



## VARIABILIDADE GENÉTICA ENTRE GENÓTIPOS DE BACABINHA (*Oenocarpus minor*) POR MARCADORES RAPD

**Resumo:** *Oenocarpus minor* é uma palmeira perene conhecida popularmente por bacabinha e considerada de grande potencial socioeconômico na região amazônica, onde é utilizada para obtenção de alimentos (polpa e palmito), matéria prima para artesanatos e construção de casas. O presente trabalho teve por objetivo quantificar a variabilidade genética entre genótipos de bacabinha utilizando marcadores RAPD. Folíolos de folhas jovens foram coletados de dez genótipos de diferentes procedências conservados no Banco de Germoplasma de bacabas da Embrapa Amazônia Oriental para a extração de DNA total. A genotipagem foi realizada por PCR-RAPD utilizando 20 *primers* selecionados para a espécie. A matriz binária obtida foi utilizada para estimar as similaridades genéticas, as quais foram agrupadas em dendrograma gerado pelo método UPGMA. Foram amplificados 222 marcadores com alto polimorfismo, 94,1%. As similaridades genéticas variaram de 0,21 a 0,63, com média de 0,36, ocorrendo as menores magnitudes entre dois pares 9 x 2 e 9 x 5 de diferentes procedências. O dendrograma permitiu a formação de três grupos distintos, demonstrando considerável variabilidade entre os genótipos avaliados. Tais resultados permitem concluir que os genótipos de bacabinha avaliados apresentam alto polimorfismo, expressando considerável variabilidade genética, embora 50% deles sejam da mesma procedência, com a formação de grupos distintos a partir de 36% de similaridade.

**Palavras-chave:** Palmeiras, Amazônia, similaridade genética, polimorfismo.

### Introdução

A espécie *Oenocarpus minor*, conhecida popularmente como bacabinha é uma palmeira perene de grande ocorrência e potencial socioeconômico para a Amazônia. Esta palmeira apresenta porte médio com estipe de aproximadamente 8 m de altura e cerca de 7 cm de diâmetro, sendo frequentemente encontrada com caules múltiplos (MENEZES, 2000). Assim como as demais palmeiras, a bacabinha também desempenha diversas funções, tais como, alimentícia, artesanal e matéria prima para construção de moradias (ROCHA, 2009). Mas, são seus frutos utilizados na produção da bebida “bacaba”, tão apreciada quanto à do açazeiro (*Euterpe oleracea*), que apresentam o maior potencial, sendo considerada como substituta do açaí na entressafra. Apesar de sua importância essa palmeira tem sido pouco estudada. Para promover seu uso adequado, torna-se necessária a realização de estudos que viabilizem sua conservação e melhoramento, como a quantificação da variabilidade genética.

Inúmeras técnicas moleculares estão disponíveis para a detecção de polimorfismo e avaliação da variabilidade genética ao nível de DNA, dentre elas tem-se a PCR que utiliza primers aleatórios ou específicos na amplificação de marcadores moleculares (FERREIRA & GRATTAPAGLIA, 1998), sendo utilizados com



sucesso na obtenção e compreensão de informações genéticas de várias espécies (GRATTAPAGLIA, 2007), pois não são influenciados pelo ambiente e expressam alto grau de polimorfismo (WILLIAMS et al., 1990). Marcadores RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*), são vantajosos por que além de serem pouco onerosos, geram alto grau de polimorfismo e podem ser utilizados em qualquer espécie, principalmente naquelas pouco conhecidas.

O presente trabalho teve por objetivo quantificar a variabilidade genética entre genótipos de bacabinha utilizando marcadores RAPD.

### Material e Métodos

Folíolos de folhas jovens foram coletados em dez genótipos de bacabinha de diferentes procedências e conservados no Banco Ativo de Germoplasma de Bacabas, BAG – Bacabas, da Embrapa Amazônia Oriental (Tabela 1). A extração de DNA foi efetuada em 100 mg de folíolo, de acordo com o protocolo CTAB com modificações e utilizado no Laboratório de Genética molecular dessa instituição (COSTA et al., 2002). A quantificação do DNA existente nas amostras foi realizada na Universidade Federal do Pará – UFPA, em Nanodrop.

**Tabela 3.** Identificação dos dez genótipos de *O. minor* conservados no BAG Bacaba/Patauá da Embrapa Amazônia Oriental, Belém, PA.

