BA e Caetité/BA. 2021.

LANDRUM, L.R. & KAWASAKI, M.L. 1997. The genera of Myrtaceae in Brazil: an illustrated synoptic treatment and identification keys. **Brittonia**, v. 49, n. 4, p.508-536, 1997.

LORENZI, H. J.; BACHER, L. B; DE LACERDA, M. T. C. **Frutas no Brasil: nativas e exóticas (de consumo in natura)**. 2015.

MAMNACIONAL. **Comunidades campesinas em Caetité, na Bahia, sofrem graves danos com explosões da FIOIOL**. Disponível em: <https://www.mamnacional.org.br/2021/09/14/comunidades-campesinas-em-caetite-na-bahia- sofrem-graves-danos-com-explosoes-da-fiol/>. Acesso em: 14 set. 2022.

MARCHIORI, J.N.C. **Dendrologia das angiospermas: leguminosas**. Ed. UFSM: Santa Maria. 1997. 200p.

MARTINS, R. S; CAIXETA, F, JOSÉ, V. O desenvolvimento dos sistemas de transporte: auge, abandono e reativação recente das ferrovias. **Revista Teoria e Evidência Econômica**, Passo Fundo, v. 6, n. 11, p. 67-89, nov. 1998. Disponível em:

<http://seer.upf.br/index.php/rtee/article/view/4786/3219>. Acesso em: 15 ago. 2022.

MAUÉS, M.M. & COUTURIER, G. Biologia floral e fenologia reprodutiva de camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh, Myrtaceae) no Estado do Pará, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 25, n.4, p.441-448, 2022.

MEIRA, N. A. N; DE PAULA, P, N. Flavonóides e antocianinas em *Myrciaria cauliflora* (Jabuticaba) visando à aplicabilidade cosmética. **Visão Acadêmica**, v. 17, n. 3, 2017.

MENEZES, F. DE; PEREIRA, A. C. *Myrciaria glazioviana*, *Myrciaria strigipes* e *Myrciaria trunciflora*: análise sistemática, reprodução, fitoquímica e farmacologia. **Scientific Electronic Archives**, v. 14, n. 8, 2021.

MENEZES, P.H.S. DE; SOUZA, A.A D; SILVA, E.S.D; MEDEIROS, R.D.D; BARBOSA, N.C; SORIA ,D.G. Influência do estágio de maturação na qualidade físico-química de frutos de umbu (*Spondias tuberosa*). **Scientia Agropecuaria**, v.8, n.1, p.73-78, 2017.

NIC LUGHADHA, E.N. & PROENÇA, C. A survey of the reproductive biology of the Myrtoideae (Myrtaceae). **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 83, p.480-503, 1996.

OIKOS. **Estudo de Impacto Ambiental (EIA) das Obras de Implantação da Ferrovia de Integração Oeste Leste (EF334) entre Figueirópolis (TO) e Ilhéus (BA)**.

Disponível em: <http://www.oikos.com.br/site_ok/adobados/EIA_RIMA_FIOL/88FOL_2009_11_27_VO_L1/88FOL_2009_11_EIA_VOL1_V11.pdf>. Acesso em: 28 set. 2022.

OLIVEIRA, J; M, A. DE; MATHEUS, L.D.S.M.; MARCELA, S.C.S.; MICHAEL, W. R.S. Perfil do consumo e conhecimento sobre fruteiras nativas e exóticas. **Pesquisa, Sociedade e Desenvolvimento**, v. 10, n. 13, pág. e579101321377-e579101321377, 2021.

OLIVEIRA, L.B.S. DE, NIUSLANE, A; CASTRO, J.M.L. A relação sociedade/natureza e os impactos socioespaciais da instalação da ferrovia de integração oeste-leste (fiol) no município de Ibiassucê–BA. **Geopauta**, v. 1, n. 3, p. 22-37, 2017.

OZELAME, R. DA SILVA; CASSARINO, J.P; LIMA; J.E. DE S; STEENBOCKD, W . Valorização das frutas nativas e pensamento pós-colonial: busca de alternativas ao desenvolvimento. **Sustainability in Debate/Sustentabilidade em Debate**, v. 10, n. 2, 2019.

PADILHA, M. R. F.; SHINOHARA, N. K. S.; SHINOHARA, J. M.; CABRAL, J. V. B.; OLIVEIRA, F. H. P. C. Plantas alimentícias não convencionais (PANC): uma alternativa para a gastronomia pernambucana. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, v.14, p.266-278, 2017.

PEDREIRA. J, JORGE, U. Modelagem, simulação e otimização do transporte de

cargas na Ferrovia de Integração Oeste Leste (FIOL), 2015.

PEREIRA, M.T.M., CHARRET, T.S., LOPEZ, G.G.C., CARNEIRO, M.J., SAWAYA, A.C.H.F., PASCOAL, V.D.B., PASCOAL, A.C.R.F. The in vivo anti-inflammatory potential of *Myrciaria glazioviana* fruits and its chemical profile using mass spectrometry. **Food Bioscience**, v. 38, p. 100777, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100777>, acessado em 17 de agosto de 2021.

PHILLIPS, R.L.; GOLDWEBER, S. 1978. The jaboticaba. [S.l.]. **Horticulture Science** Departament. 2 p. (Document FC-39).

PIERI, DE C. _Caracterização de *Puccinia psidii*, identificação de mirtáceas diferenciadoras de raças fisiológicas e estudos anatômicos do limbo foliar relacionados à resistência. 2012.

PLAZA, C. V.; SILVA, D. H. S.; PAULETTI, P. M. Antioxidantes presentes em folhas e frutos de *Eugenia jambolana* Lam. (Myrtaceae). In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Águas de Lindóia. **Anais**. Águas de Lindóia: Sociedade Brasileira de Química, 2007.

QUATRIN, A et al. Bioaccessibility and catabolism of phenolic compounds from jaboticaba (*Myrciaria trunciflora*) fruit peel during in vitro gastrointestinal digestion and colonic fermentation. **Journal of Functional Foods**, v. 65, p. 103714, 1 Feb. 2020. <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2019.103714>.

ROCHA, A. C.; OLIVEIRA, C. M.; SILVA, D. F. Da. Entre o extrativismo e a agricultura familiar no alto Jequitinhonha, Diamantina/MG. CONGRESSO DA Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural, 45, 2007, Londrina. **Anais...** Londrina: Sociedade Brasileira de Economia, Administração e Sociologia Rural, 2007. Disponível em: <<https://periodicos.unb.br/index.php/sust/article/view/15645>>. Acesso em: 23 jun. 2023.

RIMA, Relatório de Impacto Ambiental 2009. Disponível em: [https://www.ilheus.ba.gov.br/abrir_arquivo.aspx/RIMA_\(FERROVIA_DE_INTEGRACA_O_OESTE-LESTE\)?cdLocal=2&arquivo=%7B8EED021C-A427-1EAC-DB2A-B4C6B73BC01E%7D.pdf](https://www.ilheus.ba.gov.br/abrir_arquivo.aspx/RIMA_(FERROVIA_DE_INTEGRACA_O_OESTE-LESTE)?cdLocal=2&arquivo=%7B8EED021C-A427-1EAC-DB2A-B4C6B73BC01E%7D.pdf) . Acesso em: 04. ago 2021.

RODRIGUES, R., BENTO, C. S., SILVA, M. G. M., SUDRÉ, C. P. Atividades de Caracterização e avaliação em bancos de germoplasma. In: Pereira, T. N. S. Germoplasma: **Conservação, manejo e uso no Melhoramento de Plantas**. Viçosa, MG, **Arca**, p. 115-140. 2010.

ROSA, A.M., PESCADOR, R., BRIGHENTI, A.F. & BRUNETTO, G. Fertilidade e reservas de carbono e nitrogênio em gemas de ramos das viníferas 'Cabernet Sauvignon' e 'Nebbiolo'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.36, n.3, p. 576-584, 2014.

SALES, A. L. Jaboticaba. 2002. Disponível em:<<http://www.acesa.com/projetos/Sabor/arquivo/dicas/2002/10/03-jaboticaba/>>.

Acesso em: 02 jul. 2023.

SANTOS, E. F. DOS; OLIVEIRA, J. D.S .DE.; DA SILVA, I. C., GALLO, C.M., DE ARAÚJO, R.R., DE LEMOS, E.E.P., REZENDE, L.P. Quantificação de compostos bioativos e potencial antioxidante total de fruteiras nativas de Alagoas. **Revista Ouricuri**, v. 10, n. 2, p. 001-012, 2020.

SANTOS, I. J. DE A; SILVA, J. A. G. DA; SILVA, J DA; MENDES, T. R. M; SOUZA, D. O. DE; SILVA, G. S. DA. Levantamento dos impactos ambientais e medidas mitigadoras para a recuperação de áreas degradadas do Rio Estiva. **Caderno de Graduação-Ciências Exatas e Tecnológicas-UNIT-ALAGOAS**, v. 4, n. 2, p. 111-111, 2017.

SATO, A. C. K; CUNHA, R.L. Influência da temperatura no comportamento reológico da polpa de jaboticaba. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n.4, p. 890-896, 2007.

SILVA, M. C. B.; MOREIRA, F. J. C.; TAVARES, M. K. N.; SILVA, K. F. Biometria de frutos e sementes, análise química e rendimento de polpa de araçá amarelo (*Psidium cattleianum* Sabine). **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.18, n.3, p.313-323, 2016.

SILVEIRA, F.T., ORTOLANI, F.A., MATAQUEIRO, M.F., MORO, J.R. Caracterização citogenética em duas espécies do gênero *Myrciaria*. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 6, n. 2, p. 327-333, 2006.

SOBRAL, M., PROENÇA, C., SOUZA, M., MAZINE, F., LUCAS, E. 2015. Myrtaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB171>. Acesso em: 22. mai 2015.

SOBRAL, M.; PROENÇA, C.; SOUZA, M.; MAZINE, F. & LUCAS, E. 2012. **Myrtaceae. In: Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro**, Rio de Janeiro. Disponível em <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2012/FB000171>>. Acesso: 10. ago 2023.

SOUZA, W. Avaliação Da Atividade Antioxidante E Compostos Fenólicos De Extratos Vegetais. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, [s. l.], p. 05–37, 2013.

STEHMANN, J.R., FORZZA, R.C., SALINO, A.; SOBRAL, M; COSTA, D.P & KAMINO L. H. Y (2009) Plantas da Floresta Atlântica. **Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro**, Rio de Janeiro. Pp. 3-1.

SUCUPIRA, N. R.; SILVA, A. B.; PEREIRA, G.; COSTA, J. N. Métodos para determinação da atividade antioxidante de frutos. **UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 14, n.4, p.263-269, 2012.

UEDA, K.M. Extração De Compostos Fenólicos Provenientes De Folhas De Uvaia (*Eugenia pyriformis* Cambess). Empregando Solventes Eutéticos Profundos (Des). Universidade federal do Paraná, [s. l.], 2020.

VICENTINI, E. Plano Básico Ambiental (PBA) como instrumento do licenciamento ambiental de ferrovias, 2006.

VIEIRA, F. A.; GUSMÃO, E. Biometria, armazenamento de sementes e emergência de plântulas de *Talisia esculenta* Radlk. (Sapindaceae). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 4, p. 1073-1079, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-70542008000400006>.

VIEIRA, R. F., CAMILLO, J. & CORADIN, L. (2016). Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro – Região Centro-Oeste. Brasília, DF: MMA.

WCSP – WORLD CHECKLIST OF SELECTED PLANT FAMILIES (2018) the board of trustees of the royal botanic gardens, Kew. Disponível em: <<http://apps.kew.org/wcsp/home.do>>. Acesso em: 30 de maio de 2023.

