



DIVERGÊNCIA GENÉTICA ENTRE GENÓTIPOS DE ESPÉCIES DO GÊNERO *ASTROCARYUM* BASEADA EM MARCADORES RAPD

Resumo: Quantificou-se a divergência genética entre genótipos de duas espécies do gênero *Astrocaryum* por marcadores RAPD. Para tanto foram selecionadas ao acaso quinze amostras de DNA total de *A. aculeatum*, coletadas em Maués, AM, e quinze amostras de *A. vulgare*, coletadas em Salvaterra, PA e, conservadas no banco de DNA da Embrapa Amazônia Oriental. As 30 amostras foram quantificadas em gel de agarose e, em seguida em reações PCR-RAPD com a utilização de 16 *primers* selecionados para cada espécie. A contagem dos produtos amplificados foi feita nos *primers* coincidentes e que geraram polimorfismo nas duas espécies. A matriz binária obtida foi utilizada na quantificação das similaridades genéticas no programa NTSYS utilizando o coeficiente de DICE, sendo agrupadas em dendrograma pelo método UPGMA. Cinco *primers* foram coincidentes entre as espécies e amplificaram 58 bandas, com média de 11,6 bandas por *primer*, sendo 100% polimórficas. As similaridades variaram de 0,216 a 0,964 com média de 0,61 demonstrando boa divergência entre os pares de genótipos. O dendrograma separou dois grupos com vários subgrupos, de alta confiabilidade ($r = 0,82$). Os genótipos das espécies de *Astrocaryum* analisados apresentam considerável divergência dentro das espécies.

Palavras-chave: Polimorfismo, palmeiras, *A. aculeatum*, *A. vulgare*, similaridade genética.

Introdução

O tucumã (*Astrocaryum aculeatum*) é uma espécie da família Arecaceae amplamente distribuída na Amazônia Oriental (OLIVEIRA et al., 2003). De seus frutos é extraída uma polpa muito utilizada para a fabricação de sorvetes, sucos, doces, além da extração de óleos comestíveis (GENTIL et al., 2005). Apesar de sua importância à população amazônica, poucos estudos têm sido realizados com o objetivo de promover sua domesticação e melhoramento.

Marcadores moleculares têm sido utilizados para várias finalidades, dentre elas a quantificação da diversidade, da divergência e da variabilidade genética, sendo a interpretação é feita por meio de medidas de similaridade ou dissimilaridade e quase sempre visualizada por métodos de agrupamento (FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1995). Vários marcadores moleculares estão disponíveis essas finalidades, dentre eles os que usam a técnica PCR (*Polymerase Chain Reaction*), como o RAPD



(*Random Amplified Polymorphic DNA*), por serem aplicados em qualquer espécie, decâmeros, de sequência única e gerarem alto polimorfismo (MILACH, 1998). Em vista dessas características esses tipos marcadores têm sido utilizados com frequência na genotipagem de espécies pouco conhecidas.

O objetivo desse trabalho foi quantificar a divergência genética entre genótipos de espécies do gênero *Astrocaryum* com base em marcadores RAPD.

Material e Métodos

Foram escolhidas ao acaso quinze amostras de DNA genômico de *A. aculeatum*, coletadas em Maués, AM, e quinze amostras de *A. vulgare*, coletadas em Salvaterra, PA, as quais se encontram conservadas sob baixa temperatura (- 80°C) no banco de DNA da Embrapa Amazônia Oriental, em Belém, PA. As 30 amostras foram descongeladas e quantificadas em gel de agarose a 1%.

As genotipagens das 30 amostras de DNA foram feitas por reações de PCR-RAPD com o uso de 16 *primers* selecionados para cada espécie. As reações foram preparadas em microtubos de ependoff de 0,2ml contendo volume final de aproximadamente 15 µl, conforme Oliveira et al. (2007) e colocadas em termociclador BIOGENEES programado para 40 ciclos. Os produtos amplificados revelados em gel de agarose a 1%, corado com brometo de etídio, e separados por eletroforese horizontal com voltagem constante de 110 V por 1 hora e 30 minutos. Os géis foram visualizados em fotodocumentador e as imagens capturadas em meio magnético.

