

ARTIGO ORIGINAL

Andréa Cristina Rodrigues Fortes¹
Maria do Socorro Padilha de Oliveira^{2*}
Natália Padilha de Oliveira³
Eliciany de Nazaré Miranda Sanches¹
Elisa Ferreira Moura Cunha²

Transferibilidade de locos microssatélites desenvolvidos em outras espécies de palmeiras para *Astrocaryum vulgare* Mart.

Transferability of microsatellite markers developed in other palms species for Astrocaryum vulgare Mart.

¹ Universidade Federal Rural da Amazônia – UFRA, Instituto de Ciências Agrárias, Av. Tancredo Neves, 2501, 66077830, Belém, PA, Brasil

² Embrapa Amazônia Oriental – CPATU, Trav. Dr. Enéas Pinheiro, s/n, 66095-100, Belém, PA, Brasil

³ Universidade Federal de Lavras – UFLA, Departamento de Biologia, Av. Doutor Sylvio Menicucci, 1001, Kennedy, Caixa Postal 3037, 37200-000, Lavras, MG, Brasil

*Autor Correspondente:

E-mail: socorro-padilha.oliveira@embrapa.br

PALAVRAS-CHAVE

Amplificação
Polimorfismo
SSR
Tucumã-do-Pará

KEYWORDS

Amplification
Polymorphism
SSR
Fiber Palm-of-Pará

RESUMO: *Astrocaryum vulgare* Mart., conhecida por tucumã-do-Pará, possui uso popular na região amazônica e grandes potencialidades de aproveitamento em indústrias farmacêutica, cosmética e de biodiesel. A exploração ainda é extrativista, tornando fundamentais informações sobre a variabilidade genética existente em áreas de ocorrência natural. A variabilidade genética pode ser acessada por marcadores microssatélites ou SSR, considerados ideais para estudo em populações naturais. Entretanto, não há relatos de desenvolvimento de microssatélites para *A. vulgare*. O objetivo foi avaliar a transferibilidade de locos SSR desenvolvidos para outras espécies de palmeiras em *A. vulgare*. Realizou-se a extração de DNA a partir de amostras de folíolos de tucumanzeiros de sete povoamentos e após a quantificação os DNAs foram submetidos à PCR, com os locos desenvolvidos para *Bactris gasipaes*, *Phoenix dactylifera* e *Astrocaryum aculeatum*. As condições de amplificação seguiram o protocolo desenvolvido para *A. aculeatum*, com pequenas adaptações. Os produtos amplificados foram aplicados em gel de agarose a 3,5%, corado com brometo de etídio e submetidos à eletroforese horizontal. Os perfis dos géis foram fotodocumentados e as imagens armazenadas digitalmente. A transferibilidade dos locos foi avaliada com base na amplificação dos produtos, sua nitidez e ausência de bandas inespecíficas. Todos os locos de *A. aculeatum* e a maioria dos de *B. gasipaes* amplificaram, com 75% deles transferíveis para o genoma de *A. vulgare*, enquanto que apenas dois dos locos de *P. dactylifera* amplificaram, com muitas bandas inespecíficas, mostrando-se inviáveis para estudos do genoma da espécie.

ABSTRACT: *Astrocaryum vulgare* Mart., known as “tucumã-do-Pará”, has popular use in the Amazon region and large exploitation potential in pharmaceutical, cosmetics and biodiesel industries. Considering that its exploitation is not commercial yet, the information about the genetic variability of populations in natural occurrence areas is of fundamental importance. Genetic variability may be accessed by microsatellite or SSR markers, considered ideal for studies in natural populations. However, there are no reports of microsatellites development to *A. vulgare*. The aim of this study was to evaluate the transferability of SSR loci developed for other palm species to *A. vulgare*. DNA extraction was performed from *A. vulgare* leaflet samples from seven natural stands and, after quantification, the DNAs were subjected to PCR with the loci developed to *Bactris gasipaes*, *Phoenix dactylifera* and *Astrocaryum aculeatum*. Amplification conditions followed the protocol developed for *A. aculeatum*, with minor adaptations. The amplified products were applied to agarose gel 3.5%, stained with ethidium bromide and subjected to horizontal electrophoresis. Profiles of the gels were photodocumented and the images were digitally stored. The transferability of locos was evaluated with basis on the amplification of the products, their sharpness and lack of nonspecific bands. All loci for *A. aculeatum* and most for *B. gasipaes* were amplified and 75% of them proved to be useful to access the genome of *A. vulgare*, while only two loci of *P. dactylifera* were amplified, with many nonspecific bands, showing to be infeasible for studies of the genome of that species.

Recebido: 5 mar. 2015

Aceito: 7 abr. 2016

1 Introdução

O tucumazeiro (*Astrocaryum vulgare* Mart.), também conhecido como tucumã-do-Pará é uma palmeira perene de ocorrência frequente na Amazônia. Além de possuir importância sócio-econômica, graças ao seu uso popular na região, a espécie também é dotada de grande potencial para utilização como matéria-prima pelas indústrias alimentícia, fármaco-cosmética e do biodiesel, graças à elevada qualidade do seu óleo (Cymerys, 2005; Mambrim & Arellano, 1997). Apesar de tudo ainda é considerada uma palmeira não domesticada (Clement et al., 2005) e vem sendo explorada de forma extrativista. Este tipo de atividade, se inadequada, pode conduzir a perdas irrecuperáveis de variabilidade genética em áreas de ocorrência natural da espécie. Assim sendo, estudos que possam contribuir com a quantificação da variabilidade genética dessa palmeira tornam-se essenciais, pois poderão em curto tempo para auxiliar em estratégias adequadas de manejo de suas populações além de direcionar a coleta de germoplasma.

