



15^o Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA
24 e 25 de agosto de 2011
Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA

CARACTERIZAÇÃO DE GENÓTIPOS DE AÇAÍ BRANCO POR MARCADORES RAPD

Eliciany de Nazaré Miranda Sanches¹, Maria do Socorro Padilha Oliveira²

¹Aluna de graduação da UFRA, bolsista de projeto da Embrapa; elydoors@hotmail.com

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

Resumo: Caracterizou-se genótipos de açaí branco por marcadores RAPD. Foram coletados folíolos frescos de 29 genótipos do Banco de Germoplasma da Embrapa Amazônia Oriental, em Belém, PA para a extração de DNA genômico. Após a quantificação, as amostras de DNA foram utilizadas em reações PCR-RAPD com 25 *primers*. As bandas amplificadas foram usadas na formação da matriz binária para a análise das similaridades genéticas utilizando o coeficiente de Jaccard e agrupadas em dendrograma pelo método UPGMA. Foram amplificadas 132 bandas com média de 5,28 bandas por *primer*, sendo 92,42% polimórficas. As similaridades variaram de 0,27 a 0,91, com média de 0,65, o que demonstra ampla variabilidade entre os pares de genótipos avaliados. O dendrograma permitiu a formação de cinco grupos com vários subgrupos e o valor cofenético foi alto ($r = 0,922$), inferindo alta confiabilidade na formação dos mesmos. Portanto, pode-se considerar que os genótipos de açaí branco analisados têm ampla variabilidade, mas boa parte tem afinidade em seus genomas.

Palavras-chave: *Euterpe oleracea*, polimorfismo, similaridade genética.

Introdução

O açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) apresenta inúmeras variações fenotípicas para vários caracteres, dentre elas pode-se destacar a coloração dos frutos maduros, sendo denominados de: o açaí roxo ou violáceo e o açaí branco. Os frutos do açaí tipo violáceo são os mais comuns e produzem uma bebida da mesma coloração, sendo a mais conhecida e de maior importância econômica por abastecer os mercados regional, nacional e internacional. Já os frutos do tipo branco, também denominado de “tinga”, quando maduros mantêm a coloração verde opaca e produzem bebida de coloração creme-esverdeada (Oliveira et al., 2000). Devido ao pequeno volume de produção, a bebida do açaí branco tem mercado restrito, apenas local. Mesmo assim, o preço do litro alcança o dobro do tipo violáceo, ou seja, se um litro de açaí violáceo custa R\$ 10,00 e a do tipo branco atinge R\$ 20,00. Para que se possa investir em plantios racionais desse tipo há a necessidade de realizar pesquisas em germoplasma conservados em bancos.



15^o Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA
24 e 25 de agosto de 2011
Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA

A caracterização é uma atividade primordial na geração de conhecimentos de germoplasma por identificar, descrever e diferenciar os genótipos de qualquer espécie, auxiliando na identificação de duplicatas, no manejo do germoplasma e no fornecimento de subsídios ao melhoramento genético (Vicente *et al.*, 2005). A caracterização molecular tem sido realizada na quantificação da diversidade, da divergência e da variabilidade genética, sendo interpretada por meio de medidas de similaridade ou dissimilaridade e visualizada por métodos de agrupamento (Ferreira & Grattapaglia, 1995). Vários marcadores têm sido usados para acessar o genótipo e a variabilidade do DNA nas plantas, dentre eles tem-se os produzidos por *primers* RAPD (Milach, 1998). Esses marcadores têm sido utilizados com frequência na caracterização de germoplasma de espécies pouco conhecidas. Para o açaí tipo violáceo há alguns relatos (Costa *et al.*, 2004; Oliveira *et al.*, 2007).

O objetivo desse trabalho foi caracterizar genótipos de açaí branco por marcadores RAPD.

Material e Métodos

Foram retirados folíolos jovens de 29 genótipos de açaí branco escolhidos ao acaso no banco de germoplasma da Embrapa Amazônia Oriental, em Belém, PA para a extração de DNA genômico. As reações de PCR-RAPD foram feitas para as 29 amostras com o uso de 25 *primers* RAPD, contendo volume final de 15 µl, conforme Oliveira *et al.* (2007). Os produtos obtidos foram aplicados em gel de agarose a 1%, corado com brometo de etídio, e separados por eletroforese horizontal, conduzida a 110 V por 1 hora e 30 minutos. Os géis foram visualizados em fotodocumentador e as imagens obtidas impressas para a contagem das bandas e obtenção da matriz binária, sendo a presença representada por 1 e a ausência por 0.

As estimativas de similaridades genéticas (\hat{g}_{ij}) entre o *i*-ésimo e o *j*-ésimo genótipo foram feitas pelo coeficiente de Jaccard e realizadas no software NTSYS-pc 2.1 (Rohlf, 2000). A matriz de similaridades genéticas foi utilizada na geração do dendrograma no procedimento SAHN do mesmo software pelo método UPGMA. A consistência dos agrupamentos foi feita pela correlação cofenética.