CAPÍTULO 1

**AVALIAÇÃO BIOMÉTRICA DE CARACTERES MORFOLÓGICOS REVELA
VARIABILIDADE GENÉTICA EM DUAS POPULAÇÕES DE *Myrciaria
caerulescens* J.M.A.Braga, M.T.C.Lacerda & Stadnik (MYRTACEAE)**

AVALIAÇÃO BIOMÉTRICA DE CARACTERES MORFOLÓGICOS REVELA VARIABILIDADE GENÉTICA EM DUAS POPULAÇÕES DE *Myrciaria caerulescens* J.M.A.Braga, M.T.C.Lacerda & Stadnik (MYRTACEAE)

Autora: Marluce Santana de Oliveira
Orientadora: Dr^a Simone Alves Silva

RESUMO: Centro da maior diversidade genética vegetal, o Brasil possui restrição quanto a sua distribuição. A jabuticabeira (*Myrciaria caerulescens*) pertence à família da Myrtaceae, é uma espécie endêmica do Brasil, ocorrendo nos estados da Bahia e Rio de Janeiro destaca-se como uma das famílias com maior riqueza de espécies na maioria das formações vegetacionais do Brasil. Mediante isto, o objetivo deste trabalho foi estimar a variabilidade genética mediante avaliações biométricas de indivíduos de *M. caerulescens* coletadas na localidade de Lagoa Real e Caetité, próximos a ferrovia de integração leste-oeste (FIOL). Foram coletados dados de 20 genótipos para cada localidade totalizando em 40 unidades amostrais, sendo que cada genótipo foi identificado e georreferenciado com o auxílio de um GPS. Os dados das variáveis mensuradas em campo foram: altura da planta (cm) e diâmetro da copa (cm) mensurada com o uso de uma fita métrica e o número de ramos as quantificações foram realizadas a olho nu. Os gráficos das estimativas do comportamento observado das médias obtidas constatou que houve diferença significativa entre os dados coletados em campo para as variáveis, altura da planta, diâmetro da copa e número de ramos. Ao comparar os dados das duas localidades, nota-se uma ampla diversidade genética entre as populações de Lagoa Real (LR) para todas variáveis quando comparadas a Caetité (CA), mesmo sendo indivíduos de uma mesma espécie. As análises mostraram que os indivíduos coletados em CA e em LR pertencem a duas populações diferentes. Portanto, os genótipos dos acessos da localidade de Lagoa Real obtiveram uma alta diversidade genética das três variáveis estudadas, quando comparadas ao de Caetité.

Palavras: Variabilidade Genética, Myrtaceae, populations.

BIOMETRIC EVALUATION OF MORPHOLOGICAL CHARACTERS REVEALS GENETIC VARIABILITY IN TWO POPULATIONS OF *Myrciaria caerulescens* J.M.A. Braga, M.T.C. Lacerda & Stadnik (MYRTACEAE

Autora: Marluce Santana de Oliveira

Orientadora: Dr^a Simone Alves Silva

ABSTRACT: Center of the greatest plant genetic diversity, Brazil has restrictions in terms of its distribution. The jaboticabeira (*Myrciaria caerulescens*) belongs to the Myrtaceae family, is an endemic species in Brazil, occurring in the states of Bahia and Rio de Janeiro and stands out as one of the families with the greatest species richness in most vegetation formations in Brazil. Therefore, the objective of this work was to estimate genetic variability through biometric evaluations of individuals of *M. caerulescens* collected in the locality of Lagoa Real and Caétite, close to the east-west integration railway (FIOL). Data from 20 genotypes were collected for each location, totaling 40 sampling units, with each genotype identified and georeferenced with the aid of a GPS. The data on the variables measured in the field were: plant height (cm) and crown diameter (cm) measured using a measuring tape and the number of branches, quantifications were carried out with the naked eye. The graphs of the estimates of the observed behavior of the obtained means showed that there was a significant difference between the data collected in the field for the variables, plant height, crown diameter and number of branches. When comparing data from the two locations, a wide genetic diversity can be noted between the populations of Lagoa Real (LR) for all variables when compared to Caétite (CA), even though they are individuals of the same species. The analysis showed that the individuals collected in CA and LR belong to two different populations. Therefore, the genotypes of the accessions from Lagoa Real had a high genetic diversity of the three variables studied, when compared to Caétite.

Words: Genetic diversity, Morphological analysis, Myrtaceae.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior detentor de diversidade genética vegetal do mundo, porém, sua vasta distribuição é amplamente desconhecida, onde se encontra pelos mais diversos ecossistemas (GUERRA *et al.*, 1998).

A jabuticabeira (*M. guaquiea*) é uma espécie endêmica do Brasil, ocorrendo nos estados da Bahia e Rio de Janeiro (BFG, 2018), pertence à família Myrtaceae e ao gênero Myrciaria. A família Myrtaceae destaca-se como uma das famílias com maior riqueza de espécies na maioria das formações vegetacionais do Brasil (ROMAGNOLO; SOUZA, 2004). Outra espécie que está em estudo é a *Myrciaria caerulescens* (Myrtaceae), originária da região Nordeste, mais precisamente na Chapada Diamantina. Entretanto, pode ser encontrada nas regiões de Lagoa Real e Caetité sendo encontrada em vegetação de floresta, caatinga e cerrado (BRAGA *et al.*, 2023).

As espécies de Myrciaria se distinguem das demais por possuírem lâmina foliar com ápice cuspidado. A morfologia é semelhante à *M. floribunda*, diferenciando-se pela pilosidade na face abaxial e ausência de nervura intramarginal. Registros têm sido feitos em três Unidades de Conservação como a Área de Proteção Ambiental do Engenho Pequeno, o Parque Estadual da Serra da Tiririca e a Reserva Ecológica de Jacarepiá. Durante Os meses de março, abril, julho e novembro ocorrem o florescimento e entre os meses de janeiro, outubro e novembro a presença dos frutos. Essa espécie é popularmente conhecida como guaquica e ibá-cuíca (CALDAS *et al.*, 2020). Suas folhas possuem algumas semelhanças com a verdadeira guaquiea (*Myrciaria guaquiea*) por serem densamente pilosas na face inferior e com as bordas voltadas para baixo. Mediante a isto, existe diferença mais detalhada como as folhas opostas cruzadas, lâmina foliar jovem côncava (vs. convexa), nervuras salientes na face de cima etc (COELHO, 2017).

A *M. guaquiea* cresce normalmente em forma de arbusto ou varetas 0,5 - 3,5 metros de altura. Podendo encontrar plantas de 50-60 cm já em processo de frutificação. Espécie excelente para o cultivo em vasos com grande potencial ornamental, devido à beleza de suas folhagens e frutos azulados, muito rústicos, deve ser cultivada a pleno sol em substrato com boa drenagem (BRAGA *et.*, 2023).

As folhas apresentam algumas semelhanças com a verdadeira guaquica (*M. guaquiea*), por serem densamente pilosas na face inferior e por possuírem as bordas

voltadas para baixo. Contudo, em uma análise mais detalhada, observaram-se importantes diferenças como folhas opostas cruzadas, lâmina foliar jovem côncava (vs. convexa), nervuras salientes na face de cima etc (COELHO, 2017).

Quanto aos frutos a jabuticaba possui fruto globoso com 2,5 – 4,5 cm de diâmetro, casca com aspecto próximo do liso e coloração do azulado ao violáceo na sua maturação, a polpa hialino-amarelado, levemente fibroso, aderido às sementes (fresco), glanduloso com aspecto enrugado, presença da polpa fibrosa visível através do pericarpo fino (seca); sementes 1 – 2, reniformes, c. 12 × 10 mm, com pelagem membranácea, pilosa, muito apreciada pelos consumidores local devida o seu sabor doce, podendo ser consumido natural, ou na utilização de sucos e geleias (BRAGA *et.*, 2023).

As avaliações dos caracteres morfológicos e biométricos em plantas permitem o conhecimento da qualificação e diferenciação fisiológica de diferentes espécies vegetais (VIEIRA; GUSMÃO, 2008). Essas avaliações fornecem informações para a conservação e exploração dos recursos de valor econômico, constituindo um importante instrumento para detectar a variabilidade genética dentro de populações de uma mesma espécie e as relações entre essa variabilidade e os fatores ambientais (GUSMÃO; VIEIRA; FONSECA JUNIOR, 2000). Santos et al. (2008) também enfatiza a importância de avaliar os caracteres agrônômicos, principalmente quando o foco é o melhoramento genético, a formação de bancos de germoplasma, levando em consideração especialmente o objetivo do melhorista.

Durante esse trabalho, os estudos das espécies foram realizados *in situ*, visando à conservação no seu ambiente natural, buscando entender o desenvolvimento das populações e suas características específicas. Durante muitos anos as coletas desta espécie em seu habitat natural são conservadas em herbários (exsicatas), vêm sendo identificadas como *Myrciaria* uma espécie endêmica do estado do Rio de Janeiro. É provável que a *guaquica-azul* (nativa do Nordeste) seja uma nova espécie, ainda sem classificação científica (BFG, 2018).

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi estimar a variabilidade genética mediante avaliações biométricas de indivíduos de *M. caerulescens* coletadas na localidade de Lagoa Real e Caetitê, próximos a ferrovia de integração leste-oeste (FIOL).

2. MATERIAL E MÉTODOS

A coleta dos materiais foi realizada em dois locais distintos no estado da Bahia, no município de Caetité (14°3'17''s e 42°28'28''w) com 825 metros de altitude e no município de Lagoa Real (14°1'56''s e 42°8'27''w), situado a 524 metros de altitude. Nesses municípios passará a linha da ferrovia de integração oeste leste.

Foram coletados dados de 20 genótipos para cada localidade totalizando 40 unidades amostrais, devidamente identificados, fotografados e georreferenciados com o auxílio de um Sistema de Posicionamento Global (GPS). As plantas de jabuticabeiras pertencem a propriedades rurais, todas nascidas espontaneamente em áreas de campo de pastagem, as mesmas não receberam qualquer tipo de adubação na região em estudo. O bioma predominante dos municípios em estudo é Caatinga e Cerrado, com a presença de plantas com espinhos como os cactos e as bromélias, plantas de pequeno porte em forma de arbustos e desenvolvimento em rochas. As variáveis mensuradas foram: altura da planta (cm) e diâmetro da copa (cm) mensurada com o uso de uma fita métrica e o número de ramos (Tabela 1).

Análise estatística

As médias das variáveis das populações foram comparadas pelo teste t utilizando o pacote ggpubr (KASSAMBARA, 2018). Foi realizada uma análise de componentes principais (PCA) empregando o pacote Factoextra (Kassambara; Mundt, 2020). Também foi construído um dendrograma com mapa de calor para verificar empregando o pacote circlize (Gu *et al.*, 2014). Todas as análises foram realizadas com auxílio do software R (R CORE TEAM, 2023).

Tabela 1. Localização dos genótipos de jabuticabeira (*Myrciaria caerulescens*) avaliados nos municípios de Lagoa Real e Caetité-Ba, no período de 08/03/2021 à 09/03/2021.

Nº	Genero	Família	Coletores	Latitude	Longitude	Altitude	Nº do Ponto do GPS	Área da Planta	Largura da Planta	Número de Ramos
	Myrciaria	Myrtaceae	M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa	13°56'38,3 "S	042°18'2 "W				1,83	3
	Myrciaria	Myrtaceae	M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa	13°56',3 8,4 "S	042°18'2 2,7 "W				4,80	6
	Myrciaria	Myrtaceae	M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa	13°56'42,5 "S	042°18'2 9,2				1,42	2
	Myrciaria	Myrtaceae	M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa	13°56'42,9 "S	042°18'2 9,5 "W				1,15	1
	Myrciaria	Myrtaceae	M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa	13°56'38,2" S	042°18'3 4,2 "W				1,86	9
	Myrciaria	Myrtaceae	M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa	13°56'37,0 "S	042°18'3 7,7 "W				1,20	2
	Myrciaria	Myrtaceae	M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa	13°56'42,0 "S	042°18'3 6,7 "W				3,20	3
	Myrciaria	Myrtaceae	M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa	13°56'37,0 "S	042°18'4 0,5 "W				2,0	2
	Myrciaria	Myrtaceae	M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa	13°57'14,5 "S	042°18'4 7,4 "W				2,40	3
	Myrciaria	Myrtaceae	M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa	13°57'14,4" S	042°18'4 7,2 "W				2,20	3
	Myrciaria	Myrtaceae	M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa	13°57'12,1 "S	042°18'4 4,1 "W				2,0	1

