

## **Diversidade genética em sacaca: agrupamento de plantas dos morfotipos vermelha e branca do Banco de Germoplasma de *Croton* da Embrapa Amazônia Ocidental**

Paula Cristina da Silva Angelo<sup>(1)</sup>, Francisco Célio Maia Chaves<sup>(1)</sup>, Humberto Ribeiro Bizzo<sup>(2)</sup>, José Jackson Bacelar Nunes Xavier<sup>(1)</sup>, Jeferson Chagas da Cruz<sup>(3)</sup>.

<sup>(1)</sup> Pesquisadores III, Embrapa Amazônia Ocidental, Rod. AM 010 – Km 29, Caixa Postal 319, Zona Rural, 69011-970 – Manaus/AM, e-mail: [paula@cpaa.embrapa.br](mailto:paula@cpaa.embrapa.br); <sup>(2)</sup> Pesquisador III, Embrapa Agroindústria de Alimentos, Av. das Américas, 29501, Guaratiba, 23020-070 – Rio de Janeiro/RJ; <sup>(3)</sup> Laboratorista, Embrapa Amazônia Ocidental

**Palavras-chave:** marcador molecular, RAPD, linalol, Amazônia.

### **Introdução**

O óleo essencial de sacaca (*Croton cajuçara* Benth.) é bastante rico em linalol, substância muito valorizada pela indústria de perfumes. A sacaca tem ainda propriedades medicinais. A análise química fina de extratos obtidos da casca desta planta (Lemos *et al.*, 1999) e a purificação de algumas das substâncias que o constituem têm servido para explicar e ratificar o que já era conhecido pela medicina popular, especialmente a existência da propriedade hipoglicemiante (Farias *et al.*, 1997). Propriedades inseticida e antimicrobiana também foram relatadas para esta espécie, que ocorre na Amazônia (Kubo *et al.*, 1991).

A partir de 1997, uma área da Sede da Embrapa Amazônia Ocidental foi destinada à manutenção de plantas de *Croton* spp., coletadas em quinze locais da Região Norte, com os objetivos de realizar o estudo de variabilidade entre elas, de conservar o germoplasma da espécie e de selecionar genótipos superiores para a produção de biomassa (folhas) e com maior potencial para a produção de óleos essenciais (Kalil Filho *et al.*, 1998). Existe, portanto, a necessidade de avançar no conhecimento sobre o gênero, de valorizar a coleção que já está estabelecida e de facilitar a sua utilização.

As plantas de *C. cajuçara* podem ser morfológicamente classificadas como brancas ou vermelhas, de acordo com a cor das folhas, especialmente folhas jovens nos galhos recém-desenvolvidos. O componente majoritário do óleo essencial destes dois morfotipos é o linalol e o hidróxi-calameneno, respectivamente, como demonstrado por experimentos de cromatografia a gás realizada na Embrapa Agroindústria de Alimentos (Chaves *et al.*, 2003). O objetivo deste trabalho foi avaliar a utilidade dos marcadores moleculares do tipo RAPD ("random amplified polymorphic DNA") para distinguir entre plantas que representam acessos de sacaca vermelha e plantas que representam acessos de sacaca branca do Banco de Germoplasma do Gênero *Croton* da Embrapa Amazônia Ocidental.

