# DISSIMILARIDADE ENTRE GENÓTIPOS DE TUCUMÃ-DO-PARÁ (*Astrocaryum vulgare* Mart.) DESEJÁVEIS PARA FRUTOS POR MARCADORES RAPD

Natália Padilha de Oliveira<sup>1</sup>; Maria do Socorro Padilha de Oliveira<sup>2</sup>; Elisa Ferreira Moura<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Mestranda em Genética e Melhoramento de Plantas da Universidade Federal de Lavras. Bolsista do CNPq. natybiologia2006@gmail.com; <sup>2</sup> Eng<sup>a</sup>. Agr<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Pesquisadora da Embrapa Amazônia Oriental. Belém/PA. spadilha@cpatu.embrapa.br; <sup>3</sup>: Bióloga. Dr<sup>a</sup>. Pesquisadora da Embrapa Amazônia Oriental. Belém/PA. elisa@cpatu.embrapa.br

# **INTRODUÇÃO**

O tucumã-do-Pará (*Astrocaryum vulgare* Mart.) é uma palmeira nativa da América do Sul, perene, oleaginosa, de grande importância sócio-econômica na Amazônia, pelas diversas utilidades de seus frutos (Villachica *et al.*, 1996). No entanto, há poucos estudos disponíveis que promovam a sua domesticação.

A dissimilaridade expressa o grau de divergência ou diversidade genética entre os genótipos sendo importante para identificar combinações de progenitores que possam gerar maior efeito heterótico (Cruz et al., 2004). É freqüentemente interpretada e visualizada por técnicas multivariadas, como a análise de agrupamentos, e pode ser avaliada com o uso de vários marcadores. Os moleculares são mais vantajosos por não sofrerem influência direta do ambiente. Marcadores RAPD (*Randomly Amplified Polymorphic DNA*) são úteis para espécies pouco conhecidas, como o tucumã, e apresentam vantagens em seu uso por permitir a análise de grande número de marcas polimórficas em um curto espaço de tempo (Grattapaglia, 2007). Para dados moleculares, onde se obtém uma matriz composta por dados binários, aplicam-se vários índices de similaridades que variam de 0 a 1, sendo as dissimilaridades obtidas de seus complementos (Cruz et al., 2004).

Este trabalho teve por objetivo avaliar a dissimilaridade genética entre genótipos de tucumã-do-Pará desejáveis para frutos por meio de marcadores RAPD.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

Foram coletados folíolos frescos de 29 genótipos de tucumã, selecionados no Banco de Germoplasma da Embrapa Amazônia Oriental como desejáveis para produção de frutos. O DNA foi extraído de 100 mg de folíolo, de acordo com o protocolo CTAB estabelecido por

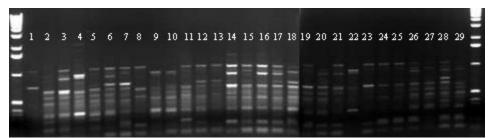
Doyle & Doyle (1990), com modificações. A quantificação dos DNA's foi feita em gel de agarose a 1%, corado com brometo de etídio, pela comparação três concentrações do DNA do fago  $\lambda$  (50, 100 e 200 ng. $\mu$ l<sup>-1</sup>). Nas reações as amostras foram diluídas para a concentração de 10 ng. $\mu$ l<sup>-1</sup>.

A genotipagem foi realizada utilizando 24 *primers* RAPD da *Operon Technologies* (INVITROGEN) selecionados por Oliveira *et al.* (2009). As reações foram preparadas em microtubos de 0,2 ml com volume final de 15 μl (35 ng de DNA genômico total; 1 nM de cada dNTP; 1,3 mM do *primer*, 10 mg.ml<sup>-1</sup> de BSA; 1 unidade de Taq polimerase; e um tampão contendo MgCl<sub>2</sub> fornecido pela INVITROGEN) e colocadas em amplificador *Amplitherm* TX96 por 40 ciclos (Oliveira *et al.*, 2007). Os produtos das reações foram aplicados em gel de agarose a 1% corado com brometo de etídio e separados por eletroforese horizontal. Os géis foram visualizados em transiluminador de luz UV e as imagens capturadas digitalmente.

Os padrões de bandas foram analisados de acordo com a presença (1) ou ausência (0). A matriz binária foi utilizada para a obtenção das estimativas de similaridade genética (sg) entre os pares dos genótipos, com base no coeficiente de Jaccard, no software NTSYS-pc 2.1. As dissimilaridades genéticas foram obtidas pelo complemento das similaridades (dg = 1 - sg) e representadas pelo método de agrupamento hierárquico aglomerativo, UPGMA ( $Unweighted\ Paired\ Group\ Method\ Using\ Arithmetic\ Averages$ ), sendo o ponto de corte foi feito com base na dissimilaridade média ( $dg_m$ ).

