

**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Amazônia Oriental
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**



19º Seminário de Iniciação Científica e 3º Seminário de Pós-graduação da Embrapa Amazônia Oriental

ANNAIS 2015

19 a 20 de agosto

Embrapa Amazônia Oriental
Belém, PA
2015



DIVERGÊNCIA GENÉTICA ENTRE MATRIZES DE TUCUMÃ DO PARÁ SELECIONADAS PARA A PRODUÇÃO DE ÓLEO POR MARCADORES ISSR

Ilenilce Castro da Silva¹, Maria do Socorro Padilha de Oliveira²

¹ Mestranda do Programa PPGBA, Bolsista FAPESPA, Laboratório de Genética, ilenilcecastrolamarck@gmail.com

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

Resumo: *Astrocaryum vulgare* Mart., conhecido por tucumã-do-pará é uma palmeira cujo centro de dispersão encontra-se na Amazônia Oriental. Possui grande importância social e econômica, por ter uso integral. Do fruto se extrai óleo da polpa e da amêndoa destinado a matéria prima para a produção de biodiesel. Mas, poucos estudos são relatados para essa espécie. Avaliou-se a divergência genética entre matrizes de tucumã do pará selecionadas para a produção de óleo por marcadores ISSR. Foram aplicados 19 primers ISSR em amostras de DNA's de 29 matrizes de tucumã selecionadas para alto teor de óleo na polpa. Os produtos das reações foram submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1,5%, em corrida de 90 V por 1,5 horas. Os dados foram organizados em matriz binária e as análises feitas nos softwares NTSYS-pc e GenAlex 6. Dos 19 primers testados, 16 amplificaram bandas, num total de 87, com média de 5,4 bandas/primer e 58,6% de polimorfismo. O dendrograma formou três grupos a 70% de similaridade, com vários subgrupos. A maior similaridade ocorreu entre o par Tuc 27 e Tuc-29, com mais de 95% dos genomas similares. Os marcadores ISSR demonstram boa amplificação nos genomas das matrizes de tucumã, as quais apresentam pelo menos três grupos divergentes com possibilidade de uso das matrizes em programas de melhoramento genético dessa palmeira.

Palavras-chave: *Astrocaryum vulgare*, biodiesel, marcadores moleculares, variabilidade genética

Introdução

O tucumã do pará (*Astrocaryum vulgare* Mart.) é uma palmeira cujo centro de dispersão encontra-se na Amazônia Oriental chegando a Guiana Francesa e ao Suriname (SHANLEY; MEDINA, 2005). É perene, monóica, possuindo caule múltiplo e espinhos pretos de tamanhos variáveis por quase toda a extensão da planta, cujos frutos são variáveis com polpa oleosa e odor característico (OLIVEIRA et al., 2012). Nos locais onde ocorre seus frutos têm grande importância social e econômica, pela extração de óleo da polpa e da amêndoa e vem ganhando destaque como fonte de matéria prima para a produção do biodiesel. Mas, apesar de toda essa potencialidade, pouco ou



quase nada se tem de informações genéticas que possam subsidiar programas de melhoramento, principalmente sobre divergência genética.

Marcadores moleculares tem se tornado uma ferramenta de grande poder discriminatório no acesso do genoma de várias espécies, principalmente em estudos de divergência genética (CLEMENT, 2001). Os marcadores ISSR (Inter Simple Sequence Repeat) são dominantes, baseados em microssatélites e devem ser úteis a espécie em questão. Pois, há escassez de trabalhos nesse enfoque com o tucumã.

Objetivou-se avaliar a divergência genética entre matrizes de tucumã-do-pará selecionadas para a produção de óleo por marcadores ISSR.

Material e Métodos

O trabalho foi realizado no laboratório de genética da Embrapa Amazônia Oriental. Foram utilizadas amostras de DNA de 29 matrizes de *A. vulgare* selecionadas para alto teor de óleo na polpa e pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma (BAG - Tucumã). As 29 amostras de DNA foram submetidas às reações de amplificação (PCR) com o uso de 19 primers ISSR previamente selecionados (Tabela 1).

Tabela 1. Identificação dos 19 primers ISSR selecionados para *Astrocaryum vulgare*, suas sequências e temperaturas de anelamento.