Genótipo	Código BAG	Procedência
1	31018	Terra Santa – PA
2	71001	Stº. Antº. do Tauá – PA
3	71002	Stº. Antº. do Tauá – PA
4	51006	Cametá – PA
5	51020	Igarapé Miri – PA
6	31026	Terra Santa – PA
7	31002	Oriximiná – PA
8	31028	Terra Santa – PA
9	31014	Terra Santa – PA
10	31020	Terra Santa – PA

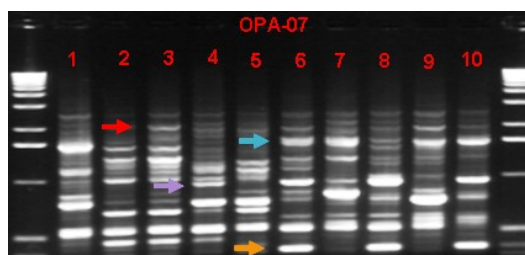
Nas reações PCR-RAPD foram utilizados 20 *primers* selecionados para a espécie. As reações foram preparadas no volume final de 15 µl (35 ng de DNA genômico; 1 mM de cada um dos desoxirribonucleotídeos trifosfatos; 1,3 mM do *primer*; 10mg.ml<sup>-1</sup> de BSA; 1 unidade de enzima Taq polimerase e tampão de reação contendo MgCl<sub>2</sub> ambos da Invitrogen) e colocadas em termociclador Amplitherm TX96 da AXIGEN, programado para 40 ciclos, segundo 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 uma hora e 30 minutos. Os perfis dos géis foram visualizados em transiluminador de luz UV e as imagens capturadas digitalmente.

Com os produtos gerados foi construída uma matriz binária (1: presença e 0: ausência de bandas), a qual

foi utilizada na obtenção das estimativas de similaridade genética com o uso do coeficiente de Jaccard, no software NTSYS-pc 2.1 (ROHLF, 2000). As similaridades foram agrupadas em dendrograma gerado pelo método UPGMA, no procedimento SAHN do mesmo software.

### Resultados e Discussão

Os 20 *primers* RAPD produziram 222 marcadores, sendo 13 monomórficos e 209 (94,1%) polimórficos, apresentando uma média de 10,45 marcadores por *primer* (Tabela 2). O maior número de bandas foi registrado no *primer* OPA-07 com 20 bandas, sendo todas polimórficas e o menor foi encontrado nos *primers* OPAB-15 e OPAB-18, em que ambos apresentaram apenas quatro bandas, sendo três polimórficas. Na Figura 1, consta um exemplo do polimorfismo detectado nas amostras avaliadas com o *primer* OPA-07. Vale ressaltar que onze *primers* (OPA-07, OPA-11, OPA-16, OPA-18, OPA-19, OPAB-04, OPJ-03, OPJ-12, OPO-05, OPS-10 e OPO-10) exibiram 100% de polimorfismo. Loo *et al.* (1999), analisando populações da palmeira não-domesticada *Licuala glabra* com base em marcadores RAPD, obtiveram média de 10,8 fragmentos polimórficos por *primer*, semelhante ao encontrado no trabalho em foco. Esses resultados permitem inferir que os genótipos de bacabinha apresentam uma tendência em gerar alto polimorfismo, o que é comum em espécie alógama e que apresenta alta variabilidade genética.



**Figura 1.** Perfil de gel de agarose com polimorfismo detectado nos dez genótipos de *O. minor* pelo *primer* OPA-07.

As similaridades genéticas obtidas entre os 45 pares formados pelos dez genótipos de *O. minor* apresentaram amplitude de variação de 0,21 a 0,63, com média de 0,36 (Tabela 3). A maior similaridade foi registrada entre os genótipos 8 e 9, ambos de Terra Santa, enquanto as menores ocorreram entre os genótipos 9 e 2 e os genótipos 9 e 5, de diferentes procedências.