A matriz binária foi obtida pela contagem dos produtos amplificados nos *primers* coincidentes e que geraram polimorfismo nas duas espécies. As estimativas de similaridades genéticas (\hat{g}_{ij}) entre o *i*-ésimo e o *j*-ésimo genótipo, foram feitas no software NTSYS-pc 2.1 (ROHLF, 2000) com o uso do coeficiente de DICE, e o dendrograma pelo método UPGMA. A consistência dos agrupamentos formados foi feita pela correlação cofenética neste mesmo software.

Resultados e Discussão

Cinco *primers* RAPD utilizados foram coincidentes na amplificação de produtos nas amostras das duas espécies e produziram 58 bandas, com média de 11,6 bandas por primer, sendo todas polimórficas (Tabela 1). Na Figura 1, constam os produtos gerados pelo *primer* OPAB-01.

A maior similaridade ocorreu entre os genótipos 11 e 12 ($\hat{g}_{ij} = 0,964$) e, a menor entre os genótipos 2 e 16 ($\hat{g}_{ij} = 0,216$) com média de 0,61. Dos genótipos avaliados 43% apresentaram similaridades abaixo da média geral, o que demonstra considerável divergência entre eles.



Tabela 1. Número de bandas e polimorfismo gerado por cinco iniciadores RAPD utilizados na amplificação de duas espécies de tucumazeiros (*A. vulgare* e *A. aculeatum*) conservadas no BAG – Tucumã.

Nome do iniciador RAPD	Nº de bandas		Polimorfismo (%)
	Monomórficas	Polimórficas	
OPAB-01	0	14	100
OPAB-04	0	9	100
OPJ-13	0	16	100
OPO-03	0	10	100
OPU-05	0	9	100
TOTAL	0	58	-
Média	0	11,6	100

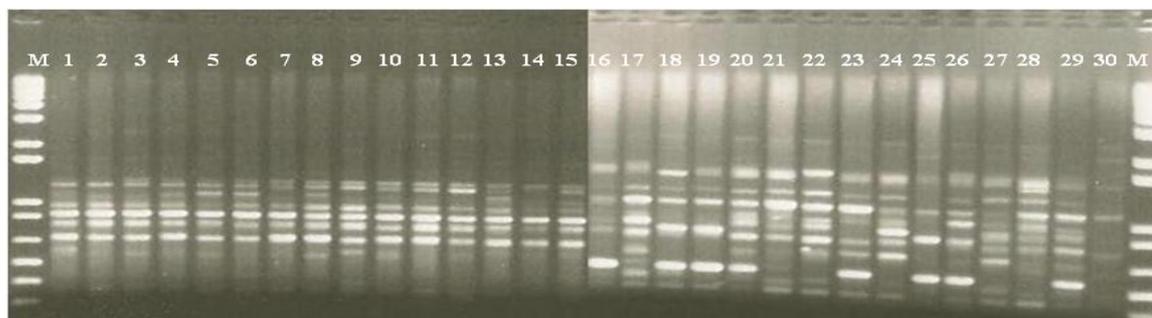


Figura 1. Produtos da amplificação RAPD em genótipos de duas espécies de tucumazeiros conservadas no BAG – Tucumã e gerados pelo iniciador OPAB-01. M: Marcador de peso molecular de 100pb; 1 a 15: (*A. vulgare*); 16 a 30: (*A. aculeatum*).

O dendrograma separou dois grupos com vários subgrupos (Figura 2). O grupo I constituído por todos os genótipos da espécie *A. vulgare* e representantes de Salvaterra; e o grupo II pelos genótipos de *A. aculeatum*. A correlação cofenética foi alta ($r= 0, 82$) evidenciando alta confiabilidade na separação dos grupos. Tais resultados fornecem indícios de alta divergência entre os genótipos da mesma espécie e possibilidade de discriminar espécies com o uso desses marcadores.

