

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Amazônia Oriental
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*



18º Seminário de
Iniciação Científica e
2º Seminário de Pós-graduação
da Embrapa Amazônia Oriental

ANNAIS 2014

12 a 14 de agosto

Embrapa
Belém, PA
2014



18º Seminário de Iniciação Científica e 2º Seminário de Pós-graduação da Embrapa Amazônia Oriental. 12 a 14 de agosto de 2014, Belém-PA

DIVERGÊNCIA GENÉTICA ENTRE E DENTRO DE PROGÊNIES DE BACURIZEIRO DO BAG DA EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL

Lígia Cristine G. Pontes¹, Elisa Ferreira Moura², Josethe Therrier³, José Edmar Urano de Carvalho²

¹ Bolsista Pibic CNPq Embrapa Amazônia Oriental, lilikbiologia@hotmail.com

² Pesquisador Embrapa Amazônia Oriental, elisa.moura@embrapa.br, jose.urano-carvalho@embrapa.br

³ Universidade Federal Rural Da Amazônia, josettetherrier@yahoo.fr

Resumo: O bacuri (*Platonia insignis*) é uma espécie frutívora nativa da região Norte e Nordeste utilizada na culinária ou consumido *in natura*. A Embrapa Amazônia Oriental apresenta em um Banco Ativo de Germoplasma diversos acessos de bacurizeiro coletados em diferentes locais do Estado do Pará. Neste trabalho objetivou-se em estudar a variabilidade genética entre e dentro de progênies de bacurizeiro (*P. insignis*) coletados na Ilha do Marajó e mantidos no BAG da Embrapa Amazônia Oriental por meio de marcadores ISSR. Os 14 *primers* amplificaram 77 locos dos quais 33 foram polimórficos. Com a análise do dendrograma construído a partir da matriz de similaridades de Jaccard foi possível observar duplicatas e triplicadas em algumas amostras estudadas. Outras se mostraram altamente similares, indicando que ainda é necessário análise com mais *primers* para diferenciar os materiais.

Palavras-chave: ISSR, marcadores moleculares, *Platonia insignis*

Introdução

O bacuri (*Platonia insignis*) é uma espécie frutífera nativa da Amazônia, muito utilizado na cultura alimentar da região Norte na forma de suco, doces, sorvete e *in natura* e já começa a ganhar espaço entre os produtos que tem potencial para comercialização fora do Estado do Pará.

A Embrapa Amazônia Oriental, nos últimos anos, tem coletado e mantido em condições *ex situ* em Banco Ativo de Germoplasma, diversos acessos de bacurizeiro. A caracterização morfológica e agrônômica desses acessos vem sendo realizada, porém a abordagem molecular ainda não foi feita.

Os ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*) são marcadores do tipo dominante que amplificam regiões dentro de microssatélites e são utilizados na estimação da diversidade e estrutura genética populacional (SOUZA et al., 2013).

O objetivo deste trabalho é estudar a variabilidade genética entre e dentro de progênies de bacurizeiro do BAG da Embrapa Amazônia Oriental por meio de marcadores ISSR.



18º Seminário de Iniciação Científica e 2º Seminário de Pós-graduação da Embrapa Amazônia Oriental. 12 a 14 de agosto de 2014, Belém-PA

Material e Métodos

Foram coletadas 78 amostras pertencentes a 16 progênies de bacurizeiro distintas coletadas na Ilha do Marajó, PA. As plantas estão sediadas em Tomé-Açú, no Campo Experimental de Quatro Bocas da Embrapa da Amazônia Oriental. As folhas de bacuri foram levadas ao Laboratório de Genética Molecular da Embrapa Amazônia Oriental em Belém, Pará, onde teve o DNA extraído segundo o método Doyle e Doyle (1990). O DNA extraído foi submetido a eletroforese em gel de agarose à 1% corado com brometo de etídio para a quantificação. O DNA foi diluído a uma concentração de 10ng/ μ l no volume de 100 μ l. Foram utilizados 14 *primers* UBC previamente selecionados por Souza et al. (2013) (Tabela 1) e foi realizada a PCR com volume total de 20 μ l e os produtos da amplificação foram submetidos à eletroforese horizontal em gel de agarose à 1,5 % corado com brometo de etídio.

As imagens foram visualizadas em transiluminador de luz ultravioleta e capturadas digitalmente. Posteriormente foram estudadas e cada banda com o mesmo padrão de mobilidade foi considerada pertencente ao mesmo loco. Os dados foram analisados no programa NTSYS PC (ROHLF, 2000), sendo gerado o dendrograma pelo método UPGMA com base no índice de similaridade de Jaccard.

