



## DIVERGÊNCIA GENÉTICA ENTRE GENÓTIPOS DE ESPÉCIES DO GÊNERO *ASTROCARYUM* BASEADA EM MARCADORES RAPD

**Resumo:** Quantificou-se a divergência genética entre genótipos de duas espécies do gênero *Astrocaryum* por marcadores RAPD. Para tanto foram selecionadas ao acaso quinze amostras de DNA total de *A. aculeatum*, coletadas em Maués, AM, e quinze amostras de *A. vulgare*, coletadas em Salvaterra, PA e, conservadas no banco de DNA da Embrapa Amazônia Oriental. As 30 amostras foram quantificadas em gel de agarose e, em seguida em reações PCR-RAPD com a utilização de 16 *primers* selecionados para cada espécie. A contagem dos produtos amplificados foi feita nos *primers* coincidentes e que geraram polimorfismo nas duas espécies. A matriz binária obtida foi utilizada na quantificação das similaridades genéticas no programa NTSYS utilizando o coeficiente de DICE, sendo agrupadas em dendrograma pelo método UPGMA. Cinco *primers* foram coincidentes entre as espécies e amplificaram 58 bandas, com média de 11,6 bandas por *primer*, sendo 100% polimórficas. As similaridades variaram de 0,216 a 0,964 com média de 0,61 demonstrando boa divergência entre os pares de genótipos. O dendrograma separou dois grupos com vários subgrupos, de alta confiabilidade ( $r = 0,82$ ). Os genótipos das espécies de *Astrocaryum* analisados apresentam considerável divergência dentro das espécies.

**Palavras-chave:** Polimorfismo, palmeiras, *A. aculeatum*, *A. vulgare*, similaridade genética.

### Introdução

O tucumã (*Astrocaryum aculeatum*) é uma espécie da família Arecaceae amplamente distribuída na Amazônia Oriental (OLIVEIRA et al., 2003). De seus frutos é extraída uma polpa muito utilizada para a fabricação de sorvetes, sucos, doces, além da extração de óleos comestíveis (GENTIL et al., 2005). Apesar de sua importância à população amazônica, poucos estudos têm sido realizados com o objetivo de promover sua domesticação e melhoramento.

Marcadores moleculares têm sido utilizados para várias finalidades, dentre elas a quantificação da diversidade, da divergência e da variabilidade genética, sendo a interpretação é feita por meio de medidas de similaridade ou dissimilaridade e quase sempre visualizada por métodos de agrupamento (FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1995). Vários marcadores moleculares estão disponíveis essas finalidades, dentre eles os que usam a técnica PCR (*Polymerase Chain Reaction*), como o RAPD



(*Random Amplified Polymorphic DNA*), por serem aplicados em qualquer espécie, decâmeros, de seqüência única e gerarem alto polimorfismo (MILACH, 1998). Em vista dessas características esses tipos marcadores têm sido utilizados com freqüência na genotipagem de espécies pouco conhecidas.

O objetivo desse trabalho foi quantificar a divergência genética entre genótipos de espécies do gênero *Astrocaryum* com base em marcadores RAPD.

### Material e Métodos

Foram escolhidas ao acaso quinze amostras de DNA genômico de *A. aculeatum*, coletadas em Maués, AM, e quinze amostras de *A. vulgare*, coletadas em Salvaterra, PA, as quais se encontram conservadas sob baixa temperatura (- 80°C) no banco de DNA da Embrapa Amazônia Oriental, em Belém, PA. As 30 amostras foram descongeladas e quantificadas em gel de agarose a 1%.

As genotipagens das 30 amostras de DNA foram feitas por reações de PCR-RAPD com o uso de 16 *primers* selecionados para cada espécie. As reações foram preparadas em microtubos de ependoff de 0,2ml contendo volume final de aproximadamente 15 µl, conforme Oliveira et al. (2007) e colocadas em termociclador BIOGENEES programado para 40 ciclos. Os produtos amplificados revelados em gel de agarose a 1%, corado com brometo de etídio, e separados por eletroforese horizontal com voltagem constante de 110 V por 1 hora e 30 minutos. Os géis foram visualizados em fotodocumentador e as imagens capturadas em meio magnético.

A matriz binária foi obtida pela contagem dos produtos amplificados nos *primers* coincidentes e que geraram polimorfismo nas duas espécies. As estimativas de similaridades genéticas ( $\hat{g}_{ij}$ ) entre o *i*-ésimo e o *j*-ésimo genótipo, foram feitas no software NTSYS-pc 2.1 (ROHLF, 2000) com o uso do coeficiente de DICE, e o dendrograma pelo método UPGMA. A consistência dos agrupamentos formados foi feita pela correlação cofenética neste mesmo software.

### Resultados e Discussão

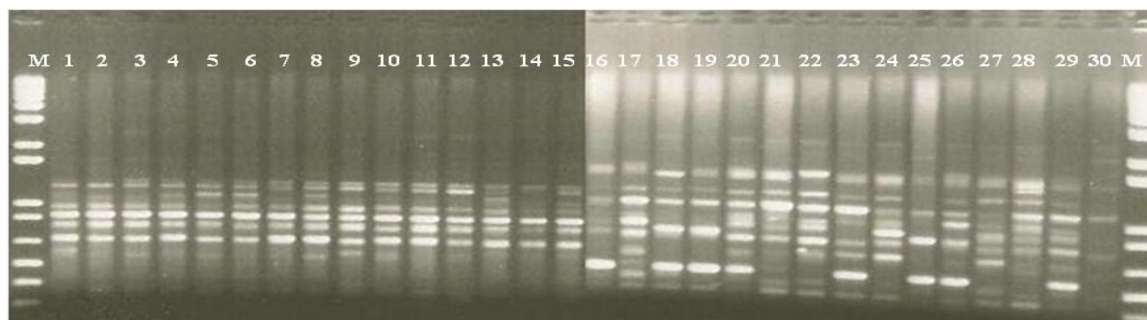
Cinco *primers* RAPD utilizados foram coincidentes na amplificação de produtos nas amostras das duas espécies e produziram 58 bandas, com média de 11,6 bandas por primer, sendo todas polimórficas (Tabela 1). Na Figura 1, constam os produtos gerados pelo *primer* OPAB-01.