Há diversas classes de marcadores que podem ser utilizados para estimar a variabilidade genética. Porém, os mais utilizados em plantas perenes são os marcadores moleculares, devido a uma série de características que possuem, dentre elas o fato de serem independentes do estágio fisiológico da planta, o que os tornam ideais para caracterização de recursos genéticos de espécies como o tucumazeiro (Milach, 1998). Dentre os marcadores moleculares disponíveis, os microssatélites ou SSR, que são sequências curtas de DNA repetidas *in tandem* apresentam-se como ideais para estudos da variabilidade em populações naturais. De acordo com Nass (2007), isso se deve, principalmente, ao fato de serem codominantes, facilmente detectáveis por PCR, abundantes, aparentemente distribuídos por todo genoma e multialélicos.

A caracterização da variabilidade genética em germoplasma de tucumã-do-pará por marcadores microssatélites é essencial no manejo e na conservação *in situ* e *ex situ*. Mas, o uso desse tipo de marcador molecular requer o desenvolvimento prévio de locos, os quais não existem para a espécie, além de ser um processo trabalhoso e oneroso (Nass, 2007). Entretanto, a conservação de sítios que flanqueiam os microssatélites entre espécies relacionadas permite a transferência destes marcadores

entre espécies do mesmo gênero ou de gêneros diferentes utilizando-se locos heterólogos (Pinto, 2007).

A transferência de locos microssatélites vem sendo realizada com sucesso entre várias espécies (Fagundes et al., 2016). Em palmeiras há alguns exemplos de sucesso na transferibilidade de locos SSR como de *Euterpe edulis* para *E. oleracea* (Gaiotto et al., 2001), de *Butia eriospatha* para *B. catarinensis* (Nazareno et al., 2011), de *Bactris gasipaes* para *Astrocaryum aculeatum* (Ramos et al., 2011), de *Cocus nucifera* para *Butia odorata* (Mistura et al., 2012) e de *A. aculeatum* para outras espécies do mesmo gênero (Ramos et al., 2012). O objetivo foi avaliar a transferibilidade de locos microssatélites desenvolvidos para outras espécies de palmeiras em *A. vulgare*.

2 Material e Métodos

Foram coletados folíolos de tucumazeiros em sete povoamentos florestais de diferentes localidades geográficas, sendo elas: Altos, PI (latitude 5° 02' 24" S, longitude 42° 27' 41" W, altitude 186 m), São Caetano de Odivelas, PA (latitude 0° 44' 40" S, longitude 48° 01' 42" W, altitude 3 m), Mocajuba, PA (latitude 2° 35' 31" S, longitude 49° 28' 60" W, altitude 16 m), Rondon do Pará, PA (latitude 4° 46' 31" S, longitude 48° 04' 03" W, altitude 192 m), Soure, PA (latitude 0° 40' 03" S, longitude 48° 30' 27" W, altitude 30 m), Irituia, PA (latitude 1° 46' 28" S, longitude 47° 26' 29" W, altitude 21 m) e Macapá, AP (latitude 0° 02' 04" N, longitude 51° 03' 60" W, altitude 12 m). Após a coleta os folíolos foram encaminhados ao laboratório de Genética e Biologia Molecular da Embrapa Amazônia Oriental para a extração de DNA genômico, de acordo com o protocolo de Doyle & Doyle (1990) adaptado por Costa & Oliveira (2002).

As amostras de DNA foram quantificadas em gel de agarose a 1%, pela comparação de três padrões de DNA do fago λ (50, 100 e 200 ng μL^{-1}). Os perfis dos géis foram digitalizados e lidos no programa Labimage. Após a quantificação as amostras foram diluídas para a concentração de 10 ng μL^{-1} de DNA e armazenadas a -20 °C.

Para a realização das reações de PCR's foram escolhidas ao acaso sete amostras de DNA representantes dos povoamentos. Nas reações foram testados 31 locos microssatélites (Tabela 1) sendo oito desenvolvidos para a pupunheira (*Bactris gasipaes*) por Billote et al. (2004a), onze para a

Tabela 1. Informação dos locos SSR testados nas amostras de *A. vulgare* com suas respectivas temperaturas de anelamento citadas na literatura e testadas no trabalho.

Table 1. Information on the marker loci SSR tested in the samples of *A. vulgare* with their respective annealing temperature related in the literature and tested in the work.