Resultados e Discussão

Foram 77 locos amplificados com 14 *primers* selecionados, dos quais apenas 33 foram polimórficos com aproximadamente 43%, sendo que os *primers* UBC856 e UCB811 foram os mais polimórficos, com sete e seis polimorfismos, respectivamente. Por outro lado, UBC810 e UBC817 não apresentaram bandas polimórficas (Tabela 1). Souza et al. (2013) encontraram 221 locos em 18 *primers* ISSR, incluindo os usados neste trabalho, porém, foi usado gelred para a eletroforese, que seria a justificativa para aparecer tantas bandas polimórficas.

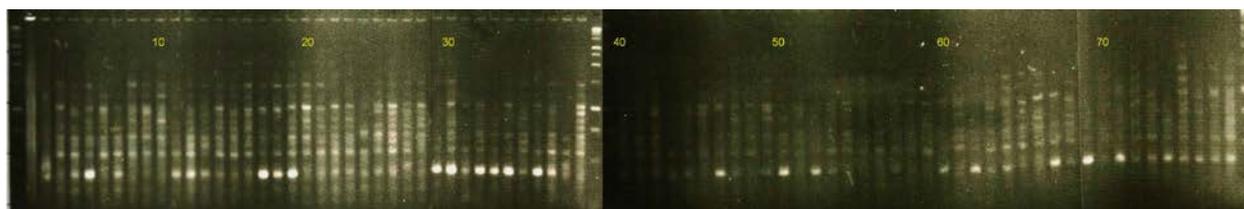


Figura 1. Amplificação do ISSR UBC856 em 78 amostras de bacurizeiro pertencentes ao BAG da Embrapa Amazônia Oriental evidenciando as bandas polimórficas.



Tabela 1 - Temperatura de anelamento (Ta) e sequência dos *primers* selecionados para análise ISSR, total de locos e total de locos polimórficos.

Primer	Ta (°C)	Sequência (3'-5')*	Total de Locos	Total de locos polimórficos
UBC 810	53	(GA)8T	4	0
UBC 811	54	(GA)8C	6	6
UBC 817	53	(CA)8A	5	0
UBC 825	54	(AC)7A	4	2
UBC 826	59	(AC)8C	5	2
UBC 827	59	(AC)8G	4	2
UBC 834	53	(AG)8YT	10	3
UBC 840	54	(GA)8YT	5	1
UBC 842	52	(GA)8YG	3	1
UBC 856	59	(AC)8YA	7	7
UBC 888	59	BDB (CA)7	6	1
UBC 889	59	DBD (AC)7	5	1
UBC 890	59	VHV (GT)7	7	3
UBC 891	59	HVH (TG)7	6	4
Total	-	-	77	33

Pode-se verificar no dendrograma alta similaridade entre as amostras. Observou-se duplicatas entre as amostras 108-1 e 207-1, 209-3 e 209-5, 216-3 e 104-4, 110-3 e 211-4, bem como entre as amostras 105-3 e 204-2 e triplicatas entre as amostras 216-4, 103-3 e 103-1, entre as amostras 102-1, 101-4 e 213-1, bem como entre 215-5, 213-3 e 211-3. As amostras 210-2, 105-4, 105-2 e 114-5 mostraram ser altamente similares para os marcadores utilizadas, com o mesmo acontecendo entre as amostras 215-3, 215-5, 101-5 e 103-2 (Figura 2). Como trata-se de análise de progênies e de indivíduos provenientes de sementes, era esperado que houvesse diferenciação genética entre eles. Porém, como foram identificadas apenas 33 bandas polimórficas, espera-se que com número maior de bandas seja possível diferenciar os materiais analisados. O trabalho será continuado com maior número de *primers*.



