



DIVERGÊNCIA GENÉTICA ENTRE MATRIZES DE TUCUMÃ-DO-PARÁ (*Astrocaryum vulgare* MART.) SELECIONADAS PARA A PRODUÇÃO DE FRUTOS POR MARCADORES ISSR

Ilenilce Castro da Silva⁽¹⁾; Maria do Socorro Padilha de Oliveirta⁽²⁾

⁽¹⁾ Mestranda do PPGBAA; Laboratório de Genética; Embrapa Amazônia Oriental; Rua Elcione Barbalho nº13B; Ananindeua; CEP: 67020-115; ilenilcecastrolamarck@gmail.com; ⁽²⁾ Pesquisadora Embrapa Amazônia Oriental, Laboratório de Genética.

RESUMO

A região amazônica possui inúmeras espécies nativas de plantas frutíferas que apresentam grande potencial nutricional, tecnológico e econômico. Nesse contexto, encontra-se o tucumã (*Astrocaryum vulgare* Mart.), também conhecido como tucumã-do-pará cujos frutos apresentam alto teor calórico, com altas quantidades do precursor da vitamina A, fibras e vitamina E. Apesar de possuir grande potencial, poucos estudos foram realizados para a contribuição de sua domesticação. Assim objetivou-se avaliar a divergência genética entre matrizes de tucumã-do-pará selecionadas para a produção de frutos por marcadores ISSR. Para isso, foram aplicados 16 *primers* ISSR e, após as PCR's, a eletroforese em gel de agarose à 1,5% foi realizada e os resultados fotodocumentados. Após as análises realizadas através do dendrograma gerado pela matriz binária através do método de Jaccard, onde os dezesseis iniciadores utilizados geraram 87 bandas, sendo 49 polimórficas. O *primer* UBC 846 apresentou a maior percentagem de polimorfismo com 85,7%. O dendrograma demonstrou a que maior similaridade foi entre as matrizes Tuc-10 e Tuc-11, com 95,2% e a menor entre Tuc-3 e Tuc-45 com 62,3% e formação de três grupos distintos, o primeiro grupo formado por 14 matrizes, segundo por cinco matrizes e o terceiro com 10 delas. Os resultados demonstram que as matrizes de *A. vulgare* mostran-se divergentes, com formação de pelo menos três grupos quando aplicados marcadores ISSR.

PALAVRAS-CHAVE: Amazônia, marcadores moleculares, palmeira, variabilidade genética.

ABSTRACT

The Amazon region has numerous native species of fruit plants with high nutritional, technological and economic potential. In this context, is the tucuma palm (*Astrocaryum vulgare* Mart.), also known as tucuma of the pará and their fruits has high-calorie, with high amounts of the precursor of vitamin A, fiber and vitamin E. Despite having great potential, few studies have been conducted for the contribution of their domestication. Thus aimed to evaluate the genetic divergence between matrices tucumã-nut selected for fruit production by ISSR markers. For this, 16 ISSR primers were applied and after the PCR's, electrophoresis on 1.5% agarose gel was performed and the results photodocumented. After the analysis performed through the dendrogram generated by the binary matrix by Jaccard method, where the sixteen primers used generated 87 bands, 49 polymorphic. The primer UBC 846 had the highest percentage of polymorphism with 85.7%. The dendrogram showed that the highest similarity was between the dies Tuc Tuc-10 and-11, with 95.2% and the least among Tuc-3 and Tuc-4 with 62.3% and formation of three distinct groups, the first group consisting of 14

sows, according to five arrays and the third with 10 of them. The results demonstrate that the matrix *A. vulgare* different studies will show up with formation of at least three groups ISSR when applied.

KEY WORDS: Amazon, molecular markers, palm, genetic variability

INTRODUÇÃO

A região amazônica possui inúmeras espécies nativas de plantas frutíferas que apresentam grande potencial nutricional, tecnológico e econômico, gerando interesses relacionados a estudos científicos e em várias áreas como cosmética, alimentícia, farmacêutica (CLEMENT et al., 2005). Nesse contexto, encontra-se o tucumã (*Astrocaryum vulgare* Mart.), também conhecido como tucumã-do-pará, de acordo com LORENZI et al (2006) essa palmeira é comumente encontrada nos estados do Acre, Amazonas, Mato Grosso e Rondônia.