	Myrciaria	Myrtaea	<i>M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>	13°57'10,8 "S	042°18'4 4,1 "w		3,0		3	
	Myrciaria	Myrtaea	<i>M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>	13°57'10,4 "S	042°18'4 4,4 "w		1,50		1	
	Myrciaria	Myrtaea	<i>M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>	13°57'10,2 "S	042°18'4 4,3 "w		1,60		5	
	Myrciaria	Myrtaea	<i>M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>	13°57'10,1" S	042°18'4 3,8 "w		2,30		1	
	Myrciaria	Myrtaea	<i>M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>	13°57'09,9 "S	042°18'4 3,7 "w		1,40		2	
	Myrciaria	Myrtaea	<i>M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>	13°57'10,0 "S	042°18'4 3,2 "w		2,20		3	
	Myrciaria	Myrtaea	<i>M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>	13°57'09,8 "S	042°18'4 3,5 "w		1,40		4	
	Myrciaria	Myrtaea	<i>M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>	13°57'11,3 "S	042°18'4 2,8 "w		2,80		1	
	Myrciaria	Myrtaea	<i>M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>	13°57'10,9 "S	042°18'4 2,8 "w		1,25		2	
	Myrciaria	Myrtaea	<i>M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>	14°01'20,4 "S	042°22'3 8,5 "w		0,60		1	
	Myrciaria	Myrtaea	<i>M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>	14°01'22,6 "S	042°22'37, 6		1,20		1	
	aeC.M.Costa			"w 14°02'28,7	"S042°22'42,5					
24	Myrciaria	Myrtaceae	<i>M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>		"w	*	427	1,800,70	1	
25	Myrciaria	Myrtaceae	<i>M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>	14°02'46,9 "S	042°22'37,3 "w	*	428	1,751,10	3	
26	Myrciaria	Myrtaceae	<i>M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>		"w		14°02'46,7 "S	042°22'37,4 "w	* 429 0,60	1,65 1
27	Myrciaria	Myrtaceae	<i>M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>	14°02'46,6 "S	042°22'37,5 "w	*	432	432 1,201,15	2	
28	Myrciaria	Myrtaceae	<i>M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>		"w		14°02'45,2 "S	042°22'39,0 "w	* 433 1,60	1,0 1
30	Myrciaria	Myrtaceae	<i>M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>	14°02'45,3 "S	042°22'39,1 "w	*	434	0,500,70	1	
31	Myrciaria	Myrtaceae	<i>M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>		"w		14°02'48,3 "S	042°22'39,5 "w	* 435 1,15	1,10 3
31	Myrciaria	Myrtaceae	<i>M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>	14°02'51,5 "S	042°22'36,3 "w	*	0,80	1,0	2	

Myrtaceae

		<i>M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>	14°02'54,3 "S "w	042°22'33,8 "w	*	436 0,40	0,55 2		
33	Myrtaceae	<i>M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>	14°02'54,8 "S "w	042°22'32,1 "w	*	436	1,0 0,60		1
	Myrtaceae	<i>M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>	14°02'54,7"S	042°22'31,9 "w	*	436 0,60		0,85 3	
35	Myrtaceae	<i>M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>	14°02'54,6"S "w	042°22'31,1 "w	*	437	1,400,70		3
	Myrtaceae	<i>M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>	14°02'54,6"S	042°22'29,9 "w	*	437 0,60		0,60 1	
37	Myrtaceae	<i>M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>	14°02'54,6"S "w	042°22'29,9 "w	*	437	0,60 1,0		1
	Myrtaceae	<i>M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>	14°02'54,4"S	042°22'29,5 "w	*	437 1,20		1,35 3	
40	Myrtaceae	<i>M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>	14°02'54,6"S "w	042°22'29,4 "w	*	437	1,951,50		3
	Myrtaceae	<i>M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>	14°02'54,5"S	042°22'35,9 "w	*	438 0,90		1,20 1	

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve diferença significativa entre as médias das populações para as variáveis, altura da planta, diâmetro da copa e número de ramos. Ao comparar as duas localidades nota-se uma ampla variabilidade genética entre as populações de Lagoa Real (LR) para todas variáveis quando comparadas a Caetitê (CA), mesmo sendo indivíduos de uma mesma espécie, mas isolados geograficamente. As análises mostraram que os indivíduos coletados em CA e em LR pertencem a duas populações diferentes.

A Figura 1 apresenta os dados descritivos das populações na forma de gráfico boxplot, apresentando a mediana, representada por um traço dentro da “caixa”; representada pelos limites inferior e superior da caixa e os limites inferior e superior da haste (NETO *et al.*, 2017). Além disso, a representação de cada média do boxplot é representada por um ponto preto.

Para as características morfológicas, houve efeito significativo para a variável altura da planta, diâmetro da copa e número de ramos para a população de LR, resultando em maior média para população geral, indicando ampla variabilidade genética. Ao comparar com a localidade de CA, observa-se que as médias obtidas foram menores para altura e diâmetro do caule, e alcançou melhor resultado apenas para o número de ramos. Prodan *et al.* (1997), ao estudar o crescimento de espécies florestais, analisou que o parâmetro para aumento de dimensões de indivíduos é relativo ao período de tempo, as dimensões podem ser o diâmetro, a estatura, o volume, a biomassa etc. Os processos que orientam para adaptação são responsáveis pelo desenvolvimento das espécies, e pelas condições ambientais que compreendem, os fatores climáticos, edáficos, topográficos e de competição (LAMPRECHT, 1990). Em relação ao diâmetro da copa, Nuto *et al.* (2001) mencionam que a principal fonte de energia de uma árvore é a luz do sol, é transformada pelo processo de fotossíntese em energia química, sendo a copa o órgão responsável por esse processo, portanto está diretamente relacionado com o crescimento de uma árvore.

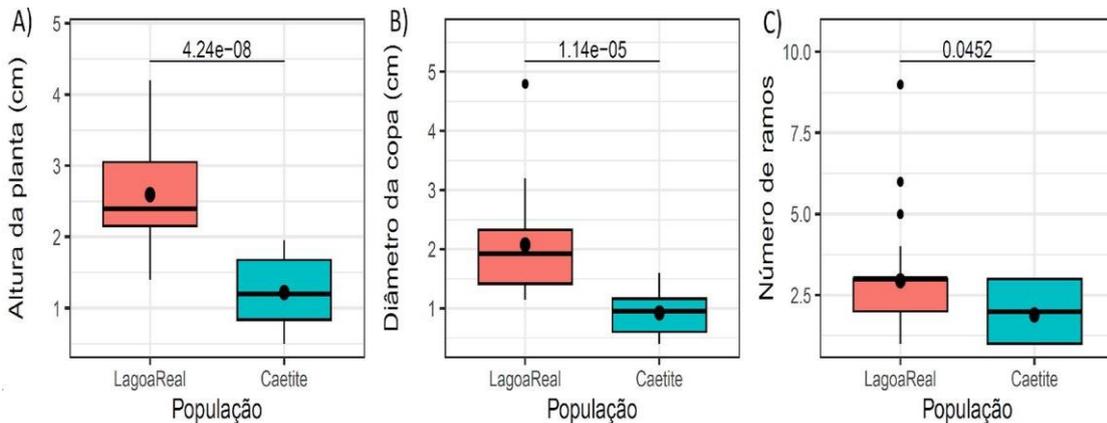


Figura 1. Gráficos de distribuição por Box-plot para *M. caerulescens* coletadas em Caetité e Lagoa Real, Bahia, Brasil) para as variáveis de altura da planta, diâmetro da copa e número de ramos. Médias das populações comparadas pelo teste t a 5% de probabilidade ($p < 0,05$).

Houve distância genética entre as populações estudadas através do dendrograma possibilitou a visualização de agrupamentos mais similares (Figura 2), analisar a variabilidade genética dentro das populações foi possível observar que na localidade de Caetité (CA) ocorreu a formação de três grupos dos quais o grupo 1 foi composto pelos indivíduos CA 16, CA 9, CA 17, CA 14, CA 13 e CA12, o grupo 2 CA 18, CA 3, CA 7, CA 20, CA 8, CA10 e CA11 e o grupo 3 pelos indivíduos CA15, CA1, CA5, CA6, CA4, CA2 e CA 19, dos quais apresentou semelhança entre a média de cada variável mensurada, dentre elas foram avaliadas: altura da planta, Diâmetro do Caule e Número de Ramos é um indicativo do comportamento do conjunto de indivíduos estudados.

Quando analisada as variáveis da localidade de Lagoa Real (LR), notou-se terem maior distância genética para cada variável, ocorrendo grande diferença, o que demonstra uma alta variabilidade genética, ocorrendo à formação de um grupo a menos quando comparado ao anterior, apenas 2 grupos, grupo 1 foram compostos por 9 indivíduos, o qual se destacou por ser o grupo com maior variabilidade genética, sendo eles: LR17, LR10, LR9, LR1, LR18, LR20, LR14, LR5 e LR2. Para a variável altura o indivíduo que mais se destacou com maior média foi apenas o LR2, acompanhado de menor média os indivíduos LR17, LR10, LR9, LR1, LR18, LR20, LR14, LR5.

Em relação ao diâmetro da copa, as melhores médias obtidas foram resultantes dos indivíduos LR9, LR2 seguidas de LR17, LR10 atribuindo as menores médias LR20, LR6, e LR4 acompanhadas de LR1, LR18, LR20, LR14, LR5. Já para o variável número de ramos os indivíduos que resultaram em maiores médias foram LR18, LR14,

LR5 e LR2.

Quando comparado a formação do grupo 2 ao grupo 2, obteve um maior número de indivíduos presentes, totalizando 11 indivíduos, LR12, LR7, LR19, LR8, LR11, LR15, LR16, LR6, LR3, LR4 e LR13. Entretanto, esse grupo se destacou por ter na variável altura as melhores médias para a maioria dos indivíduos abrangendo os seguintes: LR12, LR19, LR8, LR11, LR4 e LR13, resultaram menores médios LR7, LR15, LR16, LR6 e LR3. .

Para a variável obtida no diâmetro do caule LR12, LR7, LR19 e LR15 foram os indivíduos que mais se distanciaram dos demais com melhores médias. Em relação ao número de ramos, os indivíduos resultaram em similaridade dentro do grupo, não se diferenciando dos demais. Portanto, os genótipos dos acessos da localidade de Lagoa Real obtiveram uma alta variabilidade genética das três variáveis estudadas, quando comparadas ao de Caetité. Desta forma, a variabilidade observada entre as duas localidades, pode estar relacionada à ancestralidade da população, ou, por meio da ação antrópica no ambiente. De acordo com Glessler *et al.*, (2006), as aves são os principais dispersores das espécies de Myrtaceae, porém, neste mesmo estudo, os macacos e outros mamíferos carnívoros foram apontados como dispersores de sementes de jaboticabeira (*M. caerulescens*).

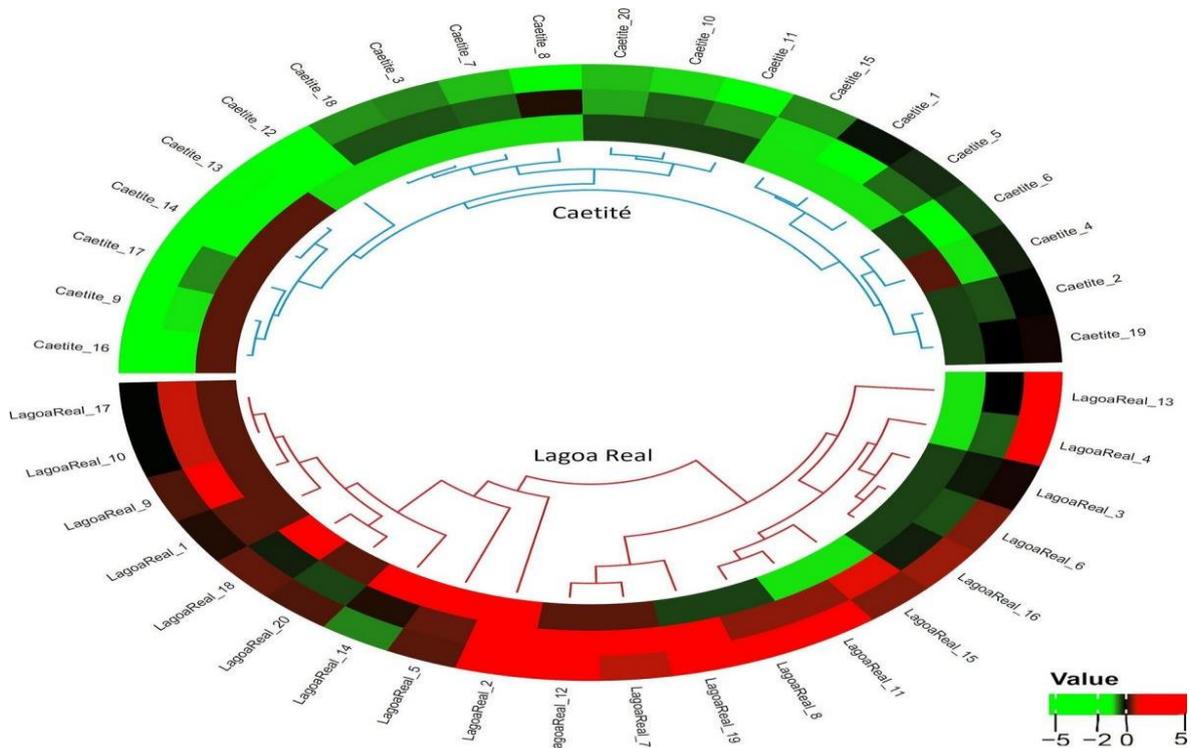


Figura 2- Determinação da estrutura das populações de *M. caerulescens* com base nas análises em dendrograma UPGMA baseado distância genética de Nei (NEI *et al.*, 1983), com base em três

características morfológicas.

