



16<sup>o</sup> Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA  
16 e 17 de agosto de 2012  
Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA

## VARIABILIDADE GENÉTICA EM GERMOPLASMA DE TUCUMÃ-DO-AMAZONAS PROCEDENTE DE MAUÉS, AM POR MARCADORES RAPD

Eliciany de Nazaré Miranda Sanches<sup>1</sup>, Maria do Socorro Padilha de Oliveira<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Bolsista da Embrapa Amazônia Oriental, Laboratório de Genética molecular, elydoors@hotmail.com

<sup>2</sup> Pesquisadora da Embrapa Amazônia Oriental, Laboratório de Genética molecular, spadilha@cpatu.embrapa.br

**Resumo:** Objetivou-se quantificar a variabilidade em germoplasma de tucumã-do-amazonas procedente de Maués, AM por marcadores RAPD. Assim, foram escolhidas ao acaso quinze amostras de DNA de tucumã-do-amazonas conservada no banco de DNA da Embrapa Amazônia Oriental, em Belém, PA. Após a quantificação e diluição, as amostras foram usadas em reações PCR-RAPD com a aplicação de 14 *primers* selecionados para a espécie. Os produtos amplificados foram organizados em uma matriz binária, a qual foi utilizada na obtenção das similaridades genéticas pelo coeficiente de Jaccard, sendo agrupadas em dendrograma pelo método UPGMA. Foram amplificadas 103 bandas, sendo 85 polimórficas e com média de 7,35 bandas por *primer*. As similaridades genéticas variaram de 0,47 a 0,79, com média de 0,60 expressando razoável variabilidade na amostra avaliada. O dendrograma gerado permitiu a formação de quatro grupos com vários subgrupos. O valor cofenético foi alto ( $r=0,75$ ), inferindo alta confiabilidade na formação dos grupos. pode-se concluir que a amostra do germoplasma de tucumã-do-Amazonas analisada apresenta considerável variabilidade genética.

**Palavras-chave:** Palmeira, *Astrocaryum tucuma*, polimorfismo, similaridade genética.

### Introdução

O tucumã-do-amazonas (*Astrocaryum tucuma* Mart.) é uma palmeira perene, monocaule, que alcança mais de 25 metros de altura, possuindo espinhos em várias partes da planta, principalmente, ao longo do estipe. Sua área de ocorrência natural é a Amazônia Ocidental, mais precisamente nos Estados do Amazonas, Acre, Rondônia, Roraima, e em algumas partes do Pará, no Peru e na Colômbia (SHANLEY; MEDINA, 2005). Os frutos e as sementes dessa palmeira são utilizados na alimentação humana e de animal e, atualmente, vem sendo indicada como uma alternativa ao mercado de biodiesel (OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2009). Porém, para que se possa investir em plantios racionais que visem à domesticação e máxima produtividade dessa espécie, há a necessidade de realizar pesquisas em germoplasma disponíveis em vários locais.

Marcadores moleculares têm sido usados para acessar o genótipo e a variabilidade do DNA nas plantas, destacando-se os produzidos por *primers* RAPD (MILACH, 1998). Esses marcadores vêm sendo aplicados com frequência na caracterização de germoplasma de espécies pouco conhecidas.



O objetivo desse trabalho foi quantificar a variabilidade genética em germoplasma de tucumã-do-amazonas procedente de Maués, AM com base em marcadores RAPD.

### **Material e Métodos**

Foram escolhidas ao acaso quinze amostras de DNA genômico de *A. tucuma*, coletadas em Maués, AM e que se encontram conservadas sob baixa temperatura (- 80°C) no banco de DNA da Embrapa Amazônia Oriental, em Belém, PA. As amostras foram descongeladas, quantificadas em gel de agarose a 1% e diluídas para 10 ng/μl.

As reações de PCR-RAPD foram preparadas para as 15 amostras com o uso de 14 *primers* RAPD (Tabela 1), contendo volume final de 15 μl, conforme Oliveira e Oliveira (2009). Os produtos obtidos foram aplicados em gel de agarose a 1%, corado com brometo de etídio, e separados por eletroforese horizontal, conduzida a 110 V por 1:30 horas. Os géis foram visualizados em fotodocumentador, as imagens impressas para a contagem das bandas e os dados codificados em presença= 1 e a ausência= 0 para a obtenção da matriz binária.

