



## VARIABILIDADE GENÉTICA ENTRE POPULAÇÕES DE BACABA-DE-LEQUE (*Oenocarpus distichus* Mart.) DO PARÁ UTILIZANDO MARCADORES MICROSSATÉLITES

Vitória Catarina Cardoso Martins<sup>1</sup>, Maria do Socorro Padilha de Oliveira<sup>2</sup>, Elisa Ferreira Moura Cunha<sup>3</sup>, Leonária Silva Sousa<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Bolsista Embrapa Amazônia Oriental, Universidade do Estado do Pará –UEPA, Laboratório de Genética Vegetal, [vitória.catmartins@outlook.com](mailto:vitória.catmartins@outlook.com).

<sup>2,3</sup>Pesquisadora A Embrapa Amazônia Oriental, Laboratório de Genética Vegetal, [socorro-padilha.oliveira@embrapa.br](mailto:socorro-padilha.oliveira@embrapa.br).

<sup>4</sup>Técnica A Embrapa Amazônia Oriental, Laboratório de Genética Vegetal, [leonaria.sousa@embrapa.br](mailto:leonaria.sousa@embrapa.br).

**Resumo:** *Oenocarpus distichus* Mart. é uma espécie de bacaba cujos frutos proporcionam uma variedade de produtos à exemplo da polpa *in natura*, óleos e bebidas. Porém, há carência de informações sobre suas populações naturais em vários locais do Pará, tendo seus usos limitados e explorados tradicionalmente por comunidades rurais. O objetivo desse trabalho foi quantificar a variabilidade genética entre populações de *O. distichus* de diferentes locais do Pará por marcadores SSR. Foram utilizadas 160 amostras de DNA conservadas no BAG – DNA da Embrapa Amazônia Oriental, representantes de 16 matrizes de três locais, sendo 40 de Belém, 40 de Marabá e 80 de São João do Araguaia. As PCR-SSR foram feitas para oito locos de *O. bataua* transferíveis para a espécie alvo. Os produtos foram revelados em gel de poliacrilamida a 6% corado com nitrato de prata. O perfil dos géis obtidos foram utilizados para a contagem de alelos por loco e os dados obtidos foram analisados no programa GenAlex 6. As estimativas das heterozigosidades observada ( $H_o$ ) nas populações de Belém e São Joao do Araguaia foi menor que a esperada ( $H_e$ ) e o coeficiente de endogamia ( $f$ ) obteve valores positivos, indicando excesso de homozigotos e presença de endogamia. Mas, estimativas contrárias foram encontradas na população de Marabá. A frequência alélica apresentou alelos raros e nulos e a AMOVA revelou que a maior percentagem da variância está dentro dos locais (67%), sugerindo que a espécie tenha sistema de reprodução do tipo misto.

**Palavras-chave:** bacaba-de-leque, endogamia, palmeira, variação genética

### Introdução

*Oenocarpus distichus* Mart., é uma espécie nativa da Amazônia, conhecida por bacaba-de-leque. Tem porte arbóreo, sendo monocaule e que produz cachos grandes, bem pesados e com milhares de frutos de onde se extrai um refresco “bacaba”, de uso similar ao do açaí. Apesar da visibilidade social e econômica, a produção de frutos ainda provém de populações naturais, manejadas de forma extrativista, onde as plantas por serem altas, de estipes únicos e lisos, na ocasião da colheita



são derrubadas para que haja a coleta dos cachos, ocasionando prejuízos para a existência desta espécie.

Quantificar a variabilidade genética das populações dessa espécie de bacaba torna-se primordial para que inferências genéticas auxiliem em estudos e técnicas que contribuam para a sustentabilidade do manejo e o desenvolvimento dos frutos. Para o acesso a essas informações utilizam-se os marcadores moleculares, a exemplo dos microssatélites (SSR), indicados na descrição de padrões de distribuição da variabilidade em populações.

O objetivo do trabalho foi quantificar a variabilidade genética em populações de *O. distichus* de diferentes locais do estado do Pará por marcadores moleculares microssatélite.

### **Material e Métodos**

Foram usadas 160 amostras de DNA de *O. distichus* conservadas no BAG-DNA da Embrapa Amazônia Oriental. As amostras representam três populações do Pará sendo: 40 de Belém, 40 de Marabá e 80 de São João do Araguaia. Foram quantificadas em gel de agarose a 0,8%, utilizando três concentrações do fago DNA Lambda (50, 100 e 200 ng.µL<sup>-1</sup>) e lidas com o suporte do software LABimage, sendo diluídas para uma concentração de 10 ng µL<sup>-1</sup>.

Foram utilizados oito locos SSR desenvolvidos para *O. bataua* (MONTUFAR et al., 2007) e transferíveis para *O. distichus*. As PCR foram efetuadas para o volume de 15 µL e o programa de amplificação foi feito de acordo com Montufar et al. (2007). Os produtos das reações foram aplicados em gel de poliacrilamida a 6% corados com nitrato de prata.

Os produtos revelados nos perfis de gel de poliacrilamida foram escaneados, armazenados digitalmente para posterior contagem dos alelos por loco em planilha Excel e organizados para análise no programa GenAlex 6 (PEAKALL; SMOUSE, 2012).

### **Resultados e Discussão**

Nas três populações foram amplificados, em média, de 5 alelos (Ob15 e Ob17) a 10 alelos (Ob02), totalizando 54 alelos e 100% de polimorfismo. O menor número de alelos ocorreu nos indivíduos de Marabá (4,0 alelos) e o maior na população de São João do Araguaia (5,5 alelos). Lima (2014) relatou grande diversidade gênica para espécie nesses locais. O tamanho efetivo de alelos ( $N_e$ ) inferiu níveis significantes de heterozigosidade na população de São João do Araguaia (Tabela 1).

