



DIVERSIDADE GENÉTICA EM GENÓTIPOS DE AÇAIZEIRO TIPO VIOLÁCEO E TIPO BRANCO POR MARCADORES SSR

MARIA DO SOCORRO PADILHA DE OLIVEIRA¹; ELICIANY DE NAZARÉ MIRANDA SANCHES²

INTRODUÇÃO

O açaizeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) apresenta inúmeras variações fenotípicas nas áreas de ocorrência natural, dentre elas a coloração dos frutos maduros, denominados de açaí roxo ou violáceo e açaí verde ou branco (OLIVEIRA et al., 2000). O primeiro produz bebida de coloração violácea consolidada no mercado local, nacional e internacional, e com programa de melhoramento focado na seleção de matrizes que deu origem a cultivar BRS Pará (OLIVEIRA; FARIAS NETO, 2004). O segundo possui frutos verdes e polpa de coloração creme-esverdeada, cujo preço do litro é duas vezes mais caro que o do violáceo, mesmo assim seu mercado é local e regional e abastecido pelo extrativismo. Portanto, investimentos que possam ocasionar avanços nos programas de melhoramento genético dessa palmeira para o tipo violáceo, como também estimular programas para o tipo branco, devem ser prioritários.

Marcadores moleculares têm sido utilizados para atender vários objetivos, dentre eles a quantificação da diversidade, da divergência e da variabilidade genética, sendo a interpretação feita por meio de medidas de similaridade ou dissimilaridade e quase sempre visualizada por métodos de agrupamento (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1995). Vários marcadores moleculares têm sido usados para acessar o genótipo e a variabilidade do DNA nas plantas, por identificar o polimorfismo e associar a genes de efeito maior (MILACH, 1998), como os produzidos por locos microssatélites ou SSRs (Simple Sequence Repeats). Esses marcadores moleculares são específicos, codominantes e têm sido usados na identificação varietal de frutíferas (SCHUCK et al., 2010), na caracterização do polimorfismo, entre outros. Para o açaizeiro há um relato sobre SSR na caracterização do polimorfismo e na quantificação da variabilidade genética em 116 acessos (OLIVEIRA et al., 2010). O objetivo desse trabalho foi quantificar a diversidade genética em genótipos de açaizeiro tipo violáceo e branco por marcadores SSR.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram retirados folíolos jovens de 29 genótipos de açaizeiro tipo branco selecionados ao acaso em uma área isolada do banco de germoplasma da Embrapa Amazônia Oriental, em Belém,

¹ Eng, Agr., Pesquisadora da Embrapa Amazônia Oriental, PA, e-mail: spadilha@cpatu.embrapa.br

² Aluna de graduação em Agronomia da Universidade Rural da Amazônia. elydoors@hotmail.com

PA e de 29 genótipos de tipo violáceo selecionados dentro da cultivar BRS Pará com alta produção de frutos para a extração de DNA genômico. As 58 amostras foram quantificadas em gel de agarose a 1% corado com brometo de etídio utilizando-se três padrões de DNA do fagô (50, 100 e 200 ng.µl⁻¹) e diluídas em TE para a concentração de 10 ng.µl⁻¹.

As amostras foram genotipadas para sete locos SSR transferíveis de *E. edulis* para *E. oleracea* (GAIOTO et al., 2001) e usados com sucesso por Oliveira et al. (2010). O volume das reações foi de 17µL, constituído por: (35 ng de DNA genômico total; 50 µM de cada dNTP; 0,18 µM de cada par de loco (*Foward* e *Reverse*); 10 mg.ml⁻¹ de BSA; 1 unidade de Taq polimerase; e tampão contendo MgCl₂). As amplificações foram realizadas em termociclador My Genie™ 96 Gradient Th, programado conforme Oliveira et al. (2010). Os produtos da amplificação foram separados em gel de poliacrilamida a 6%, em eletroforese vertical por duas horas e revelados em nitrato de prata. Depois, foram escaneados, as imagens armazenadas para contagem dos alelos e, posteriormente lidas como bandas para a obtenção da matriz binária.

