



VARIABILIDADE GENÉTICA EM AÇAIZEIRO (*Euterpe oleracea*) POR MICROSSATÉLITES

COSTA, M.R; OLIVEIRA, M. DO S. P. DE; NASCIMENTO, S.V. DO ; SILVA, C. DOS. A. DA.

Resumo:

Considerando a importância da manutenção da variabilidade genética em programas de seleção visando ao melhoramento genético em uma espécie, desenvolveu-se este trabalho cujo objetivo foi observar o plimorfismo gerado por marcadores microssatélites em genótipos de açaizeiro pré-selecionados. O material analisado foi composto de vinte e sete genótipos e as amplificações foram feitas pela técnica da PCR. Os resultados mostraram a manutenção da heterozigosidade e variabilidade a ser explorada no melhoramento genético do açaizeiro.

Palavras-chave: marcadores moleculares, variabilidade, recursos genéticos.

Introdução

O açaizeiro é uma espécie vegetal de extrema importância econômica no Estado do Pará, sendo indispensáveis estudos que viabilizem a sua caracterização genética, a fim de direcionar programas de melhoramento nesta espécie e o monitoramento da sua variabilidade. Desta forma, o objetivo deste trabalho consistiu em realizar a análise da variabilidade de genótipos de açaizeiro pré-selecionados, com marcadores microssatélites, visando subsidiar o programa de melhoramento genético desta espécie em andamento na Embrapa Amazônia Oriental.

Material e Métodos

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletados folíolos jovens de 27 genótipos de açaizeiro tipo violáceo selecionados para produção de frutos e teor de antocianina em um ensaio de progênies de polinização livre instalado em Santa Izabel de Pará para a extração de DNA genômico. Após a extração as 27 amostras foram quantificadas em gel de agarose a 1% corado com brometo de etídio utilizando-se três padrões de DNA do fago λ (50, 100 e 200 ng. μl^{-1}) e diluídas em TE para a concentração de 10 ng. μl^{-1} .

As amostras foram genotipadas para sete locos SSR transferíveis de *E. edulis* para *E. oleracea* (GAIOTO et al., 2001) e usados com sucesso por Oliveira et al. (2010). O volume das reações foi de



17µL, constituído por: (35 ng de DNA genômico total; 50 µM de cada dNTP; 0,18µM de cada par de loco (*Foward* e *Reverse*); 10 mg.ml⁻¹ de BSA; 1 unidade de Taq polimerase; e tampão contendo MgCl₂. As ampliações foram realizadas em termociclador My Genie™ 96 Gradient Th, programado conforme Oliveira et al. (2010). Os produtos da amplificação foram separados em gel de poliacrilamida a 6%, por eletroforese vertical por 1:45 horas e revelados em nitrato de prata. Depois, foram escaneados, as imagens armazenadas para contagem dos alelos e, posteriormente lidas como bandas para a obtenção da matriz binária.

O nível de polimorfismo em cada tipo foi obtido no software TFPGA v. 1,3. O conteúdo de informação de polimorfismo (PIC) com base na equação: $PIC = 1 - \sum_{i=1}^t p_i^2 - 2 \sum_{i=j+1}^t \sum_{j=1}^{t-1} p_i^2 p_j^2$, onde p_i e p_j são as freqüências do i -ésimo e do j -ésimo alelos em um loco com t alelos em cada tipo. As estimativas de similaridades genéticas foram obtidas pelo coeficiente de Jaccard e agrupadas por genótipos de cada cada tipo no procedimento SAHN do software NTSYS-pc 2.1 pelo método UPGMA

Resultados e Discussão

Todos os sete locos SSR foram polimórficos, de fácil identificação nos géis (Figura 1) e amplificaram 39 alelos, com variação de 2 a 10 alelos por loco e média de 5,6 alelos (Tabela 1).