A análise dos Componentes Principais (PCA) foi empregada para visualizar a dispersão gráfica dos indivíduos (Figura 3) e comprovou alguns grupos formados pela análise de agrupamento. Nesse modelo de agrupamento foram formados cinco grupos, onde se destacam subgrupos, promovendo uma maior diferenciação dos indivíduos com base nas avaliações morfológicas.

Houve a interação de alguns genótipos para as variáveis de LR, como houve o distanciamento entre eles. Fica evidenciado que a população de Caetité está fortemente correlacionada entre si em função das variáveis obtidas, sendo independentes da população de Caetité. Entretanto houve forte correlação entre o grupo das populações de LR, sendo que as características altura da planta, diâmetro da copa e número de ramos, foram essenciais para que contribuíssem na discriminação desta população. De acordo com Shimizu *et al.* (2000), o grau de variabilidade genética e o padrão da distribuição entre e dentro de populações são acarretados pelo tipo de habitat e pela localização geográfica. Danner *et al.* (2011) ao analisar valor médio de 7,0 g em jabuticabeiras provenientes do sudoeste do Paraná, observaram que a variabilidade pode ser relacionada ao ambiente e solo em que as plantas avaliadas ocorrem, além de fatores genéticos que certamente estão envolvidos, considerando as variações observadas em cada um dos municípios estudados.

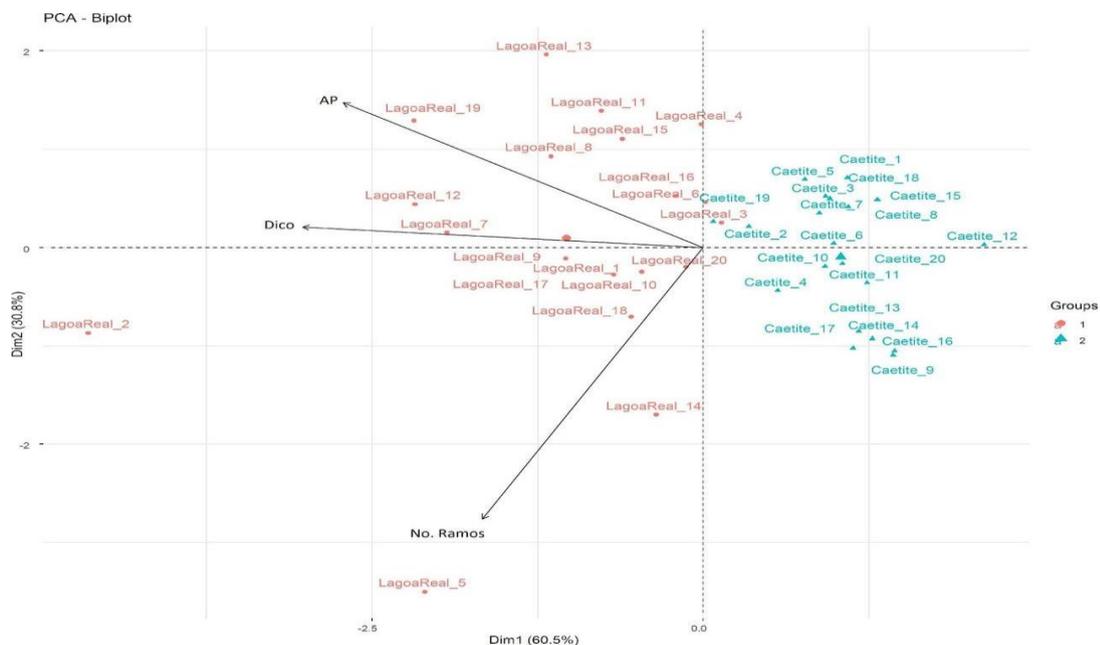


Figura 3. Dispersão gráfica de valores de altura, diâmetro do caule e número de ramos, para 40 indivíduos de duas populações de *M. caerulescens*.

M. caerulescens é uma espécie nova, recentemente descrita (BRAGA *et al.*, 2013). Sua provável origem é a *Myrciaria guaquiaea*. Enquanto *M. guaquiaea* tem origem no Estado do Rio de Janeiro e possuem frutos amarelos, *M. caerulescens* tem origem no nordeste brasileiro, mais especificamente na Chapada Diamantina e possui frutos azuis violáceos (Figura 4- B). A coloração do fruto foi o que originou o sufixo caerulescens.

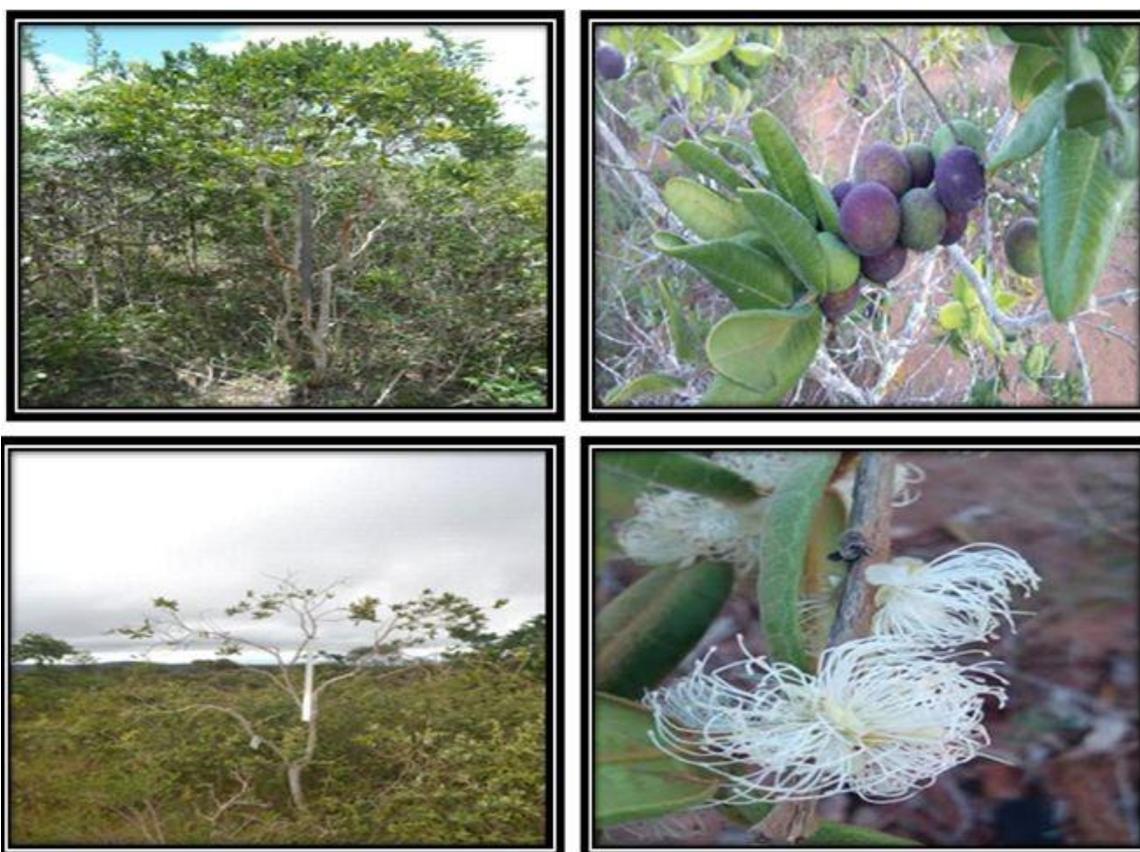


Figura 4: *Myrciaria caerulescens* ocorrentes em um transecto da ferrovia de integração oeste-leste, em área de zona de transição entre cerrado e caatinga. A- Arbusto de 2,3 metros situado em Lagoa Real/Ba. B- Frutos maduros coletados em Lagoa Real/Ba. C- Arbusto de 1,8 metros situado em Lagoa Real/Ba. D - Botões florais no período de março a abril coletados de plantas em Lagoa Real/Ba.

4. CONCLUSÕES

As análises permitiram inferir de acordo com os caracteres

avaliados que os indivíduos coletados em Caetité e Lagoa Real pertencem a duas populações diferentes.

Existe variabilidade genética entre as populações e dentro das populações de *M. caerulescens* avaliadas em dois transectos dos municípios Caetité e Lagoa Real.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BFG - The Brazilian Flora Group (2018) Brazilian Flora 2020: innovation and collaboration for meet Target 1 of the Global Strategy for Plant Conservation (GSPC). **Rodriguésia**, v. 69, p.1513-1527, 2020.

BRAGA, J. M. A; FERNANDES, T; LACERDA, M.T. C DE; STADNIK, A. *Myrciaria caerulescens* (Myrtaceae), uma nova espécie frutífera da Serra do Espinhaço, Brasil, com notas históricas sobre *Myrciaria guaqueia*. **Boletim Kew**, p. 1-10, 2023.

CALDAS, D. K. D; BAUMGRATZ, J. F. A; SOUZA, M. DA C. Flora do estado do Rio de Janeiro: *Myrciaria*, *Neomitranthes* e *Siphoneugena* (Myrtaceae). **Rodriguésia**, v. 71, 2020.

COELHO, M.A. N; BAUMGRATZ, J. F. A; LOBÃO, A.Q; SYLVESTRE, L.S; TROVÓ, M; SILVA, L.A.E. **Flora do estado do Rio de Janeiro**: avanços no conhecimento da diversidade. **Rodriguésia**, v. 68, p. 1-11, 2017.

DANNER, M. A; CITADIN, I; SASSO, S. A. Z; AMBROSIO, R; JÚNIOR, A. W. Armazenamento a vácuo prolonga a viabilidade de sementes de jabuticabeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 1, p. 246-252, mar. 2011.

GRESSLER, E; PIZO, M. A.; MORELLATO, L. P. C. Polinização e dispersão de sementes em Myrtaceae do Brasil. **Brazilian Journal of Botany**, v. 29, p. 509-530, 2006.

GU, Z; GU, L; EILS, R; SCHLESNER, M; BRORS, B. Circlize implements and enhances circular visualization in R. **Bioinformatics**, v. 30, n. 19, p. 2811-2812, June 2014.

GUERRA, M. P; NODARI, R. O; REIS, M. S; ORTH, A. I. A diversidade dos recursos genéticos vegetais e a nova pesquisa agrícola. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.28., n.3., p.521- 528., 1998.

GUSMÃO, E; VIEIRA, F. DE A; JÚNIOR É. M. DA F. Biometria de frutos e endocarpos de murici (*Byrsonima verbascifolia* Rich. ex A. Juss.). **Cerne**, v. 12, n. 1, p. 84-91, 2006.

KASSAMBARA, A.; MUNDT, F. factoextra: Extract and visualize the results of multivariate data analyses, R package v. 1.0. 7. **factoextra: Extract and visualize the results of multivariate data analyses, R package v. 1.0. 7**, 2020.

KASSAMBARA, A. **Machine learning essentials: Practical guide in R**. Sthda, 2018.

LAMPRECHT H. *Silvicultura nos trópicos: ecossistemas florestais e respectivas espécies arbóreas – possibilidades e métodos de aproveitamento sustentado*. Rossdorf: República Federal da Alemanha: Dt. Ges. Für Techn.

Zusammenarbeit; 1990.

NEI, M F. **Molecular evolutionary genetics**. New York: Columbia University Press. 512 p. 1987.

NETO, J. V, SANTOS, C.B, TORRES, E.M., CARLOS, E. Boxplot: um recurso gráfico para a análise e interpretação de dados quantitativos. **Revista Odontológica do Brasil Central**, v. 26, n. 76, 2017.

NUTTO, L.; TONINI, H.; BORSOI, G. A.; MOSCOVICH, F. A.; SPATHELF, P. Utilização dos parâmetros da copa para avaliar o espaço vital em povoamentos de *Pinus elliottii* Engelm. **Boletim de Pesquisa Florestal**, Local, v.42, p.110-122, jan./jun., 2001.