Pela análise de agrupamento foram formados dois grupos com vários subgrupos (Figura 2). Porém, considerando o ponto de corte feito pela similaridade genética média (0,36), observa-se a separação em três grupos distintos: o 1 formado por seis genótipos (1, 6, 7, 8, 9 e 10), sendo cinco de Terra Santa e um de Oriximiná, municípios próximos; o 2 constituído por dois genótipos da mesma procedência (2 e 3), e o 3 por dois genótipos (4 e 5) mas, de diferentes procedências. A partir de 65% de similaridade, cada genótipo forma um grupo isolado. Resultados similares foram obtidos por Costa *et al* (2001) ao avaliarem dez genótipos de *E.*



*oleracea* por marcadores RAPD, com similaridades de 0,19 a 0,64.

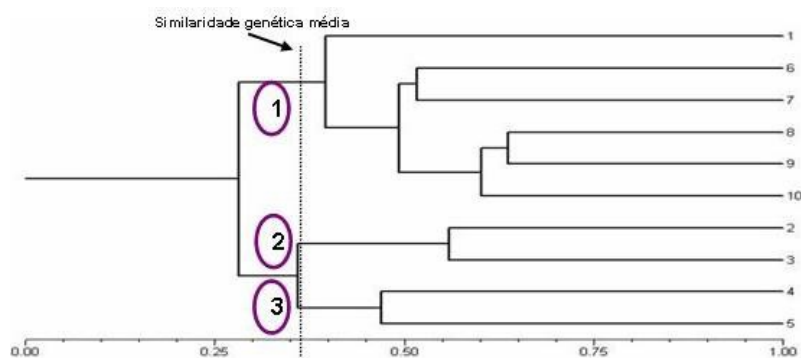
**Tabela 2.** Nível de polimorfismo gerado nos 20 *primers* utilizados na genotipagem dos 10 genótipos de *O. minor*.

Primer	Polimórficas	Monomórficas	Total
OPA-07	20	0	20
OPA-09	7	2	9
OPA-11	14	0	14
OPA-16	19	0	19
OPA-17	13	1	14
OPA-18	13	0	13
OPA-19	4	0	4
OPAB-04	17	0	17
OPAB-08	9	3	12
OPAB-15	3	1	4
OPAB-18	3	1	4
OPB-06	9	1	10
OPB-07	8	2	10
OPJ-03	10	0	10
OPJ-12	4	0	4
OPO-05	12	0	12
OPO-09	14	1	15
OPO-10	13	0	13
OPO-16	10	1	11
OPS-10	7	0	7
<b>Total</b>	<b>209</b>	<b>13</b>	<b>222</b>

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

Genótipo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	1.00									
2	0.27	1.00								
3	0.36	0.55	1.00							
4	0.36	0.35	0.38	1.00						
5	0.21	0.33	0.37	0.47	1.00					
6	0.45	0.24	0.32	0.35	0.27	1.00				
7	0.37	0.24	0.29	0.31	0.27	0.51	1.00			
8	0.35	0.24	0.28	0.32	0.25	0.54	0.47	1.00		
9	0.40	<b>0.21</b>	0.26	0.28	<b>0.21</b>	0.50	0.53	<b>0.63</b>	1.00	
10	0.38	0.24	0.26	0.34	0.26	0.45	0.45	0.58	0.61	1.00

Com base no exposto, mesmo sendo 50% dos genótipos da mesma procedência, pode-se considerar que os dez genótipos de bacabinha contenham significativa variabilidade genética.



**Figura 2.** Dendrograma gerado a partir das similaridades genéticas nos dez genótipos de bacabinha (*O. minor*) pelos 222 marcadores RAPD.

### Conclusão

Os genótipos de bacabinha possuem considerável variabilidade genética e formam três grupos distintos a partir de 36 % de similaridade genética.

### 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.). **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, n. 21, p. 46-50, julho/agosto, 2001.
- FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. Brasília, DF: Embrapa/CENARGEN, 1998. 220p.
- GRATTAPAGLIA, D. **Aplicações operacionais de marcadores**. In: *Biotecnologia florestal*. BORÉM, A (ed.). Viçosa: (s.n.), 2007. p. 175-200.
- LOO, A.H.B.; TAN, H.T.M.; KUMAR, P.P.; SAW, G.L. Population analysis of *Licuala glaba* Griff. Var. *Glaba* (Palmae) using RAPD profiling. **Annals of Botany**, v. 84, p. 421-427, 1999.
- ROCHA, A. E. A Importância das Palmeiras na Amazônia. Informativo do Museu Paraense Emílio Goeldi: **Destaque Amazônia**. Ano 25 N°41, Novembro de 2009.