As estimativas de similaridades genéticas ( $\hat{g}_{ij}$ ) entre o i-ésimo e o j-ésimo par de genótipos foram calculadas pelo coeficiente de Jaccard e realizadas no software NTSYS-pc 2.1. A matriz de similaridades genéticas foi utilizada na geração do dendrograma no procedimento SAHN pelo método UPGMA e a consistência dos agrupamentos foi estimada no mesmo software.

### **Resultados e Discussão**

Os 14 *primers* utilizados produziram um total de 103 marcadores moleculares, sendo 85 deles polimórficos, o que corresponde a 82,52% de polimorfismo, sugerindo alta variabilidade na amostra avaliada. O *primer* OPJ-13 apresentou o maior número de polimorfismo, apresentando 100% de suas bandas polimórficas, enquanto o menor número ocorreu no *primer* OPU-05 com duas bandas polimórficas, com número médio de bandas polimórficas por *primer* de 6,07 (Tabela 1). Oliveira e Oliveira (2009), ao selecionarem *primers* RAPD para esta espécie obtiveram um número maior de bandas na aplicação de 21 *primers* em cinco genótipos de Urucará, MA, ou seja 157 bandas, sendo 102 polimórficas, mas a porcentagem de polimorfismo foi menor (64,97 %). Enquanto, Costa *et al* (2010) encontraram 162 bandas polimórficas, trabalhando com 24 *primers* em quinze genótipos de tucumã-do-pará tipo laranjado oriundos de diferentes localidades. Tais resultados fornecem indícios de considerável variabilidade genética na amostra procedente de Maués, AM.



16<sup>o</sup> Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA  
16 e 17 de agosto de 2012  
Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA

<i>Primers</i>	Bandas amplificadas	Bandas polimórficas	Bandas monomórficas
OPA-07	9	8	1
OPA-09	5	5	0
OPA-15	4	4	0
OPAB-01	9	7	2
OPAB-02	9	7	2
OPAB-04	5	4	1
OPAB-11	8	8	0
OPAB-15	5	4	1
OPBA-10	10	7	3
OPU-19	7	6	1
OPU-11	9	6	3
OPO-03	7	7	0
OPJ-13	10	10	0
OPU-05	6	2	4
Total	103	85	18
Média	7,35	6,07	1,28

A maior similaridade ocorreu entre os genótipos 11 e 12 (0,79), enquanto a menor entre os genótipos 2 e 11 (0,47), com similaridade genética geral média de 0,60 (Tabela 2). Percebe-se que dos 105 pares de genótipos, 47% apresentaram valores de similaridade genética abaixo da média geral, reforçando ainda mais a divergência entre eles, o que permite inferir que na amostra avaliada há variabilidade a ser aproveitada em programa de melhoramento genético.

O dendrograma formou quatro grupos distintos com vários subgrupos (Figura 2) sendo separados com base na similaridade genética média ( $Sg_m=0,60$ ). O grupo I formado por cinco genótipos; o II formado por um genótipo, o 2 ; o III por sete genótipos, sendo os genomas do 11 e 12 similar em 79 %; e o IV formado por dois genótipos. A correlação cofenética foi alta ( $r= 0,75$ ) evidenciando alta confiabilidade na formação dos grupos.

### **Conclusão**

O germoplasma de tucumã-do-amazonas procedente de Maués, AM possui considerável polimorfismo e variabilidade genética em seus genomas, estando distribuída em quatro grupos.

