



VARIABILIDADE GENÉTICA EM GERMOPLASMA DE TUCUMÃ-DO-PARÁ PROCEDENTE DE SALVATERRA, PA POR MARCADORES RAPD.

Resumo: Quantificou-se a variabilidade genética entre germoplasma de tucumã-do-pará (*A. vulgare* Mart.) procedente de Salvaterra, PA por marcadores RAPD. Para tanto foram selecionadas ao acaso quinze amostras de DNA total das 30 coletadas em Salvaterra, PA e conservadas no banco de DNA da Embrapa Amazônia Oriental. As amostras foram quantificadas em gel de agarose e diluídas para serem utilizadas em reações PCR-RAPD com 16 *primers* selecionados para a espécie. Os produtos amplificados foram usados na formação da matriz binária para o cálculo das estimativas das similaridades genéticas pelo coeficiente de Jaccard e agrupadas em dendrograma pelo método UPGMA. Foram amplificadas 105 bandas, sendo 89,52% polimórficas e com média de 6,56 bandas por *primer*. As similaridades variaram de 0,34 a 0,82, demonstrando ampla variabilidade genética entre o germoplasma avaliado, com média de 0,57. O dendrograma permitiu a formação de três grupos com vários subgrupos de alta confiabilidade ($r = 0.87$). Assim, considera-se que o germoplasma de tucumã-do-pará analisado seja detentor de ampla variabilidade, a qual pode ser explorada em programas de melhoramento dessa palmeira.

Palavras-chave: palmeiras, *Astrocaryum vulgare*, polimorfismo, similaridade genética

Introdução

O tucumã (*Astrocaryum vulgare* Mart.) pode ser encontrado em todo o leste da Amazônia brasileira, na Guiana francesa e no Suriname, tendo forte ocorrência no Estado do Pará, fazendo jus a denominação de tucumã-do-pará. É uma palmeira perene e multicaule, que alcança até 15 m de altura com espinhos em várias partes da planta, especialmente no estipe e com frutos de coloração alaranjada (SHANLEY; MEDINA, 2005). Seus frutos têm várias utilidades pela população rural e urbana de baixa renda, com a extração de fibras das folhas e no beneficiamento dos frutos para a alimentação e artesanatos (SHANLEY; MEDINA, 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, com a interpretação feita por meio de medidas de similaridade ou dissimilaridade e visualizadas por métodos de agrupamento (MILACH,



1998). 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 decâmeros, de seqüência única e gerarem alto polimorfismo, sendo aplicados em qualquer espécie (MILACH, 1998). Em vista dessas características esses tipos marcadores têm sido utilizados com freqüência na genotipagem de espécies pouco conhecidas.

O objetivo desse trabalho foi quantificar a variabilidade genética em germoplasma de tucumã-do-pará por marcadores RAPD.

Material e Métodos

Foram escolhidas ao acaso quinze amostras de DNA genômico de *A. vulgare*, das 30 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 quinze amostras foram descongeladas e quantificadas em gel de agarose a 1%.

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

Os produtos obtidos foram organizados em uma matriz binária e usada na obtenção das estimativas de similaridades genéticas (\hat{g}_{ij}) entre o i-ésimo e o j-ésimo genótipo, no software NTSYS-pc 2.1 (ROHLF, 2000) pelo coeficiente de JACCARD. O dendrograma foi feito pelo método UPGMA e a consistência dos agrupamentos pela correlação cofenética neste mesmo software.

Resultados e Discussão

Foram produzidos 105 produtos de amplificação, sendo 94 polimórficos (Tabela 1). O número médio de bandas por *primers* foi de 6,56, variando de 2 (OPO-03) a 12 (OPA-11). O *primer* OPA-11 apresentou o maior número de polimorfismo, enquanto o menor ocorreu no *primer* OPO-03 com duas bandas polimórficas. Resultados semelhantes foram obtidos por Oliveira *et al.*, (2009) e Costa *et al.*



(2010) ao aplicarem 24 *primers* RAPD em dez aleatórios e em quinze genótipos tipo amarelo dessa mesma espécie conservados no BAG - tucumã, respectivamente.

Tabela 1. Identificação dos 16 *Primers* RAPD aplicados em 15 genótipos de tucumã procedentes de Salvaterra, PA e o número de bandas polimórficas e monomórficas geradas.

