



CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR PRELIMINAR EM ACESSOS DE BACABA-DE-AZEITE (*Oenocarpus distichus*)

Resumo: *Oenocarpus distichus* conhecida por bacaba-de-leque e bacaba-de-azeite é palmeira monocaule de porte arbóreo e com folhas dísticas, que se destaca por apresentar frutos com potencial sócio-econômico às populações amazônida, pela obtenção da bebida “bacaba” e do azeite similar ao de oliva. Mas, para que seja melhor utilizada, torna-se necessária a ampliação de estudos. Objetivou-se caracterizar preliminarmente por marcadores moleculares acessos dessa palmeira. Folíolos jovens foram coletados de dez acessos conservados no Banco de Germoplasma de bacabas da Embrapa Amazônia Oriental para a extração de DNA total. As reações PCR-RAPD foram feitas para 20 *primers* selecionados à espécie. Os dados foram organizados em matriz binária para estimar as similaridades genéticas e agrupadas em dendrograma pelo método UPGMA. Foram produzidas 177 bandas com alto polimorfismo, 81,3 %. As similaridades genéticas variaram de 0,44 a 0,73, com média de 0,60. O par de acessos 3 x 9, geograficamente mais distante, teve a menor magnitude, enquanto os pares 5 x 6, 6 x 7 e 7 x 10 oriundos de localidades próximas foram os mais similares. O dendrograma formou três grupos distintos. Portanto, os acessos de bacaba-de-azeite caracterizados possuem genomas próximos e estão agrupados preliminarmente em três grupos distintos, sendo a maioria de localidades separadas em curtas distâncias.

Palavras-chave: Bacaba-de-leque, Amazônia, germoplasma, variabilidade genética, polimorfismo.

Introdução

Dos patrimônios genéticos vegetais que vêm despertando a atenção da comunidade científica na Amazônia têm-se as palmeiras, podendo-se destacar a espécie *Oenocarpus distichus* Mart. conhecida por bacaba-de-leque e bacaba-de-azeite. Essa palmeira é monocaule, tem porte arbóreo e folhas dísticas (ROCHA & SILVA, 2005), se destacando por apresentar inegável potencial sócio-econômico de seus frutos às populações locais, seja para a obtenção da bebida bacaba ou do azeite similar ao de oliva. Mas, para que seja melhor utilizada, torna-se necessária a ampliação de estudos, dentre eles a quantificação da variabilidade genética em germoplasma disponível em bancos ativos.

A caracterização molecular é uma ferramenta útil na conservação *in situ* e *ex situ*, no manejo e uso de qualquer espécie por acessar informações no genoma dos indivíduos (GRATTAPAGLIA, 2007). É realizada com o auxílio de marcadores moleculares, sendo os do tipo RAPD vantajosos em estudos de similaridade genética entre espécies pouco conhecidas (GRATTAPAGLIA, 2007), como é



o caso da espécie em questão. Assim sendo, caracterizou-se preliminarmente acessos de bacaba-de-azeite utilizando marcadores RAPD.

Material e Métodos

Folíolos jovens foram coletados de dez acessos de bacaba-de-azeite conservados no Banco Ativo de Germoplasma, BAG – Bacabas, da Embrapa Amazônia Oriental, a maioria oriunda do Pará (Tabela 1). A extração de DNA foi feita com 100 mg de folíolo, de acordo com o protocolo CTAB com modificações (COSTA et al., 2002), no Laboratório de Genética molecular dessa instituição. A quantificação dos DNA foi efetuada na Universidade Federal do Pará – UFPA, em Nanodrop.

Tabela 1. Identificação dos dez acessos de *O. distichus* conservados no BAG da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA.

Acessos	Código no BAG	Procedência
1	11009	Abaetetuba – PA
2	11001	Barcarena – PA
3	11015	Caracaraí – RR
4	11016-4	Belém – PA
5	11009-3	Abaetetuba – PA
6	11002-4	Barcarena – PA
7	11008-2	Abaetetuba – PA
8	21001-2	Prainha – PA
9	11013	Abaetetuba – PA
10	11016	Belém – PA

Nas reações PCR foram utilizados 20 *primers* RAPD selecionados para a espécie, preparadas no volume final de 15 µl (35 ng de DNA genômico; 1 mM de cada um dos desoxirribonucleotídeos trifosfatos; 1,3 mM do *primer*; 10mg.ml⁻¹ de BSA; 1 unidade de enzima Taq polimerase e tampão de reação contendo MgCl₂ ambos da Invitrogen) e colocadas em termociclador Amplitherm TX96 da AXIGEN, programado para 40 ciclos (OLIVEIRA et al., 2007). Os produtos amplificados foram aplicados em gel de agarose a 1%, corados com brometo de etídio, e separados por eletroforese horizontal, conduzida em 110 V por 1:30 horas. Os perfis dos géis foram visualizados em transiluminador de luz UV e as imagens capturadas digitalmente.

Os produtos gerados foram organizados em matriz binária (1: presença e 0: ausência de bandas) para a obtenção das estimativas de similaridades genéticas pelo coeficiente de Jaccard, no software NTSYS-pc 2.1 (ROHLF, 2000). As similaridades foram agrupadas em dendrograma gerado pelo método UPGMA, no mesmo software.

