



VARIABILIDADE GENÉTICA ENTRE MATRIZES DE TUCUMANZEIRO ORIUNDAS DE MAZAGÃO-AP POR MACADORES SSR.

Eliciany de Nazaré Miranda Sanches¹, Maria do Socorro Padilha de Oliveira²

¹ Bolsista da Embrapa Amazônia Oriental, Laboratório de Genética molecular, any.mirandasanches@gmail.com

² Pesquisadora Embrapa Amazônia Oriental, Laboratório de Genética molecular, socorro-padilha.oliveira@embrapa.br

Resumo: Conduziu-se este trabalho, com o objetivo de quantificar a variabilidade genética entre matrizes de tucumanzeiro (*Astrocaryum vulgare* Mart.) oriundas de Mazagão, PA por marcadores SSR. Para tanto foram retirados folíolos de 30 matrizes representantes de uma população de tucumanzeiro ocorrente no Município de Mazagão, PA para a extração e quantificação de DNA genômico. Como não há locos SSR desenhados para a espécie em foco, as reações de PCR foram feitas com o uso de oito locos SSR desenvolvidos para *Bactris gasipaes* que apresentaram transferibilidade. Os dados foram transformados em matriz binária para a obtenção da similaridade genética obtida pelo coeficiente de Jaccard. Os oito locos SSR produziram um total de 26 alelos, com média de 3,25 alelos por loco. O conteúdo de informação de polimorfismo (PIC) variou de 0 a 0,68 com média de 0,47 e a heterozigosidade observada (H_o) atingiu 0,67. A similaridade genética média entre as 30 matrizes foi de 0,59, variando de 0,24 a 1. Os resultados demonstram certa perda de variabilidade genética nas matrizes da população de Mazagão estudada.

Palavras-chave: *Astrocaryum vulgare*, marcadores moleculares, recursos genéticos.

Introdução

O tucumã (*Astrocaryum vulgare* Mart.) é uma palmeira nativa do norte da América do Sul, possivelmente do estado do Pará, expandindo-se até a Guiana Francesa e Suriname (CAVALCANTE, 1996). A polpa processada é usada na fabricação de refrescos, licor, sorvete e picolé, além de ser usada na fabricação de ração animal (MENDOÇA, 1996), sendo poderosa fonte de vitamina A, além de conter ácidos graxos saturados e glicerídeos trissaturados, com potencial para a indústria de cosméticos, medicamentos e como alternativa para o mercado de biodiesel. Apesar do potencial nutritivo, energético e fármaco-cosmético apresentado por essa palmeira, poucos estudos têm sido desenvolvidos com o intuito de obter informações que contribuam para a sua domesticação.

Marcadores moleculares têm sido utilizados para várias finalidades, dentre elas a quantificação da diversidade, da divergência e da variabilidade genética, sendo a interpretação feita por meio de



medidas de similaridade ou dissimilaridade e quase sempre visualizada por métodos de agrupamento (FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1995). Marcadores SSR ou microssatélites são unidades muito curtas (2 a 5pb) repetidas em *tandem*, ou seja, uma após a outra, e envolve a amplificação dos microssatélites via PCR, utilizando-se *primers* específicos (geralmente de 20 a 25pb), limitando o uso em larga escala dos marcadores SSR por ser um processo trabalhoso e caro (FALEIRO, 2007).

O objetivo deste trabalho foi caracterizar a variabilidade genética por meio de marcadores microssatélites entre matrizes de tucumanzeiro procedentes de Mazagão, AP.

Material e Métodos

Foram usadas amostras de DNA genômico extraídas de 30 matrizes representantes de uma população de *A. vulgare*, oriundas de Mazagão, AP, conservadas sob baixa temperatura (- 80°C) no banco de DNA da Embrapa Amazônia Oriental, em Belém, PA. As 30 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. μ l⁻¹) e diluídas em TE para a concentração de 10 ng. μ l⁻¹.

