



IV Encontro Amazônico de Agrárias

26 a 31 de março de 2012



CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE GENÓTIPOS DE PATAUÁ POR MARCADORES RAPD

Eliciany de Nazaré Miranda Sanches⁽¹⁾; Maria do Socorro Padilha de Oliveira⁽²⁾.

⁽¹⁾ Acadêmica do sétimo semestre do curso de Agronomia, pela Universidade Federal Rural da Amazônia; Bolsista de projeto da Embrapa Amazônia Oriental, Trav. Dr. Enéas Pinheiro, S/Nº, Belém, PA, elydoors@hotmail.com; ⁽²⁾ Pesquisadora da Embrapa Amazônia Oriental; Laboratório de genética molecular, Trav. Dr. Enéas Pinheiro, S/Nº, Belém, PA, spadilha@cpatu.embrapa.br.

RESUMO

Caracterizaram-se genótipos de patauá por marcadores RAPD. Foram coletadas amostras de 50 indivíduos do Banco de Germoplasma de Patauá da Embrapa Amazônia Oriental em Belém, PA para a extração de DNA genômico. A quantificação das amostras foram realizadas no software LabImage 1D para o cálculo da concentração de DNA. As reações PCR-RAPD foram feitas para 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 99,22% polimórficas. As similaridades variaram de 0,05 a 0,93, demonstrando ampla variabilidade genética entre os 50 genótipos avaliados, com média de 0,43. O dendrograma permitiu a formação de quatro grupos com vários subgrupos de alta confiabilidade ($r = 0,94$). Portanto, pode-se considerar que os genótipos de patauá analisados têm ampla variabilidade, a qual pode ser explorada em programas de melhoramento dessa palmeira.

PALAVRAS-CHAVE: arecaeace, *oenocarpus bataua*, variabilidade genética

ABSTRACT

Characterized patawa palm genotypes by RAPD markers. Samples were collected from 50 individuals from the Germplasm Bank patawa palm at Embrapa Eastern Amazon, Belém, PA for the extraction of genomic ADN. The Quantification of samples was held in LabImage 1D software to calculate the concentration of ADN. The PCR reactions were realized for 25 RAPD primers. Bands amplified were used in the formation of a binary matrix for the analysis of genetic similarities using the Jaccard coefficient and grouped in the dendrogram UPGMA. 132 bands were amplified with an average of 5.28 bands per primer, with 99.22% polymorphism. The similarities ranged from 0.05 to 0.93 demonstrating wide variability among the genotypes evaluated, with an average of 0.50. The dendrogram allowed the formation of four groups of various subgroups of high confiability ($r = 0.94$). Therefore, it can be consider that the genotypes analyzed have patawa palm wide variability, and explored in breeding programs.

KEY WORDS: Arecaeae; genetic variability; *Oenocarpus bataua*.

INTRODUÇÃO

O patauá (*Oenocarpus bataua* Mart.) pertence à família Arecaeae e tem ocorrência em toda a Amazônia (Gomes-Silva et al., 2004). É uma palmeira pouco explorada comercialmente, pode atingir por volta de 15 metros de altura, produzindo cachos pesados (acima de 17 kg) com frutos grandes, do tamanho de uma azeitona e de coloração violácea quando maduro (Darnet et al., 2011). Dos frutos processados dessa palmeira se obtém um refresco de cor cinza, com aspecto de leite com chocolate chamado pelos ribeirinhos de “vinho de patauá”. Além dessa bebida, extrai-se também de seus frutos um óleo com inúmeras utilidades, indo da culinária, cosméticos ao biodiesel. Em vista de suas potencialidades há a necessidade de obter informações sobre genótipos dessa palmeira que possam subsidiar na sua domesticação.

A caracterização molecular é indispensável na identificação da diversidade, na quantificação da variabilidade e da divergência genética, sendo informações essenciais no manejo, conservação e melhoramento genético de qualquer espécie, e a interpretação é feita por métodos de agrupamento (Ferreira & Grattapaglia, 1995). Nesse tipo de caracterização podem ser utilizados vários marcadores moleculares, dentre eles o RAPD, um marcador dominante, altamente polimórfico e universal, o que demonstra sua eficiência na caracterização de genótipos de várias espécies (Ferreira & Grattapaglia, 1996). Esses marcadores têm sido utilizados com frequência na caracterização de germoplasma de outras palmeiras pouco conhecidas (Sanchez & Oliveira, 2011).