O tucumã apresenta como principal característica a presença de espinhos em todas as partes da planta, tem caule em touceira, variando de dois a seis estipes, e possui frutos com formatos elipsóides, que quando maduros possuem coloração alaranjada (LORENZI et al., 2006). Seus frutos fazem parte do cardápio alimentar humano e animal, pois apresentam alto teor calórico, relacionado ao elevado conteúdo de lipídios, com altas quantidades do precursor da vitamina A, fibras e vitamina E (YUYAMA et al, 2005).

Apesar de possuir grande potencial, sua exploração ainda é feita pelo extrativismo e comercializada em feiras livres, uma vez que poucos estudos foram realizados para a contribuição de sua domesticação. Marcadores moleculares são muito úteis, principalmente em estudos de variabilidade e divergência genética sendo uma ferramenta de grande poder discriminatório (CLEMENT et al., 2005; FREITAS et al., 2005). Objetivou-se avaliar a divergência genética entre matrizes de tucumã-do-pará selecionadas para a produção de frutos por marcadores ISSR.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram coletados folíolos de folhas jovens de 29 matrizes de tucumanzeiro selecionadas no Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Amazônia Oriental com alta produção de frutos, identificados e transportados ao Laboratório de Genética dessa instituição para a extração de DNA genômico total.

A extração de DNA seguiu o protocolo CTAB proposto por Doyle & Doyle (1990) com algumas modificações (COSTA; OLIVEIRA, 2002). As reações PCR foram realizadas

para 16 primers ISSR selecionados de um kit de 100 primers da UBC (Tabela 1), sendo realizadas em termociclador Applied Biosystems para um volume final de 20 µL por amostra, contendo: 8,18 µL de água miliq (ultra pura), 2,2 µL de Tampão (10x PCR-MgCl₂), 2 µL de MgCl₂ (50 mM), 1,38 µL de dNTPs, 1,38 µL de BSA, 2,66 µL de *primer*, 0,2 µL de TAQ polimerase e 2 µL de DNA (10 ng). O programa de amplificação foi feito acordo com Souza et al (2009) tendo fase inicial de desnaturação a 94°C por 1,5 min, seguida de 40 ciclos nas seguintes condições: 40s para desnaturação a 94°C; temperatura de anelamento igual a 47°C; 2 min para extensão a 72°C. A extensão final foi realizada a 72°C por 5 min.

Tabela 1- *Primers* ISSR selecionados para *Astrocaryum vulgare* e suas temperaturas de anelamento.

Primer	Sequência	Ta (°C)	Primer	Sequência	Ta (°C)
UBC 815	(CT) ₈ G	45°	UBC 855	(AC) ₈ YT	45°
UBC 835	(AG) ₈ YC	50°	UBC 856	(AC) ₈ YA	54°
UBC 840	(GA) ₈ YT	45°	UBC 859	(TG) ₈ RC	44°
UBC 841	(GA) ₈ YC	54°	UBC 864	(ATG) ₆	52°
UBC 846	(CA) ₈ RT	49°	UBC 872	(GATA) ₄	45°
UBC 847	(CA) ₈ RC	47°	UBC 879	(CTTCA) ₃	55°
UBC 848	(CA) ₈ RG	48°	UBC 890	VHV(GT) ₇	55°
UBC 852	(TC) ₈ RA	52°	UBC 891	HVH(TG) ₇	46°

Os produtos de amplificação foram separados por eletroforese horizontal conduzida em 90 V por 1,5 h, em gel de agarose a 1,5%, corado com brometo de etídio em tampão TBE 1X e Ladder de 1kb (Invitrogen). Os resultados das eletroforeses foram visualizados em transluminador em luz ultravioleta, digitalizados, armazenados e avaliados em ausência (0) e presença (1) de bandas.

A matriz binária foi utilizada na análise da divergência genética no programa NTSYS-pc, versão 2.02. A matriz de similaridade gerada nesse programa foi estimada com base no coeficiente de Jaccard. A partir dessa matriz foi gerado o dendograma pelo método UPGMA (Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Average).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dezesseis iniciadores utilizados geraram 87 bandas, sendo 49 polimórficas. O número de marcadores polimórficos variou de zero (*primers* UBC 840, UBC 859, UBC 864 e UBC 891) a seis (UBC 815 e UBC 846). O *primer* UBC 846 apresentou a maior percentagem de polimorfismo com 85,7% seguido do UBC 815 com 75%, indicando que os mesmos podem ser utilizados para acessar o genoma da espécie em foco com sucesso. Hamza et al. (2013) utilizando os *primers* UBC 890 e UBC 891 em *Phoenix dactilyfera* relataram padrão de amplificação adequado com bandas claras e consistentes com menor número de bandas polimórficas (34). Já Marsafari e Mehrabi (2013) mostraram que esses marcadores foram robustos na divergência e diversidade genética em *P. dactilyfera* pois ao aplicarem 14 *primers* obtiveram 162 bandas e polimorfismo de 95,67%. A Figura 1 apresenta o padrão de amplificação obtido pelo *primer* UBC835 mostrando um grande número de bandas.