As amostras foram genotipadas para oito locos SSR transferíveis de *B.gasipaes* para *A. aculeatum* (BILLOTE et al., 2004) e testadas com sucesso por Sanches e Oliveira (2013) em genomas da espécie em foco. O volume das reações foi de 10 μ L, constituído por (3,8 μ l de H₂O ultrapura; 1,0 μ l do tampão 10X; 1,0 μ l de mix dNTP (100 μ l de cada dNTP mais 600 μ l de H₂O ultrapura); 1,0 μ l de MgCl₂ (2,5 mM/ μ l); 0,5 μ l de *primer reverse* (2,5 mM/ μ l); 0,5 μ l de *primer forward* (2,5 mM/ μ l); 0,2 μ l de Taq DNA polimerase (5 U/ μ l); e 1,0 μ l de DNA genômico (10 ng/ μ l). As amplificações ocorreram em duas etapas, conforme Rodrigues *et al.*, (2004) e adaptado por Ramos (2011).

Os produtos da amplificação foram separados em gel de poliacrilamida a 6%, em eletroforese vertical por 1:30 horas e revelados em nitrato de prata. As imagens foram escaneadas e armazenadas para contagem dos alelos. A estatística descritiva dos alelos foi obtida no programa GENES..Para a avaliação da similaridade genética os alelos foram considerados como bandas, sendo organizadas em matriz binária, a análise foi feita no programa NTSYS 2,1 com o uso do coeficiente de Jaccard. O dendrograma foi gerado no mesmo software pelo método UPGMA.

Resultados e Discussão

Dos oito locos SSR utilizados na genotipagem nas amostras de DNA das 30 matrizes de tucumanzeiro seis foram polimórficos e de fácil identificação no gel (Figura 1). Tais locos



amplificaram 26 alelos, com variação de 1 (*mBg41* e *mBg58*) a 6 alelos (*mBg62*) por loco e média de 3,25 alelos por loco SSR (Tabela1). A heterozigosidade observada variou de 0,0 a 1.0 com média igual a 0.67. O valor do PIC calculado para estimar a informatividade de cada iniciador variou de 0,0 a 0,69 com média de 0,47. Resultados similares foram obtidos por Costa et al. (2012) trabalhando com 27 genótipos de açaí violáceo e Oliveira et al. (2009), ambos utilizando sete locos desenvolvidos para *E. edulis* em acessos de *E. oleracea*.



Figura 1- Perfil de um gel de poliácridamida com o loco *mBg77* contendo os alelos amplificados nos DNA's das 30 matrizes de tucumazeiro procedentes de Mazagão, AP, com amplitude alélica de 170 a 220 pb,

Tabela 1: Número de alelos, heterozigosidades observadas e do nível de polimorfismo entre as 30 matrizes de tucumazeiro procedentes de Mazagão, AP com base nos sete pares de locos microssatélites.

Locos	Ta (°C)	Nº alelos	H _o	PIC ¹
<i>mBg 17</i>	58	4	1.0	0.637
<i>mBg55</i>	58	3	1.0	0.612
<i>mBg41</i>	52	1	0.0	0.00
<i>mBg58</i>	52	1	0.0	0.00
<i>mBg62</i>	52	6	1.0	0.652
<i>mBg66</i>	52	3	0.83	0.503
<i>mBg77</i>	52	4	0.63	0.688
<i>mBg91</i>	52	4	0.93	0.642
Total	-	26	-	-
Média	-	3.25	0.6738	0.467

Ta: temperatura de anelamento; H_o: heterozigosidade observada; 1: conteúdo de informação de polimorfismo.



A similaridade genética obtida pelo coeficiente de Jaccard variou de 0,24 a 1 com média de 0,59. Foi observada máxima similaridade entre os pares 6 x 25, 11 x 24 e 12 x 21, já a menor distância genética ocorreu entre dois pares 1 x 17 e 1 x 19. Acredita-se que pares de matrizes de tucumazeiro com similaridade de 100% dessa procedência seja ocasionada pela alta taxa de endogamia, em decorrência da alta incidência da eliminação de matrizes nessa população, seja por corte raso ou pelo fogo. O dendrograma gerado formou quatro grupos com vários subgrupos (Figura 2). O valor cofenético foi alto ($r = 0.80$) evidenciando alta confiabilidade na formação dos grupos. O mesmo número de grupos foi obtido por Costa et al. (2012) ao avaliarem 27 matrizes de açazeiro.

