

SELEÇÃO DE *PRIMERS* RAPD PARA CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE GERMOPLASMA DE TUCUMÃ-DO-AMAZONAS (*Astrocaryum tucuma* Mart.)

Maria do Socorro PADILHA DE OLIVEIRA¹, Natália PADILHA DE OLIVEIRA², Auriane Consolação da SILVA GONÇALVES³, Jean Roberto SILVA DA COSTA⁴

Laboratório de Genética Molecular. Embrapa Amazônia Oriental

¹spadilha@cpatu.embrapa.br, ²natybiologia2006@gmail.com, ³auriane@cpatu.embrapa.br, ⁴jeancosta_bio@yahoo.com.br

RESUMO

O tucumã-do-amazonas é palmeira perene, oleaginosa, monocaule e que vem sendo indicada como uma das alternativas de matéria prima ao mercado de biodiesel, mas pouco se conhece sobre essa espécie. Marcadores RAPD são úteis em análises genéticas de espécies pouco estudadas. Assim, selecionou-se *primers* RAPD polimórficos para a caracterização de germoplasma dessa palmeira. Foram testados 113 *primers* RAPD em cinco amostras oriundas de Urucará, Amazonas, Brasil. A matriz binária foi utilizada para análises do número ótimo de bandas e a dissimilaridade genética. Foram selecionados 21 *primers* que amplificaram 102 bandas nítidas e polimórficas e permitiu a separação dos genótipos em cinco grupos. O número de bandas adequado para a genotipagem foi de 100.

INTRODUÇÃO

O tucumã-do-amazonas (*Astrocaryum tucuma* Mart.) é palmeira perene, oleaginosa, monocaule que possui espinhos de tamanhos variáveis em quase todas as partes da planta. É nativo da América do Sul com ocorrência predominante no Norte do Brasil, especialmente no Amazonas, Acre, Rondônia, Roraima e parte do Pará. Tem uso integral e seus frutos são bastante apreciados pela população Manauara. Vem sendo indicada como uma alternativa de matéria prima ao mercado de biodiesel na região Norte, mas pouco se sabe sobre essa espécie. A caracterização molecular é uma ferramenta útil no manejo e uso de qualquer espécie, por acessar informações no genoma dos indivíduos, sendo os marcadores RAPD úteis na quantificação da variabilidade de espécies pouco estudadas. O objetivo deste trabalho foi selecionar marcadores RAPD polimórficos para a caracterização de germoplasma dessa espécie.

MATERIAL E MÉTODO

Foram testados 113 *primers* RAPD, escolhidos ao acaso de kits da *Operon Technologies*, em cinco genótipos oriundos de Urucará, AM. A extração de DNA genômico foi feita de amostras de folíolos armazenados em sílica, de 100 mg de cada amostra, de acordo com o protocolo CTAB (Doyle e Doyle, 1990), com modificações. As reações de

PCR-RAPD foram feitas segundo Oliveira et al. (2007). Os produtos amplificados foram aplicados em gel de agarose a 1% e separados por eletroforese horizontal. As bandas obtidas foram visualizadas e capturadas digitalmente. Foram selecionados os *primers* que geraram bandas nítidas e polimórficas. A matriz binária foi utilizada para avaliar o número ótimo de bandas, pelo método *bootstrap* do aplicativo GENES, e para o padrão de dissimilaridade genética, pelo método UPGMA no software NTSYS-pc 2.1, com base no coeficiente de Jaccard.

RESULTADO E DISCUSSÃO

Dos 113 *primers* testados, cinco não amplificaram, quatorze geraram apenas bandas monomórficas e os demais bandas polimórficas, representando 87,61% dos *primers* avaliados. Dos 99 *primers* que geraram polimorfismo 21 foram selecionados por apresentarem qualidade na amplificação e maior polimorfismo (Tabela 1). Os *primers* selecionados produziram 157 bandas, sendo 102 polimórficas, o que representa 64,97% de polimorfismo, com média de 7,5 bandas por *primer*. Cerqueira et al. (2008), Santos et al. (2007) encontraram porcentagens menores de polimorfismo. O número ótimo de bandas encontrado foi de 100 ($r=0,9872$, $SQd=0,0006$ e $E=0,0231$). Cada genótipo formou um grupo a partir de 52% de dissimilaridade (Figura 1) demonstrando a eficiência dos *primers* selecionados.

Tabela 1. Identificação dos 24 primers RAPD selecionados para análises genéticas em germoplasma de tucumã-da-amazônia (*A. aculeatum*) e o número de bandas polimórficas. Marcador RAPD N°. de bandas

Marcador RAPD	Nº de bandas		Nº. total de bandas
	Monomórficas	Polimórficas	
OPA-07	1	5	6
OPA-09	2	4	6
OPA-15	0	5	5
OPAB-01	4	5	9
OPAB-02	2	5	7
OPAB-04	4	4	8
OPAB-11	3	7	10
OPAB-15	1	5	6
OPJ-13	2	3	5
OPN-09	1	7	8
OPO-03	4	4	8
OPO-11	0	5	5
OPO-12	4	5	9
OPU-01	5	4	9
OPU-05	2	4	6
OPU-08	2	4	6
OPU-11	4	7	11
OPU-19	0	6	6
OPBA-06	3	4	7
OPBA-09	2	4	6
OPBA-10	4	4	8
Total	55	102	157
Média	2,6	4,9	7,5

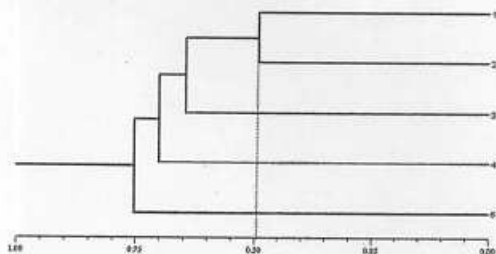


Figura 2. Dissimilaridade genética dos cinco genótipos de tucumã com 102 bandas polimórficas RAPD.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CERQUEIRA, L.S., SILVA, S.A., VILARINHOS, A.D., AMORIM, E.P., PALMIERI, D.A., MOREIRA, R.F.C., PESTANA, K.N., SILVA, A.N DA E PRIMO JR., J.F. (2008) Seleção de primers RAPD capazes de detectar polimorfismo em mamoneira. In: Congresso brasileiro de mamoneira, 3, *Anais...*, campina Grande: Embrapa, DC-rom
- OLIVEIRA, M. DO S. P. DE, AMORIM, E.P., SANTOS, J.B DOS E FERREIRA, D. F. (2007) Diversidade genética entre acessos de açaizeiro baseada em marcadores RAPD. *Clénc. Agrotec.*, 31: 6, 1645-1653.
- SANTOS, M., SOUSA, I.G.B., DINIZ, F.M., SOUZA, V.A.B., ARAÚJO, E.C.E., SITOLIN, I.M.; LIMA, P.S.C. (2007) Seleção de primers para o uso de RAPD na análise de diversidade genética em babaçu (*Orbignya ssp Mart.*). In: Congresso Internacional de Agroenergia e biocombustíveis, Teresina, PI, Brasil. *Anais...*, Teresina: Embrapa, CD-rom.