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

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletados folíolos de folhas jovens de 50 indivíduos da espécie *Oenocarpus bataua* conservados *in vivo* no Banco de Germoplasma de Patauá da Embrapa Amazônia Oriental. A extração de DNA foi realizada segundo o protocolo de Doyle e Doyle (1987) com pequenas modificações. As amostras de DNA foram quantificadas em gel de agarose a 0,8% utilizando como parâmetro DNA lambda de 50, 100 e 200 ng/ul, e as imagens obtidas géis lidas por meio do software LabImage 1D para o cálculo da concentração das amostras.

As reações de PCR foram feitas para 25 *primers* RAPD, preparadas em microtubos ependoff de 0,2 ml com volume final de aproximadamente 15 μ l, conforme Oliveira *et al.* (2007). Para a amplificação foi utilizado o termociclador *Axigen* programado para 40 ciclos (Sanches & Oliveira, 2011). Posteriormente os produtos amplificados foram aplicados em gel de agarose a 1% preparado com TBE 1X e corado com brometo de etídio e a separação dos produtos da amplificação feita em eletroforese horizontal conduzida em 110 V, por uma hora e 30 minutos. Os géis foram revelados em transiluminador de UV e as imagens capturadas digitalmente. Para a contagem do polimorfismo foi criada uma matriz binária, onde a presença de bandas amplificadas foi representada por 1 e a ausência por 0.

A matriz binária foi utilizada para estimar as similaridades genéticas entre os pares dos genótipos no software NTSYS-pc 2.1, pelo coeficiente de Jaccard. Com base na matriz de similaridades foi gerado o dendrograma no procedimento SAHN do software NTSYS-pc 2.1 pelo método UPGMA. A consistência dos agrupamentos formados foi feita pela correlação cofenética.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os 25 *primers* geraram um total de 132 marcadores moleculares, dos quais 131 apresentaram polimorfismo, com uma porcentagem de 99,24% e média de 5,28 bandas por primer (Tabela 1).

O maior número de marcadores moleculares foi gerado pelo *primer* OPU-6 com nove bandas e o menor número de bandas no primer OPO-03 sendo obtida apenas uma banda. Resultados semelhantes foram obtidos por Sanches e Oliveira (2011) ao avaliarem 29 genótipos de açaí branco (*Euterpe oleracea*) por esses marcadores e encontraram o mesmo número de bandas, porém com menor polimorfismo. Dados comparáveis foram obtidos por Costa et al. (2009) utilizando 24 *primers* RAPD em *Oenocarpus mapora* gerando 126 bandas polimórficas, perfis com no mínimo 4 bandas e média de 5,25 bandas por primer.

A maior similaridade genética gerada ocorreu entre os genótipos 9 e 7 ($\hat{g}_{ij}=0,93$) e a menor entre os genótipos 45 e 19 ($\hat{g}_{ij}=0,05$), com similaridade genética geral média de 0,43. Vale ressaltar ainda que aproximadamente 42% dos genótipos avaliados apresentaram similaridades genéticas médias abaixo da média geral, o que reforça considerável divergência entre eles. Dessa forma, pode-se considerar que, apesar da pequena representação do germoplasma dessa espécie, os genótipos aqui avaliados

apresentem ampla variabilidade genética e que podem ser utilizados em programas de melhoramento genético dessa palmeira.

Tabela 1 - Relação dos 25 *Primers* RAPD utilizados na caracterização dos 50 genótipos de patauá e o número de bandas polimórficas e monomórficas geradas.

<i>Primers</i>	Bandas por <i>primer</i>	Bandas polimórficas	Bandas monomórficas
OPU-06	9	9	0
OPA-08	8	7	1
OPA-16	8	8	0
OPAB-20	7	7	0
OPJ-12	7	7	0
OPS-10	7	7	0
OPA-07	6	6	0
OPA-19	6	6	0
OPAR-07	6	6	0
OPA-20	6	6	0
OPAB-12	6	6	0
OPO-12	6	6	0
OPA-17	5	5	0
OPAB-16	5	5	0
OPB-05	5	5	0
OPA-11	4	4	0
OPA-18	4	4	0
OPAB-04	4	4	0
OPAB-08	4	4	0
OPB-09	4	4	0
OPU-07	4	4	0
OPU-17	4	4	0
OPBA-01	3	3	0
OPS-08	3	3	0
OPO-03	1	1	0
Total	132	131	1
Média	5,28	5,24	0,04