Primer	Sequência	Ta (°C)	Primer	Sequência	Ta (°C)	Primer	Sequência	Ta (°C)
UBC 815	(CT) ₈ G	45°	UBC 852	(TC) ₈ RA	52°	UBC 879	(CTTCA) ₃	55°
UBC 835	(AG) ₈ YC	50°	UBC 855	(AC) ₈ YT	45°	UBC 881	(AT) ₈ YA	53°
UBC 840	(GA) ₈ YT	45°	UBC 856	(AC) ₈ YA	54°	UBC 884	HBH(AG) ₇	54°
UBC 841	(GA) ₈ YC	54°	UBC 859	(TG) ₈ RC	44°	UBC 890	VHV(GT) ₇	55°
UBC 846	(CA) ₈ RT	49°	UBC 864	(ATG) ₆	52°	UBC 891	HVH(TG) ₇	46°
UBC 847	(CA) ₈ RC	47°	UBC 865	(CCG) ₆	46°			
UBC 848	(CA) ₈ RG	48°	UBC 872	(GATA) ₄	45°			

As reações foram feitas em termociclador Applied Biosystems em volume final de 20 µL, 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 mM), 1,38 µL de BSA (10mg/ml), 2,66 µL de primer (µmol), 0,2 µL de



TAQ polimerase (5 U/ μ l) e 2,0 μ L de DNA (10 ng). O programa de amplificação foi feito de acordo com Souza et al. (2009).

Os produtos de amplificação foram separados por eletroforese horizontal em gel de agarose 1,5% corados por brometo de etídio com tampão TBE 1X e Ladder de 1kb (Invitrogen), conduzida em 90 V por 1,5 h. Os produtos separados foram visualizados em fotodocumentador, digitalizados e armazenados para posterior avaliação. A avaliação foi feita por meio da presença (1) e ausência (0) de bandas. A matriz binária obtida foi usada para a obtenção das análises nos softwares NTSYS-pc na versão 2.02 e GenAlex 6.

Resultados e Discussão

Dos 19 primers ISSR utilizados, 16 amplificaram bandas, num total de 87 e média de 5,4 bandas/primer, com 56,8 % de polimorfismo. O número de bandas polimórficas por primer variou de 0 (UBC 859, UBC 864 e UBC 891) a 6 (UBC 815, UBC 846). O primer UBC 840 obteve a maior percentagem de polimorfismo (100%), seguido do primer UBC 846 com 85,7%.

A maior similaridade foi encontrada entre o par Tuc 27 e Tuc-29 com mais de 95% dos genomas similares, ambos do mesmo local. O dendrograma gerado formou três agrupamentos a 70% de similaridade genética, com tendência da formação de grupos por localidades (Figura 1). Por exemplo, o I formado por genomas de três matrizes (Tuc-50, Tuc-51 e Tuc-52) oriundas de Pinheiro, MA.