O dendrograma começou a separar as matrizes a partir de 70% de similaridade, maior similaridade foi registrada entre as matrizes Tuc-10 e Tuc-11, com 95,2% e a menor entre as matrizes Tuc-3 e Tuc-45 com 62,3%. De um modo geral, foram formados três grupos distintos (Figura 2). O primeiro grupo formado por 14 matrizes, sendo que as matrizes Tuc-2 e Tuc-3 apresentaram-se isolados e com baixa similaridade em relação aos demais. O segundo grupo por cinco matrizes e o terceiro com 10 delas, com destaque para a matriz Tuc-45 que a ficou isolada das demais.



Figura 1- Padrão de amplificação em gel de agarose a 1,5% com o iniciador UBC 835 aplicado nas 29 amostras de *A. vulgare* selecionadas para produção de fruto.

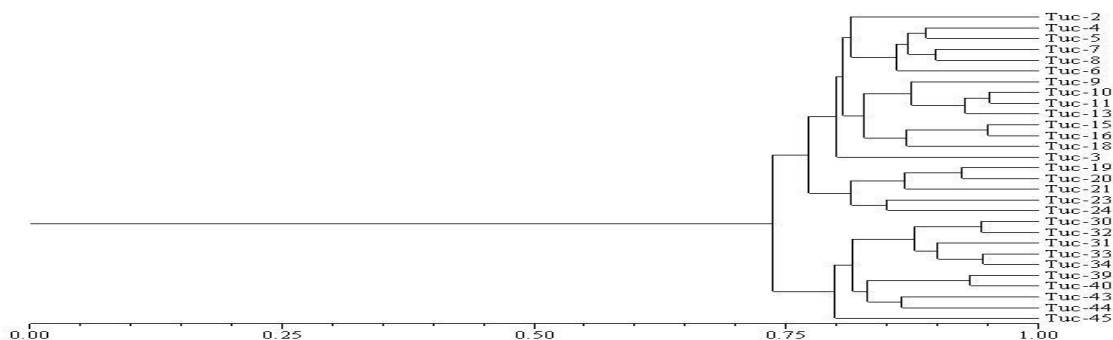


Figura 2 – Dendrograma gerado a partir das similaridades genéticas obtidas pelo coeficiente de Jaccard entre os genomas das 29 matrizes de tucumã-do-pará com base nas 87 bandas obtidas por 16 *primers* ISSR.

CONCLUSÃO

As matrizes de tucumã-do-pará selecionadas para a produção de frutos mostram-se divergentes por marcadores ISSR, formando pelo menos três grupos.

LITERATURA CITADA

CLEMENT, C. R.; LLERAS, P. E.; VAN LEEUWEN, J. O potencial das palmeiras tropicais no Brasil: acertos e fracassos das últimas décadas. **R. Bras. Agrociênc.**, v. 9, n. 1-2, p. 67-71, 2005.

COSTA, M.R.; OLIVEIRA, M. DO S.P. **Extração de DNA de açaizeiro a partir de folhas.** Embrapa Amazônia Oriental. Documentos 127. 2002.

DOYLE, J.J.; DOYLE J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v.12, p.13-15, 1990.

HAMZA, H.; ABEDERRAHIM, M. A. B.; ELBEKKAY, M.; FERCHICHI, A. Comparison of the effectiveness of ISSR and SSR markers in determination of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) agronomic traits. **Australian Journal of Crop Science**. ,v. 7, 6 ed., p. 763-769, Maio 2013.

LORENZI, H.; BACHER, L. B.; LACERDA, M. T. C.; SARTORI, S. F. *Brazilian Fruit and Exotic Cultivated*. **Instituto Plantarum de Estudos da flora Ltda.** SP. 2006. 640 p.

MARSAFARI, M.; MEHRABI, A. A. Molecular identification and genetic diversity of Iranian date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cultivars using ISSR and RAPD markers. **Australian Journal of Crop Science** v. 7, 8 ed., p. 1160-1166, 2013.

YUYAMA, L. K. O. et al. Polpa e casca de tucumã (*Astrocaryum aculeatum* Meyer): quais os constituintes nutricionais? **Nutrire: Rev. Soc. Bras. Alim. Nutr**, v. 30, supl., p. 225, 2005.