Resultados e Discussão

Os 25 *primers* utilizados produziram um total de 132 marcadores moleculares, sendo 92,42% polimórficos. O número médio de bandas por *primers* foi de 5,28, variando de 1 (OPB-14 e OPL-01) a 14 (OPAR-11). Oliveira *et al.* (2007) encontraram números superiores a estes ao analisarem 116 acessos de açaí violáceo do mesmo banco de germoplasma, por 28 *primers* RAPD. Tais resultados



15^o Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA
24 e 25 de agosto de 2011
Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA

sugerem que o germoplasma de açaí violáceo apresente maior variabilidade que o de açaí branco.

A maior similaridade ocorreu entre os genótipos 22 e 23 (0,91), enquanto a menor aconteceu entre os genótipos 12 e 28 (0,27), com similaridade genética média de 0,65 (Tabela 1). De um modo geral, dos 406 pares de genótipos, 44,09% deles apresentaram valores consideráveis de similaridades ($\hat{S}_{ij} > 0,60$), podendo-se inferir que o grupo de genótipos de açaí branco analisado seja possuidor de genomas similares. Oliveira *et al.* (2007) encontraram ampla dissimilaridade genética quando caracterizaram uma amostra bem maior de germoplasma de açaí violáceo.

Tabela 1 Similaridades genéticas entre 29 genótipos de açaí branco conservados no Banco de Germoplasma da Embrapa Amazônia Oriental com base em 132 marcadores RAPD.

Genótipo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29
1	1,00																												
2	0,63	1,00																											
3	0,65	0,83	1,00																										
4	0,64	0,79	0,79	1,00																									
5	0,60	0,67	0,74	0,76	1,00																								
6	0,55	0,68	0,78	0,75	0,83	1,00																							
7	0,53	0,67	0,77	0,80	0,78	0,85	1,00																						
8	0,61	0,69	0,71	0,81	0,73	0,80	0,83	1,00																					
9	0,61	0,66	0,69	0,80	0,80	0,81	0,80	0,82	1,00																				
10	0,53	0,55	0,64	0,61	0,74	0,65	0,66	0,65	0,69	1,00																			
11	0,63	0,60	0,71	0,65	0,74	0,80	0,76	0,75	0,82	0,77	1,00																		
12	0,63	0,51	0,48	0,55	0,55	0,54	0,55	0,59	0,63	0,60	0,66	1,00																	
13	0,55	0,63	0,64	0,76	0,70	0,71	0,68	0,75	0,80	0,60	0,71	0,59	1,00																
14	0,62	0,69	0,68	0,76	0,70	0,73	0,68	0,76	0,79	0,59	0,74	0,57	0,90	1,00															
15	0,57	0,66	0,67	0,76	0,71	0,77	0,73	0,77	0,84	0,61	0,75	0,57	0,84	0,89	1,00														
16	0,59	0,60	0,58	0,69	0,62	0,66	0,67	0,75	0,73	0,55	0,68	0,55	0,72	0,77	0,82	1,00													
17	0,55	0,63	0,57	0,68	0,63	0,66	0,61	0,69	0,72	0,55	0,65	0,52	0,79	0,83	0,81	0,81	1,00												
18	0,52	0,56	0,67	0,65	0,65	0,74	0,67	0,66	0,69	0,60	0,70	0,44	0,67	0,74	0,79	0,73	0,74	1,00											
19	0,49	0,61	0,62	0,70	0,64	0,73	0,66	0,68	0,70	0,54	0,63	0,47	0,74	0,77	0,80	0,74	0,77	0,81	1,00										
20	0,53	0,57	0,56	0,66	0,59	0,65	0,66	0,68	0,68	0,52	0,63	0,46	0,70	0,77	0,78	0,77	0,75	0,76	0,88	1,00									
21	0,39	0,43	0,48	0,48	0,51	0,56	0,48	0,50	0,52	0,46	0,53	0,39	0,52	0,59	0,60	0,53	0,55	0,59	0,63	0,63	1,00								
22	0,47	0,49	0,50	0,48	0,45	0,46	0,44	0,49	0,48	0,45	0,50	0,41	0,47	0,54	0,54	0,52	0,48	0,51	0,57	0,55	0,75	1,00							
23	0,43	0,45	0,47	0,45	0,43	0,46	0,45	0,49	0,48	0,45	0,52	0,41	0,45	0,51	0,52	0,50	0,47	0,49	0,55	0,55	0,75	0,91	1,00						
24	0,39	0,40	0,42	0,43	0,42	0,45	0,40	0,47	0,45	0,42	0,49	0,39	0,48	0,52	0,52	0,49	0,50	0,49	0,56	0,56	0,81	0,80	0,83	1,00					
25	0,42	0,41	0,48	0,45	0,44	0,46	0,47	0,48	0,46	0,44	0,52	0,38	0,45	0,49	0,50	0,51	0,48	0,52	0,53	0,54	0,71	0,78	0,81	0,80	1,00				
26	0,40	0,42	0,46	0,43	0,41	0,41	0,42	0,44	0,42	0,39	0,45	0,35	0,42	0,46	0,45	0,43	0,45	0,47	0,48	0,45	0,65	0,72	0,70	0,67	0,74	1,00			
27	0,43	0,44	0,44	0,43	0,44	0,46	0,42	0,46	0,44	0,40	0,45	0,34	0,42	0,47	0,47	0,45	0,47	0,48	0,52	0,51	0,71	0,72	0,72	0,71	0,76	0,76	1,00		
28	0,37	0,44	0,43	0,39	0,41	0,42	0,39	0,42	0,37	0,34	0,37	0,27	0,37	0,41	0,40	0,42	0,41	0,43	0,48	0,44	0,54	0,60	0,58	0,58	0,61	0,68	0,75	1,00	
29	0,37	0,40	0,42	0,40	0,42	0,45	0,43	0,44	0,40	0,37	0,43	0,34	0,40	0,44	0,43	0,44	0,44	0,40	0,47	0,49	0,60	0,55	0,57	0,59	0,52	0,61	0,61	0,73	1,00

