



## CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE BACURIZEIRO (*Platonia insignis* Mart.) DE OCORRÊNCIA NATURAL, ATRAVÉS DE MARCADORES ISSR

Johnes Pinto Sanches<sup>1</sup>, Elisa Ferreira Moura<sup>2</sup>, Maria do Socorro Padilha de Oliveira<sup>2</sup>, Simone de Miranda Rodrigues<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bolsista PIBIC/FAPESPA Embrapa Amazônia Oriental, Laboratório de Genética, johnes.p.sanches@gmail.com

<sup>2</sup>Pesquisador Embrapa Amazônia Oriental, Laboratório de Genética Molecular, elisa.moura@embrapa.br, simone.rodrigues@embrapa.br, socorropadilha.oliveira@embrapa.br

**Resumo:** O bacurizeiro (*Platonia insignis* Mart.) é uma espécie frutífera de ocorrência natural que apresenta múltiplo uso. Oriundo do extrativismo de áreas antropizadas, apresenta elevado potencial econômico, podendo ser consumido na forma de suco, doces, sorvete e in natura. Este trabalho teve por objetivo caracterizar a diversidade genética de uma população natural de *Platonia insignis* localizada no município de Bragança, no estado do Pará, por meio de marcadores ISSR (*inter simple sequence repeats*). Foram coletadas amostras foliares de dez plantas adultas e de 37 plântulas de uma população localizada em floresta secundária, no município mencionado. Os DNAs foram extraídos e posteriormente genotipados com 12 *primers* ISSR no Laboratório de Genética Molecular da Embrapa Amazônia Oriental. As 47 amostras amplificaram 75 bandas, das quais, 22 foram polimórficas, representando uma taxa de 29,33% de polimorfismo, com média de 2,44 bandas polimórficas. O dendrograma (UPGMA) constatou que 12 mostraram-se distintos, sendo possível discriminar os clones com similaridade genética acima de 0,95. Conclui-se que a população de bacurizeiro apresenta grande incidência clonal entre os indivíduos, resultando em baixa diversidade.

**Palavras-chave:** diversidade clonal, florestas secundárias, reprodução assexuada, variabilidade genética

### Introdução

O bacurizeiro (*Platonia insignis* Mart.) é uma frutífera de ocorrência natural, nativa da Amazônia, que apresenta grande potencial, sendo citada como espécie amazônica em ascensão devido ao seu uso múltiplo, destacando-se pela qualidade do seu fruto e da madeira, e por adequar-se ao manejo de áreas de florestas secundárias em áreas de regeneração natural, principalmente no nordeste paraense, onde ocorre com maior frequência (HOMMA, 2014). Menezes et al. (2016) ressaltam que pelo fato de apresentar valores elevados na sua comercialização, tornou-se uma oportunidade de incentivar o manejo da rebrota das plantas em vegetações antropizadas.

Para fomentar estudos de manejo e exploração de populações nativas, o uso de marcadores moleculares tem tido cada vez mais destaque como ferramenta importante para o melhoramento genético de plantas, podendo subsidiar o melhor planejamento para condução do manejo em área de ocorrência natural ou em acessos de coleções de germoplasma (SCHUSTER et al., 2006). Dentre os marcadores



moleculares, existem os ISSR, que são dominantes e apropriados para uso em espécies para as quais informações extensivas em sequências de DNA ainda não estão disponíveis (FALEIRO, 2007).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a diversidade genética de uma população de *Platonia insignis* Mart., da microrregião bragantina, com base em marcadores ISSR.

### Material e Métodos

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Genética Molecular da Embrapa Amazônia Oriental. Foram utilizadas amostras foliares de 47 indivíduos de bacurizeiro, dos quais dez foram plantas adultas e 37 plântulas de uma população localizada em floresta secundária, no município de Bragança, PA. O DNA genômico foi extraído de acordo com o método de Doyle e Doyle (1990). Em seguida, as amostras foram quantificadas em gel de agarose a 1% e coradas com brometo de etídio, utilizando-se três DNAs lambda com padrões de 50, 100 e 200 ng.μL<sup>-1</sup>. O DNA das amostras foi diluído para a concentração 10 ng.μL<sup>-1</sup>. As reações de PCR foram preparadas para 20 μL, nas quais foram utilizados 12 *primers* ISSR. Os produtos das reações foram aplicados em gel de agarose a 1,5%, preparado com TBE (0,45 M de Tris-Borato e 0,01 M de EDTA) 1,0X e corados com brometo de etídio, sendo submetido à eletroforese horizontal a 100 v por um período de 3 horas e 30 minutos. O marcador DNA *Ladder* 1kb (*Invitrogen*<sup>®</sup>, Brasil) foi utilizado como referência de peso molecular para estimar os tamanhos dos produtos da amplificação. As imagens foram analisadas e a partir da ausência ou presença de bandas dos fragmentos amplificados, foi construída uma matriz binária. Posteriormente, foram analisadas a presença (1) ou ausência (0) da banda em cada acesso. O dendrograma gerado para a análise de similaridade foi baseado no método de agrupamento UPGMA por meio do programa PAST.