O nível de polimorfismo em cada tipo foi obtido no software TFPGA v. 1,3. O conteúdo de informação de polimorfismo (PIC) com base na equação: $PIC = 1 - \frac{\sum_{i=1}^t p_i^2}{2 \sum_{i=j+1}^t \sum_{j=1}^{i-1} p_i^2 p_j^2}$, onde p_i e p_j são as frequências do i -ésimo e do j -ésimo alelos em um loco com t alelos em cada tipo. As estimativas de similaridades genéticas foram obtidas pelo coeficiente de Jaccard e agrupadas por genótipos de cada tipo no procedimento SAHN do software NTSYS-pc 2.1 pelo método UPGMA.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os sete locos SSR foram polimórficos e de fácil identificação nos géis (Figura 1). Tais locos amplificaram de 56 e 64 alelos, com variação de 4 a 13 e de 3 a 19 alelos por loco e média de 8,0 e 9,3 alelos nos tipos violáceo e branco, respectivamente (Tabela 1). As heterozigosidades foram altas para os dois tipos (0,83 a 1,0=violáceo e 0,76 a 1,0=branco), com médias iguais (0,92). O conteúdo de informação de polimorfismo (PIC) também foi alto para a maioria dos locos, variando de 0,50 a 0,84 e com média de 0,72 nos dois tipos. De acordo com Weir (1996), altos valores de heterozigosidades e de PIC representam alta diversidade genética, podendo-se considerar que os genótipos dos dois tipos de açazeiro sejam detentores de alta variabilidade nos locos testados e que esses locos sejam eficientes na discriminação desses dois tipos. Resultados similares foram obtidos por Conte et al. (2006), Gaiotto et al. (2003) e Oliveira et al. (2010) ao aplicarem os mesmos locos em populações de *E. edulis* e em acessos de *E. oleracea*.

As similaridades genéticas variaram de 0,12 a 0,78 e de 0,15 a 0,72 entre os pares de genótipos do tipo branco e violáceo, respectivamente, o que representa ampla variabilidade genética

nos grupos de genótipos dos dois tipos, sendo possuidores de genomas distintos. Oliveira et al. (2010) encontraram ampla distância genética ao analisarem 116 acessos do tipo violáceo.

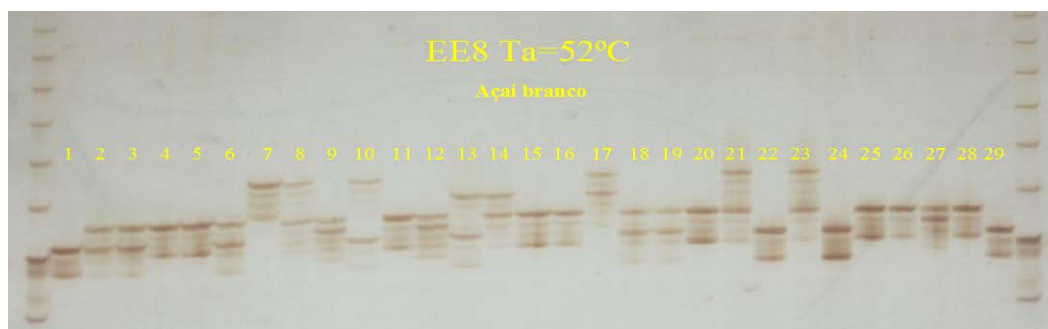


Figura 1 - Perfil de um gel de poliacrilamida com o loco EE8 contendo os alelos amplificados nos 29 genótipos de açaizeiro tipo branco.

Tabela 1 - Caracterização do nível de polimorfismo nos genótipos de açaizeiro do tipo violáceo e tipo branco da Embrapa Amazônia Oriental com base nos sete pares de locos microssatélites.

Locos	Ta (°C)	Tipo Violáceo (n=29)			Tipo Branco (n=29)		
		N ^o . alelos	Ho	PIC	N ^o . alelos	Ho	PIC ¹
EE2	52	4	1,00	0,50	3	0,97	0,50
EE3	58	5	0,86	0,69	6	0,86	0,64
EE8	52	10	0,90	0,84	10	0,76	0,84
EE15	64	8	0,83	0,80	9	1,00	0,83
EE23	58	10	0,90	0,66	11	0,97	0,73
EE43	56	6	0,97	0,72	7	0,93	0,70
EE54	56	13	1,00	0,80	19	0,97	0,77
Total	-	56	-	-	64	-	-
Média	-	8,0	0,92	0,72	9,3	0,92	0,72

Ta: temperatura de anelamento; Ho: heterozigosidade observada; ¹: conteúdo de informação de polimorfismo.

Os dendrogramas formaram aproximadamente seis grupos com vários subgrupos nos dois tipos (Figura 2). Para tipo violáceo (A), cujos genótipos já sofreram quatro ciclos de seleção fenotípica, foi observada alta similaridade genética apenas entre dois pares (1 x 3 e 9 x 13). Enquanto para o tipo branco (B) foi obtida em apenas um par (26 e 27). Os valores cofenéticos foram altos ($r= 0.79$) nos dois tipos evidenciando alta confiabilidade na formação dos grupos. O mesmo número de grupos foram obtidos por Oliveira et al. (2010) ao avaliarem 116 acessos.