Locos SSR	Sequência do primer (5'-3')	Ta (°C)	Ta testadas (°C)
mPd 010	F: ACCCCGGACGTGAGGTG R: CGTCGATCTCCTCCTTTGTCTC	55,9	53-54-55-56-57-58
mPd 015	F: AGCTGGCTCCTCCCTTCTTA R: GCTCGGTTGGACTTGTTCT	51,6	49-50-51-52-53-54
mPd 016	F: AGCGGGAAATGAAAAGGTAT R: ATGAAAACGTGCCAAATGTC	51,7	49-50-51-52-53-54
mPd 025	F: GCACGAGAAGGCTTATAGT R: CCCCTCATTAGGATTCTAC	49,3	47-48-49-50-51-52

mPd= *Phoenix dactylifera* (Billote et al., 2004b); mBg= *Bactris gasipaes* (Billote et al., 2004a); Aac= *Astrocaryum aculeatum* (Ramos et al., 2012); Ta: temperatura de anelamento.

Tabela 1. Continuação...

Table 1. Continued...

Locos SSR	Sequência do primer (5'-3')	Ta (°C)	Ta testadas (°C)
mPd 032	F: CAAATCTTTGCCGTGAG R: GGTGTGGAGTAATCATGTAGTAG	51,5	49-50-51-52-53-54
mPd 035	F: ACAAACGGCGATGGGATTAC R: CCGCAGCTCACCTCTTCTAT	53,9	51-52-53-54-55-56
mPd 044	F: ATGCGGACTACACTATTCTAC R: GGTGATTGACTTTCTTTGAG	51,7	49-50-51-52-53-54
mPd 048	F: CGAGACCTACCTTCAACAAA R: CCACCAACCAAATCAAACAC	51,4	49-50-51-52-53-54
mPd 050	F: CTGCCATTTCTTCTGAC R: CACCATGCACAAAAATG	48,5	46-47-48-49-50-51
mPd 063	F: CTTTTATGTGGTCTGAGAGA R: TCTCTGATCTTGGGTTCTGT	49,8	47-48-49-50-51-52
mPd 070	F: CAAGACCCAAGGCTAAC R: GGAGGTGGCTTTGTAGTAT	48,7	46-47-48-49-50-51
mBg 41	F: TGGAGGTTTCAAGATAGAC R: AGTGTTGGCGATCTGTC	52,0	49-50-51-52-53-54
mBg 58	F: TTTGATACCCAGAGAGA R: AGCGAGAAACACGAATAC	52,0	49-50-51-52-53-54
mBg 62	F: CTACAGGGAGTGCATCTAC R: CCACCATTCAGCAATATTAG	52,0	49-50-51-52-53-54
mBg 66	F: GCATGTTGCATTGACTA R: GAATCCTGGTTCAGATACT	52,0	49-50-51-52-53-54
mBg 77	F: TTTGCATGTTGGGACAT R: ACTGCTACTGGCACTGTAAG	58,0	49-50-51-52-53-54
mBg 91	F: CAAGAACAGGCTCAGTCTA R: TGCAATCAACCCAAGAT	52,0	49-50-51-52-53-54
mBg 17	F: TTGTCTGCTCTAGCTCATTGG R: CGCTCAATCCAGTGCAAG	52,0	50-52-58
mBg 55	F: TTCTGGGTGCGGTGGTAG R: TGATGGACTGAAGAGATGGAATAG	52,0	50-52-58
Aac 01	F: CACATGGTTCCTCCTCGTTC R: GCGAAAGGGTATAGTCAGCG	60,0	60
Aac 02	F: CGATTTGAGTCCGATGTG R: GCAGTTGTGTGTCTGGTTCT	60,0	58-59-60-61-62-63
Aac 03	F: GCCTCCTTTAGTTCTGCAC R: AGCATCGGACTTTCCAGGT	60,0	58-59-60-61-62-63
Aac 04	F: GCATTGTCATCTGCAACCAC R: GCAGGGGCCATAAAGTCATAA	60,0	58-59-60-61-62-63
Aac 05	F: GTCCAATTCAGCTCGGCTT R: TTATGCAATGGTGGTGCTGT	62,0	62
Aac 06	F: TCTGATCCATCTGGTTGTCTAA R: TGCATGGTGCTAGAGTAATCC	64,0	61-62-63-64-65-66
Aac 09	F: TGCATGGTGCTAGAGTAATCC R: GGAAAGAGAAGCAAGGAGTGG	66,0	64-65-66-67-68-69
Aac 10	F: AGCCGTGAGTGAAGTCTTT R: AAGCCCAAACCTTCTCCTCG	60,0	58-59-60-61-62-63
Aac 11	F: AAAGGAACAACCCAAGAGGG R: TGGGGAGTGGACGTAAGTGT	60,0	58-59-60-61-62-63
Aac 12	F: GCTCTGTAATCTCGGCTTCTT R: TCCAGTTCAAGCTCTCTCAGC	60,0	58-59-60-61-62-63
Aac 13	F: CTAGACAACCCAAGAGAGGGG R: TTGGAGAGTGGATGTAGGTGC	60,0	58-59-60-61-62-63
Aac 14	F: GGCCAGTTGTGTTGATGAAA R: TTAAGCCCCTGGTGAACA	55,0	55

mPd= *Phoenix dactylifera* (Billote et al., 2004b); mBg= *Bactris gasipaes* (Billote et al., 2004a); Aac= *Astrocaryum aculeatum* (Ramos et al., 2012); Ta: temperatura de anelamento.