18º Seminário de Iniciação Científica e 2º Seminário de Pós-graduação da Embrapa Amazônia Oriental. 12 a 14 de agosto de 2014, Belém-PA

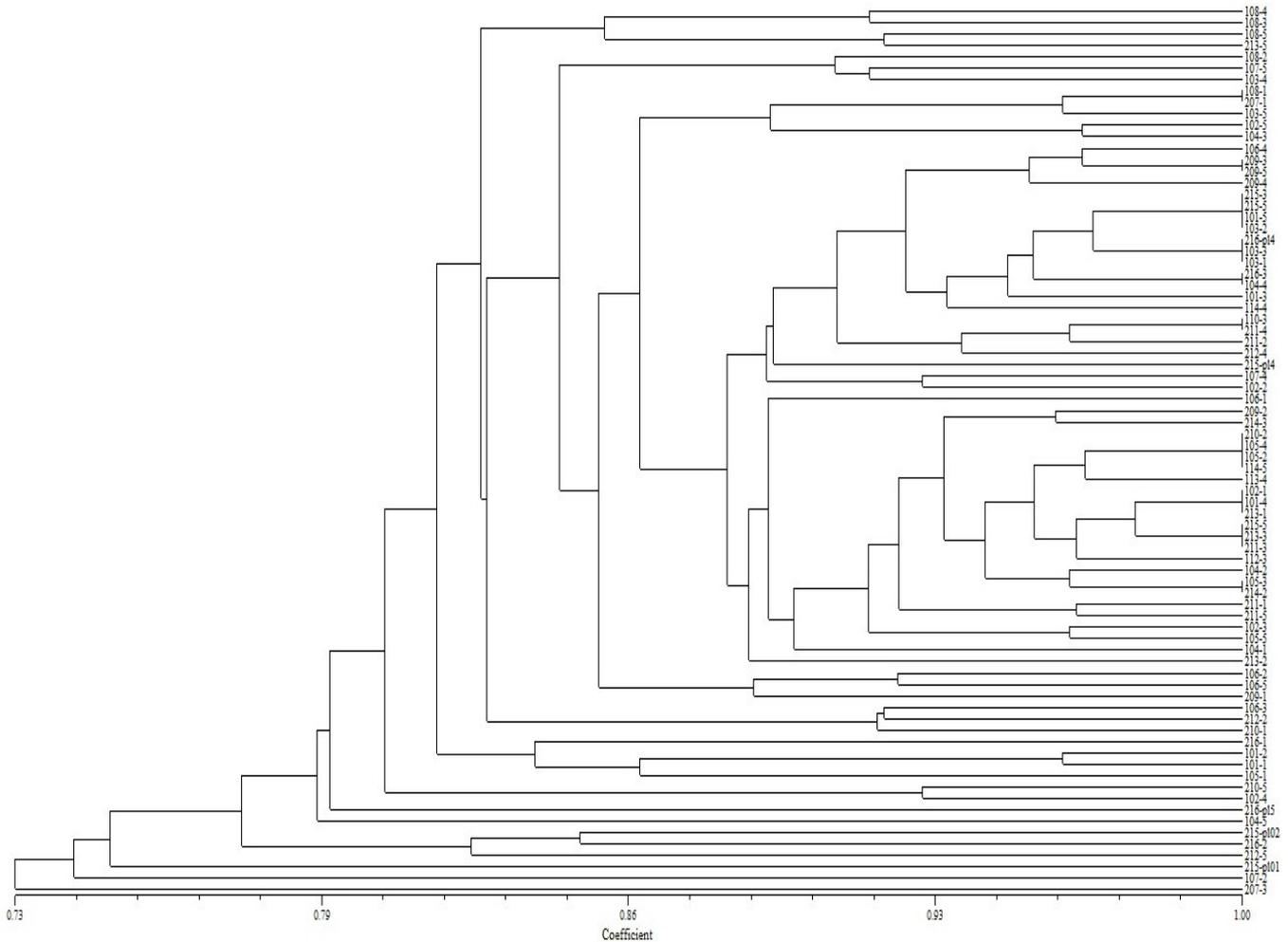


Figura 2. Dendrograma obtido pelo método UPGMA por meio das similaridades genéticas obtidas pelo índice de Jaccard a partir de dados de marcadores ISSR para progênies de bacurizeiro pertencentes ao BAG da Embrapa Amazônia Oriental.

Conclusão

Foi verificado baixo polimorfismo entre indivíduos de diferentes progênies de bacurizeiro ao se utilizar os marcadores ISSR.

Referências Bibliográficas

- DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v. 12, p. 13-15, 1990.
- ROHLF, F. J. **Numerical taxonomy and multivariate analysis system version 2.1**. New York: Exeter Software, 2000.
- SOUZA, I. G. B.; SOUZA, V. A. B.; LIMA, P. S. C. Molecular characterization of *Platonia insignis* Mart. ("Bacurizeiro") using inter simple sequence repeat (ISSR) markers. **Molecular biology reports**, v. 40, n. 5, p. 3835-3845, 2013.