

Divergência genética entre genótipos de tucumã-do-pará (*Astrocaryum vulgare* Mart.) desejáveis para frutos por meio de marcadores moleculares

Natália Padilha de Oliveira (Mestranda em Genética e Melhoramento de Plantas/UFLA/Bolsista do CNPq natybiologia2006@gmail.com), Maria do Socorro Padilha de Oliveira (Embrapa Amazônia Oriental, spadilha@cpatu.embrapa.br), Elisa Ferreira Moura (Embrapa Amazônia Oriental, elisa@cpatu.embrapa.br)

Palavras Chave: Palmeira, Amazônia, RAPD, genotipagem, polimorfismos, dissimilaridades.

1 - Introdução

O tucumã-do-Pará (*Astrocaryum vulgare* Mart.) é palmeira nativa da América do Sul, perene, oleaginosa, de grande importância sócio-econômica na Amazônia, pelas diversas utilidades de seus frutos⁽⁷⁾. Mas, poucos estudos têm sido realizados para promover sua domesticação.

Estudos de divergência genética são importantes para identificar combinações de progenitores que possam gerar maior efeito heterótico⁽¹⁾. Podem ser avaliados com o uso de vários marcadores, sendo os moleculares os mais vantajosos por não sofrerem influência direta do ambiente. Marcadores RAPD (*Randomly Amplified Polymorphic DNA*) são úteis para a divergência em espécies pouco conhecidas, como o tucumã, e apresentam vantagens em seu uso, por exemplo, por permitir a análise de grande número de marcas polimórficas em um curto espaço de tempo⁽⁴⁾.

Este trabalho teve por objetivo avaliar a diversidade genética entre genótipos de tucumã-do-Pará desejáveis para frutos por meio de marcadores RAPD.

2 - Material e Métodos

Foram coletados folíolos frescos de 29 genótipos de tucumã, selecionados no Banco de Germoplasma da Embrapa Amazônia Oriental como promissores para produção de frutos. O DNA foi extraído de 100 mg de folíolo, de acordo com o protocolo CTAB⁽³⁾, com modificações. A quantificação dos DNA's foi feita em gel de agarose a 1%, corado com brometo de etídio, pela comparação três concentrações do DNA do fago λ (50, 100 e 200 ng. μl^{-1}). Nas reações as amostras foram diluídas para a concentração de 10 ng. μl^{-1} .

A genotipagem foi realizada utilizando 24 *primers* RAPD da *Operon Technologies* (Invitrogen) selecionados por Oliveira *et al.* (2009). As reações foram preparadas em microtubos de 0,2 ml com volume final de 15 μl (35 ng de DNA genômico total; 1 nM de cada dNTP; 1,3 mM do *primer*; 10 mg. ml^{-1} de BSA; 1 unidade de Taq polimerase; e um tampão contendo MgCl_2 fornecido pela Invitrogen) e colocadas em amplificador *Amplitherm TX96* por 40 ciclos (5). Os produtos das reações foram aplicados em gel de agarose a 1% corado com brometo de etídio e separados por eletroforese horizontal. Os géis foram visualizados em transiluminador de luz UV e as imagens capturadas digitalmente.

Os padrões de bandas foram analisados de acordo com a presença (1) ou ausência (0). A matriz binária foi utilizada para a obtenção das estimativas de similaridade genética (*sg*) entre os pares dos genótipos, com base no coeficiente de Jaccard, no software NTSYS-pc 2.1. A

divergência genética entre os pares foi expressa em dissimilaridade obtidas do complemento da similaridade ($dg = 1 - sg$). A representação das dissimilaridades genéticas entre os genótipos foi organizada por dois métodos: a) pelo dendrograma gerado pelo método UPGMA, sendo o ponto de corte foi feito com base na dissimilaridade média (dg_m) e b) pelo método não hierárquico de otimização de Tocher.

3 - Resultados e Discussão

Os 24 *primers* aplicados nos 29 genótipos de tucumã geraram 332 bandas, com 98,5% delas polimórficas, com média de 13,63 bandas por *primer* (Tabela 1).

Tabela 1. Nível de polimorfismo para cada *primer* utilizado na análise de divergência genética dos 29 genótipos.

Primer	Bandas		Total
	Polimórficas	Monomórficas	
OPA-08	08	01	09
OPA-11	15	0	15
OPA-14	09	0	09
OPA-19	15	01	16
OPAB-01	18	0	18
OPAB-04	19	0	19
OPAB-08	19	0	19
OPAB-19	18	0	18
OPAB-20	15	0	15
OPAR-07	07	0	07
OPAZ-04	17	0	17
OPAZ-05	21	0	21
OPAZ-11	10	0	10
OPAZ-18	11	0	11
OPB-02	15	0	15
OPB-05	15	0	15
OPJ-13	12	0	12
OPN-20	15	0	15
OPO-03	13	0	13
OPO-12	10	02	12
OPU-05	09	0	09
OPU-06	17	0	17
OPU-10	11	0	11
OPU-17	08	0	08
Total	327	05	332

Os menores e os maiores números de bandas foram registrados nos *primers* OPAR-07 e OPAZ-05, com 07 e 21 bandas, respectivamente. Oliveira *et al.* (2007) encontraram menor número de produtos de amplificação, mas com alto polimorfismo em 116 acessos de açazeiro. Tais resultados indicam que os indivíduos apresentam alto grau de polimorfismo, o qual pode ser visualizado na Figura 1. O alto grau de polimorfismo pode ser reflexo de alogamia.