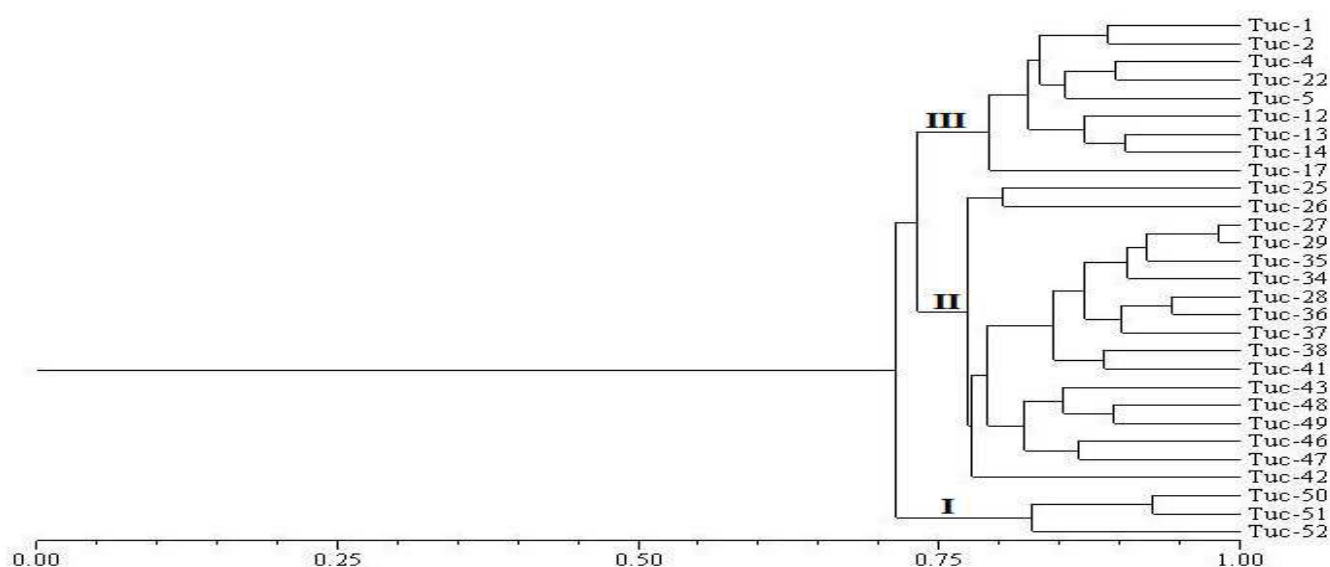


Figura 1: Dendrograma gerado a partir das similaridades genéticas obtidas pelo coeficiente de Jacard entre os genomas das 29 matrizes de tucumã-do-pará, selecionadas para teor de óleo, com base nas 87 bandas obtidas por 16 primers ISSR.



Silva (2013) ao aplicar cinco primers ISSR em genomas de macaúba (*Acrocomia aculeata*), dentre eles o UBC 835 obteve também poucas bandas polimórficas por primer. Srivashtav et al. (2013) ao usarem 18 primers ISSR em genomas de tâmara verificaram que, apenas dois deles se mostraram polimórficos e geraram 13 bandas, sendo três polimórficas, ou seja, baixo nível de polimorfismo (23,07%).

Conclusão

Os marcadores ISSR demonstram boa amplificação, nos genomas das matrizes de tucumã-do-pará selecionadas para a produção de óleo, as quais apresentam pelo menos três grupos divergentes com possibilidade de uso dessas matrizes em programas de melhoramento genético dessa palmeira. Tais grupos com tendência na formação por local de origem de cada matriz.

Agradecimentos

À Embrapa Amazônia Oriental, por disponibilizar as amostras e o laboratório de genética. À FAPESPA, pela bolsa de estudos.

Referências Bibliográficas

- CLEMENT, C. R. Melhoramento de espécies nativas. In: NASS, L. L.; VALOI, A. C. C.; MELO, I. S.; VALADARES-INGLIS, M. C. (Ed.). **Recursos genéticos e melhoramento de plantas**. Rondonópolis: Fundação de Apoio à Pesquisa Agropecuária de Mato Grosso, 2001. p. 423-441.
- OLIVEIRA, N. P. de; OLIVEIRA, M. do S. P. de; MOURA, E. F. Variabilidade e divergência genética entre genótipos de tucumanzeiro-do-Pará (*Astrocaryum vulgare* Mart.) promissores para a produção de frutos por marcadores RAPD. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 34, n. 1, p. 216-226, 2012.
- SHANLEY, P.; MEDINA, G. **Frutíferas e plantas úteis na vida amazônica**. Belém, PA: CIFOR, Imazon, 2005. 300 p. il.
- SILVA, L. C. C. **Estrutura genética e filogeografia molecular de populações naturais de *Acrocomia aculeata* nos estados de Minas Gerais e São Paulo**. 2013. 40 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.



**19º Seminário de Iniciação Científica e 3º Seminário de Pós-graduação
da Embrapa Amazônia Oriental**

19 a 20 de agosto de 2015, Belém, PA.

SRIVASHTAV, V. S.; KAPADIA, C. V.; MAHATMA, M. K.; JHA, S. K.; JHA, S.; AHMED, T. Genetic diversity analysis of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) in the Kutch region of India using RAPD and ISSR markers. **Emirates Journal of Food and Agriculture**, v. 25, p. 907-915, 2013.

SOUZA, I. G. de B.; SANTOS, M. F. dos; GOMES, R. L. F.; VALENTE, S. E. dos S.; SITTOLIN, I. M.; ARAÚJO, E. C. E.; LIMA, P. S. da C. Otimização de marcadores ISSR para análises de diversidade genética em babaçu. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PLANTAS OLEAGINOSAS, ÓLEOS, GORDURAS E BIODIESEL, 6., 2009, Montes Claros. **Biodiesel: inovação tecnológica: anais**. Lavras: UFLA, 2009. 1 CD-ROM.