<i>Primers</i>	Bandas por <i>primer</i>	Bandas polimórficas	Bandas monomórficas
OPA-08	6	5	1
OPA-11	12	12	0
OPA-14	8	8	0
OPA-19	7	7	0
OPAB-01	9	9	0
OPAB-04	7	6	1
OPAB-08	5	4	1
OPAB-19	5	4	1
OPAB-20	5	5	0
OPAR-07	4	4	0
OPAZ-04	10	8	2
OPAZ-05	8	8	0
OPJ-13	9	6	3
OPO-03	2	2	0
OPU-05	5	3	2
OPU-17	3	3	0
Total	105	94	11
Média	6,56	5,87	0,68

As estimativas de similaridades variaram de 0,34 a 0,82, com a maior similaridade ocorrendo entre os genótipos 5 e 2 ($\hat{g}_{ij} = 0,82$) e a menor entre os genótipos 15 e 10 ($\hat{g}_{ij} = 0,34$). A similaridade genética média foi 0,57, onde 33 % dos genótipos avaliados apresentaram similaridades abaixo da média, o que sugere considerável variabilidade genética entre eles.

O dendrograma formou três grupos, com o segundo contendo a maioria dos genótipos em vários subgrupos (Figura 1). O grupo I foi constituído pelo genótipo 1, o II por 12 genótipos e III por dois genótipos, o 6 e o 10. A correlação cofenética foi alta ($r = 0,87$) evidenciando alta confiabilidade na separação dos grupos. Como os genótipos estudados representam uma pequena amostra de germoplasma de *A. vulgare* que ocorre em um município paraense (Salvaterra, PA), pode-se considerar que os mesmos sejam detentores de razoável divergência genética.

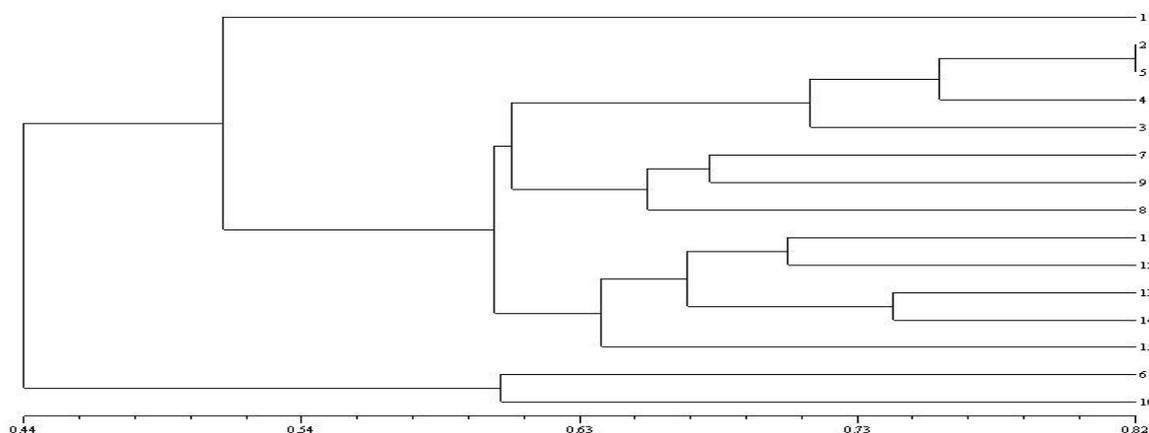


Figura 1. Agrupamento dos 15 genótipos de tucumã-do-pará procedentes de Salvaterra, PA com base em 105 marcadores RAPD e definida pelo método UPGMA com base no coeficiente de Jaccard.

Conclusão

A amostra do germoplasma de tucumã-do-pará (*A. vulgare* Mart.) procedente de Salvaterra, PA analisada por marcadores RAPD apresenta considerável variabilidade genética, estando distribuída em três grupos com vários subgrupos.

Agradecimentos

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

Referências

- COSTA, J.; M. do S.P. de (2010). **Similaridade genética entre genótipos de tucumã tipo laranjado por marcadores RAPD**. Seminário de iniciação científica da EMBRAPA.
- 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
- SHANLEY, P; MEDINA, G. **Frutíferas e plantas úteis na vida amazônica**. Belém: CIFOR, 2005.300p.
- 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.