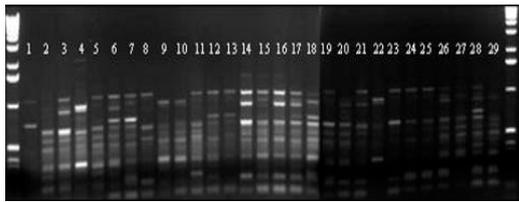


Figura 1. Polimorfismo gerado pelo *primer* OPAB-04 nos 29 genótipos de tucumã-do-Pará.

As dissimilaridades obtidas entre os genótipos variaram de 0,27 a 0,67, com média de 0,57. Estes resultados demonstram a possibilidade de ganho genético por meio de cruzamentos entre os genótipos analisados, uma vez que as dissimilaridades genéticas entre eles podem ser consideradas altas. O dendrograma gerado evidenciou a formação de aproximadamente 21 grupos dissimilares, com confiabilidade alta ($r=0,86$ e $P \leq 0,0001$), pelo teste de Mantel, o que demonstra alta divergência genética entre os genótipos. Resultados similares foram encontrados por Daher *et al.* (2002) quando analisaram a divergência genética entre genótipos de coqueiro. Com base no ponto de corte ($dg_m=0,52$) foram delimitados oito grupos, sendo que os genótipos 1, 4, 19 e 22 formaram grupos isolados, I, II, VII e VIII, respectivamente (Figura 2). Esses genótipos podem ser indicados como parentais em programa de hibridação dessa espécie que visem o aumento da produção de frutos.

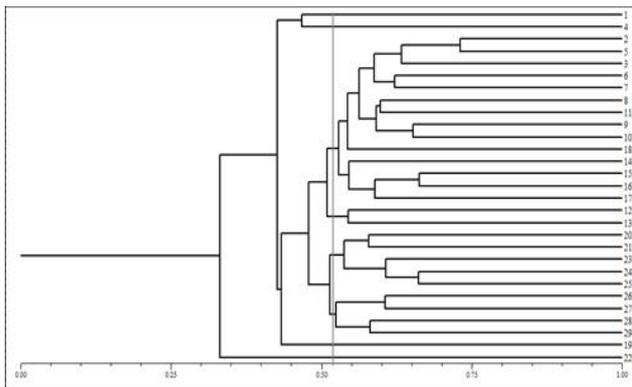


Figura 2. Dendrograma de dissimilaridade genética entre os 29 genótipos de tucumã-do-Pará gerado pelo método UPGMA, com base no coeficiente de Jaccard ($dg_m=0,52$).

Pelo método de Tocher foram formados quinze grupos, sendo quatorze deles constituídos por dois genótipos e o último por apenas um genótipo (Tabela 2). Os grupos formados pelo dendrograma gerado pelo método UPGMA foram bastante diferentes dos grupos formados pelo método de Tocher. Daher *et al.* (2002), utilizando esta mesma metodologia em coqueiro, encontraram resultados similares, onde apenas um dos grupos formados pelo agrupamento de Tocher foi coincidente com os grupos formados pela metodologia UPGMA.

Os genótipos de tucumã-do-Pará desejáveis para frutos expressam considerável divergência entre si, com quatro deles formando grupos isolados a 52% de dissimilaridade. Tais informações devem ser úteis na escolha de genitores em programas de melhoramento dessa palmeira que explorem a heterose.

Tabela 2. Grupos formados pelo método de otimização de Tocher, a partir das dissimilaridades genéticas obtidas entre os 29 genótipos de tucumã-do-Pará.

Grupos	Genótipos
1	1 e 2
2	3 e 5
3	4 e 6
4	7 e 9
5	8 e 10
6	11 e 13
7	12 e 14
8	15 e 17
9	16 e 18
10	19 e 21
11	20 e 22
12	23 e 25
13	24 e 26
14	27 e 29
15	28

4 - Agradecimentos

Aos auxiliares de campo da Embrapa Amazônia Oriental, pelo auxílio na coleta dos folíolos, e aos do laboratório de Genética Molecular dessa instituição, pela ajuda na realização das reações. Ao CNPq pela concessão de bolsa à primeira autora.

5 - Bibliografia

- ¹ Cruz, C.D.; Regazzi, A. J.; Carneiro, P. C. S. *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*. Viçosa: UFV, 2004. 480p.
- ² Daher, RF.; Pereira, M.G.; Tupinambá, E.A.; Júnior, A.T. A.; Aragão, W.M.; Ribeiro, F.E.; Oliveira, L. O.; Sakiyama, N. S. Assessment of coconut tree genetic divergence by compound sample RAPD marker analysis. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 2: 431-438, 2002.
- ³ Doyle, J.J.; Doyle, J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, St Paul, v.12, p.13-15, 1990.
- ⁴ Grattapaglia, D. *Aplicações operacionais de marcadores*. In: Biotecnologia florestal. Borém, A (ed.). Viçosa: (s.n.), 2007. p 175-200.
- ⁵ 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. *Ciência & agrotec*, 31: 1645-1653, nov./dez., 2007.
- ⁶ 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, ES. *Anais....* Vitória-ES: Incaper, 2009. v. 1. p. 1-4. CD-rom.
- ⁷ Villachica, H.; Carvalho, J. E. U.; Müller, C. H.; Díaz, S. C.; Almanza, M. *Frutales y hortalizas promisorios de la Amazonia*. p. 264-267. TCA-SPT, 44, Lima: FAO. 1996.