



TRANSFERIBILIDADE DE INCIADORES MICROSSATÉLITES DE AÇAIZEIRO (*Euterpe oleracea*) PARA DENDEZEIRO (*Elaeis guinensis*)

Resumo:

Considerando o tempo necessário para o desenvolvimento de iniciadores específicos, a análise da transferibilidade entre espécies é bastante oportuna. O objetivo deste trabalho foi avaliar a transferibilidade de seis iniciadores microssatélites desenvolvidos para o açaizeiro em dendezeiro. O material analisado foi composto de onze genótipos de dendezeiro e as amplificações foram feitas pela técnica da PCR. Os resultados mostraram a viabilidade da utilização de cinco iniciadores EE2, EE3, EE8, EE15, EE43 em estudos de melhoramento e variabilidade genética em dendezeiro.

Palavras-chave: marcadores moleculares, variabilidade, recursos genéticos.

Introdução

O dendezeiro é uma cultura de grande importância sócio-econômica, pois além de apresentar grande potencial para produção de óleo, gera grande número de empregos, uma vez que utiliza quantidade significativa de mão-de-obra no plantio, colheita e processamento nas usinas de beneficiamento. Os marcadores moleculares microssatélites têm sido indicados como os mais adequados nos estudos de diversidade genética e podem ser empregados para identificar e auxiliar a seleção de genótipos promissores. Também possuem a vantagem de não sofrer influência ambiental. A caracterização molecular associada aos dados de produção de biomassa irá auxiliar a escolha do material para a constituição dos bancos de germoplasma, novos plantios e a preservação racional da espécie em estudo. Os estudos de caracterização através de marcadores moleculares em associação com avaliação da divergência genética nesta espécie são bastante limitados. Apesar da variabilidade fenotípica existente nos plantios, o germoplasma de dendezeiro tem sido pouco estudado sob o ponto de vista genético. O uso combinado de marcadores morfológicos e moleculares subsidiará os trabalhos de melhoramento, na busca de novos cultivares com características de qualidade que atendam demandas do setor produtivo, contribuindo, ainda, para o intercâmbio de material caracterizado e de informações entre instituições de pesquisa e produtoras de óleo e produtos. Um dos pontos principais é a existência de iniciadores específicos descritos na literatura que possam ser utilizados para estudos com a espécie em questão. Desta forma o objetivo deste trabalho foi avaliar a transferibilidade de iniciadores microssatélites de açaizeiro para dendezeiro visando otimizar a técnica de PCR .



Material e Métodos

O material analisado foi composto de onze genótipos, todos pertencentes ao plantio da fazenda MARBORGES-Moju no estado do Pará. O DNA foi extraído a partir de folhas utilizando um protocolo inorgânico modificado por Costa e Oliveira (2002). A concentração de DNA foi estimada em gel de agarose 1,0 %, pela comparação do DNA total com três concentrações do DNA Bacteriófago íntegro lambda. As amostras utilizadas na seleção, após a quantificação total, partiram de diluições da amostra total em água estéril, de modo a conter 5 ng/μL de DNA. As reações de amplificação foram desenvolvidas de acordo com o protocolo de Williams et al. (1990) com modificações, num volume final de 16,9 μL contendo água ultra pura, 20 mM Tris-HCl (pH 8,0), 50 mM KCl, 2,0 mM MgCl₂, 200 mM de cada dNTP, BSA purificada (2,5 mg/ml), 0,2 U.I Taq DNA polimerase e 15 de cada dNTP, BSA purificada (2,5 mg/ml), 1,3 μM iniciador arbitrário, 1U.I Taq DNA polimerase e 15 ng de DNA genômico.

As amplificações foram realizadas em termociclador de DNA Eppendorf Mastercycler. As temperaturas de anelamento seguiram as descritas na literatura para cada iniciador. Foram avaliados seis iniciadores (EE2, EE3, EE8, EE15, EE43 e EE54) *forward* e *reverse*, os quais foram previamente diluídos da seguinte forma: para 150ul de iniciadores diluído, foram utilizados 144ul de água ultra pura e 6ul de iniciadores (3μL de *forward* e 3μL de *reverse*) (Tabela 1) . Após a PCR, a eletroforese foi realizada em cuba vertical em géis de poliacrilamida a 6% por uma hora e meia à 1300 V, sendo posteriormente, na revelação, corados com nitrato de prata.

Tabela 1 – Iniciadores testados para transferibilidade. Belém, Pará 2012

<i>Primers</i>	Sequência	Amplitude (pb)	Temperatura (°C)
	5'-----3'		
EE2	(F) ACCAACCTAGGAAACACAGTCCAAGGACGCAATCTCAA	82 a 110	62
	(R) AGCGAGGCAGAACACGTA		
EE3	(F) GGCTAGGAAAGGTTAGTGGCTTCGCGCACACTGAGAG	94 a 210	58
	(R) GGTAGCGTTGATTGGTCC		
EE8	(F) GACTATGGGCGTGAGTGCATGTATTCCAATGTGCTCACAG	110 a 132	52
	(R) GTGCAGTAGGCTTCTAGTACC		
EE15	(F) AAATTAACCCTCACTAAAGGCCACACAGACACGCAGATAG		



	(R) CCTCATGAAGCATCGACCT	140 a 162	64
EE43	(F) AAATTAACCCTCACTAAAGGGCGAAAGGCTAACAACGTTAT		
	(R) AGCGAACCAACCAAGAAGAC	118 a 132	56
EE54	(F) ACCAACCTAGGAAACACAGTCATGTATCTAAGGAACAAGG		
	(R) CTGTGCTCTCTCATTCTCA	140 a 160	56

Resultados e Discussão

Dos seis iniciadores avaliados, cinco apresentaram transferibilidade, com boa resolução e poderão ser utilizados em trabalhos com dendezeiro, utilizando marcadores microssatélites, quais sejam, EE2, E3, EE8, EE15 e EE43. Este resultado demonstra que existe potencial para a utilização destes iniciadores em programas de melhoramento e estudos de variabilidade genética em dendezeiro, reduzindo custos e tempo para o desenvolvimento deste tipo de trabalho.

Conclusões

Os iniciadores EE2, EE3, EE8, EE15, EE43 desenvolvidos para a espécie *Euterpe oleraceae* podem ser utilizados em *Elaeis guinensis* em trabalhos com microssatélites.

Referências Bibliográficas

COSTA, J. R. S. da; OLIVEIRA, M. do S. P. de. Similaridade genética entre genótipos de tucumã tipo laranjado por marcadores RAPD. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA, 14., 2010, Belém, PA. **Bolsista de iniciação científica: um aporte ao desenvolvimento da pesquisa agropecuária: anais.** Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2010. 1 CD-ROM. PIBIC 2010.

WILLIAMS, J. G. K.; KUBELIK, A. R.; LIVAK, K. J.; RAFALSKI, J. A.; TINGEY, S. V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, v.18, n. 22. p.6531-6535, 1990.