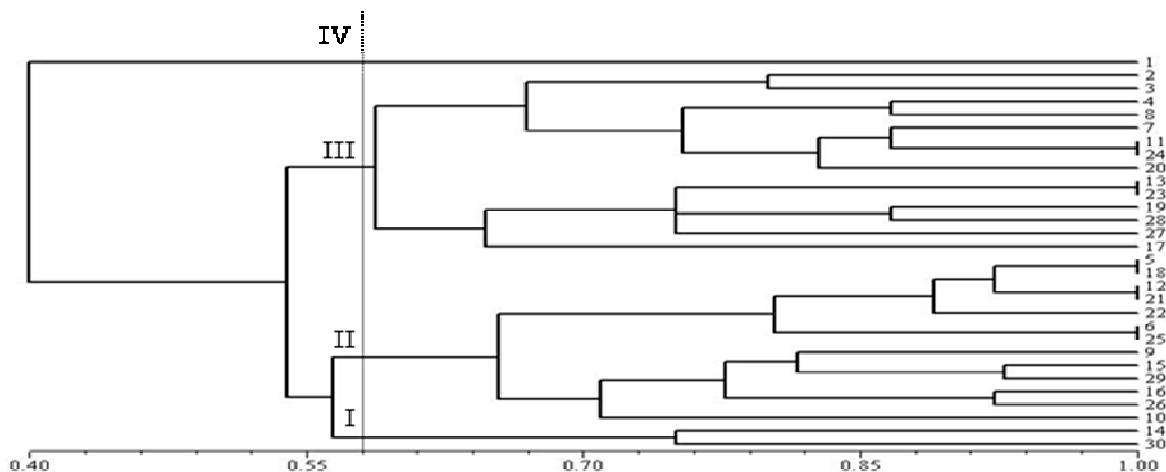


Figura 2 - Dendrograma de similaridades genéticas obtido pelo método UPGMA entre as 30 matrizes de tucumazeiro procedentes de Mazagão, AP com base nos sete locos microssatélites.

Conclusão

Marcadores SSR são eficientes na quantificação da diversidade genética entre matrizes de tucumazeiro procedentes de Mazagão, AP, podendo inclusive discriminá-las.

Agradecimentos

À Embrapa via projeto componente 09 – BAGEAP e à FINEP pelo apoio financeiro e, à Embrapa Amazônia Oriental pela concessão de bolsa de projeto à primeira autora.

Referências Bibliográficas

- BILLOTE, N; COUVREUR, T; MARSEILLAC, N; BROTTIER, P; PERTHUIS, B; VALLEJO, M; NOYER, J, L; JACQUEMOUD, C.J.P; RISTERUCCI, A.M; PINTAUD, J.C. A new set of microsatellite markers for the peach palm (*Bactris gasipaes* Kunth): characterization and across taxa utility within the tribe Cocoeae. 2004. **Molecular Ecology Notes**, v. 4, p. 580-582.
- MARTÍNEZ, A.K; GAITÁN, S.M; DUQUE, M.C; BERNAL, R; TOHME, J. Microsatellite loci in *Bactris gasipaes* (Arecaceae): their isolation and characterization. (2002). **Molecular Ecology Notes** 2:408-410.



17^o Seminário de Iniciação Científica e 1^o Seminário de Pós-graduação da Embrapa Amazônia Oriental. 21 a 23 de agosto de 2013, Belém-PA

RAMOS, S. L. F., M. T. G. LOPES, R. LOPES, R. N. V. DA CUNHA, J. L. V. DE MACÊDO, L. A. S. CONTIM, C. R. CLEMENT, ET AL. 2011. Determination of the mating system of Tucumã palm using microsatellite markers. **Crop Breeding & Applied Biotechnology** 11 :181 – 185.