PRODAN, M.; PETERS, R.; COX, F.; REAL, P. **Mensura florestal**. San José: Costa Rica, 1997. 561 p.

PRODAN, Michail. **Mensura forestal**. Agroamerica, 1997.

ROMAGNOLO, M. B; SOUZA, M. C. DE. Os gêneros *Calycorectes* O. Berg, *Hexachlamys* O. Berg, *Myrcianthes* O. Berg, *Myrciaria* O. Berg e *Plinia* L.(Myrtaceae) na planície alagável do alto rio Paraná, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 18, p. 613-627, 2004.

SANTOS, L. A. dos; DANTAS, A. C. V. L.; ALMEIDA, V. de O.; NEVES, C. G. Caracterização morfológica de umbu-cajazeira (*Spondias* spp.) no semiárido da Bahia. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2008, Vitória. **Anais...** Vitória: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 2008. CD-ROM.

SHIMIZU, J. Y; JAEGER, P; SOPCHAKI, S. A. Variabilidade genética em uma população remanescente de araucária no Parque Nacional do Iguaçu, Brasil. 2000.

VIEIRA, DE ALMEIDA, F; GUSMÃO, E. Biometria, armazenamento de sementes e emergência de plântulas de *Talisia esculenta* Radlk (Sapindaceae). **Ciência e agrotecnologia**, v. 32, p. 1073-1079, 2008.

CAPÍTULO 2

**PROTOCOLO DE EXTRAÇÃO DE DNA de *Myrciaria caerulescens* J.M.A.
Braga, M.T.C. Lacerda & Stadnik (Myrtaceae): NOVA ESPÉCIE DE
FRUTÍFERA OCORRENTE EM UM TRANSECTO DA FERROVIA DE
INTEGRAÇÃO OESTE-LESTE**

PROTOCOLO DE EXTRAÇÃO DE DNA de *Myrciaria caerulescens* J.M.A. Braga, M.T.C. Lacerda & Stadnik (Myrtaceae): NOVA ESPÉCIE DE FRUTÍFERA OCORRENTE EM UM TRANSECTO DA FERROVIA DE INTEGRAÇÃO OESTE-LESTE

Autora: Marluce Santana de Oliveira

Orientadora: Dr^a Simone Alves Silva

RESUMO: A biodiversidade genética no Brasil é um dos mais importantes em espécies vegetais no mundo. Compreendendo cerca de 60 mil espécies, entre elas estão 500 espécies de frutíferas nativas de valor econômico e para usos futuros, são encontradas no bioma Mata Atlântica, e devido ao alto nível de endemismo e a redução de área, fazem com que seja considerado como um dos 35 *hotspots* de biodiversidade do planeta. Estudos desenvolvidos com a família da Myrtaceae foram realizados com base em estudos moleculares em populações naturais para analisar e verificar a variabilidade genética entre as espécies com base no modo de reprodução e estrutura genética. A partir desses estudos, bases importantes foram utilizadas para auxiliar na conservação de germoplasma, seleção, melhoramento genético e manejo dessas espécies. O objetivo deste trabalho foi realizar a padronização do protocolo para extração de DNA total de *Myrciaria caerulescens* nos municípios de Caetité e Lagoa Real na Bahia. Foram coletadas folhas jovens colocadas em papel alumínio armazenados em gelo, papel alumínio com sílica e sílica no tubo de ensaio de 50 mL em seguida receberam uma identificação alfanumérica. Posteriormente todo o material vegetal foi levado para o Laboratório de Núcleo de Melhoramento Genético e Biotecnologia da UFRB, onde foi retirada toda sílica das amostras e em seguida foram acondicionados em ultra freezer com temperatura de -80°C até a sua utilização. Para extração de DNA genômico dos indivíduos coletados em campo, para os três métodos de coleta e extração das 40 amostras foram testados três protocolos no total para cada método. Os protocolos utilizados foram Lodhi (1994), modificado por Pereira (2005), Doyle e Doyle (1987) e Murray e Tompson (1980). Para a trituração do material vegetal foi utilizado nitrogênio líquido, contribuindo nos resultados dos dados na qualidade e quantidade de DNA extraído de *M. caerulescens*. O isolamento do DNA das amostras obtidas influenciou na sua qualidade e quantidade avaliada de acordo com os métodos de coleta do material vegetal e os protocolos testados. O método de coleta utilizando sílica gel dentro do tubo de ensaio permitiu obter maior quantidade de DNA total em comparação aos demais métodos. O protocolo que obteve melhor resultado na visualização das bandas de DNA total, a metodologia descrito em Lodhi (1994), modificado por Pereira (2005), gerou melhor qualidade e maior concentração de DNA extraído, coletado no método de tubo de ensaio com sílica, com a maior presença de bandas, seguindo do método de coleta em papel alumínio com sílica para as duas localidades. A partir desses resultados foi

possível perceber que protocolos com base em CTAB foram eficientes para extrair o DNA, corroborando com os dados da literatura de que esse de fato é um método eficiente para espécies vegetais. Entretanto, um fator determinante foi o aumento na quantidade de NaCl (0,5 a 5M) pois possibilitou a quantificação das bandas de DNA no gel de agarose e contribuiu com íons positivos que neutralizam a carga negativa do grupo fosfato do DNA.

Palavras-chaves: Coleta, Quantificação, sílica gel.

DNA EXTRACTION PROTOCOL from *Myrciaria caerulescens* J.M.A. Braga, M.T.C. Lacerda & Stadnik (Myrtaceae): NEW SPECIES OF FRUIT OCCURRING IN A TRANSECT OF THE WEST-EAST INTEGRATION RAILWAY

Autora: Marluce Santana de Oliveira
Orientadora: Dr^a Simone Alves Silva

ABSTRACT: Genetic biodiversity in Brazil is one of the most important in plant species in the world. Comprising around 60 thousand species, including 500 species of native fruit trees of economic value and for future uses, they are found in the Atlantic Forest biome, and due to the high level of endemism and the reduction in area, they make it considered as a of the planet's 35 biodiversity hotspots. Studies developed with the Myrtaceae family were carried out based on molecular studies in natural populations to analyze the genetic variability between species based on the mode of reproduction and genetic structure. From these studies, important bases were used to assist in the conservation of germplasm, selection, genetic improvement and management of these species. The objective of this work was to standardize the protocol for extracting total DNA from *Myrciaria caerulescens* in the municipalities of Caetité and Lagoa Real in Bahia. Young leaves were collected and placed in aluminum foil stored on ice, aluminum foil with silica and silica in a 50 mL test tube and then received an alphanumeric identification. Subsequently, all plant material was taken to the Genetic Improvement and Biotechnology Center Laboratory at UFRB, where all silica was removed from the samples and then stored in an ultrafreezer at a temperature of -80°C until use. To extract genomic DNA from individuals collected in the field, for the three collection and extraction methods of the 40 samples, three protocols were tested in total for each method. The protocols used were Lodhi (1994), modified by Pereira (2005), Doyle and Doyle (1987) and Murray and Tompsom (1980). Liquid nitrogen was used to crush the plant material, contributing to the data results in the quality and quantity of DNA extracted from *M. caerulescens*. The isolation of DNA from the samples obtained influenced their quality and quantity evaluated according to the methods of collecting the plant material and the protocols tested. The collection method using silica gel inside the test tube allowed obtaining a greater amount of total DNA compared to other methods. The protocol that obtained the best result in visualizing the total DNA bands, the methodology described in Lodhi (1994), modified by Pereira (2005), generated better quality and higher concentration of extracted DNA, collected in the test tube method with silica, with the greatest presence of bands, following the collection method in aluminum foil with silica for both locations. From these results it was possible to see that protocols based on CTAB were efficient to extract DNA, corroborating literature data that this is in fact an efficient method for plant species. However, a determining factor was the increase in the amount of NaCl, (0.5 to 5M) as it enabled the quantification of DNA bands in the agarose gel and contributes positive ions that neutralize the negative charge of the phosphate group of DNA.

Keywords: Collection, Quantification, silica gel.

1. INTRODUÇÃO

Atraente pela sua rica biodiversidade, o Brasil é considerado um dos mais importantes pólos de diversidade genética de espécies vegetais do mundo, com cerca de 60 mil espécies, entre elas estão incluídas 500 espécies frutíferas nativas com valor econômico para usos futuros, encontradas no bioma Mata Atlântica com alto nível de endemismo, abrangendo um dos 35 *hotspots* de biodiversidade do planeta (MITTERMEIER *et al.*, 2011).

Entre as fruteiras nativas, as representantes da família Myrtaceae têm destaque. No Brasil, a família abrange 23 gêneros e cerca de 1.000 espécies (SOBRAL *et al.*, 2015). No Nordeste é uma das famílias de grande relevância, mas economicamente, englobando apenas quatro frutíferas (*Eugenia*, *Acca*, *Myrciaria* e *Psidium*), colocando em oitava posição a diversidade. No ano de 2015 no estado de Alagoas registros foram realizados a fim de catalogar as espécies da família da angiosperma, totalizando assim 1.800, das quais 11 eram espécies endêmicas (BFG, 2015). (SOBRAL; PROENÇA, 2006). De acordo com McVaugh (1968), quanto a sua taxonomia, as espécies são consideradas complexas, assemelhando-se na maioria dos caracteres morfológicos.

A espécie em estudo *Myrciaria caerulescens*, recém-descrita (BRAGA *et al.*, 2023) sua morfologia é semelhante a *M. Guaquiea* e a espécie tem uma Extensão de Ocorrência de 7.800 km², que é dentro do limite para a categoria Vulnerável. A ocorrência dessa espécie é em apenas em 10 locais, considerada assim a *M. caerulescens* avaliada como Vulnerável (IUCN, 2012). Esta espécie morfológicamente está sendo descrita por possuir novo táxon juntamente com notas sobre sua taxonomia, além de sua distribuição e conservação da *Myrciaria guaquiea* (BRAGA *et al.*, 2023). Em virtude disso, estudos e conhecimento básicos da espécie são importantes para conservação do germoplasma, evitar erosão genética além de avaliar seu potencial agroindustrial, econômico e nutracêutico.

Em trabalhos moleculares, a extração de DNA é um dos mais importantes meios para as realizações de análises, principalmente em plantas. Todo o processo requer um padrão de extração devido ao fato que muitas espécies quando submetidas ao processo padrão de extração, retém muitos contaminantes podendo interferir no resultado do DNA, dentre eles estão presentes o: polissacarídeos (LODHI, 1994,

MURAY, 1980), taninos, polifenóis (POREBSKI, 1997), alcaloides, flavonoides e terpenos (KHANUJA, 1999). Além da qualidade, podendo ocorrer à degradação do DNA, e na diluição das amostras durante a extração.

A extração de DNA de plantas envolve a lise das células vegetais por meio do tratamento com detergente e posterior separação e precipitação do DNA. A preparação do DNA das plantas pela técnica de centrifugação em gradiente de cloreto de cério produz DNA de alta pureza. Outro protocolo que tem sido largamente utilizado por sua facilidade e rapidez é aquele que usa o detergente CTAB (brometo de cetiltrimetilamônio), que libera o DNA celular e se complexa a ele. Posteriormente, o DNA é separado por meio do tratamento com isopropanol e etanol.

A padronização de técnicas de extração é importante, pois muitas vezes os procedimentos padrão não se aplicam adequadamente a todas as espécies e um protocolo direcionado para determinado grupo pode facilitar e acelerar as pesquisas e estudos. Para trabalhos de diversidade genética, além de um protocolo de extração de DNA, é exigido um grande número de indivíduos, necessitando de métodos confiáveis de armazenamento do material vegetal. Sempre que possível é indicado o uso de material fresco, entretanto, em trabalhos com populações nativas as amostras podem estar distante dos centros de pesquisa, levando por vezes tempo considerável de transporte.

O objetivo deste trabalho foi realizar a padronização de um protocolo para extração de DNA total e métodos de coleta de *Myrciaria caerulescens* coletadas nos municípios de Caetité e Lagoa Real na Bahia.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

A coleta dos materiais foi realizada em dois locais distintos na Bahia, nas cidades de Caetité (14°3'17"s e 42°28'28"w) e Lagoa Real (14°1'56"s e 42°8'27"w), municípios por onde passará a ferrovia de integração oeste leste. Foram coletadas 20 plantas em cada local, sendo que cada indivíduo foi identificado e georreferenciado (Tabela 1).