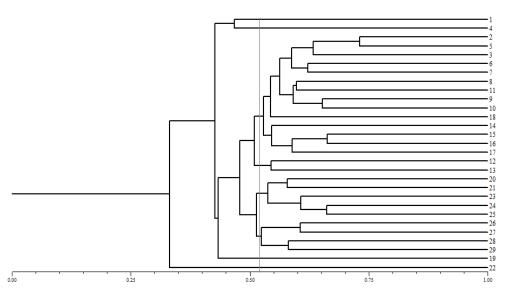
#### **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os 24 *primers* RAPD aplicados nos 29 genótipos de tucumã-do-Pará geraram 332 bandas, sendo 98,5% polimórficas, com média de 13,63 bandas polimórficas/*primer*. Nos *primers* OPAR-07 e OPAZ-05 foram registrados o menor (07) e o maior (21) nº de bandas, respectivamente. Oliveira *et al.* (2007) encontraram menos produtos de amplificação ao avaliarem 116 acessos de açaizeiro com base nesses marcadores. Tais resultados indicam que os indivíduos avaliados possuem alto grau de polimorfismo (Figura 1).



**Figura 1.** Polimorfismo gerado pelo *primer* OPAB-04 nos 29 genótipos de tucumã-do-Pará.

As dissimilaridades genéticas obtidas entre os pares de genótipos variaram de 0,27 a 0,67, com média de 0,57. Tais dissimilaridades podem ser consideradas altas e infere a possibilidade de ganho genético em cruzamentos envolvendo os genótipos analisados. O dendrograma representativo das dissimilaridades permitiu a formação de vários grupos distintos, com confiabilidade alta pelo teste de Mantel (r=0,86 e P $\leq$  0,0001), o que pode demonstrar considerável divergência entre os genótipos. Mas, com base no ponto de corte ( $dg_m$ =0,52) foram delimitados oito grupos, sendo que os genótipos 1, 4, 19 e 22 formaram grupos isolados, I, II, VII e VIII, respectivamente (Figura 2). Resultados semelhantes foram obtidos por Daher *et al.* (2002) quando analisaram genótipos de coqueiro. Logo, tais genótipos podem ser indicados como parentais em programa de melhoramento dessa espécie para frutos que explore a heterose.



**Figura 2.** Representação das dissimilaridades genéticas entre os 29 genótipos de tucumã-do-Pará pelo método UPGMA, com base no coeficiente de Jaccard ( $dg_m$ =0,52).

# **CONCLUSÕES**

Os genótipos de tucumã-do-Pará desejáveis para frutos expressam considerável dissimilaridades entre si, com quatro deles, contrastantes, formando grupos isolados. Tais informações devem ser úteis na escolha de genitores em programas de melhoramento dessa palmeira que explorem a heterose.

#### **AGRADECIMENTOS**

Aos trabalhadores de campo da Embrapa Amazônia Oriental, pelo auxílio na coleta dos folíolos, e aos assistentes do laboratório de Genética Molecular dessa instituição, pela ajuda na realização das reações.

Ao CNPq pela concessão de bolsa ao primeiro autor.

## REFERÊNCIAS

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético.** Viçosa: UFV, 2004. 480p.

DAHER, R. F.; PEREIRA, M. G.; TUPINAMBÁ, E. A.; JUNIOR, A. T. A.; ARAGÃO, W. M.; RIBEIRO, F. E.; OLIVEIRA, L. O.; SAKIYAMA, N. S. Assessment of coconut tree genetic divergence by compound sample RAPD marker analysis. **Crop Breeding and Applied Biotechnology, 2**: 431-438, 2002.

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

GRATTAPAGLIA, D. **Aplicações operacionais de marcadores**. In: Biotecnologia florestal. BORÉM, A (ed.). Viçosa: (s.n.), 2007. p 175-200.

OLIVEIRA, M. do S. P. de; AMORIM, E. P.; SANTOS, J. B. dos; FERREIRA, D. F. Diversidade genética entre acessos de açaizeiro baseada em marcadores RAPD. **Ciência agrotecnologia**, **31**: 1645-1653, nov./dez., 2007.

OLIVEIRA, N. P.; 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 Melhoramento de Plantas, 5, 2009, Guarapari - ES. **Anais...**, O melhoramento e os novos cenários da agricultura. Vitória-ES: Incaper, 2009. v. 1. p. 1-4. CD-rom.

VILLACHICA, H.; CARVALHO, J. E. U.; MÜLLER, C. H.; DÍAZ, S. C.; ALMANZA, M. Frutales y hortalizas promisorios de la Amazonia. p. 264-267. Tratado de Cooperacción Amazonica, (TCA-SPT, 44). Lima: FAO. 1996.