tamareira (*Phoenix dactylifera*) por Billote et al. (2004b) e doze para o tucumã-do-Amazonas (*Astrocaryum aculeatum*) por Ramos et al. (2012). O conteúdo dos componentes das reações foi feito conforme Ramos et al. (2012) com adaptações contendo 3,48 µL H₂O mili-Q; 1,0 µL de tampão 10X; 1,0 µL de dNTP (0,2 mM); 1,0 µL de MgCl₂ (2,5 mM µL⁻¹); 0,5 µL de primer reverse (2,5 mM µL⁻¹); 0,5 µL de primer forward (2,5 mM µL⁻¹); 0,2 µL de Taq DNA polimerase (50 un µL⁻¹); e 1,0 µL de DNA genômico (10 ng µL⁻¹), representando volume final de 8,68 µL. As soluções preparadas foram distribuídas em microtubos com capacidade para 200 µL.

As PCR's foram realizadas em termociclador Gene Amp PCR System 9700. Para os locos de *A. aculeatum* as amplificações foram realizadas conforme Ramos et al. (2012), sendo constituídas de duas etapas: a primeira consistiu na desnaturação (68 °C por 2 min; 94 °C por 30 s) seguida por 30 ciclos de desnaturação (30 s a 92 °C) e anelamento por 35 s usando a temperatura específica de cada par de primer (Tabela 1) e extensão por 30 s a 68 °C; a segunda etapa consistiu de 15 ciclos de desnaturação (30 s a 92 °C, seguida pelo anelamento a 53 °C por 30 s e extensão a 72 °C por 30 s) com a extensão final a 72 °C por 30 min. Para os locos de *Bactris gasipaes* e *Phoenix dactylifera* as amplificações foram feitas de acordo com Billote et al. (2004 a,b). Nos locos que não apresentaram bom padrão de amplificação na temperatura de anelamento recomendada foram feitos ajustes.

A separação dos produtos amplificados foi feita por eletroforese horizontal em gel de agarose a 3,5% com 100 V por 3 h, corado com brometo de etídio. Foram acrescidos 5 µL de azul de bromofenol à reação de PCR e, em seguida, aplicada no gel de agarose. O tampão do gel e de corrida foi o TBE (Tris base 0,1 M; ácido bórico 1 M e EDTA 0,5 M). Após a eletroforese, os géis foram fotodocumentados e armazenados em forma digital, para posterior avaliação.

A avaliação da transferibilidade foi feita, primeiramente, de forma visual com base em três critérios: amplificação dos locos, nitidez das bandas e ausência de produtos secundários. A taxa de transferibilidade foi obtida pela expressão: Transferibilidade (%) = n° locos transferíveis/n° de locos testados*100, sendo calculada para cada espécie.

3 Resultados e Discussão

Dos onze locos de *P. dactylifera* testados apenas dois (mPd015 e mPd032) apresentaram amplificação, com a presença de produtos secundários (bandas inespecíficas) e fragmentos fracos, abaixo de 100 pb (Figura 1). Para esses locos as temperaturas de anelamento ótimas foram 52 e 50°C, respectivamente (Tabela 2). A taxa de transferibilidade para esse conjunto de locos foi considerada nula (Tabela 3). Tais resultados sugerem

Tabela 2. Locos SSR de *Phoenix dactylifera*, *Bactris gasipaes* e *Astrocaryum aculeatum* amplificados nas amostras de *A. vulgare*, com as respectivas temperaturas de anelamento e tamanho dos fragmentos.

Table 2. Marker loci SSR of *Phoenix dactylifera*, *Bactris gasipaes* and *Astrocaryum aculeatum* amplified in the samples of *A. vulgare*, with the respective annealing temperatures and fragment size.

Locos SSR	Ta ótima (°C)	Tamanho estimado dos fragmentos (pb)
mPd 015	52	50
mPd 032	50	80
mBg 17	58	150-180
mBg 41	52	180
mBg 55	55	180-200
mBg 58	52	280-310
mBg 62	52	150-200
mBg 66	52	210
mBg 77	52	200-300
mBg 91	52	210-300
Aac 01	60	100-200
Aac 02	61	100-210
Aac 03	60	210
Aac 04	60	400-500
Aac 05	62	190-210
Aac 06	64	400-500
Aac 09	67	600-700
Aac 10	63	200-310
Aac 11	63	400-500
Aac 12	59	180
Aac 13	58	400-500
Aac 14	55	100-210

Ta: temperatura de anelamento; mPd= *Phoenix dactylifera*; mBg= *Bactris gasipaes*; Aac= *Astrocaryum aculeatum*.

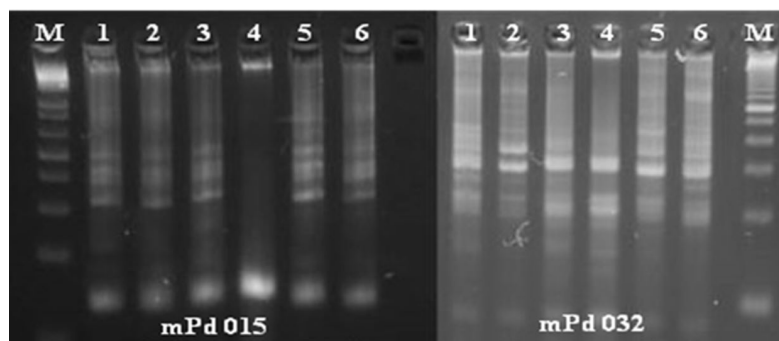


Figura 1. Padrão de amplificação de dois locos SSR mPd015 e mPd032 desenvolvidos para *P. dactylifera* em seis amostras de DNA de *A. vulgare*. (M= marcador de 1 kb; 1 a 6= amostras de DNA).