Resultados e Discussão

Os 20 *primers* aplicados nos dez acessos produziram 177 bandas, sendo 33 monomórficas e 144 polimórficas, com média de 7,2 bandas polimórficas/*primer*, o que representa alto grau de

polimorfismo (81,3%). O maior número de bandas foi registrado no *primer* OPB-06 com 17 bandas, sendo que seis iniciadores (OPA-11, OPAB-04, OPAB-08, OPO-10, OPO-16 e OPS-10) apresentaram 100% de polimorfismo. Na Figura 1 há o exemplo do polimorfismo gerado pelo *primer* OPAB-08.

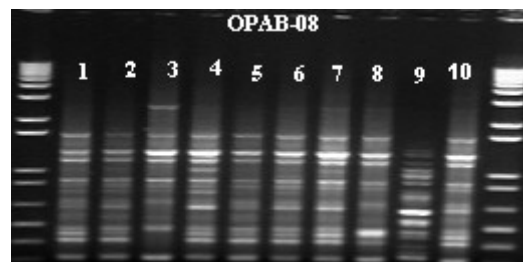


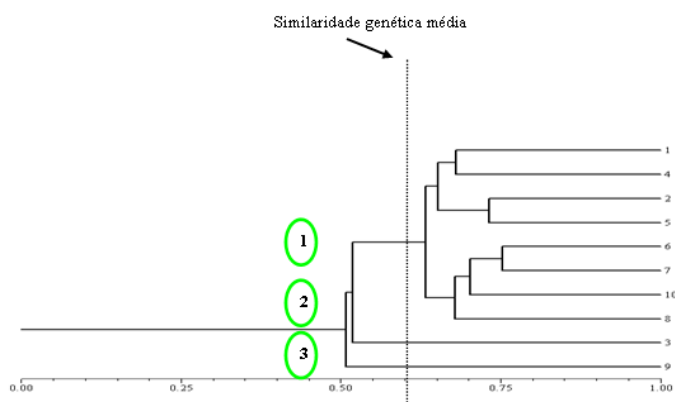
Figura 1. Perfil do gel de agarose com polimorfismo do *primer* OPAB-08 aplicado nos dez acessos de *O. distichus*.

As estimativas de similaridades variaram de 0,44 a 0,73 (Tabela 3), com média de 0,60. Os acessos 3 (Caracaraí- RR) e 9 (Abaetetuba- PA), cujas origens são mais distantes, foram os mais dissimilares. Enquanto os acessos 5 (Abaetetuba) x 6 (Barcarena); 6 x 7 (Abaetetuba - PA) e 7 x 10 (Belém-PA), geograficamente mais próximos, os mais similares. Tais resultados permitem afirmar que os dez acessos possuam genomas com similaridade de média magnitude.

Tabela 3. Matriz de similaridade genética estimada pelo coeficiente de jaccard entre os dez acessos de *O. distichus*.

Acessos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	-									
2	0.63	-								
3	0.56	0.51	-							
4	0.68	0.64	0.51	-						
5	0.63	0.73	0.50	0.71	-					
6	0.67	0.70	0.55	0.70	0.73	-				
7	0.67	0.66	0.55	0.66	0.67	0.73	-			
8	0.59	0.60	0.49	0.55	0.58	0.70	0.70	-		
9	0.52	0.53	0.44	0.49	0.54	0.54	0.57	0.45	-	
10	0.60	0.57	0.46	0.60	0.56	0.65	0.73	0.63	0.49	-

O dendrograma gerado formou três grupos com vários subgrupos: o grupo 1 por oito acessos (1, 4, 2, 5, 6, 7, 10 e 8); e os grupos 2 e 3 pelos acessos 9 e 3, respectivamente (Figura 2) com confiabilidade alta ($r=0.86164$).



EMBED Word.Picture.8

Figura 2. Dendrograma de similaridade genética entre os dez acessos de *O. distichus* obtido pelo método UPGMA, baseado no coeficiente de Jaccard ($sg_{ij}=0,60$).

Conclusão

os acessos de bacaba-de-azeite caracterizados possuem genomas próximos e estão agrupados preliminarmente em três grupos distintos, sendo a maioria de localidades separadas em curtas distâncias.

Agradecimentos

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

Referências Bibliográficas

- COSTA, M. R.; OLIVEIRA, M. do S. P de; MOURA, E. F. Variabilidade genética em açazeiro (*Euterpe oleracea* Mart.). **Biociência**, n. 21, p. 46-50, julho/agosto, 2001.
- GRATTAPAGLIA, D. **Aplicações operacionais de marcadores**. In: *Biociência florestal*. BORÉM, A (ed.). Viçosa: (s.n.), 2007. p. 175-200.
- OLIVEIRA, M. do S. P. de; AMORIM, E. P.; SANTOS, J. B. dos; FERREIRA, D. F. **Diversidade genética entre acessos de açazeiro baseada em marcadores RAPD**. *Ciência agrotécnica*, **31**: 1645-1653, nov./dez., 2007.
- ROCHA, A. E. A Importância das Palmeiras na Amazônia. Informativo do Museu Paraense Emílio Goeldi: **Destaque Amazônia**. Ano 25 N°41, Novembro de 2009.
- ROHLF, F. J. **Numerical taxonomy and multivariate analysis system**. New York: Exeter Software, 2000. 38 p. (Version 2.1).