CONCLUSÃO

Marcadores SSR são eficientes na quantificação da diversidade genética nos genótipos dos dois tipos de açaizeiro, podendo inclusive discriminá-los. Apesar do pequeno número de locos foi possível detectar alto índice de polimorfismo.

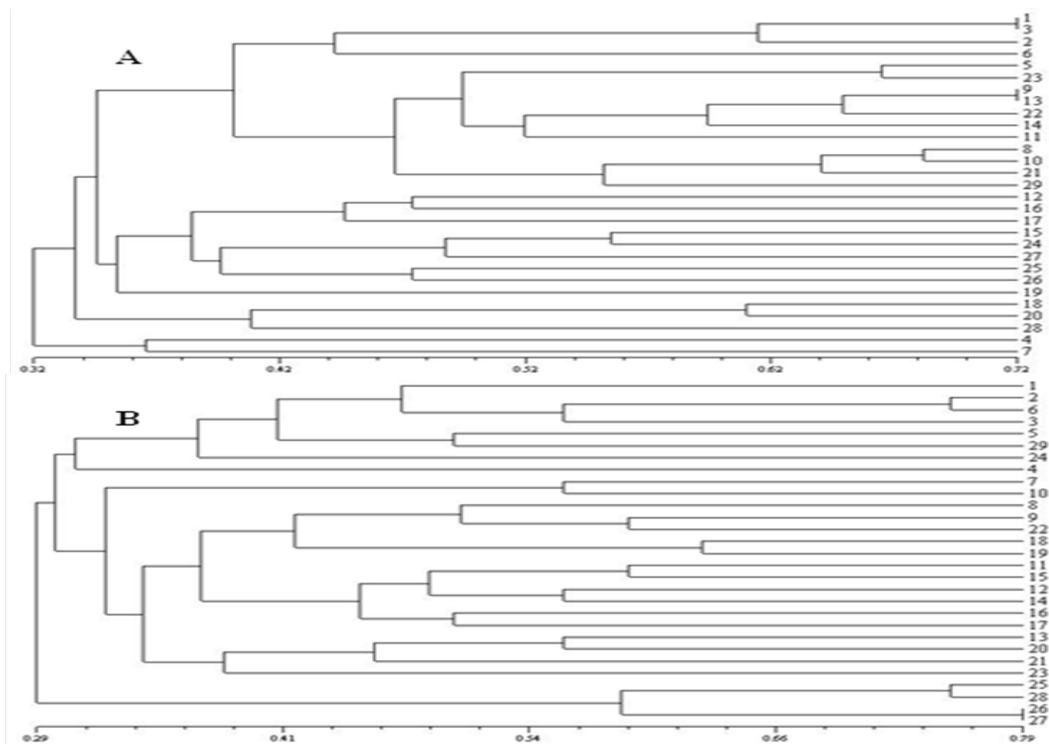


Figura 2 - Dendrogramas de similaridades genéticas entre os 29 genótipos de açazeiro do tipo violáceo (A) e tipo branco (B), definidos pelo método UPGMA, com base no coeficiente de Jaccard.

REFERÊNCIAS

- CONTE, R.; REIS, M.S.; VENCOVSKY, R. Effects of management on the genetic structure of *Euterpe edulis* Mart. populations based on microsatellites. **Scientia Forestalis**, Piracicaba, v.72, p.81-88, 2006.
- FERREIRA, M.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores RAPD em análise genética**. 2. ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN. 220p. 1995.
- GAIOTTO, F. A.; GRATTAPAGLIA, D.; VENCOVSKY, R. Genetic structure, mating system, and long-distance gene flow in heart of palm (*Euterpe edulis* Mart.) **Journal Heredit**, Carey, v.94, p.399-406, 2003.
- 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; FARIAS NETO, J. T. de. **Cultivar BRS-Pará: açazeiro para produção de frutos em terra firme**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental. 3 p. (Embrapa Amazônia Oriental. Comunicado técnico, 114). 2004.

OLIVEIRA, M. do S. P. de; SANTOS, J. B. dos; AMORIM, E. P.; FERREIRA, D.F. Variabilidade genética entre acessos de açaizeiro utilizando marcadores microssatélites. **Ciência & Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 5, 1253-1260. 2010.

SCHUCK, M.R; MOREIRA, F.M; VOLTOLINI, J.A; GUERRA, M.P; GRANDO, M.S; SILVA, A.L da. Identificação molecular da uva ‘Goethe’ de Urussanga – SC por marcadores microssatélites. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.32, n.3, p. 825-831, 2010.

WEIR, B. S. **Genetic data analysis: methods for discretion population genetic data**. Sunderland: Sinauer Associates, 1996. 377p.