Figure 1. Amplification pattern of two SSR loci mPd015 and mPd032 developed for *P. dactylifera* in six samples of DNA of *A. vulgare* (M= marker of 1 kb; 1 to 6= samples of DNA).

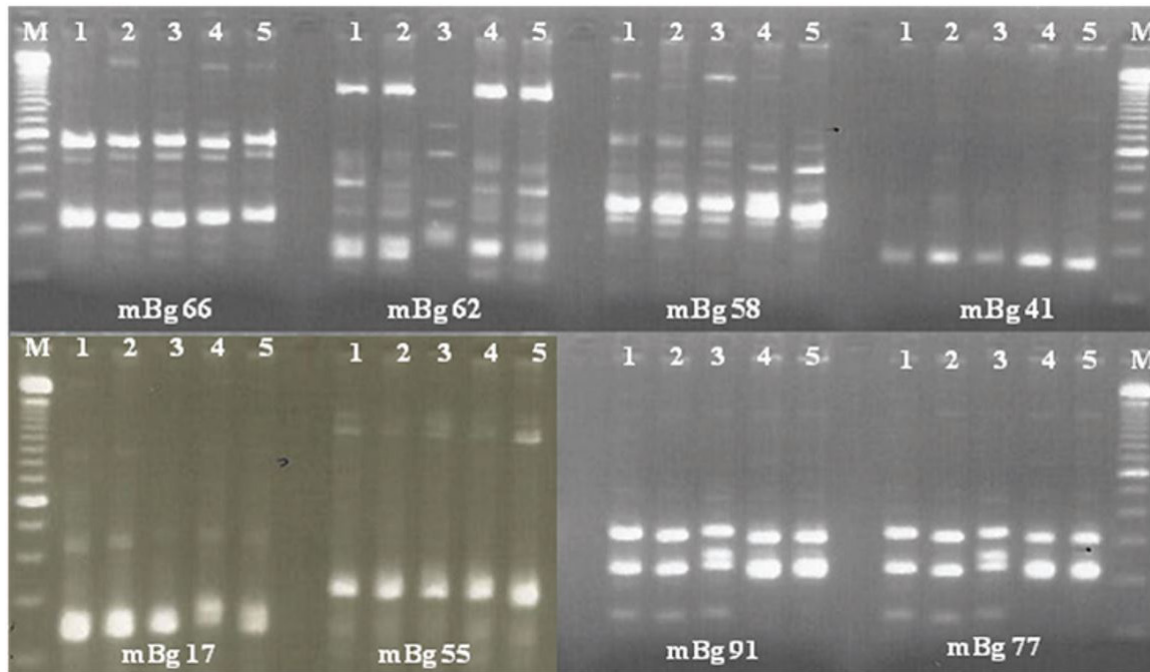


Figura 2. Padrão de amplificação de oito locos SSR de *Bactris gasipaes* em cinco amostras de DNA de *A. vulgare*. (M= marcador 1kb; 1 a 5= amostras de DNA).

Figure 2. Amplification pattern of eight SSR loci of *Bactris gasipaes* at five samples the DNA of *A. vulgare* (M= marker 1kb; 1 to 5= samples of DNA).

Tabela 3. Taxa de transferibilidade dos locos microssatélites de *Phoenix dactylifera*, *Bactris gasipaes* e *Astrocaryum aculeatum* nas amostras de *A. vulgare*.

Table 3. Transferability percentage of the microsatellite loci of *Phoenix dactylifera*, *Bactris gasipaes* and *Astrocaryum aculeatum* in the samples of *A. vulgare*.

Locos SSR	Transferibilidade (%)
<i>Phoenix dactylifera</i>	0
<i>Bactris gasipaes</i>	75
<i>Astrocaryum aculeatum</i>	75

a possibilidade de obtenção de dados errôneos, com sub ou superestimação no número de alelos, se aplicados em genomas de *A. vulgare* e certa dificuldade na transferência de locos SSR entre espécies de gêneros distintos.

No caso dos oito locos SSR de *B. gasipaes* todos se mostraram amplificáveis em *A. vulgare* e boa parte com bom padrão de amplificação (Figura 2). Seis deles amplificaram na temperatura de anelamento recomendada por Billote et al. (2004a), enquanto os locos mBg17 e mBg55 tiveram suas temperaturas ajustadas para 58 °C (Tabela 2). Com exceção do mBg 41, todos os locos mostraram-se polimórficos com tamanhos dos fragmentos variando de 150 a 310 pb. Vale ressaltar que os locos mBg62 e mBg58, apesar de terem amplificado, apresentaram bandas inespecíficas, o que pode inviabilizar seus usos em análises genéticas da espécie em foco. Para esses locos a taxa de transferibilidade alcançou 75% (Tabela 3).