Foram coletadas folhas jovens colocadas em papel alumínio armazenados em gelo, papel alumínio com sílica e sílica no tubo de ensaio de 50 mL em seguida

receberam uma identificação alfanumérica. Posteriormente, todo o material vegetal foi levado para o Laboratório de Núcleo de Melhoramento Genético e Biotecnologia da UFRB, onde foi retirada toda sílica das amostras e em seguida foram acondicionados em ultra freezer com temperatura de -80°C até a sua utilização.

Para cada método de coleta foram testados três métodos de extração de DNA, com a finalidade de observar e definir qual o melhor método de coleta e o melhor método de extração.

Tabela 1. Localização dos indivíduos de *Myrciaria caerulescens* avaliados nos municípios de Lagoa Real e Caetité-Ba, no período de 08/03/2021 à 09/03/2021.

Nº	Genero	Família	Coletores	Latitude	Longitude	Altitude do Ponto GPS	Área da Planta	Largura da Planta	Número de Ramos
	Myrciaria	Myrtaceae	M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa	13°56'38,3 "S	042°18'2 "W			1,83	3
	Myrciaria	Myrtaceae	M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa	13°56',3 8,4 "S	042°18'2 2,7 "W			4,80	6
	Myrciaria	Myrtaceae	M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa	13°56'42,5 "S	042°18'2 9,2			1,42	2
	Myrciaria	Myrtaceae	M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa	13°56'42,9 "S	042°18'2 9,5 "W			1,15	1
	Myrciaria	Myrtaceae	M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa	13°56'38,2" S	042°18'3 4,2 "W			1,86	9
	Myrciaria	Myrtaceae	M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa	13°56'37,0 "S	042°18'3 7,7 "W			1,20	2
	Myrciaria	Myrtaceae	M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa	13°56'42,0 "S	042°18'3 6,7 "W			3,20	3
	Myrciaria	Myrtaceae	M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa	13°56'37,0 "S	042°18'4 0,5 "W			2,0	2
	Myrciaria	Myrtaceae	M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa	13°57'14,5 "S	042°18'4 7,4 "W			2,40	3
	Myrciaria	Myrtaceae	M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa	13°57'14,4" S	042°18'4 7,2 "W			2,20	3
	Myrciaria	Myrtaceae	M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa	13°57'12,1 "S	042°18'4 4,1 "W			2,0	1
	Myrciaria	Myrtaceae	M.S. De Oliveira, E.H.Souza,	13°57'10,8	042°18'4			3,0	3

	iari a	cea e	<i>H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>	"S	4,1 "w					
	Myrciaria	Myrta cea e	<i>M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>	13°57'10,4 "S	042°18'4 4,4 "w		1,50		1	
	Myrciaria	Myrta cea e	<i>M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>	13°57'10,2 "S	042°18'4 4,3 "w		1,60		5	
	Myrciaria	Myrta cea e	<i>M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>	13°57'10,1" S	042°18'4 3,8 "w		2,30		1	
	Myrciaria	Myrta cea e	<i>M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>	13°57'09,9 "S	042°18'4 3,7 "w		1,40		2	
	Myrciaria	Myrta cea e	<i>M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>	13°57'10,0 "S	042°18'4 3,2 "w		2,20		3	
	Myrciaria	Myrta cea e	<i>M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>	13°57'09,8 "S	042°18'4 3,5 "w		1,40		4	
	Myrciaria	Myrta cea e	<i>M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>	13°57'11,3 "S	042°18'4 2,8 "w		2,80		1	
	Myrciaria	Myrta cea e	<i>M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>	13°57'10,9 "S	042°18'4 2,8 "w		1,25		2	
	Myrciaria	Myrta cea e	<i>M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>	14°01'20,4 "S	042°22'3 8,5 "w		0,60		1	
	Myrciaria	Myrta cea e	<i>M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>	14°01'20,4 "S	042°22'3 8,5 "w		0,60		1	
	Myrciaria	Myrta cea e	<i>M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>	14°01'22,6 "S	042°22'37, 6		1,20		1	
	aeC.M.Costa			"w 14°02'28,7	"S042°22'42,5					
24	Myrciaria	Myrtaceae	<i>M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>			*	427	1,800,70	1	
25	Myrciaria	Myrtaceae	<i>M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>	14°02'46,9 "S	042°22'37,3 "w	*	428	1,751,10	3	
26	Myrciaria	Myrtaceae	<i>M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>		14°02'46,7 "S		042°22'37,4 "w	*	429 0,60	1,65 1
27	Myrciaria	Myrtaceae	<i>M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>	14°02'46,6 "S	042°22'37,5 "w	*	432	1,201,15	2	
		Myrtaceae	<i>M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>		14°02'45,2 "S		042°22'39,0 "w	*	433 1,60	1,0 1
30	Myrciaria	Myrtaceae	<i>M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>	14°02'45,3 "S	042°22'39,1 "w	<i>H.C.P.Moura, C.M.Costa</i>	430	0,500,70	1	
		Myrtaceae	<i>M.S. De Oliveira, E.H.Souza,</i>					14°02'48,3 "S	042°22'39,5	

"w

1,15 3

* 435 1,10

31	Myrciaria	Myrtaceae	ae	M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa	14°02'51,5"S	042°22'36,3 "w	*	0,80	1,0	2
		Myrtaceae	e	M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa	14°02'54,3"S	042°22'33,8 "w	*	436	0,55	0,40 2
33	Myrciaria	Myrtaceae	ae	M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa	14°02'54,8"S	042°22'32,1 "w	*	436	1,0	0,60 1
		Myrtaceae	e	M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa	14°02'54,7"S	042°22'31,9 "w	*	436	0,85	0,60 3
35	Myrciaria	Myrtaceae	ae	M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa	14°02'54,6"S	042°22'31,1 "w	*	437	1,400,70	3
		Myrtaceae	e	M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa	14°02'54,6"S	042°22'29,9 "w	*	437	0,60	0,60 1
37	Myrciaria	Myrtaceae	ae	M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa	14°02'54,6"S	042°22'29,9 "w	*	437	0,60	1,0 1
38	Myrciaria		a							
		Myrtaceae	e	M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa	14°02'54,4"S	042°22'29,5 "w	*	437	1,35	1,20 3
39	Myrciaria	Myrtaceae	ae	M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa	14°02'54,6"S	042°22'29,4 "w	*	437	1,951,50	3
		Myrtaceae	e	M.S. De Oliveira, E.H.Souza, H.C.P.Moura, C.M.Costa	14°02'54,5"S	042°22'35,9 "w	*	438	1,20	0,90 1

2.1 Otimização da extração do DNA:

Para extração de DNA genômico dos indivíduos coletados em campo, para os três métodos de coleta e extração das 40 amostras foram testados três protocolos no total para cada método de coleta. As folhas foram lavadas com água destilada e secas em papel toalha. Os protocolos utilizados estão descritos em estudos científicos, sendo eles Lodhi (1994), modificado por Pereira (2005), Doyle; Doyle (1987) e Murray; Tompsom (1980) a fim de definir o melhor protocolo para a extração da espécie, descrito a seguir:

Metodologia de Lodhi (1994), modificada por Pereira (2005), nas modificações foram incluídas a adição de polivinilpirrolidona, NaCl 5 M e RNase no processo e a fase da centrífuga refrigerada, acarretando em um método mais cara e demorada. A técnica foi iniciada macerando aproximadamente 0,1 g de folhas jovens com o auxílio de um cadinho e pistilo em presença de nitrogênio líquido. Em seguida as amostras já maceradas foram transferidas para microtubos de 2mL, onde foi adicionado o tampão de extração (1,4 M NaCl; 100 Mm Tris-HCl ph 8,0; 20Mm EDTA pH 8,0; 1% polivinilpirrolidona MVV 10.000, 2% CTAB e 0,4% β - mercaptoetanol), invertendo-se os tubos ocasionalmente, para melhor homogeneização. Após incubação em banho-maria a 60 °C por 25 minutos e homogeneizando das amostras ocorreram suavemente por inversão durante 5 minutos, em seguida foi retirada as amostras e deixou resfriamento até atingir a temperatura ambiente e recebeu o volume de 1 mL de clorofórmio/álcool isoamílico (24:1). Após esta etapa, a centrifugação foi realizada a temperatura ambiente com velocidade de 10621 xg por 15 minutos. A fase aquosa superior, ou seja, o sobrenadante foi transferido para novos microtubos devidamente identificados de 2,0 mL com o auxílio de uma ponteira. Na sequência, adicionou-se 0,5 volume de NaCl 5M e 2 volumes de etanol gelado. No período de 20 minutos a solução foi acondicionada a -80° C, para total precipitação do DNA e depois centrifugada à 4,460 xg por 5 minutos e em seguida centrifugado a 10,621 xg por mais 5 minutos a 4° C para formação do “pellet” (precipitado). Posteriormente, foi descartado o sobrenadante, o precipitado foi lavado com etanol 70% (quantidade suficiente para cobrir o “pellet”), centrifugando a 10,621 xg por 5 minutos a 4° C. O etanol foi removido e deixou o “pellet” de DNA secar, deixando os tubos invertidos por 20 minutos. Em seguida, o precipitado foi dissolvido em 100 μ L de solução de TE (Tris 10 mM, EDTA 1mM, pH 8,0), colocando-se 10 μ L de

RNAse à concentração de 10 mg/ml-1 e incubado a 37° C por 30 minutos. Por fim, o DNA extraído foi armazenado em freezer a temperatura de -20 °C.

O método do detergente CTAB (brometo de cetiltrimetilamônio) Doyle e Doyle (1987) com modificações foram selecionadas as folhas jovens e saudáveis, evitando áreas atacadas por pragas e doenças. As folhas foram lavadas com água corrente, em seguida secas em papel toalha. Foram maceradas 300 mg do tecido vegetal em almofariz na presença de nitrogênio líquido, em seguida o material já triturado foi transferido para microtubo de 2 mL e adicionou-se 1000 µL da solução tampão de extração a 65°C. As amostras foram homogeneizadas suavemente por inversão, durante 5 minutos. Em seguida os tubos foram incubados em banho-maria a 65°C por 45 minutos, e homogeneizados a cada 15 minutos, depois dos 45 minutos retirados do banho-maria. Adicionou-se 700 µL de clorofórmio: álcool isoamílico (24:1) e as amostras foram centrifugadas por 10 minutos a 10.000 rpm. Após a centrifugação foi retirado o sobrenadante com o auxílio de ponteiros e transferidos para outros microtubos de 2mL devidamente identificados, adicionou +- 700 µL de clorofórmio:álcool isoamílico (24:1), e vortexar rapidamente, em seguida centrifugou por 10 min a 10.000 rpm e coletou novamente o sobrenadante usando novas ponteiros e transferindo para novos tubos devidamente identificados. Ao finalizar as transferências foram adicionadas em cada amostra 450 µL de álcool isopropílico (gelado), com aproximadamente 2/3 do volume coletado, em seguida as amostras receberam homogeneização suavemente, e levadas para incubar a (-20°C) por 20 minutos e centrifugadas por 10 minutos a 10.000 rpm. Ressuspender o DNA isolado em 600 µl de tampão TE (Tris-HCl 10 Mm, Ph 8,0; EDTA 1 Mm), colocou as amostras em estufa de 37°C para que a solubilização do DNA fosse completa. Adicione 200 µL de acetato de amônio a 7,5 M. Fechar o tubo e misturar suavemente por inversão para homogeneizar a solução. Incubar no gelo por 15 minutos (cuidado para não congelar). Centrifugar por 15 minutos a 8.000 rpm. (Após estas etapas, ocorreu a transferência do sobrenadante para novos tubos de 1,5 ml) e adicionou 800 µL de etanol absoluto ao sobrenadante e realizou a mistura por inversão. Incua as amostras por 1 hora a -20°C. Centrifugar por 10 minutos a 10.000 rpm. Ao realizar todas as etapas anteriormente, foi realizada a lavagem do precipitado com etanol 70% (v/v) (±500 µL) e centrifugar novamente nas mesmas condições anteriores por 3 minutos. Após o período de 3 min secou o precipitado e dissolveu em 100 µL de tampão TE (Tris-HCl 10 Mm, Ph 8,0; EDTA 1 Mm) µL de RNAse (10mg/ml). Conservar a solução a -20°C.

