



14^o Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA
10 e 11 de agosto de 2010
Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA

SIMILARIDADE GENÉTICA ENTRE GENÓTIPOS DE TUCUMÃ TIPO LARANJADO POR MARCADORES RAPD

Jean Roberto Silva da Costa¹, Maria do Socorro Padilha Oliveira²

¹ Bolsista da FAPESPA, estágio não obrigatório, graduando de Ciências Biológicas, UFPA; jeancosta_bio@yahoo.com.br

² Pesquisadora da Embrapa Amazônia Oriental; spadilha@cpatu.embrapa.br

Resumo: Inferiu-se a similaridade genética entre genótipos de tucumã tipo laranjado com base em marcadores RAPD. As quinze amostras foram coletadas no Banco de Germoplasma da Embrapa Amazônia Oriental. A extração foi feita a partir do protocolo CTAB com modificações, sendo as amostras quantificadas em nanodrop e nas reações PCR-RAPD foram utilizados 24 *primers*. A análise de similaridade genética entre os genótipos foi realizada no programa NTSYS, utilizando o coeficiente de Jaccard. Foram geradas 162 bandas polimórficas, com média de 7,9 bandas por *primer*. As similaridades genéticas variaram de 0,283 a 0,654, o que demonstra ampla variabilidade entre os pares de genótipos. O dendrograma gerado permitiu a formação de três grupos distintos: I e III por dois genótipos e o II por onze deles. Logo, pode-se considerar que esse tipo de marcador foi eficiente na quantificação da variabilidade genética na amostra de tucumã do tipo laranjado analisada.

Palavras-chave: Palmeira, Amazônia, *Astrocaryum vulgare*, marcadores moleculares

Introdução

O tucumã (*Astrocaryum vulgare*, Mart.) é uma palmeira nativa de áreas de terra firme da Amazônia que produz frutos oleaginosos. Os frutos dessa palmeira apresentam colorações variáveis, tanto para o epicarpo como para o mesocarpo e têm características similares ao dendê e, conforme os dados da literatura é uma palmeira que tem grande importância econômica para essa região (Lima & Trassato, 1986). Mesmo apresentando importância para a população amazônica que vive da extração e comercialização do tucumã, poucos estudos têm sido realizados no âmbito de promover a domesticação e o melhoramento dessa espécie.

Marcadores moleculares têm-se mostrado eficientes ferramentas na caracterização genética de germoplasma vegetal conservado em bancos de germoplasma. Para espécies pouco conhecidas a técnica RAPD (Polimorfismo de DNA amplificado ao acaso) tem sido bastante utilizada, devido a sua relativa simplicidade, rapidez e baixo custo. Essa técnica é uma das variantes da PCR que utiliza um “único” primer composto por dez pares de bases de seqüências nucleotídicas arbitrarias, tendo,



14^o Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA
10 e 11 de agosto de 2010
Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA

portanto, sua seqüência alvo desconhecida (Ferreira & Grattapaglia, 1998), ao contrário das outras que requerem informações prévias de seqüência de DNA alvo para a amplificação.

O objetivo deste trabalho foi quantificar a variabilidade genética entre genótipos de tucumã tipo laranjado com base em marcadores RAPD.

Material e Métodos

Foram coletados folíolos de quinze plantas de tucumã pertencentes ao Banco de Germoplasma da Embrapa Amazônia Oriental cujos frutos apresentavam a coloração do epicarpo laranjada. O DNA foi extraído de acordo com o protocolo CTAB com pequenas modificações. A quantificação das amostras de DNA foi realizada em espectrofotômetro Nanodrop® 3300 (NanoDrop Technologies, Inc.) que forneceu a concentração das amostras, bem como sua pureza.

As reações de amplificação (RAPD-PCR) foram realizadas para 24 *primers* selecionados previamente para essa espécie. As reações foram preparadas em microtubos de 0,2 ml, com volume final de 15 µl (35 ng de DNA genômico; 1 mM de dNTP's; 1,3 mM do *primer*; BSA; Taq polimerase; e MgCl₂ fornecido pelo fabricante) e colocadas em termociclador Amplitherm TX96 da AXIGEN, programado para 40 ciclos, segundo Oliveira et al. (2007). Após as reações, os produtos amplificados foram aplicados em gel de agarose a 1%, preparados com tampão TBE 1,0X, corados com brometo de etídio, e separados por eletroforese horizontal, conduzida em 110 V por uma hora e 30 minutos. Os géis foram visualizados em transiluminador de luz UV e as imagens capturadas digitalmente. A partir da análise das bandas amplificadas foi criada uma matriz binária, onde a presença de bandas foi representada por 1 e a ausência por 0.

O cálculo das estimativas de similaridades genéticas (\hat{g}_{ij}) entre o *i*-ésimo e o *j*-ésimo genótipo foi obtido pelo emprego do coeficiente de Jaccard, no software NTSYS-pc 2.02, a partir da matriz binária. O dendrograma foi gerado com base nesta matriz de similaridades genéticas, no procedimento SAHN do software NTSYS-pc 2.2 pelo método UPGMA.

Resultados e Discussão

Os 24 *primers* utilizados geraram 162 produtos de amplificação, sendo todos polimórficos, com média de 7,9 por *primers*. Costa et al. (2004) encontraram número de bandas similar (161 bandas polimórficas) ao analisarem quinze indivíduos de açazeiro com variação para perfilhamento e coloração dos frutos.

