

*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. Pontes<sup>1</sup>, Elisa Ferreira Moura<sup>2</sup>, Josethe Therrier<sup>3</sup>, José Edmar Urano de Carvalho<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Bolsista Pibic CNPq Embrapa Amazônia Oriental, lilikbiologia@hotmail.com

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

<sup>3</sup> 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/ $\mu$ l no volume de 100 $\mu$ 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 $\mu$ 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.

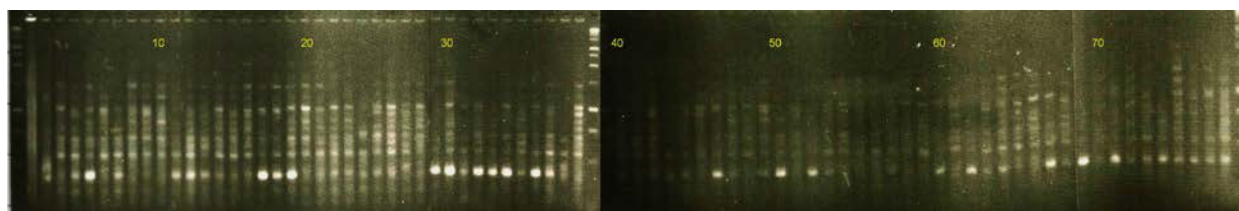


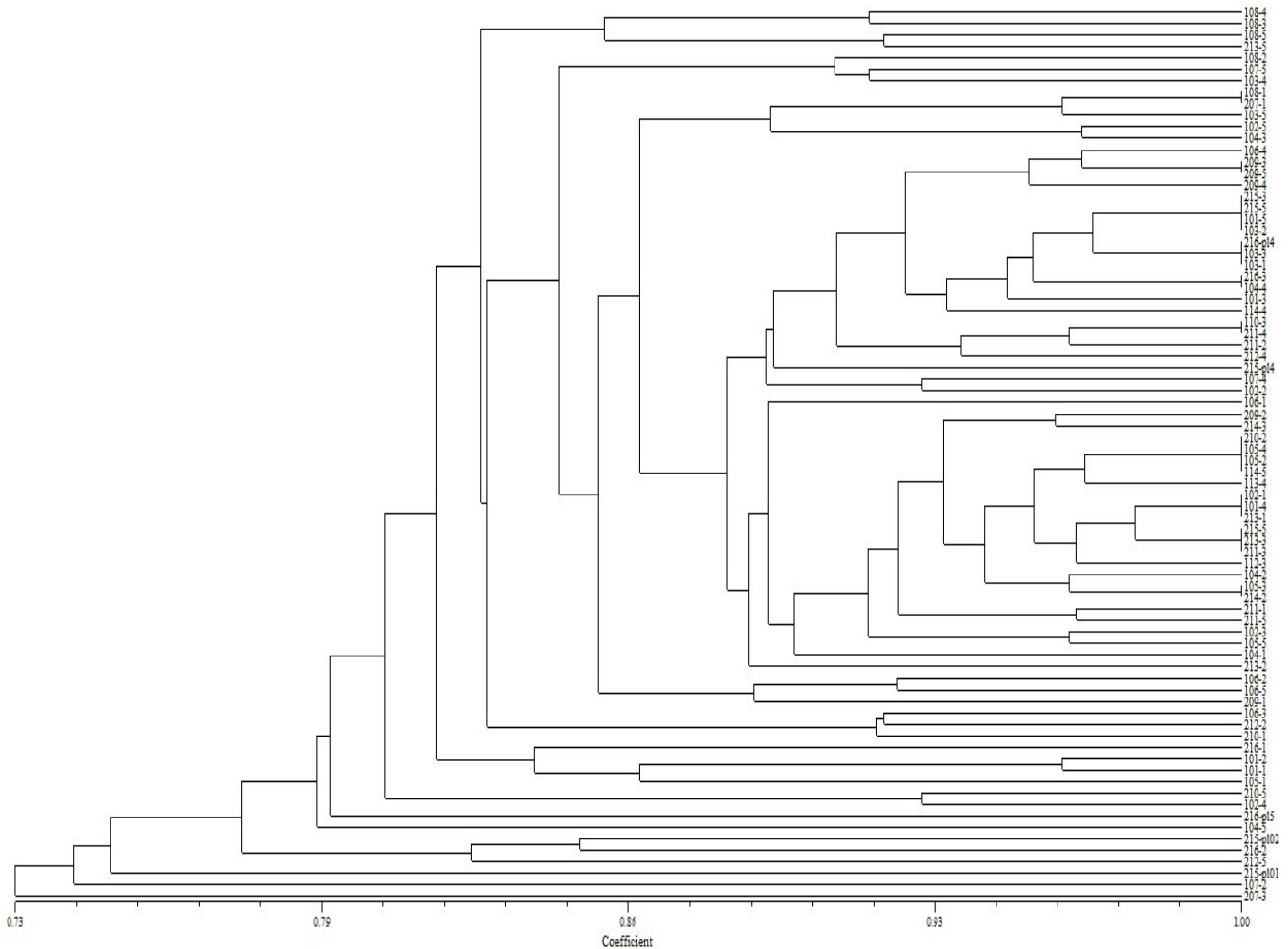
Figura 1. Amplificação do ISSR UBC856 em 78 amostras de bacurizeiro pertencentes ao BAG da Embrapa Amazônia Oriental evidenciando as bandas polimórficas.



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*.



**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.