



14<sup>o</sup> Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA  
10 e 11 de agosto de 2010  
Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA

## SELEÇÃO DE *PRIMERS* RAPD PARA CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE GERMOPLASMA DE *Oenocarpus minor*

Suellen Ferreira da Silva<sup>1</sup>, Maria do Socorro Padilha de Oliveira<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Estagiária de Projeto. Estágio não obrigatório. Aluna de graduação em Biologia da Universidade Federal do Pará. suellem.ufpa@yahoo.com.br

<sup>2</sup> Pesquisador A, Embrapa Amazônia Oriental. spadilha@cpatu.embrapa.br

**Resumo:** A espécie *Oenocarpus minor*, é uma palmeira conhecida popularmente por bacabinha ou bacabi e considerada de grande importância sócio-econômica na região amazônica. Contudo, tem sido pouco estudada. O presente trabalho teve por objetivo selecionar *primers* RAPD para aplicação em estudo de caracterização molecular de germoplasma dessa palmeira. Foram testados 119 *primers* RAPD em DNA genômico de cinco genótipos de bacabi conservados no Banco de Germoplasma de *Oenocarpus/Jessenia* da Embrapa Amazônia oriental. Dos 119 *primers* foram selecionados 20 que exibiram maior grau de polimorfismo e por isso podem ser aplicados com sucesso na caracterização molecular dos acessos existentes no BAG da Embrapa Amazônia Oriental.

**Palavras-chave:** Amazônia, palmeiras, bacabinha, polimorfismo, marcadores moleculares

### Introdução

A espécie *Oenocarpus minor*, conhecida popularmente por bacabinha ou bacabi, é considerada de grande importância sócio-econômica na região amazônica. Sua utilização é diversa pela população dessa região, a exemplo da extração de óleo, obtenção de palmito e produção de uma bebida deliciosa, semelhante ao açazeiro (*Euterpe oleracea*). Diante disso, para promover o uso sustentável das palmeiras regionais como o bacabi, torna-se necessária a realização de estudos que objetivem a conservação e o melhoramento dessa espécie.

Marcadores moleculares são vantajosos no estudo de diversidade genética, pois não sofrem influência ambiental sendo capazes de demonstrar em maior grau o genoma, diferentemente dos marcadores fenotípicos (Ferreira & Grattapaglia, 1998). Os marcadores moleculares do tipo RAPD (polimorfismo de DNA amplificado ao acaso), têm a vantagem de ser pouco onerosos e gerarem alto grau de polimorfismo. A seleção dos *primers* RAPD mais informativos tem sido realizada para várias espécies como o açazeiro (Oliveira, 2005) e outras espécies do gênero *Oenocarpus* (Costa et al., 2009). Mas, não há registro para a espécie em questão.



14<sup>º</sup> Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA  
10 e 11 de agosto de 2010  
Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA

O presente trabalho teve por objetivo selecionar primers RAPD para aplicação na caracterização molecular de acessos de *O. minor*.

### Material e Métodos

Folíolos de folhas jovens de *O. minor* foram coletados em cinco plantas do Banco de germoplasma do complexo *Oenocarpus/Jessenia* da Embrapa Amazônia Oriental. A extração de DNA foi efetuada em 100 mg de folíolo, de acordo com o protocolo CTAB com modificações e utilizado no Laboratório de Genética molecular dessa instituição (Costa et al., 2002). A quantificação do DNA existente nas amostras foi realizada na Universidade Federal do Pará – UFPA, em Nanodrop.

Foram testados 119 *primers* RAPD de diferentes Kits em cinco amostras. As reações de PCR foram preparadas em microtubos de 0,2 ml, com volume final de 15 µl contendo 35 ng de DNA genômico, 1 mM de cada um dos desoxirribonucleotídeos trifosfatos, 1,3 mM do primer, 10mg.ml<sup>-1</sup> de BSA, 1 unidade de enzima Taq polimerase da Invitrogen e tampão de reação contendo MgCl<sub>2</sub> fornecido pelo fabricante. A amplificação foi realizada em termociclador Amplitherm TX96 da AXIGEN, programado para 40 ciclos, segundo Oliveira et al. (2007). Os produtos amplificados foram aplicados em gel de agarose a 1%, preparados com tampão TBE (0,45 M de Tris-Borato e 0,01 M de EDTA) 1,0X, corados com brometo de etídio, e separados por eletroforese horizontal, conduzida em 110 V por uma hora e 30 minutos. Os perfis dos géis foram visualizados em transiluminador de luz UV e as imagens capturadas digitalmente.

Na seleção, primeiramente foi separado os que não amplificaram dos que amplificaram e os que produziram bandas nítidas e claras. Finalmente, foram selecionados os que produziram bandas nítidas e alto polimorfismo.

### Resultados e Discussão

Dos 119 *primers* RAPD testados, 103 apresentaram amplificações e 16 não amplificaram. Para os *primers* que amplificaram 27 deles produziram bandas claras e 76 primers bandas nítidas. Os que geraram bandas nítidas 20 foram selecionados por apresentarem alto polimorfismo, com perfis de até 15 bandas por *primer*, como os primers OPO-05 e OPO-09 (Figura 1). Santos et al. (2008) encontraram percentagens de *primers* polimórficos bem abaixo dos resultados aqui obtidos em babaçu.