### **Material e Método**

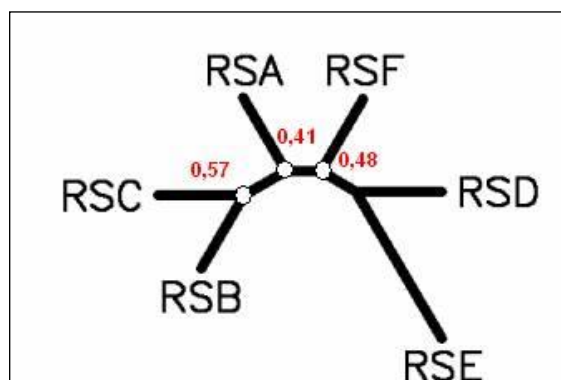
Material vegetal: folhas de plantas de sacaca vermelha e de sacaca branca foram tomadas de dois acessos do Banco Ativo de Germoplasma de *Croton*. O DNA foi extraído de folhas maceradas em nitrogênio líquido utilizando tampão com CTAB e quantificado por espectrofotometria. As reações de PCR (reações de polimerização em cadeia) continham 30 ng de DNA; 2,0 mM de MgCl<sub>2</sub>; 400 μM de dNTPs; 375 nM de "primer" decâmero; 1,5 unidade de Taq DNA polimerase e 0,1% de BSA (soroalbumina bovina), em 25 μL. Cinco "primers" decâmeros foram utilizados. O termociclador foi ajustado para ciclos de 94 °C por 5'; 25 x (94 °C por 30"; 33 °C por 45" e 72 °C por 45"); 72 °C por 7' e 4 °C por tempo indeterminado. A eletroforese foi realizada em géis de agarose a 1,2 % com 0,5 μg/ml de brometo de etídio em tampão TBE. Os géis foram fotografados utilizando câmera Kodak DC120 e gravados como arquivos com extensão .bip. A

rotina “find bands” do aplicativo “1D Image Analysis Software/Kodak” foi aplicada a cada gel, sem que o parâmetro “band width” fosse alterado. As marcações assim definidas foram ajustadas manualmente ao perfil do gel, para que cada banda ocupasse o centro do pico de detecção na região em ocorreu o pico de fluorescência do brometo de etídio na sua região de abrangência. As tabelas de dados binários foram construídas depois deste procedimento. Os dados binários foram submetidos a “bootstrapping” (42 rearranjos), utilizados para a geração e reamostragem de matrizes de diversidade (100 reposicionamentos por matriz de índices clássicos de diversidade de Nei para sítios de restrição de 10 bases), agrupados em gráfico gerado pelo consenso de cada um de 42 reposicionamentos, e representados graficamente utilizando os aplicativos PHYLIP versão 3.6 (Felsenstein, 2004).

## Resultado e Discussão

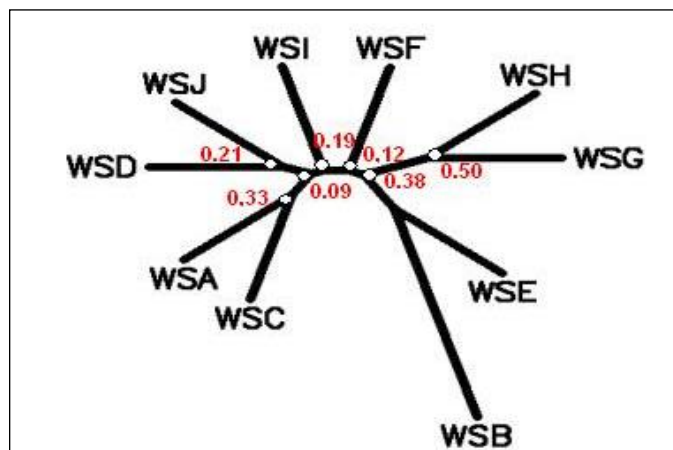
Os coeficientes de diversidade entre plantas de sacaca vermelha variaram de 0,14 a 0,25 e entre as plantas de sacaca do morfotipo branca variaram de 0,06 a 0,19, quando foram todas confrontadas. As estimativas do coeficiente de dissimilaridade entre sacacas brancas e vermelhas variaram de 0,13 a 0,30. Observou-se ainda que as plantas de sacaca vermelha foram agrupadas de maneira mais coerente com sua distribuição geográfica apesar da maior dispersão e que apresentaram-se bem definidos dois “clusters” compostos cada um por plantas de um dos morfotipos (Angelo *e. al.*, submetido).

No presente trabalho foram tratados separadamente os dados binários componentes dos padrões RAPD de sacacas brancas e de vermelhas. Observou-se que o agrupamento obtido para sacacas vermelhas tornou-se ainda mais claro e coerente com a origem das plantas (Figura 1). Plantas oriundas dos dois pontos de coleta em Santarém (RSB e RSC) formaram um “cluster” exclusivo e o mesmo se deu com as plantas oriundas de Rio Branco (RSD e RSE), com consistência muito próxima (0,57 e 0,48).