A média da heterozigosidade esperada ( $H_e$ ) foi maior que a da observada ( $H_o$ ) em Belém e São João Araguaia, com valores positivos de endogamia ( $f$ ) nas duas populações (Tabela 1), revelando excesso de homozigotos e endogamia. Os altos valores de  $f$  e as baixas  $H_o$  sugerem que essas populações estejam sob pressão de seleção. Já a população de Marabá obteve a média da



heterozigosidade observada ( $H_o$ ) maior que a esperada ( $H_e$ ) e valor negativo de endogamia ( $f$ ), mostrando excesso de heterozigotos e ausência de endogamia (Tabela 1). Os índices de Shannon ( $I$ ) foram altos, indicando maior diversidade genética na população de São João do Araguaia (Tabela 1).

Tabela 1- Estimativa da variabilidade genética em três populações de bacaba-de-leque (*O. distichus*) obtidas a partir de 8 locos de SSR.

Pop	N	Na	Ne	I	Ho	He	F
Belém	40	4,375 (0,498)	2,372 (0,247)	0,983 (0,095)	0,497 (0,054)	0,545 (0,048)	0,074 (0,074)
Marabá	40	4,0 (0,567)	2,668 (0,427)	1,006 (0,164)	0,555 (0,084)	0,547 (0,074)	- 0,081 (0,153)
S.J.A	80	5,50 (0,732)	2,917 (0,397)	1,191 (0,156)	0,428 (0,065)	0,603 (0,063)	0,282 (0,071)

N: número de indivíduos analisados por loco; Na: número médio de alelos por loco; Ne: tamanho efetivo de alelos; I: índice de Shannon; Ho: heterozigosidade observada; He: heterozigosidade esperada;  $f$ : coeficiente de endogamia; (): desvio padrão.

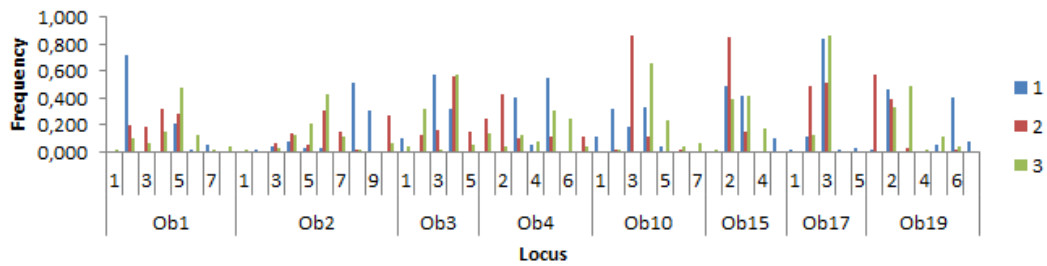
A análise de variância molecular (AMOVA) revelou que a maior parte da variação genética ficou dentro das populações, respondendo por 67%. Apenas 33% ficaram retidas entre os locais (Tabela 2), sugerindo que o sistema reprodutivo da espécie seja do tipo misto. Fato semelhante ao encontrado por Oliveira e Silva (2008) para *Euterpe Oleracea* Mart.

Classificando os alelos de acordo com suas frequências, na população de Belém foram detectados 10 alelos raros e 18 alelos nulos onde o alelo 3 do loco Ob17 apresentou maior frequência (Figura 1). A população de Marabá foi a que obteve menor número de alelos raros (5) e 22 alelos nulos, onde o alelo 3 do loco Ob10 apresentou a maior frequência. A população de São João de Araguaia foi a que obteve maior número de alelos raros (13), sendo detectado o menor número de alelos nulos (12), onde o alelo 3 do loco Ob17 apresentou a maior frequência (Figura 1).

Tabela 2- Análise da variância molecular (AMOVA) entre e dentro de duas populações de bacaba-de-leque (*O. distichus*) com base em oito loco SSR

Fonte de variação	GL	SQ	QM	CV	P%
Entre populações	2	277,538	138,769	2,666	33%
Dentro de populações	157	861,225	5,486	5,486	67%
Total	159	1138,763	144,255	8,151	100%

p-valor: 0,327 (Estimado com base em 999 permutações); Grau de Liberdade (GL), Soma dos Quadrados (SQ), Componente de Variância (CV) e Porcentagem (%);  $F_{ST} = 0.157$ .



**Figura 1:** Distribuição das frequências alélicas nas populações de Belém, Marabá e São Joao do Araguaia (*O. distichus*) utilizando oito locos SSR.

### Conclusão

As populações de *O. distichus* do Pará possuem maior variabilidade genética dentro delas, com a população de São João do Araguaia tendo alta heterozigosidade e maior frequência de alelos raros. Enquanto, a de Marabá tem alta heterozigosidade, excesso de heterozigotos e menos alelos raros.

### Referências Bibliográficas

- LIMA, P. P. de. **Caracterização da variabilidade genética, sistema de cruzamento e parâmetros de germinação e emergência de *Euterpe precatoria* Martius em populações do baixo rio Solimões.** 2014. 56 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus.
- MONTUFAR, R.; MARIAC, R.; PHAM, J.-L.; PINTAUD, J.-C. Isolation of 23 polymorphic microsatellite loci in the Neotropical palm *Oenocarpus bataua* Martius (Arecaceae). **Molecular Ecology Notes**, v. 7, n. 1, p. 75-78, 2007.
- OLIVEIRA, M. do S. P. de; SILVA, K. J. D. Diferenciação genética entre procedências de açaizeiro por marcadores RAPD e SSR. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 2, p. 438-443, jun. 2008.
- PEAKALL, R.; SMOUSE, P. E. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. **Bioinformatics**, v. 28, n. 19, p. 2537-2539, 2012.