### Resultados e Discussão

Os 12 *primers* utilizados permitiram a obtenção de 75 bandas, com média de 6,25 bandas por primer. Desse total, dez foram monomórficas e expressas pelos *primers* UBC 842, UBC 890 e UBC 891. O máximo número de produtos amplificados foi observado nos perfis dos *primers* UBC 810 e UBC 826, com dez bandas. O número mínimo de produto amplificado foi visualizado nos perfis do *primers* UBC 890 e UBC 891, correspondendo a três bandas. Dentre os locos amplificados, 22 foram polimórficos, representando 29,33% de polimorfismo. Os *primers* UBC 808, UBC 811 e UBC 826 possuíam a maior porcentagem com valor igual a 50% (Tabela 1).

Souza et al. (2012), estudando a divergência genética entre acessos de bacurizeiro da coleção de germoplasma da Embrapa Meio-Norte com base em 18 *primers* ISSR, encontraram 236 bandas das quais 221 foram polimórficas, com mais de 93% de polimorfismo e apresentando grande diversidade genética entre os acessos. Tal resultado já era esperado, por se tratar de indivíduos coletados em diferentes locais



do nordeste brasileiro para formar o BAG. Uma explicação para o baixo polimorfismo detectado no presente estudo talvez seja devido à população acessada e não ao marcador molecular utilizado.

Tabela 1: Identificação dos *primers* ISSR com temperatura de anelamento ( $T_a$ ), sequências nucleotídicas, número total de bandas e taxas de polimorfismo detectado nos 47 indivíduos da população de bacurizeiro.

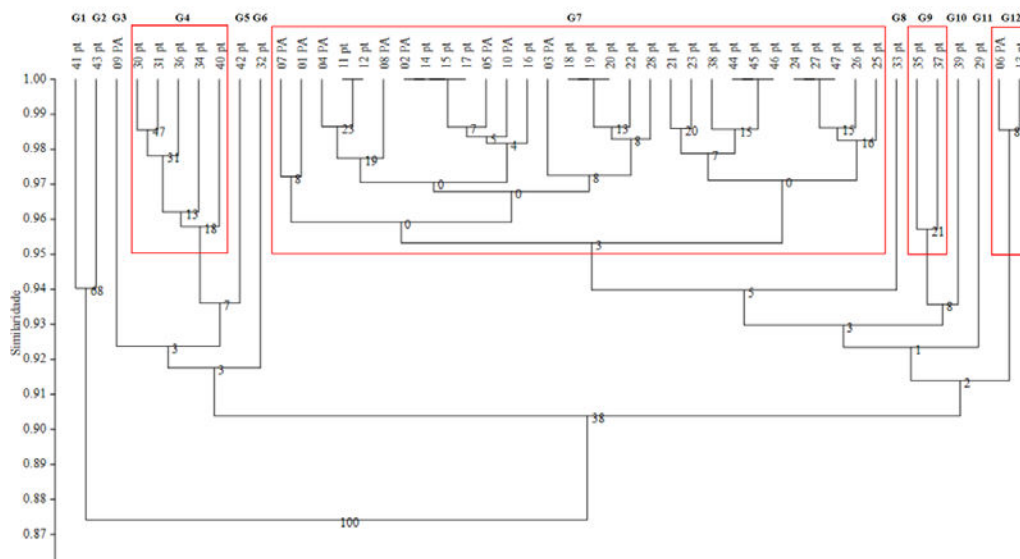
Primer	$T_a$ (°C)	Sequência (5'-3')*	Total de bandas	Bandas polimórficas	Taxa de Polimorfismo (%)
UBC 808	57	(AG) <sub>8</sub> C	8	4	50,0
UBC 809	57	(AG) <sub>8</sub> G	7	3	42,9
UBC 810	53	(GA) <sub>8</sub> T	10	2	20,0
UBC 811	54	(GA) <sub>8</sub> C	6	3	50,0
UBC 817	53	(CA) <sub>8</sub> A	6	1	16,7
UBC 825	54	(AC) <sub>7</sub> A	8	1	12,5
UBC 826	59	(AC) <sub>8</sub> C	10	5	50,0
UBC 827	59	(AC) <sub>8</sub> G	5	2	40,0
UBC 842	52	(GA) <sub>8</sub> YG	4	0	0,0
UBC 889	57	DBD (AC) <sub>7</sub>	5	1	20,0
UBC 890	59	VHV (GT) <sub>7</sub>	3	0	0,0
UBC 891	59	HVH (TG) <sub>7</sub>	3	0	0,0
<b>Media</b>			<b>6,25</b>	<b>2,44</b>	<b>29,33%</b>
<b>Total</b>			<b>75</b>	<b>22</b>	<b>-</b>

