

## 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

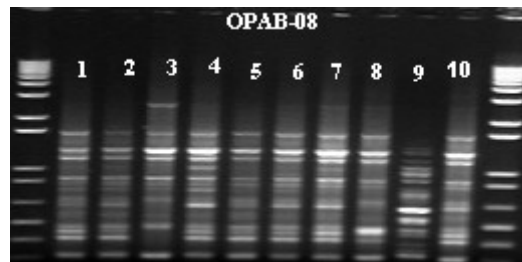
Nas reações PCR foram utilizados 20 *primers* RAPD selecionados para a espécie, preparadas no volume final de 15  $\mu$ l (35 ng de DNA genômico; 1 mM de cada um dos desoxirribonucleotídeos trifosfatos; 1,3 mM do *primer*; 10mg.ml<sup>-1</sup> de BSA; 1 unidade de enzima Taq polimerase e tampão de reação contendo MgCl<sub>2</sub> 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.



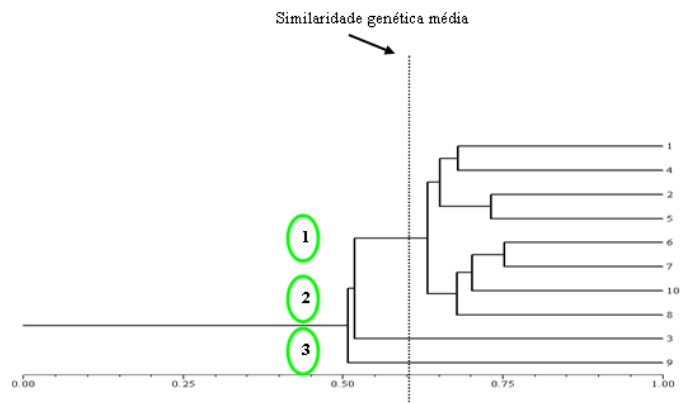
**Figura 1.** Perfil do gel de agarose com polimorfismo do *primer* OPAB-08 aplicado nos dez acessos de *O. distichus*.

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	<b>0.73</b>	-				
7	0.67	0.66	0.55	0.66	0.67	<b>0.73</b>	-			
8	0.59	0.60	0.49	0.55	0.58	0.70	0.70	-		
9	0.52	0.53	<b>0.44</b>	0.49	0.54	0.54	0.57	0.45	-	
10	0.60	0.57	0.46	0.60	0.56	0.65	<b>0.73</b>	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).