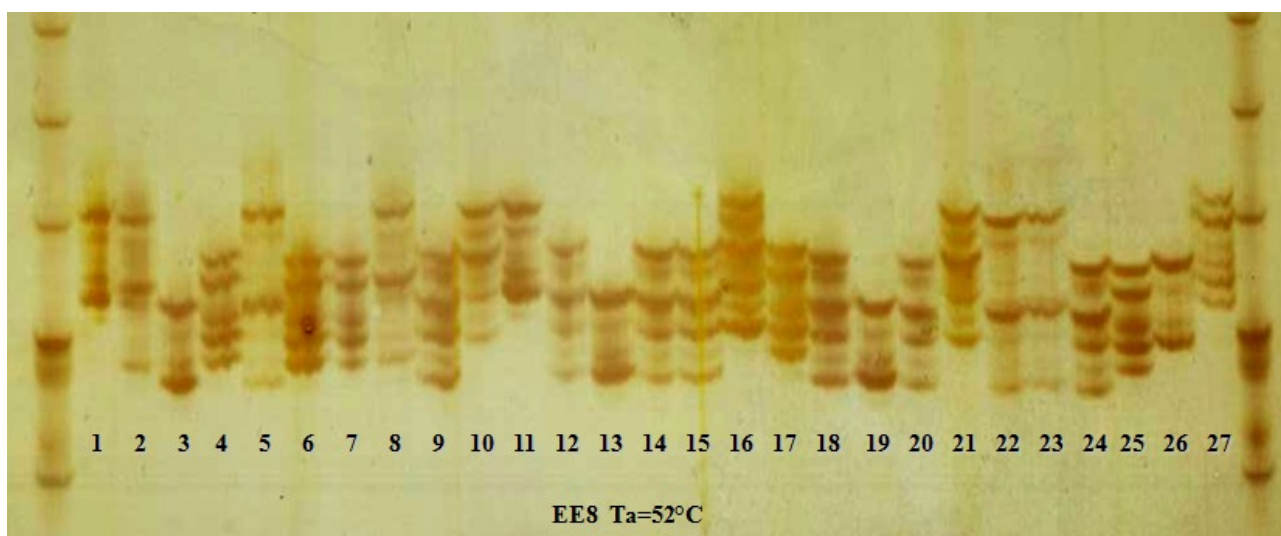


Figura 1- Perfil de um gel de poliacrilamida com o loco EE8 contendo os alelos amplificados nos 27 genótipos de açazeiro tipo violáceo selecionados em Santa Isabel do Pará.

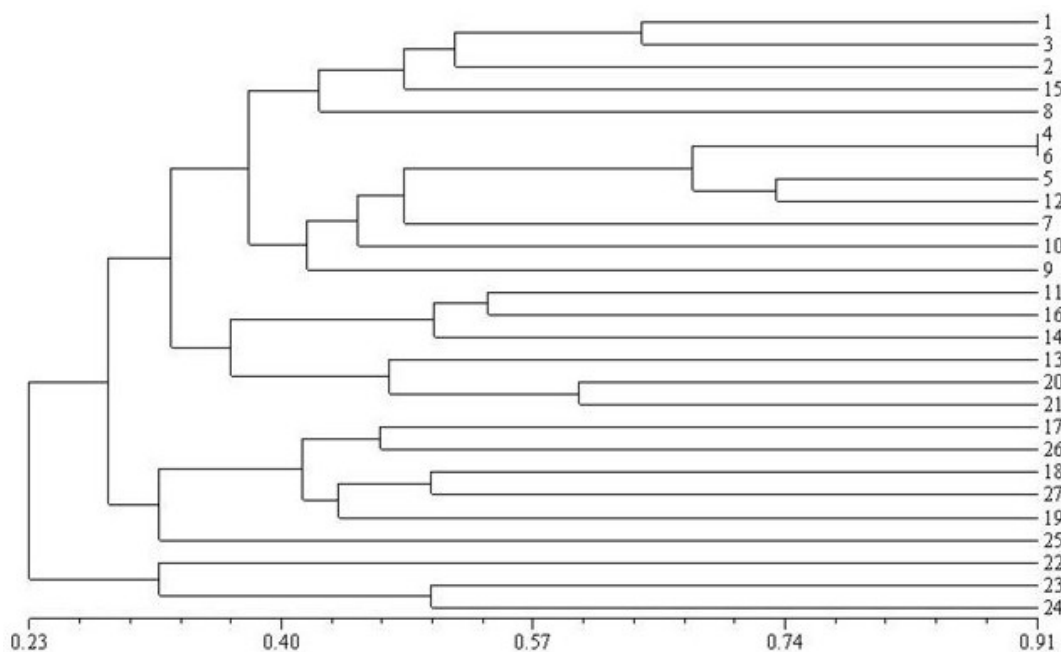


Tabela 1- Caracterização do nível de polimorfismo nos 27 genótipos de açaizeiro do tipo violáceo selecionados em Santa Izabel do Pará com base nos sete pares de locos microssatélites.

Locos	Ta (°C)	Tipo Violáceo (n=27)		
		Nº alelos	Ho	PIC
EE2	62	2	0,88	0,49
EE3	58	3	0,85	0,58
EE8	52	10	0,96	0,88
EE15	54	8	0,37	0,83
EE23	58	3	0,46	0,56
EE43	56	6	0,41	0,76
EE54	56	7	0,67	0,81
Total	-	39	-	-
Média	-	5,6	0,66	0,70

Ta: temperatura de anelamento; Ho: heterozigidade observada; ¹: conteúdo de informação de polimorfismo.

Figura 2- Dendrograma obtido a partir da análise dos dados binários. Belém, PA.





Conclusões

Os níveis de heterozigosidade obtidos mostraram haver manutenção da variabilidade no germoplasma avaliado mesmo após a seleção para caracteres produtivos.

Referências Bibliográficas

FERREIRA, M.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores RAPD em análise genética**. 2. ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN. 220p. 1995.

OLIVEIRA, M. do S. P. de; SANTOS, J. B. dos; AMORIM, E. P.; FERREIRA, D.F. Variabilidade genética entre acessos de açaizeiro utilizando marcadores microsatélites. **Ciência & Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 5, 1253-1260. 2010.

CONTE, R.; REIS, M.S.; VENCOVSKY, R. Effects of management on the genetic structure of *Euterpe edulis* Mart. populations based on microsatellites. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v.72, p.81-88, 2006.

GAIOTTO, F. A.; GRATTAPAGLIA, D.; VENCOVSKY, R. Genetic structure, mating system, and long-distance gene flow in heart of palm (*Euterpe edulis* Mart.) **Journal Heredit**, Carey, v.94, p.399-406, 2003.