Conclusão

Os genótipos das espécies do gênero *Astrocaryum* caracterizados por marcadores RAPD apresentam considerável divergência, estando distribuída em dois grupos de vários subgrupos.

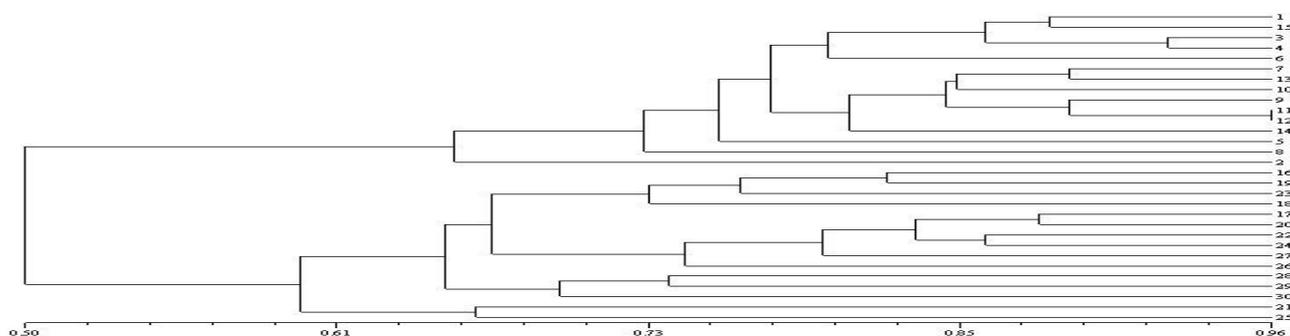




Figura 2. Similaridades genéticas entre as 30 amostras de DNA das espécies *A. aculeatum* e *A. vulgare* por meio de 58 marcadores RAPD, definida pelo critério de agrupamento UPGMA, com base no coeficiente de Dice.

Agradecimentos

Aos assistentes de pesquisa do Laboratório de Genética Molecular da Embrapa Amazônia Oriental, pelo apoio nas reações PCR-RAPD e à Embrapa Amazônia Oriental, pelo financiamento do trabalho e concessão de bolsa ao primeiro autor.

Referências

- FERREIRA, M.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores RAPD em análise genética**. 2. ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 1995. 220p.
- GENTIL, D. F. O; FERREIRA, S. A. N. **Morfologia da plântula em desenvolvimento de *Astrocaryum aculeatum* Meyer (Arecaceae)**. Acta Amazonica, VOL. 35(3), p.337 – 342. 2005.
- MILACH, S. C. K. Principais tipos de marcadores moleculares e suas características. In: MILACH, S. C. K. **Marcadores moleculares em plantas**. Porto Alegre: UFRGS, 1998. p. 17-28.
- OLIVEIRA, N. P. de; OLIVEIRA, M. do S. P. de; MOURA, E. F. **Seleção de marcadores RAPD para análise genética em germoplasma de tucumã-do-Pará (*Astrocaryum vulgare* Mart.)**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 5., 2009, Guarapari. **Anais...** Vitória: Incaper, 2009. v. 1, p. 1-4. CD-ROM
- OLIVEIRA, N. P. de; OLIVEIRA, M. do S. P. de. **Seleção de primers RAPD para a caracterização molecular de germoplasma de tucumã-do-amazonas (*Astrocaryum tucumã* Mart.)**. In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRA, 7 E DA EMBRAPA: 2009, Belém,Pará. Pesquisa e desenvolvimento tecnológico na formação do jovem cientista: **Anais...** Belém,Pará : UFRA: Embrapa Amazônia Oriental, 2009. 1 CD-rom: color. 4 3/4 pol. ISSN 2176-6630. 3 p.
- VICENTE, M.C. de; GUZMÁN, F.A.; ENGELS, J.; RAMANATHA RAO, V. Genetic Characterization and its use in decision making for the conservation of crop germplasm. In: THE ROLE OF BIOTECHNOLOGY, 2005, Turin. **Proceedings...** Turin, 2005. p.121-128.