A matriz de similaridades genéticas obtida consta na Tabela 1. Percebe-se que a menor



14^o Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA
10 e 11 de agosto de 2010
Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA

similaridade ocorreu entre os genótipos 2 e 13 ($\hat{g}_{ij} = 0,283$), ou seja são os mais distantes e devem ser bons candidatos em programa de melhoramento genético dessa espécie que vise ampliar a variabilidade. Por outro lado, a maior similaridade genética foi registrada entre os genótipos 11 e 12 com 0,654, ou seja, são 65,4% similares.

Tabela 1 Matriz de similaridades genéticas estimada pelo coeficiente de Jaccard entre os 15 genótipos de tucumã tipo laranjado do Banco de Germoplasma da Embrapa Amazônia Oriental

Genótipos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	1.00														
2	0.435	1.00													
3	0.437	0.398	1.00												
4	0.400	0.333	0.467	1.00											
5	0.375	0.355	0.407	0.506	1.00										
6	0.380	0.371	0.452	0.394	0.472	1.00									
7	0.387	0.396	0.511	0.479	0.451	0.544	1.00								
8	0.425	0.380	0.548	0.435	0.448	0.500	0.552	1.00							
9	0.330	0.296	0.413	0.323	0.400	0.430	0.385	0.488	1.00						
10	0.371	0.299	0.372	0.284	0.389	0.361	0.361	0.443	0.530	1.00					
11	0.389	0.365	0.489	0.406	0.483	0.473	0.495	0.512	0.500	0.625	1.00				
12	0.358	0.337	0.494	0.388	0.449	0.417	0.442	0.451	0.456	0.566	0.654	1.00			
13	0.309	0.283	0.418	0.361	0.389	0.435	0.385	0.494	0.411	0.482	0.512	0.494	1.00		
14	0.438	0.404	0.489	0.398	0.461	0.505	0.511	0.576	0.571	0.517	0.545	0.528	0.541	1.00	
15	0,387	0.404	0.473	0.384	0.512	0.423	0.500	0.583	0.506	0.444	0.558	0.534	0.523	0.593	1.00

O dendrograma gerado permitiu a visualização de três grupos distintos: o primeiro formado pelos genótipos 4 e 5; o segundo por onze genótipos agrupados em vários subgrupos e o terceiro pelos genótipos 1 e 2, o que demonstra ampla variabilidade entre os genótipos avaliados, apesar de serem do mesmo tipo morfológico. Costa et al. (2004) também detectaram a formação de poucos grupos com vários subgrupos em genótipos de açaizeiro com variações morfológicas para cor de frutos e perfilhamento.



14^o Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA
10 e 11 de agosto de 2010
Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA

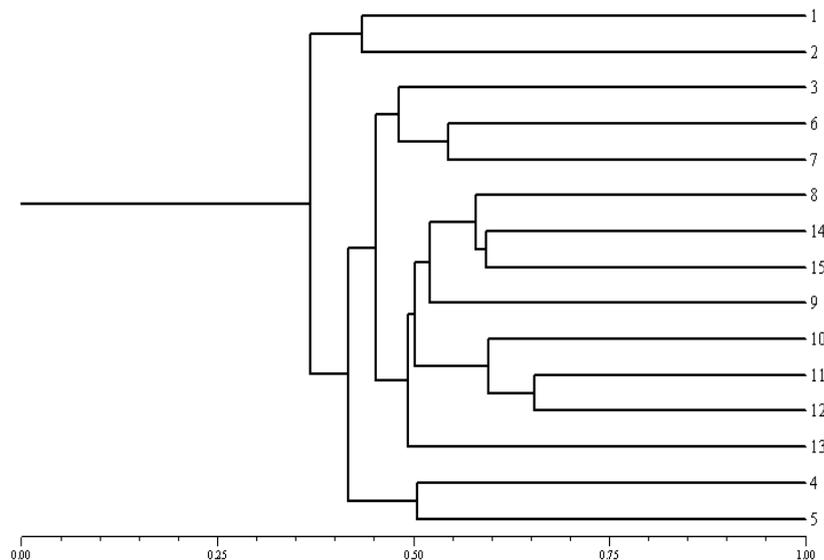


Figura 1 Dendrograma de similaridades genéticas entre os 15 genótipos de tucumã tipo laranja obtido pelo método UPGMA.

Conclusões

Os genótipos de tucumã tipo laranja apresentam baixa similaridade genética e, se possuírem características desejáveis para a produção de frutos, poderão ser indicados para compor programas de melhoramento sem perda de variabilidade.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Pará - FAPESPA pela concessão de bolsa de iniciação científica ao primeiro autor.

Referências Bibliográficas

- COSTA, M.R.; OLIVEIRA, M. do S.P.; OHAZE, M.M.M. Divergência genética no açaizeiro com base em marcadores RAPD. **Revista de Ciências Agrárias**, Belém, n. 41, p. 89-95, 2004.
- FERREIRA, M.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores RAPD em análise genética**. 3. ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 1998. 220p.
- LIMA, R.R.; TRASSATO, L.C. O Tucumã: Principais Características e Potencialidade Industrial, **Boletim de Pesquisa** n. 75, EMBRAPA/CPATU, 1986.
- 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**, v. 31, p. 1645-1653, 2007.