A maior similaridade ocorreu entre os genótipos 11 e 12 ( $\hat{g}_{ij} = 0,964$ ) e, a menor entre os genótipos 2 e 16 ( $\hat{g}_{ij} = 0,216$ ) com média de 0,61. Dos genótipos avaliados 43% apresentaram similaridades abaixo da média geral, o quê demonstra considerável divergência entre eles.



**Tabela 1.** Número de bandas e polimorfismo gerado por cinco iniciadores RAPD utilizados na amplificação de duas espécies de tucumazeiros (*A. vulgare* e *A. aculeatum*) conservadas no BAG – Tucumã.

Nome do iniciador RAPD	Nº de bandas		Polimorfismo (%)
	Monomórficas	Polimórficas	
OPAB-01	0	14	100
OPAB-04	0	9	100
OPJ-13	0	16	100
OPO-03	0	10	100
OPU-05	0	9	100
TOTAL	0	58	-
Média	0	11,6	100

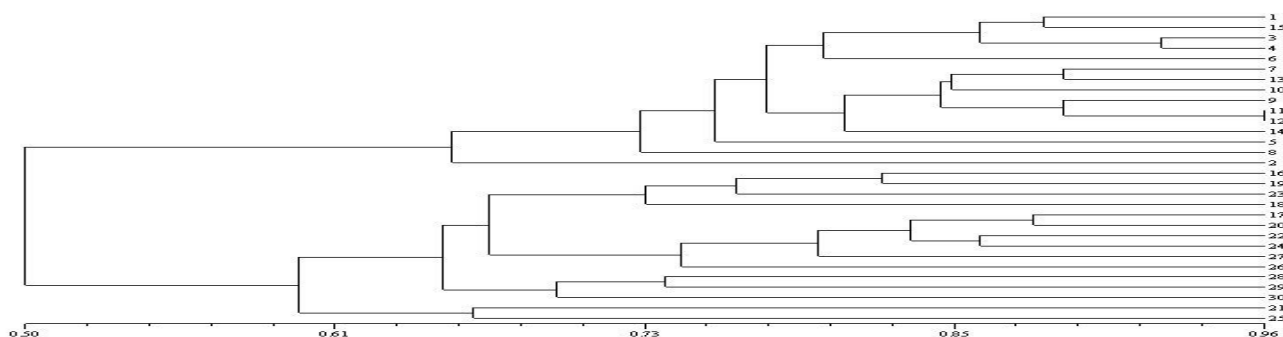


**Figura 1.** Produtos da amplificação RAPD em genótipos de duas espécies de tucumazeiros conservadas no BAG – Tucumã e gerados pelo iniciador OPAB-01. M: Marcador de peso molecular de 100pb; 1 a 15: (*A. vulgare*); 16 a 30: (*A. aculeatum*).

O dendrograma separou dois grupos com vários subgrupos (Figura 2). O grupo I constituído por todos os genótipos da espécie *A. vulgare* e representantes de Salvaterra; e o grupo II pelos genótipos de *A. aculeatum*. A correlação cofenética foi alta ( $r= 0, 82$ ) evidenciando alta confiabilidade na separação dos grupos. Tais resultados fornecem indícios de alta divergência entre os genótipos da mesma espécie e possibilidade de discriminar espécies com o uso desses marcadores.

### Conclusão

Os genótipos das espécies do gênero *Astrocaryum* caracterizados por marcadores RAPD apresentam considerável divergência, estando distribuída em dois grupos de vários subgrupos.





**Figura 2.** Similaridades genéticas entre as 30 amostras de DNA das espécies *A. aculeatum* e *A. vulgare* por meio de 58 marcadores RAPD, definida pelo critério de agrupamento UPGMA, com base no coeficiente de Dice.

### Agradecimentos

Aos assistentes de pesquisa do Laboratório de Genética Molecular da Embrapa Amazônia Oriental, pelo apoio nas reações PCR-RAPD e à Embrapa Amazônia Oriental, pelo financiamento do trabalho e concessão de bolsa ao primeiro autor.

### Referências

- FERREIRA, M.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores RAPD em análise genética**. 2. ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 1995. 220p.
- GENTIL, D. F. O; FERREIRA, S. A. N. **Morfologia da plântula em desenvolvimento de *Astrocaryum aculeatum* Meyer (Arecaceae)**. Acta Amazonica, VOL. 35(3), p.337 – 342. 2005.
- 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; MOURA, E. F. **Seleção de marcadores RAPD para análise genética em germoplasma de tucumã-do-Pará (*Astrocaryum vulgare* Mart.)**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORA-MENTO DE PLANTAS, 5., 2009, Guarapari. **Anais...** Vitória: Incaper, 2009. v. 1, p. 1-4. CD-ROM
- 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 tucumã* 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: Embrapa Amazônia Oriental, 2009. 1 CD-rom: color. 4 3/4 pol. ISSN 2176-6630. 3 p.
- VICENTE, M.C. de; GUZMÁN, F.A.; ENGELS, J.; RAMANATHA RAO, V. Genetic Characterization and its use in decision making for the conservation of crop germplasm. In: THE ROLE OF BIOTECHNOLOGY, 2005, Turin. **Proceedings...** Turin, 2005. p.121-128.