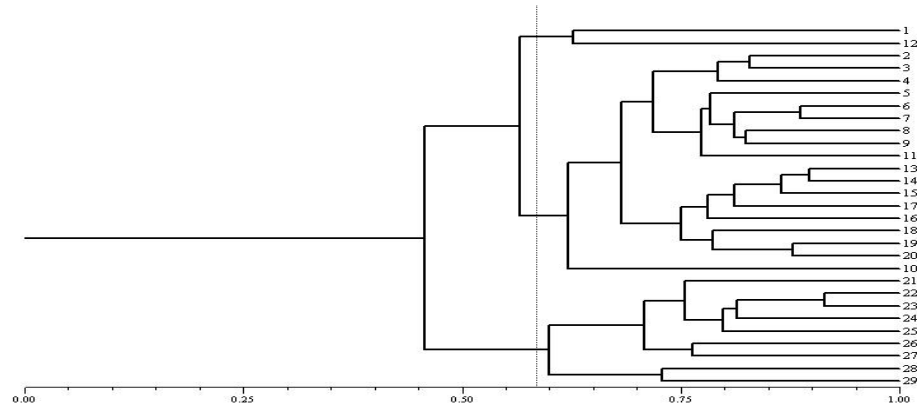
O dendrograma formou três grupos com vários subgrupos (Figura 1) sendo separados com base na similaridade genética média ($S_{gm}=0,5837$). O grupo I formado por dois genótipos 1 e 12 com 63% de similaridade; o II por 18 genótipos agrupados em vários subgrupos com 55% de similaridade; e o III por nove genótipos e que teve o subgrupo mais similar com 92% de similaridade (genótipos 22 e 23). A correlação cofenética foi alta ($r= 0,922$) evidenciando alta confiabilidade na formação dos grupos. Resultados condizentes foram obtidos em genótipos de tucumã (Costa & Oliveira, 2010) e de



15^o Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA
24 e 25 de agosto de 2011
Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA

açazeiro (Costa *et al*, 2001) com a utilização dos mesmos marcadores.

Figura 1. Similaridade genética entre os 29 genótipos de açaí branco com a utilização de 132 marcadores RAPD, definida pelo critério de agrupamento UPGMA, com base no coeficiente de Jaccard (Ponto de corte $Sg_m=0,5837$).



Conclusões

Os genótipos de açaí branco caracterizados por marcadores RAPD apresentam ampla variabilidade genética, estando distribuída em seis grupos com vários subgrupos. Contudo, boa parte deles possuindo genomas com similaridades acima de 60%.

Agradecimentos

Aos assistentes do Laboratório de Genética Molecular, pelo apoio na extração de DNA.

Referências Bibliográficas

- COSTA, M. R; MOURA, E. F.; M. do S. P. de. Variabilidade genética em açazeiro (*Euterpe oleraceae* Mart.). **Biociência**, 21, 46-50. 2001
- FERREIRA, M.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores RAPD em análise genética**. 2. ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN. 220p. 1995.
- MILACH, S. C. K. Principais tipos de marcadores moleculares e suas características. In: MILACH, S. C. K. **Marcadores moleculares em plantas**. Porto Alegre: UFRGS. p. 17-28. 1998.
- OLIVEIRA, M. do S. P. de; CARVALHO, J. E. U. de; NASCIMENTO, W. M. O. do. **Açaí (*Euterpe oleracea* Mart.)**. Série frutas nativas. Jaboticabal: FUNEP. 52p. 2000.
- OLIVEIRA, M. do S.P. de; AMORIM, E.P.; SANTOS, J.B. dos; FERREIRA, D.F (2007). Diversidade genética entre acessos de açazeiro baseada em marcadores RAPD. **Ciência & Agrotecnologia**. 31, 1645-1653.
- VICENTE, M.C. de; GUZMÁN, F.A.; ENGELS, J.; RAMANATHA RAO, V (2005). Genetic Characterization and its use in decision making for the conservation of crop germplasm. In: THE ROLE OF BIOTECHNOLOGY, 2005, Turin. **Proceedings...** Turin. p.121-128.