### **Agradecimentos**

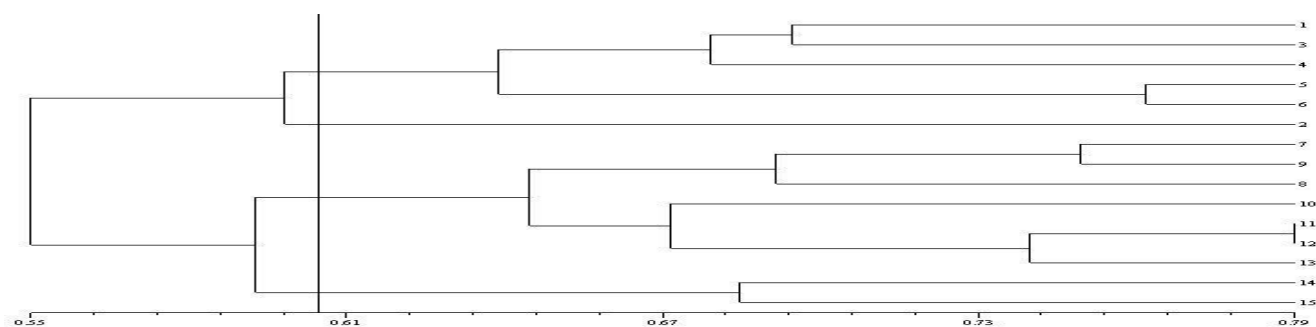
À equipe do laboratório de genética molecular da Embrapa Amazônia Oriental, pelo auxílio na obtenção dos dados, e à Embrapa Amazônia Oriental, pela concessão da bolsa de projeto.



16<sup>o</sup> Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA  
16 e 17 de agosto de 2012  
Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA

**Tabela 2:** Similaridades genéticas entre 15 genótipos de tucumã-do-amazonas procedentes de Maués, AM e conservados no Banco de DNA da Embrapa Amazônia Oriental com base em 103 marcadores RAPD.

Genótipos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	1														
2	0,63	1													
3	0,69	0,66	1												
4	0,67	0,55	0,69	1											
5	0,65	0,61	0,65	0,67	1										
6	0,60	0,54	0,64	0,62	0,76	1									
7	0,48	0,51	0,57	0,63	0,64	0,61	1								
8	0,51	0,51	0,55	0,57	0,62	0,67	0,68	1							
9	0,60	0,56	0,56	0,59	0,63	0,65	0,75	0,70	1						
10	0,52	0,48	0,48	0,49	0,52	0,59	0,65	0,56	0,72	1					
11	0,51	0,47	0,53	0,54	0,53	0,51	0,68	0,53	0,62	0,66	1				
12	0,50	0,49	0,52	0,53	0,59	0,53	0,73	0,56	0,65	0,69	0,79	1			
13	0,58	0,56	0,60	0,52	0,61	0,60	0,67	0,62	0,71	0,67	0,72	0,75	1		
14	0,54	0,52	0,56	0,47	0,57	0,52	0,51	0,50	0,59	0,57	0,68	0,61	0,69	1	
15	0,59	0,51	0,57	0,47	0,58	0,57	0,54	0,51	0,60	0,59	0,62	0,58	0,71	0,68	1



**Figura 2:** Agrupamento dos 15 genótipos de tucumã-do-amazonas pelas estimativas de similaridades genéticas com a aplicação de 103 marcadores RAPD, definido pelo critério de agrupamento UPGMA, com base no coeficiente de Jaccard.

### Referências Bibliográficas

- COSTA, J.; M. do S.P. de (2010). **Similaridade genética entre genótipos de tucumã tipo laranjado por marcadores RAPD**. Seminário de iniciação científica da EMBRAPA.
- MILACH, S. C. K. Principais tipos de marcadores moleculares e suas características. In: MILACH, S. C. K. **Marcadores moleculares em plantas**. Porto Alegre: UFRGS, 1998. p. 17-28.
- OLIVEIRA, N. P. de; OLIVEIRA, M. do S. P. de. **Seleção de primers RAPD para a caracterização molecular de germoplasma de tucumã-do-amazonas (*Astrocaryum tucuma* Mart.)**. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRA, 7 E DA EMBRAPA: 2009, Belém,Pará. Pesquisa e desenvolvimento tecnológico na formação do jovem cientista: **Anais...** Belém,Pará : UFRA: CPATU, 2009. 1 CD-rom: color. 4 3/4 pol. ISSN 2176-6630. 3 p.
- SHANLEY, P; MEDINA, G. **Frutíferas e plantas úteis na vida amazônica**. Belém: CIFOR, 2005.300p.