O dendrograma formou quatro grupos com vários subgrupos(Figura1), com base na similaridade genética média (0,43) . O grupo I formado por 25 genótipos com 44% de similaridade; o grupo II por 23 genótipos agrupados em vários subgrupos; o grupo III pelo genótipo 43; e o grupo IV pelo genótipo 45. Os dois últimos grupos formados

por apenas um genótipo, foram os mais dissimilares em relação aos demais. A correlação cofenética foi alta ($r = 0.93647$) evidenciando alta confiabilidade na formação dos grupos.

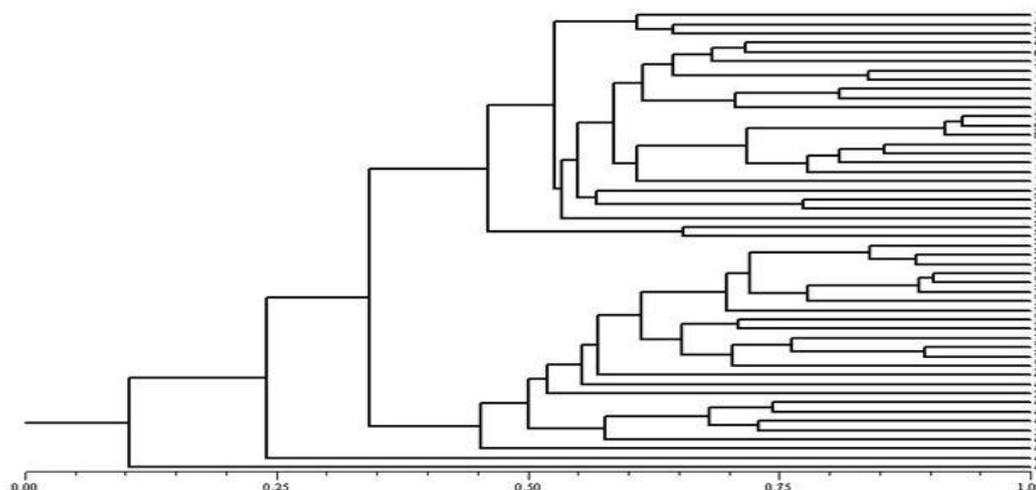


Figura 1 - Similaridade genética entre os 50 genótipos de patauá com base em 132 marcadores RAPD, definida pelo critério de agrupamento UPGMA, pelo coeficiente de Jaccard.

CONCLUSÕES

Os genótipos de patauá caracterizados por marcadores RAPD apresentam considerável variabilidade genética, estando distribuída em quatro grupos de vários subgrupos. Tais genótipos podem ser explorados em programas de melhoramento.

LITERATURA CITADA

DARNET, S.H.; SILVA, L.H.M.da; RODRIGUES, A.M.da.C.; LINS, R.T. **Nutritional composition, fatty acid and tocopherol contents of buriti (*Mauritia flexuosa*) and patawa (*Oenocarpus bataua*) fruit pulp from the Amazon region.** *Ciencia e Tecnologia de Alimentos* 2011, v.31, p.488-491, 2011.

FERREIRA, M.; GRATTAPAGLIA, D. *Introdução ao uso de marcadores RAPD em análise genética.* 2. ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN. 220p.

GOMES-SILVA, D.A.P.; EHRINGHAUS, C.; WADT, L.H.de O. *Ecologia e manejo de patauá (*Oenocarpus bataua* Mart.) para produção de frutos e óleo.* 1.ed. Acre: EMBRAPA ACRE. 40p.

OLIVEIRA, M. do S.P. de; AMORIM, E.P.; SANTOS, J.B. dos; FERREIRA, D.F. *Diversidade genética entre acessos de açazeiro baseada em marcadores RAPD.* *Ciência & Agrotecnologia*, v. 31, p. 1645-1653, 2007.

SANCHES, E.de N.M; OLIVEIRA, M. do S.P. de. *Caracterização de genótipos de açai branco por marcadores RAPD.* 6º. Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas, 2011.