Os 20 *primers* geraram 206 produtos de amplificação, com média de 8,95 bandas polimórficas (Tabela 1). Os *primers* OPO-05 e OPO-09 geraram os maiores números de bandas (15 bandas



14<sup>o</sup> Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA  
10 e 11 de agosto de 2010  
Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA

polimórficas), enquanto o OPB-07 o menor (quatro bandas). Resultados similares foram obtidos por Oliveira (2005) em açaizeiro e por Moura et al. (2009) que ao testarem 112 primers em *O. mapora* selecionaram também 20 primers que geraram um total de 184 bandas polimórficas. Por outro lado, Oliveira & Oliveira (2009) selecionaram 24 primers RAPD que geraram bandas nítidas e polimórficas de 116 primers testados em *Astrocarym vulgare*, mas que geraram menor número de bandas polimórficas (152). Já Oliveira et al. (2009) testando 113 primers em *A. tucuma* selecionaram 21 que geraram 102 bandas polimórficas, bem inferior ao detectado neste trabalho. Enquanto, Costa et al. (2009) avaliando 120 primers desse mesmo marcador selecionaram 22 que revelaram 115 bandas polimórficas e perfis de até oito bandas por *primer*.

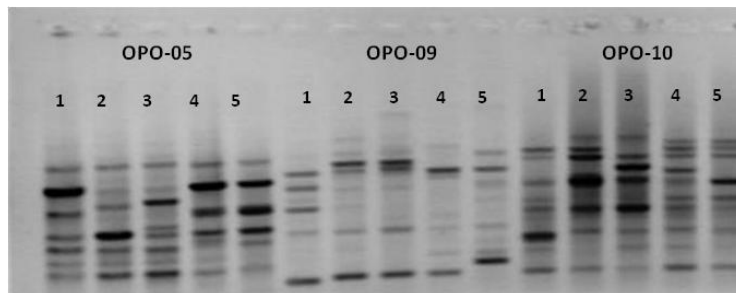


Figura 1 Gel de agarose contendo exemplos de polimorfismo gerados por três *primers* RAPD nos cinco genótipos de *O.minor*.

### Conclusão

Os 20 *primers* selecionados apresentam bandas nítidas e alto grau de polimorfismo e podem ser aplicados com sucesso na caracterização molecular de acessos de *Oenocarpus minor*.

### Agradecimentos

À Embrapa Amazônia Oriental e ao CNPq pela concessão de bolsa ao primeiro autor.

### Referências Bibliográficas

COSTA, J.R.S. ; MOURA, E.F.; OLIVEIRA, M.S.P.; OLIVEIRA, N.P. Seleção de primers RAPD para estudos genéticos em *Oenocarpus distichus* Mart. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 5., 2009, Guarapari. **Anais....** Vitória-ES: Incaper, 2009. v. 1. p. 1-4. (CD-ROM)

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. Brasília, DF: Embrapa/CENARGEN,1998. 220p.



14<sup>o</sup> Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA  
10 e 11 de agosto de 2010  
Embrapa Amazônia Oriental, Belém-PA

GRATTAPAGLIA, D. **Aplicações operacionais de marcadores**. In: Biotecnologia florestal. BORÉM, A (ed.). Viçosa: (s.n.), 2007. pág. 175-200.

MOURA, N.F; CHAVES, L.J; VENCOVSKY, R; ZUCCHI, M.I; PINHEIRO, J.B; MORAIS, L.K; MOURA, M.F. Seleção de marcadores RAPD para o estudo da estrutura genética de populações de *Hancornia speciosa* Gómez. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 21, n.3, p. 119-125, 2005.

MOURA, E.F. ; OLIVEIRA, M. do S.P. de; COSTA, J.R.S. **Seleção de primers RAPD para *Oenocarpus mapora*** In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 5., 2009, Guarapari. **Anais....** Vitória-ES: Incaper, 2009. v. 1. p. 1-4. (CD-ROM)

OLIVEIRA, M. do S.P. de; AMORIM, E.P; SANTOS, J.B. dos; FERREIRA, D.F. Diversidade genética entre acessos de açaizeiro baseada em marcadores RAPD. **Ciênc. Agrotec.**, Lavras, v. 31, n.6, p. 1645-1653, 2007.

Tabela 1 Sequência, número de bandas polimórficas e total de bandas geradas nos 20 *primers* RAPD selecionados para a caracterização molecular em germoplasma de *Oenocarpus minor*.

Nº	Primer	Sequência 5'→ 3'	Banda polimórfica	Total de bandas
1	OPA-07	5' GAAACGGGTG 3'	7	9
2	OPA-09	5' GGGTAACGCC 3'	8	9
3	OPA-11	5' CAATCGCCGT 3'	8	9
4	OPA-16	5' AGCCAGCGAA 3'	11	11
5	OPA-17	5' GACCGCTTGT 3'	7	9
6	OPA-19	5' CAAACGTCGG 3'	8	11
7	OPA-18	5' GTGACGTAGG 3'	7	7
8	OPJ-03	5' TCTCCGCTTG 3'	9	10
9	OPJ-12	5' GTCCCGTGGT 3'	9	11
10	OPAB-15	5' CCTCCTTCTC 3'	6	11
11	OPO-05	5' CCCAGTCACT 3'	15	15
12	OPO-09	5' TCCCACGCAA 3'	15	15
13	OPO-10	5' TCA GAG CGC C 3'	10	12
14	OPO-16	5' TCGGCGGTTC 3'	7	7
15	OPAB-18	5' CTGGCGTGTC 3'	8	10
16	OPS-10	5' ACCGTTCCAG 3'	7	8
17	OPAB-04	5' GGCACGCGTT 3'	9	11
18	OPAB-08	5' GTTACGGACC 3'	13	14
19	OPB-06	5' TGCTCTGCCC 3'	11	11
20	OPB-07	5' GGTGACGCAG 3'	4	6
<b>Total</b>			<b>179</b>	<b>206</b>