Em relação aos doze locos de *A. aculeatum* todos apresentaram amplificação, sendo que no Aac03 e Aac12 os fragmentos amplificados a 210 pb e 180 pb, respectivamente, apresentaram

baixa resolução (Figura 3). Para os locos Aac01, Aac05 e Aac 14 não houve necessidade de ajuste da temperatura de anelamento, porém nos demais as temperaturas foram ajustadas (Tabela 2). Apesar da boa amplificação foi constatada a presença de produtos secundários nos locos Aac 02, Aac 11 e Aac 13, o que ocasionar dificuldades de seus usos em genomas de *A. vulgare*. A taxa de transferibilidade também foi de 75% (Tabela 3), considerada alta.

De um modo geral, o percentual de transferibilidade foi altamente variável (0 a 75%). Segundo Mistura et al. (2012) a taxa de transferibilidade depende das espécies envolvidas. Esses autores obtiveram 40% de sucesso ao transferirem locos de coqueiro (*Cocos nucifera*) para butiá (*Butia odorata*), ambas de ocorrência tropical e de gêneros distintos diferindo dos resultados aqui obtidos para os locos de tâmara (*P. dactylifera*), espécie de ocorrência e de gênero distinto do tucumã-do-pará. Mas, similar à taxa dos de pupunha (*B. gasipaes*), que apesar de não ser do mesmo gênero da espécie em questão, possui o mesmo local de ocorrência, a Amazônia (Dransfield et al., 2005). Fagundes et al. (2016) também obtiveram altas taxas de transferibilidade quando aplicaram locos de *Eugenia uniflora* em oito espécies de Mirtáceas do mesmo gênero e de gêneros distintos, sendo todas da mata Atlântica. Esses resultados sugerem maiores possibilidades de sucesso quando a transferibilidade de locos se dá entre espécies de gêneros distintos, mas de ocorrência na mesma região.

Vale ressaltar que os locos de tâmara se mostraram transferíveis para outras seis espécies do gênero *Astrocaryum*: *A. alatum*, *A. chambira*, *A. chonta*, *A. sciophilum*, *A. scopatum*, *A. urostachys* (Billote et al. (2004b), sendo todas de ocorrência tropical. Há relatos também de que *P. dactylifera* não seja adaptada às

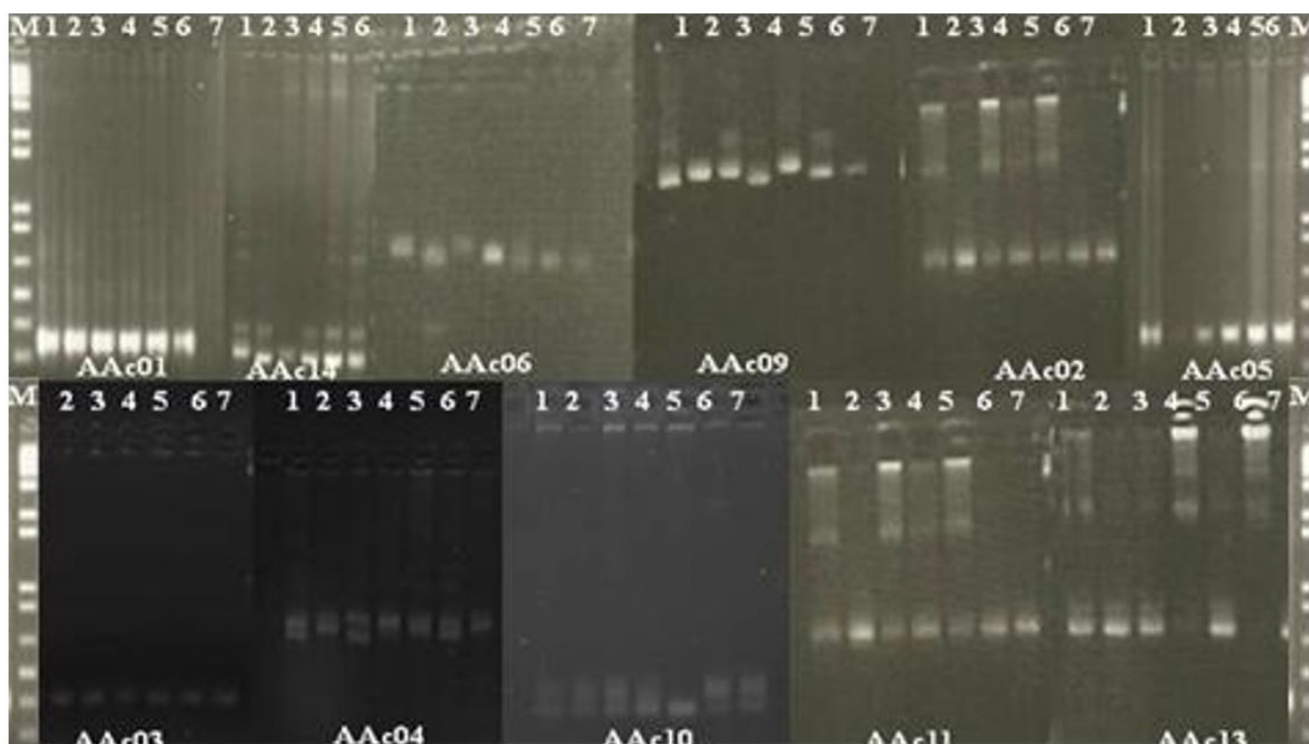


Figura 3. Perfil de gel de agarose contendo a amplificação de onze locos SSR de *A. aculeatum*. (M= marcador 1 kb; Aac= *Astrocaryum aculeatum*; 1 a 7= amostras de DNA).

