



VARIABILIDADE GENÉTICA ENTRE POPULAÇÕES DE BACABA (*Oenocarpus bacaba* Mart.) DO PARÁ UTILIZANDO MARCADORES MICROSSATÉLITES

Vitória Catarina Cardoso Martins¹, Maria do Socorro Padilha de Oliveira², Elisa Ferreira Moura Cunha³, Leonária Silva Sousa⁴

¹Bolsista Embrapa Amazônia Oriental, Universidade do Estado do Pará –UEPA, Laboratório de Genética Vegetal, vitória.catmartins@outlook.com; ^{2,3}Pesquisadora A Embrapa Amazônia Oriental, Laboratório de Genética Vegetal, socorro-padilha.oliveira@embrapa.br; ⁴Técnica A Embrapa Amazônia Oriental, Laboratório de Genética Vegetal, leonaria.sousa@embrapa.br

Resumo:

Oenocarpus bacaba Mart. é uma espécie de bacaba cujos frutos estão presentes no mercado para a produção da polpa *in natura*, com poder energético e transformando-se em fontes de exploração comercial. Contudo, são poucas as informações sobre populações naturais de vários locais do Pará. O objetivo desse trabalho foi quantificar a variabilidade genética entre populações de *O. bacaba* 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 bacaba obtidas de dois locais, Terra Santa e Baião, sendo 80 amostras por local. As reações de PCR-SSR foram feitas para oito locos de *O. bataua* transferíveis para a espécie alvo. Os produtos das reações foram revelados em eletroforese vertical realizada 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. A estimativa de variabilidade demonstrou que a heterozigosidade observada (H_o) nas progênes dos dois locais foi menor que a esperada (H_e) e o coeficiente de endogamia (f) mostrou valores positivos, indicando excesso de homozigotos e presença de endogamia, como também a frequência alélica apresentou alelos raros e nulos. A análise da variância molecular (AMOVA) revelou que a maior percentagem da variância está dentro dos locais (80%), sugerindo que a espécie tenha sistema de reprodução do tipo misto.

Palavras-chave: Palmeira; Amazônia; Endogamia, frequência alélica.

Introdução

A região amazônica possui uma grande diversidade de palmeiras, com potencial de exploração e valor futuro inestimável, como é o caso de *Oenocarpus bacaba* Mart., uma palmeira de porte arbóreo e monocaule (RAMOS, 2014). Essa espécie fornece frutos ao mercado de polpa, denominado “bacaba”, sendo explorada pelo extrativismo praticado nas populações naturais existentes em vários locais de ocorrência da espécie. Nesses locais, pouco ou quase nada se sabe sobre os indivíduos representantes das espécies e que podem orientar no manejo adequado dessas populações.

A quantificação da variabilidade genética fornece informações que auxiliam no manejo dessas populações, impulsionando a conservação *in situ* e melhorando a produção de frutos. Para acessar essas



informações, seguramente marcadores moleculares codominantes e multialélicos, os microssatélites (SSR), são os mais indicados na descrição do mapeamento populacional.

Objetivou-se quantificar a variabilidade genética em populações de *O. bacaba* de diferentes locais do estado do Pará por marcadores moleculares microssatélite.

Material e Métodos

Foram utilizadas 160 amostras de DNA de *O. bacaba* conservadas no BAG –DNA da Embrapa Amazônia Oriental. As amostras foram quantificadas em agarose a 0,8%, utilizando três concentrações do fago DNA Lambda (50, 100 e 200 ng.µL⁻¹) e lidas como auxílio do software LABimage. Em seguida, foram diluídas para uma concentração de 10 ng µL⁻¹.

Na genotipagem, foram utilizados oito locos SSR desenvolvidos para *O. bataua* (MONTUFAR et al., 2007) e transferíveis para *O. bacaba* e que se mostraram polimórficos nas matrizes representantes dos locais. As reações de PCR foram preparadas para 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 das reações revelados nos perfis de gel de poliacrilamida foram escaneados, armazenados e organizados para análise no programa GenAlex 6 (PEAKALL; SMOUSE, 2012).