Outro protocolo usado para comparar foi o método CTAB de Murray e Thompson (1980) modificado, usado os seguintes procedimentos: Foram pesados 300 mg de tecido vegetal, o material foi macerado com o auxílio de almofariz, micro pistilo e nitrogênio líquido, em seguida foi transferido o material para microtubos de 2 mL, adicionar 1000 µL da solução de extração TE (CTAB 2%; NaCl 1,4M; EDTA 0,02 M; Tris-HCl 0,1 M pH 8,0; -mercaptoetanol 1%) aquecida a (65°C +100 µL de SDS 20%), em seguida os microtubos com as amostras de DNA foram incubadas em banho-maria a 65°C durante 60 minutos, realizando a homogeneização a cada 10 minutos. Após o período de 10 minutos as amostras foram retiradas do banho-maria e deixar esfriar em temperatura ambiente. Adicionou 700 µL da solução clorofórmio: álcool isoamílico (24:1), vortex até formar emulsão e centrifugar a 10.000 rpm por 10 minutos com temperatura de 4°C. Retirou 600-700 µL do sobrenadante, foram colocados em tubos novos(1,5 mL) todos identificados, adicionou ¾ do sobrenadante, isopropanol utilizou 450 µL misturou cuidadosamente até notar a presença de uma “nuvem de DNA”, as amostras foram incubadas por 20 minutos a -20°C, centrifugar por 10 minutos a 10.000 rpm a 4°C e descartou o sobrenadante. Em seguida ocorreu a lavagem do pellet com 500 µL de etanol 70% gelado, homogeneizar e centrifugar a 10.000rpm durante 10 minutos a 4°C e descartar o sobrenadante. Após a secagem do pellet por duas horas, foi adicionado 100 µL de +2 µL de RNase em cada amostra, realizou a homogeneização e levou ao banho-maria por 30 minutos a 37°C, após finalizar o tempo indicado, foi levado à geladeira por 10 minutos. Durante a precipitação do DNA foi adicionado 20 µL de acetato de sódio 3M + 200 µL de etanol absoluto, ambos gelados, manteve em temperatura de -20°C/ 20 minutos. Em seguida o sobrenadante foi transferido para outro microtubo de 1,5 mL, centrifugar a 10.000 rpm por 10 minutos a 4°C e descartar o sobrenadante, lavou o pellet com 500 µL de etanol 70% gelado sem RNase e centrifugou por 10.000 rpm/10 minutos a 4°C. Finalizando todo o passo a passo o pellet foi levado para secar overnight em temperatura ambiente para que ocorresse a remoção do etanol. No dia seguinte ressuspender o pellet adicionando (50-100) µL de água ultra pura e conservar a -20°C.

2.2 Eletroforese:

A técnica de eletroforese horizontal em gel de agarose foi utilizada para analisar a qualidade e quantidade do DNA extraído por meio de avaliação visual comparativa das amostras do DNA com o DNA lambda. O gel de agarose foi preparado para uma concentração final de 1,0%. As amostras de DNA foram coradas com brometo de etídio que foram diluídas em TE (10 mM Tris-HCL e 1 mM EDTA, pH 8) e padronizadas em 5 ng μ L⁻¹. Foram aplicadas em um mesmo gel com 40 poços, das 40 amostras de DNA extraídas. Em cada amostra foram aplicados 0,5 μ L do DNA com 0,3 μ L do corante azul de bromofenol. O resultado da eletroforese foi visualizado com o auxílio de um transluminador do tipo LED. Foi quantificado o DNA em ng/ μ L por comparação visual com o DNA lâmbda de concentração conhecida. O teste t foi utilizado para comparar as médias de quantidade de DNA extraído pelos protocolos de extração e pelos métodos de coleta.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 AVALIAÇÃO MOLECULAR

A utilização do nitrogênio líquido durante a trituração dos materiais vegetais resultou em dados de grande relevância na qualidade e quantidade de DNA extraído de *M. caerulescens*. A trituração mecânica inicial do material vegetal consiste no congelamento do material (ROMANO; BRASILEIRO *et al.*, 1999), na praticidade e na separação do material genético, ocorrendo o isolamento devido à quebra das paredes e membranas celulares (FERREIRA; GRATTAPAGLIA 1998, KOTCHONI; GACHOMO 2009), sendo, portanto, uma etapa decisiva no processo de extração de DNA.

O isolamento do DNA das amostras obtidas influenciou na sua qualidade e quantidade avaliada de acordo com os métodos de coleta do material vegetal e os protocolos testados. Os testes para analisar a qualidade e quantificação do DNA foram realizados na eletroforese em gel de agarose. Através da eletroforese foi possível determinar os melhores métodos, sendo observado visualmente o DNA

extraído e a sua qualidade.

No âmbito de definir o melhor protocolo de extração foram testados três protocolos, entre eles Lodhi (1994), Doyle; Doyle (1987) com modificações e Murry Thompson (1980) com modificações.

A extração de DNA dos indivíduos não resultou positivamente para todas as amostras. Quando foi realizada a análise quantitativa e qualitativa, foi notado que os métodos de coleta influenciaram nos resultados, nas quais foram observadas bandas nítidas integra e até mesmo sem a presença das bandas de DNA (Figura 1).

Mediante a um estudo desenvolvido por Fulton (1995), relata que medidas devem ser adquiridas, a fim solucionar problemas recorrentes no momento da extração de DNA para evitar baixa quantidade de material genético extraído, utilizando assim, tecido foliar mais jovem. Mediante a isto, a maceração por mais tempo consiste na melhor quebra das paredes, problemas com a fixação do pellet após a centrifugação com isopropanol: onde utilizou 70% de Etanol centrifugar por alguns minutos em baixa intensidade, baixa diluição do DNA deixar o pellet ressuspenso por mais tempo, ou centrifugação do material em curto tempo, depois da utilização de isopropanol, evitando assim a contaminação da amostra por polissacarídeos se for por longo período.

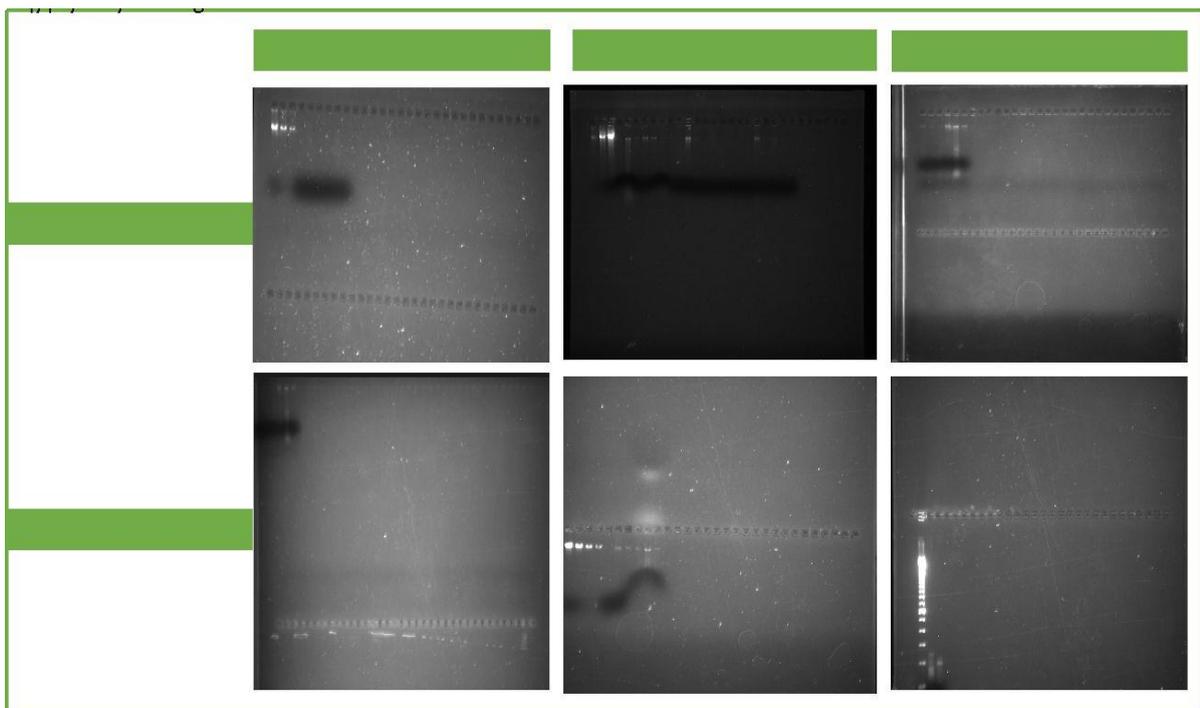


Figura 1: Quantificação em gel de agarose a 0,8% das bandas de DNA total extraído de folhas de *Myrciaria caerulescens* coletadas no município de Lagoa Real e Caetité/BA, por três métodos de coleta e testadas pelo protocolo de Doyle e Doyle e Murray e Thompson.

Doyle; Doyle (1987) em um dos protocolos se baseiam em técnicas na extração de DNA, usando o detergente CTAB (Brometo de cetiltrimetilamônio), o qual serve como ponto de partida para muitos trabalhos que acabam por modificar o protocolo originalmente (FULTON 1995, LODHI 1994, POREBSKI, 1997). Na extração se baseia no método em que utiliza o CTAB que irá atuar na solubilização das 10 membranas da célula permitindo o acesso ao DNA.

O método é dividido em três fases onde ocorrerá a: I quebra das membranas, que ocorre através da maceração e utilização do CTAB, II separação dos polissacarídeos e outras substâncias extras, feita pelo uso do clorofórmio e da centrifugação, e III a fase de precipitação e ressuspensão: através do isopropanol e do tampão TE (Tris-HCl (1M, pH:8,0)/EDTA(0,5 M, pH:8,0) (ROMANO, 1999).

Diante disto, o protocolo que obteve melhor resultado na visualização das bandas de DNA total (Figura 2) foi para a extração utilizando a metodologia descrita por Lodhi (1994), modificada por Pereira (2005), gerando melhor qualidade e maior concentração de DNA extraído, coletado no método de tubo de ensaio com sílica, com a maior presença de bandas, seguindo do método de coleta em papel alumínio com sílica para as duas localidades.

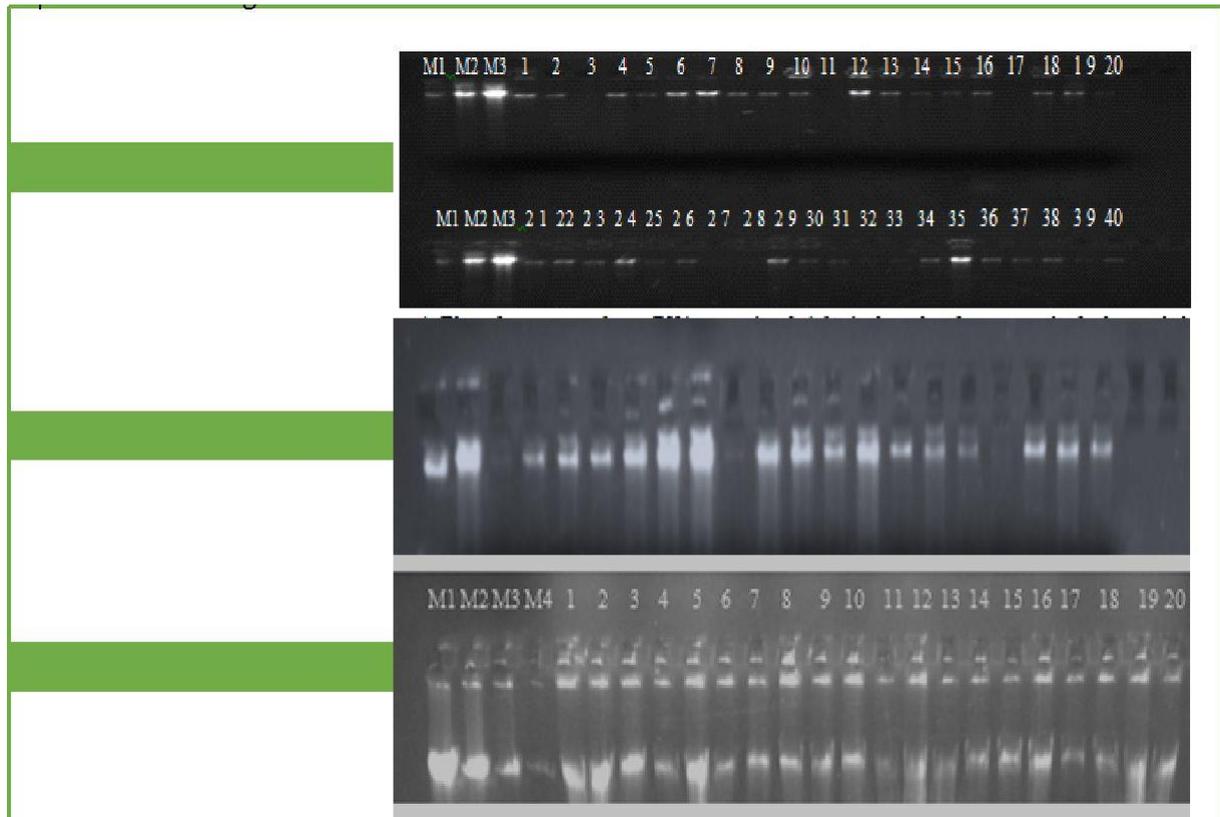


Figura 2: Quantificação em gel de agarose a 0,8% das bandas de bandas de DNA total extraído de folhas de *Myrciaria caerulescens* coletadas no município de Lagoa Real e Caetitê/BA, por três métodos de coleta e testadas pelo protocolo de Lodhi.