\*Y=(C, T); B=(C, G, T); D=(A, G, T); H=(A, G, T); V=(A, C, G).

A correlação cofenética ( $r$ ) foi de 0,86 (Figura 1), indicando boa confiabilidade entre as matrizes de similaridade com os agrupamentos realizados (UPGMA). Valor similar foi encontrado por Souza et al. (2012) ao avaliarem acessos de bacurizeiros e considerado alto e significativo, apresentando boa confiabilidade.

No dendrograma gerado a partir das 22 bandas polimórficas, pode-se visualizar a alta similaridade na população dos 47 indivíduos de bacurizeiro, sendo possível discriminar 12 grupos: G1, G2, G3, G4, G5, G6, G7, G8, G9, G10, G11 e G12 (Figura 1). Os valores de similaridade genética entre as 47 amostras variaram de 0,83 a 1, com média de 0,93. Considerou-se clones os indivíduos com índice de similaridade acima de 0,95, correspondendo a 64% da população estudada.

Cada grupo apresentou de 1 a 30 representantes, com destaque para o grupo G7 que teve maior número de representantes, contendo indivíduos com máxima similaridade genética (11pt e 12pt), (02PA; 14pt; 15pt e 17pt), (18pt, 19pt e 20pt), (44pt, 45pt e 46pt) e (24pt, 27pt e 47pt), comprovando que o modo de reprodução via assexuada (brotamento) foi predominante na população. As plântulas 13pt (G11) e 43pt (G1) se destacaram com a menor similaridade genética, de 0,82.



**Figura 1.** Dendrograma gerado pelo método UPGMA entre os 47 bacurizeiros da população de Benjamin Constant, Bragança-PA, com base nas similaridades genéticas obtidas a partir das 22 bandas polimórficas produzidas por nove primers ISSR. Identificação dos genótipos com 95% de similaridade. O valor do coeficiente de correlação cofenética foi 0,86.

### Conclusões

Com base na caracterização com marcadores moleculares ISSR, pode-se verificar que população natural de bacurizeiro apresenta baixa diversidade genética, uma vez que há grande incidência clonal entre os indivíduos.

### Agradecimentos

Os autores agradecem à FAPESPA pela bolsa do primeiro autor e à Embrapa pelo financiamento.

### Referências Bibliográficas

- DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v. 12, n. 1, p. 13-15, 1990.
- FALEIRO, F. G. **Marcadores genéticos moleculares aplicados a programas de conservação e uso de recursos genéticos**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2007. 102 p.
- HOMMA, A. K. O. (Ed.). **Extrativismo vegetal na Amazônia: história, ecologia, economia e domesticação**. Brasília, DF: Embrapa, 2014. 468 p.
- MENEZES, A. J. E. A. de; WATRIN, O. dos S.; HOMMA, A. K. O.; GUSMÃO, L. H. A. **Manejo de rebrotamentos de bacurizeiros (*Platonia insignis* Mart.): distribuição espacial e considerações tecnológicas dos produtores nas mesorregiões Nordeste Paraense e Ilha do Marajó**. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2016. 47 p. (Embrapa Amazônia Oriental. Documentos, 420).
- SCHUSTER, I.; VIEIRA, E. S. N.; PADILHA, L. Marcadores moleculares no pós-melhoramento. In: BORÉM, A.; CAIXETA, E. T. (Ed.). **Marcadores moleculares**. Viçosa: UFV, 2006. p. 205- 220.
- SOUZA, I. G. B.; SOUZA, V. A. B.; LIMA, P. S. C. Molecular characterization of *Platonia insignis* Mart. ("Bacurizeiro") using inter simple sequence repeat (ISSR) markers. **Molecular biology reports**, v. 40, n. 5, p. 3835-3845, 2012.