**Figura 1:** agrupamento de plantas de sacaca (*Croton cajucara* Benth.) vermelha dos acessos RSA (oriundo de Belterra/PA); RSB e RSC (oriundos de Santarém/PA); RSD e RSE (oriundos de Rio Branco/AC) e RSF (oriundo de Belém/PA) do Banco de Germoplasma do gênero *Croton* da Embrapa Amazônia Ocidental (Manaus, 2004).

Entre sacacas brancas (Figura 2), no entanto, o agrupamento não apresentou correlação tão clara com os pontos de coleta. É exemplo do que foi dito o agrupamento entre plantas oriundas de Belém/PA (WSJ) e de Manaus/AM, estando estas últimas dispersas por todo o gráfico (WSD a WSI).



**Figura 2:** agrupamento de plantas de sacaca (*Croton cajuçara* Benth.) branca dos acessos WSA (oriundo de Presidente Figueiredo/AM); WSB (oriundo de Iranduba/AM), WSC (Rio Preto da Eva/AM); WSD, WSE, WSF, WSG, WSH e WSI (oriundos de Manaus/AM) e WSJ (oriundo de Belém/PA) do Banco de Germoplasma do gênero *Croton* da Embrapa Amazônia Ocidental (Manaus, 2004).

Esta diferença pode ter resultado do fato de que o morfotipo branca é mais comumente utilizado como planta medicinal e, portanto, a distribuição geográfica das plantas estaria mais sujeita à influência antrópica. Esta possível influência pode ter sido reforçada por terem as coletas realizadas, em sua maioria, na área de influência da cidade de Manaus.

As plantas de sacaca vermelha não foram encontradas com frequência nas áreas de coleta de plantas do morfotipo branca talvez porque sejam menos utilizadas como planta medicinal. Existe ainda uma outra razão que poderia estar contribuindo para uma melhor resolução da relação entre plantas de sacaca vermelha: há maior amplitude dos índices de diversidade estimados entre elas e há um maior número de marcadores específicos para o morfotipo vermelha o que indica a possibilidade de estarem vinculados a pontos de coleta específicos e de terem influenciado significativamente a organização das plantas no gráfico.

## Referências Bibliográficas

- Angelo, P.C.S.; Chaves, F.C.M.; Bizzo, H.R.B., Xavier, J.J.B.N.; Cruz, J.C.; Lira, M.P. Genetic diversity in sacaca (*Croton cajuçara* Benth.) accessed by RAPD markers (submetido).
- Chaves, F.C. M.; Bizzo, H.R.; Angelo, P.C.S.; Xavier, J.J.B.N; Sá Sobrinho, A.F. 2003. Diferença na composição do óleo essencial de folhas de dois morfotipos de sacaca (*Croton cajuçara* Benth.). In: Simpósio Brasileiro de Óleos Essenciais, II, Campinas, Documentos do IAC - II Simpósio Brasileiro de Óleos Essenciais - Diagnóstico & Perspectivas. Campinas - São Paulo: Instituto Agrônomo de Campinas, v. 74, p.155.
- Farias, R.A.F.; Rao, V.S.N.; Viana, G.S.B.; Silveira, E.R.; Maciel, M.A.M.; Pinto, A.C. 1997. Hypoglycemic effect of trans-dehydrocrotonin a nor-clerodane diterpene from *Croton cajucara*. *Planta Medica*, 63(6): 558-60.
- Felsenstein, J. 2004. PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.6. *Distributed by the author. Department of Genome Sciences, University of Washington, Seattle.*
- Kalil Filho, A.N.; Luz, A.I.R.; Sá Sobrinho, A.F.; Wolter, E.L.A.; Pereira Jr., O.L. 1998. Conservação de germoplasma de sacaca (*Croton cajucara* Benth.), uma nova fonte de linalol para a Amazônia Ocidental. *Pesquisa em Andamento*, n. 39. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental. 3 p.
- Kubo, I.; Asaka, Y.; Shibata, K. 1991. Insect growth inhibitory nor-diterpenes, cis-dehydrocrotonin and trans-dehydrocrotonin, from *Croton cajucara*. *Phytochemistry*, 30(8): 2545-2546.