Figure 3. Outline of agarose gel showing the amplification products of eleven SSR loci of *A. aculeatum* (M= marker 1 kb; Aac= *Astrocaryum aculeatum*; 1 to 7= samples of DNA).

condições do trópico úmido (Haynes & Mclaughlin, 2000), faixa climática de ocorrência de *A. vulgare* demonstrando certo grau de isolamento geográfico entre as espécies. Acredita-se que, ao longo do processo evolutivo, essas duas espécies divergiram de maneira diferente, fazendo com que existam poucas regiões conservadas ao longo de seus genomas, o que explicaria a taxa de transferibilidade nula obtida para estes locos. Dessa forma, o sucesso da transferibilidade de locos microssatélites deve diminuir com o aumento da distância filogenética entre as espécies envolvidas.

Por outro lado, a ocorrência da pupunha (*B. gasipaes*) e do tucumã (*A. vulgare*) na mesma região fornece indícios de que elas tenham se originado de um ancestral comum, divergindo em algum momento do ciclo evolutivo. Roncal et al. (2013), ao realizarem a filogenia do gênero *Astrocaryum* com base em marcadores moleculares demonstraram que as espécies desse gênero apresentaram alta similaridade genética (84%) com as espécies da tribo *Bactridinae*. Como os locos de *B. gasipaes* exibiram considerável taxa de transferibilidade (75%), há grandes possibilidades de sucesso na aplicação em genomas de *A. vulgare*, uma vez que esses mesmos locos apresentaram bons resultados em genomas de *A. aculeatum* (Ramos et al., 2011).

No caso dos locos de *A. aculeatum*, o padrão de amplificação foi nítido, com pouca presença de produtos secundários e alta taxa de transferibilidade (75%) estando em concordância com os resultados de *Butia eriospatha* para *B. catarinensis* (Nazareno et al., 2011) e de *Theobroma cacao* para *T. grandiflorum* (Alves et al., 2006), com 86% e 60,4%, respectivamente. Mas, diferente

do obtido de *Euterpe edulis* para *E. oleracea* (Gaiotto et al., 2001) cuja taxa foi bem menor (38,9%), permitindo inferir que o sucesso na transferibilidade seja maior entre espécies do mesmo gênero e que ocorram na mesma região.

A conservação de sítios que flanqueiam os microssatélites entre espécies relacionadas permite a transferência de locos, sendo que quanto mais aparentadas forem às espécies maiores serão as taxas de transferibilidade (Pinto, 2007). Esta informação está em consonância com Roncal et al. (2013) que evidenciaram alta proximidade genética entre *A. aculeatum* e *A. vulgare*, as quais também guardam grande semelhança morfológica (Uhl & Dransfield, 1987). Além disso, há a possibilidade da ocorrência de fluxo gênico entre essas duas espécies, pois segundo Borém (2005) espécies que sobrevivem em um mesmo ambiente por milhares de anos, apresentam menor barreira genética, apesar de permanecerem com suas propriedades genéticas particulares.

4 Conclusões

Os locos microssatélites de *Bactris gasipaes* e *Astrocaryum aculeatum* mostram-se viáveis no acesso de informações genéticas em genomas de *A. vulgare*, com altas taxas de transferibilidade, enquanto os de *Phoenix dactylifera* não devem ser indicados.

Referências

ALVES, R. M.; SEBBENN, A. M.; ARTERO, A. S.; FIGUEIRA, A. Microsatellite loci transferability from *Theobroma cacao* to *Theobroma grandiflorum*. *Molecular Ecology Notes*, v.6, p. 1219-1221. 2006.