Resultados e Discussão

Os oito locos mostraram-se 100% polimórficos nas amostras avaliadas com a obtenção de 4 alelos (Ob15) a 10 alelos (Ob03) por loco, totalizando 59 alelos. O número médio de alelos por loco para cada local foi de 4,75 e 7,25 alelos para Baião e Terra Santa, respectivamente, indicando considerável diversidade gênica para espécie nesses locais, se comparada com outros estudos sobre populações de palmeiras. O tamanho efetivo de alelos (N_e) apresentou valores que inferem níveis consideráveis de heteroziguidade na população de Terra Santa (Tabela 1).

As heterozigosidades observadas (H_o) e esperada (H_e) para as populações dos dois locais exibiram valores elevados, sendo que a média da H_e apresenta valores superiores à média da H_o nas duas populações (Tabela1). Este resultado exerceu influencia no coeficiente de endogamia (f), sendo positivo, e indicando que as populações apresentam um excesso de homozigotos e de endogamia. Os altos valores de f e as baixas H_o sugerem que essas populações estão sob pressão de seleção negativa. No caso do índice de Shannon (I) os valores foram altos, sugerindo alta diversidade.

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



Pop	N	Na	Ne	I	Ho	He	F
Baião	80	4,750 (0,52)	2,941 (0,42)	1,151 (0,14)	0,452 (0,081)	0,596 (0,07)	0,209 (0,11)
Terra Santa	80	7,250 (0,59)	4,386 (0,43)	1,600 (0,089)	0,636 (0,038)	0,756 (0,023)	0,147 (0,072)

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

A análise da variância molecular (AMOVA) expressou que 80% da variação genética se encontra dentro das populações e 20% retida entre as populações (Tabela 2), permitindo sugerir que o sistema reprodutivo da espécie seja do tipo misto, pois houve maior diferenciação e variabilidade genética, como detectado por Ramos (2014) para *Astrocaryum aculeatum*, o tucumã-do-amazonas.

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

Fonte de variação	GL	SQ	QM	CV	P%
Entre populações	1	136,306	136,306	1,622	20%
Dentro de populações	158	1035,325	6,553	6,553	80%
Total	159	1171,631	142,859	8,175	100%

p-valor: 0,198 (Estimado com base em 999 permutações); Grau de Liberdade (GL), Soma dos Quadrados (SQ), Componente de Variância (CV) e Porcentagem (%); $F_{ST} = 0.077$.

Os alelos foram classificados de acordo com suas frequências, na população de Baião, sendo detectados 8 alelos raros e 21 alelos nulos, onde o alelo 2 do loco Ob17 apresentou maior frequência (Figura 1). Na população de Terra Santa, foram obtidos 12 alelos raros e 6 alelos nulos, onde o alelo 4 do loco Ob4 apresentou a maior frequência.

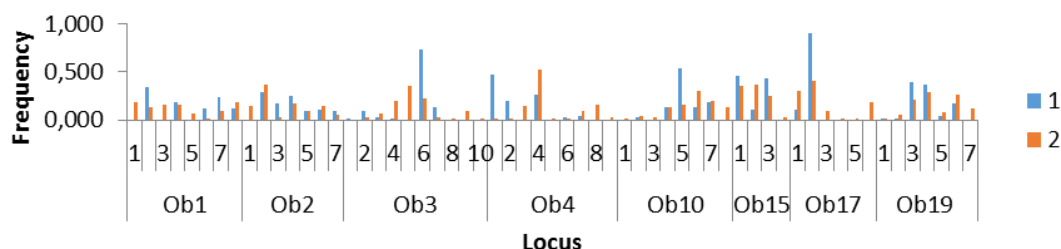


Figura 1: Distribuição das frequências alélicas nas populações de Baião e Terra Santa de bacaba (*O. bacaba*) utilizando oito locos SSR.

Conclusão



As populações de *O. bacaba* existentes no Pará quando acessadas por marcadores SSR apresentam maior variabilidade genética dentro delas, com altos índices de diversidade genética e frequência de alelos raros.

Referências Bibliográficas

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.

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.

RAMOS, S. L. F. **Estrutura genética e fluxo gênico em populações naturais de tucumã-do-Amazônas por meio de microssatélites visando o manejo e conservação da espécie**. 2011. 120 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, São Paulo.