A partir desses resultados foi possível perceber que protocolos com base em CTAB foram eficientes para extrair o DNA, corroborando com os dados da literatura de que esse de fato é um método eficiente para espécies vegetais (AIZATE-MARIN 2009, DOYLE; DOYLE 1987, ROMANO; BRASILEIRO 1999).

Para o método de coleta observou-se que a sílica auxilia na conservação do material vegetal coletado para o transporte do local da coleta até o laboratório para as análises moleculares (Figura 3). A preservação de amostras em sílica-gel é vantajosa para conservar o material vegetal a um baixo custo, pois dispensa estruturas de refrigeração no transporte e no local de armazenamento (CHASE; HILLS, 1991). Tecidos secos em estudos moleculares são rompidos com maior facilidade, além de serem menos suscetíveis à degradação química ou enzimática, preservando desta forma o DNA com qualidade (Murray; Thompson, 1980). Vários estudos confirmam a eficácia da sílica-gel como método de armazenamento.

Estudo desenvolvido por Moraes Filho (2010) comparou o uso de material conservado em sílica-gel e material fresco conservado a frio para o gênero *Citrus*, e verificou que não houve diferença significativa. Santos *et al.*, (2007) extraiu adequadamente DNA com material conservado em sílica-gel para a espécie *Aniba rosaeodora* Ducke (Pau-rosa). Stefenon; Nodari (2003) utilizaram com sucesso a sílica-gel para Araucária. Porém o uso deste método de conservação deve ser realizado com cautela, pois, como demonstrou Feres *et al.*, (2005) a sílica-gel não foi eficaz para a obtenção de DNA de alta qualidade em folhas de plantas de várias espécies coletadas em campos rupestres, resultado comum ao encontrado neste estudo pois apesar de ser coletado sílica-gel e acondicionado em papel alumínio, a quantificação do DNA nessa forma de coleta foi inferior a coleta de sílica em tubo de ensaio. Nesse caso, a quantidade de sílica gel utilizada em cada forma de coleta pode ter sido crucial para essa diferença.

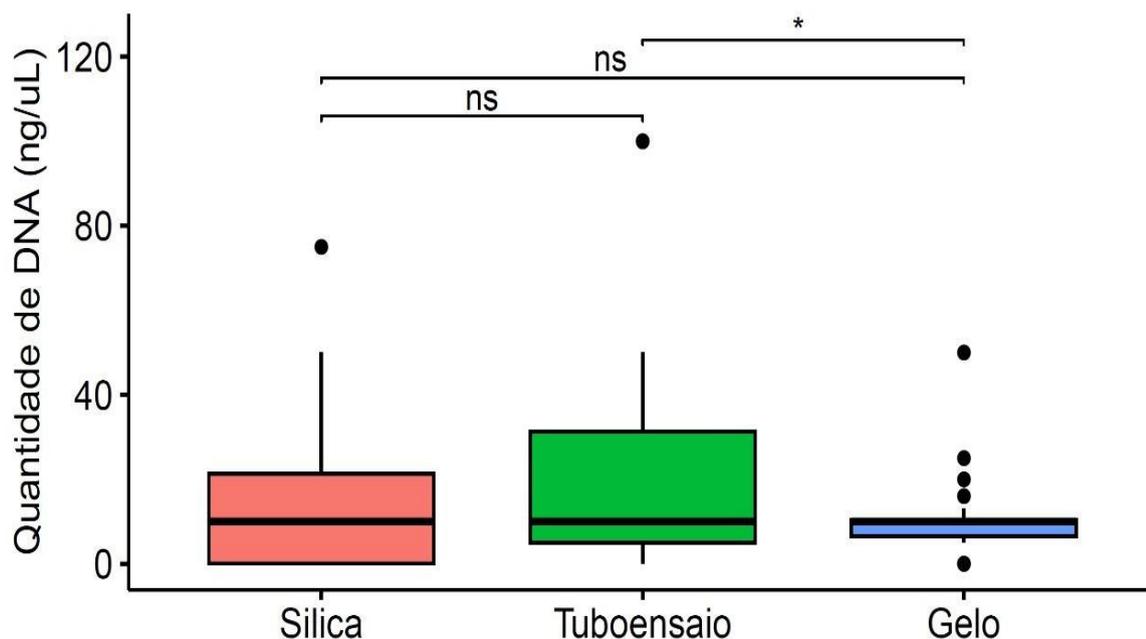


Figura 3: Teste t para médias de quantidade de DNA total (ng/ μ L) de *Myrciaria guaqueia* extraído pelo protocolo de Lodhi (1994), modificado por Pereira (2005) considerando os três métodos de coleta das folhas.

Amostras armazenadas no gelo durante o transporte não obtiveram material vegetal de qualidade para a extração, não sendo possível quantificar e visualizar a presença de bandas de DNA, as mesmas foram coletadas nos municípios de Lagoa Real e Caetité e transportadas até Cruz das Almas, uma distância de 517 km.

4. CONCLUSÃO GERAL

A partir dos três protocolos testados para a extração de DNA utilizando folhas de *Myrciaria caerulescens* foi possível determinar que a metodologia de Lodhi (1994), modificado por Pereira (2005) resultou um isolamento de DNA consideravelmente ótimo para ser usado em técnicas de biologia molecular, e suficiente para realizar ampliações.

O método de coleta utilizando sílica-gel dentro do tubo de ensaio permitiu obter material vegetal com qualidade para realizar extração de DNA, pois a sílica auxilia na

conservação do material vegetal coletado para o transporte do local da coleta até o laboratório para as análises moleculares.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALZATE-MARIN, A. L., GUIDUGLI, M.C, SORIANI, H.H, MESTRINER, C. A, MESTRINER, M.A. Um procedimento eficiente e rápido de minipreparação de DNA adequado para análises PCR/SSR e RAPD em espécies de árvores de florestas tropicais. **Arquivos Brasileiros de Biologia e Tecnologia**, v. 52, p. 1217-1224, 2009.

BRAGA, J. M. A; FERNANDES, T; DE LACERDA, M. T.C; STADNIK, A. *Myrciaria caerulescens* (Myrtaceae), uma nova espécie frutífera da Serra do Espinhaço, Brasil, com notas históricas sobre *Myrciaria guaqueia*. **Boletim Kew**, p. 1-10, 2023.

BFG - The Brazil Flora Group. Growing knowledge: an overview of seed plant diversity in Brazil. **Rodriguésia**, v. 66, n. 4, p. 1085-1113, 2015. DOI: 10.1590/2175-7860201566411.

CHASE, MARK W.; HILLS, HAROLD H. Silica gel: an ideal material for field preservation of leaf samples for DNA studies. **Taxon**, v. 40, n. 2, p. 215-220, 1991.

DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L.; HORTORIUM, L.H.B. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v.12, n.1, p.13-15, 1987.

FERES, F; SOUZA, A. P.; AMARAL, M. C.; BITTRICH, V. Evaluation of methods of Neotropical Savanna 69 70 plant samples preservation for yielding high quality DNA for molecular studies. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 28, p. 277-283, 2005.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. 1998. Introdução ao uso de marcadores moleculares. 3 ed. Brasília: **Embrapa-CENARGEN**. 220 p.

FULTON, T.M.J. CHUNWONGSE AND S.D. TANKSLEY. Microprep protocol for extraction of DNA from tomato and other herbaceous plants molecular. **Biology Reporter**, v. 13, p.207-209, 1995.

IUCN (2012). IUCN Red List categories and criteria, version 3.1, ed. 2. IUCN, Gland and Cambridge. (2022). Guidelines for Using the IUCN Red List Categories and Criteria. Version 15.1. Prepared by the Standards and Petitions Subcommittee. <http://www.iucnredlist.org/documents/RedListGuidelines.pdf>. Accessed 18 Agust. 2023].

IUCN 2008. Lista Vermelha de Espécies Ameaçadas da IUCN. <http://www.iucnredlist.org>. Acesso em: 18. set. 2023.

KHANUJA, S.P.S.A.K. SHASANY, M.P. DAROKAR; S. KUMAR. Rapid isolation of DNA from dry and fresh samples of plants producing large amounts of secondary

metabolites and essential oils molecular. **Biology Reporter** v.17, p.1-7, 1999.

KOTCHONI, SIMEON O; GACHOMO, EMMA W. A rapid and hazardous reagent free protocol for genomic DNA extraction suitable for genetic studies in plants. **Molecular biology reports**, v. 36, p. 1633-1636, 2009.

LODHI, M. A.; YE, G. N.; WEEDEN, N. F.; REISCH, B. I. A simple and efficient method for DNA extraction from grapevine cultivars, *Vitis* species and *Ampelopsis*. **Plant Molecular Biology Reporter**, Georgia, v. 12, n.1, p. 6-13, 1994.

MCVAUGH, R. The genera of American Myrtaceae, an interim report. **Taxon** v.17, n.8, p. 354-418, 1968.

MITTERMEIER, RA, TURNER, WR, LARSEN, FW, BROOKS, TM& GASCON, C. (2011) Conservação da biodiversidade global: o papel crítico dos hotspots. Hotspots de biodiversidade: distribuição e proteção de áreas prioritárias de conservação (ed. por FEZachos e JC Habel), pp.–22. Springer, Heidelberg.

MORAES-FILHO, R M.; JIMENEZ, H. J.; MARTINS, L. S. S.; MONTARROYOS, A. Y. Y.; MUSSER, R S.; FERREIRA DA SILVA, E.; MOURA DA SILVA, M. Estudo comparativo entre protocolos de extração de DNA para o gênero *Citrus*. **Star**, v.1, p.6-8, 2010.

MURRAY, M. G.; THOMPSON, W. F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. **Nucleic Acid Research**, New York, v. 8, n. 19, p. 4321-4326, 1980.

PEREIRA, M., OLIVEIRA, A.L., PEREIRA, R. E. A. Morphologic and molecular characterization of *Myrciaria* spp species. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 27, n. 3, p. 507- 510 2005.

POREBSKI, S.; BAILEY, L. G.; BAUM, B. R. Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components. **Plant Molecular Biology Reporter**, v.15, p.8-15, 1997.

ROMANO, E.; BRASILEIRO, A. C. M. Extração de DNA de plantas. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, v.9, p.40-43, 1999.

ROMANO, E.; BRASILEIRO, A.C.M. Extração de DNA de plantas. **Biotecnologia**, v.2, Mn. 9, p.40-43, 1999.

SANTOS, R. P.; ANGELO, P. C. D. S.; QUISEN, R. C.; OLIVEIRA, C. L.; SAMPAIO, P. D. T. B. RAPD em Pau-rosa (*Aniba rosaeodora* Ducke): adaptação do método para coleta de amostras in situ, ajuste das condições de PCR e apresentação de um processo para selecionar bandas reprodutíveis. **Acta Amazonica**, v. 37, n. 2, p.253-259. 2007.

SOBRAL, M.; SOUZA, M.C. Two new species of *Eugenia* (Myrtaceae) from Coastal Brazilian Rainforest. **Novon**, v.23, n4, p.442-446, 2015.

SOBRAL, M; PROENÇA, C. E.B. *Siphoneugena delicata* (Myrtaceae), uma nova

espécie da Mata Atlântica Montanhosa do Sudeste do Brasil. **Novon: A Journal for Botanical Nomenclature** , v. 4, p. 530-532, 2006.

STEFENON, V M.; NODARI, R O. Marcadores moleculares no melhoramento genético de araucária. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**. Edição nº, v. 31, p. 95, 2003.