- BILLOTE, N.; COUVREUR, T.; MARSEILLAC, N.; BROTTIER, P.; PERTHUIS, B.; VALLEJO, M.; NOYER, J. L.; JACQUEMOUD-COLLET, 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*. *Molecular Ecology Notes*, n.4, p. 580-582, 2004a.
- BILLOTTE, N.; MARSEILLAC, N.; BROTTIER, P.; NOYER, J. L.; JACQUEMOUD-COLLET, J. P.; MOREAU, C.; COUVREUR, T.; CHEVALLIER, M. H.; PINTAUD, J. C.; RISTERUCCI, A. M. Nuclear microsatellite markers for the date palm (*Phoenix dactylifera* L.): characterization and utility across the genus *Phoenix* and in other palm genera. *Molecular Ecology Notes*, n. 4, p. 256-258, 2004b.
- BORÉM, A. Considerações sobre o fluxo gênico. *Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento*, n.34, p. 86-90, 2005.
- COSTA, M. R.; OLIVEIRA, M. do S. P. de. Extração de DNA de açaizeiro a partir de folhas. Embrapa Amazônia Oriental, 2002. (Embrapa Amazônia Oriental. Documentos, 127). 2002, 22p.
- CLEMENT, C. R.; LLERAS PÉREZ, E.; VAN LEEUWEN, J. O potencial das palmeiras tropicais no Brasil: acertos e fracassos das últimas décadas. *Agrociências*, v. 9, n.1-2, p. 67-71, 2005.
- CYMERYS, M. Tucumã-do-Pará (*Astrocaryum vulgare* Mart.). In: SHANLEY, P.; MEDINA, G. *Frutíferas e Plantas Úteis na Vida Amazônica*. Belém: CIFOR, Imazon, 2005. p. 209-214.
- DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, v.12, p 13-15, 1990.
- FAGUNDES, B. S.; SILVA, L. F da; GIACOMIN, R. M.; SECCO, D.; DÍAS-CRUZ, J. A.; SILVA, P. R da. Transferability of microsatellite markers among Myrtaceae species and their use to obtain population genetics data to help the conservation of the Brazilian Atlantic Forest. *Tropical Conservation Science*, v. 9, n. 1, p. 408-422, 2016.
- GAIOTTO, F. A.; BRONDANI, R. P. V.; GRATTAPAGLIA, D. Microsatellite markers for heart of palm – *Euterpe edulis* and *E. oleracea* Mart. (Palmae). *Molecular Ecology Notes*, v. 1, n. 1/2, p. 86-88, 2001.
- HAYNES, J.; MCLAUGHLIN, J. *Edible Palms and Their Uses*. Florida Cooperative Extension Service. Institute of Food and Agricultural Sciences. University of Florida. 2000. 13p.
- MAMBRIM, M. C. T.; ARELLANO, D. B. Caracterización de aceites de frutos de palmeras de la región amazónica del Brasil. *Grasas y Aceites*, v. 48, n.3, p. 154-158, 1997.
- MILACH, S. C. K. Marcadores de DNA. *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*, n.5, p. 14-17, 1998.
- MISTURA, C. C.; BARBIERI, R. L.; CASTRO, C. M.; PRIORI, D.; VILLELA, J. C. B. Transferibilidade de marcadores microsatélites de coco (*Cocos nucifera*) para butiá (*Butia odorata*). *Magistra*, v. 24, n. 4, p. 360-369, 2012.
- NASS, L. L. *Recursos genéticos vegetais*. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. 858p.
- NAZARENO, A. G.; ZUCCHI, M. I.; REIS, M. S. Microsatellite markers for *Butia eriospatha* (Arecaceae), a vulnerable palm species from the Atlantic Rainforest of Brazil. *American Journal of Botany*, v.98, n.7, p.198-200, 2011.
- PINTO, M. F. F. C. *Caracterização de locos microsatélites em duas espécies de abelhas da região amazônica: Melipona compressipes e Melipona seminigra (Hymenoptera: Apidae: Meliponina)*. 2007. 66 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Tropical e Recursos Naturais)- Universidade Federal do Amazonas, Manaus. 2007.
- RAMOS, S. L. F.; LOPES, M. T. G.; LOPES, R.; CUNHA, R. N. V.; MACEDO, J. L. V.; CONTIM, L. A. S.; CLEMENT, C. R.; RODRIGUES, D. P.; BERNARDES, L. G. Determination of the mating system of Tucumã palm using microsatellite markers. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, vol.11, n.2, p. 181-185, 2011.
- RAMOS, S. L. F.; MACÊDO, J. L. V. DE; LOPES, M. T. G.; BATISTA, J. S.; FORMIGA, K. M.; SILVA, P. P. DA; SAULO-MACHADO, A. C.; VEASEY, E. A. Microsatellite loci for tucumã of amazonas (*Astrocaryum aculeatum*) and amplification in other Arecaceae. *American Journal of Botany*, v. 99, n. 12, p. e508-e510, 2012. <http://dx.doi.org/10.3732/ajb.1100607>.
- RONCAL, J.; KAHN, F.; MILLAN, B.; COUVREUR, T. L. P.; PINTAUD, J. Cenozoic colonization and diversification patterns of tropical American palms: evidence from *Astrocaryum* (Arecaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, v. 171, p. 120–139, 2013.
- UHL, N. W.; DRANSFIELD, J. *Genera Palmarum*. Lawrence: Allen Press, 1987. 610 p.

Contribuição dos autores: Andréa Cristina Rodrigues Fortes – Condução e obtenção dos dados; Maria do Socorro Padilha de Oliveira – Orientação de todas as etapas e na redação científica; Eliciany de Nazaré Miranda Sanches – Condução e obtenção dos dados de *Bactris gasipaes*; Natália Padilha de Oliveira – Coleta dos folíolos e extração dos DNA's; Elisa Ferreira Moura Cunha – auxílio na redação científica.

Agradecimentos: À Embrapa Amazônia Oriental pela disponibilização da infraestrutura do Laboratório de Genética Molecular para a realização do trabalho. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES pela concessão da bolsa de Mestrado à primeira autora Discente do Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia Aplicada à Agropecuária da Universidade Federal Rural da Amazônia.

Fonte de financiamento: projeto PROPALMA - Pesquisa, desenvolvimento e inovação em palmáceas para a produção de óleo e aproveitamento econômico de coprodutos e resíduos - Financiada pela FINEP.

Conflito de interesse: Os autores declaram não haver conflito de interesse.