



70 Congresso
Brasileiro de
Melhoramento
de Plantas

05 a 08 de agosto de 2013
Center Convention - UBERLÂNDIA - MG

Variedade Melhorada:
A força da nossa agricultura



ANAIS

Análise Genética entre Acessos de *Oenocarpus mapora* (Arecaceae) de Hábito Cespitoso e Solitário

Lígia Cristine Gonçalves Pontes¹, Elisa Ferreira Moura², Maria do Socorro Padilha de Oliveira³, Leonária Silva Souza⁴

Resumo

A bacaby ou *Oenocarpus mapora* é uma palmeira considerada potencial para a domesticação devido às suas características comerciais de seu fruto e palmito. A espécie tem hábito predominantemente cespitoso, mas palmeiras de hábito solitário já foram descritas. O banco de germoplasma (BAG) do complexo *Oenocarpus/Jessenia* da Embrapa Amazônia Oriental possui em seu acervo uma amostra de materiais do tipo solitário de *O. mapora* coletados no noroeste paraense. Para verificar a diversidade genética desse grupo no BAG e sua proximidade genética com materiais de hábito cespitoso, foram utilizados 18 indivíduos do tipo solitário para serem comparados com 13 indivíduos do tipo cespitoso coletados em Itacoatiara (AM) e oito coletados em Parintins (AM), por meio de genotipagem com cinco locos microssatélites. A análise descritiva mostrou que há variabilidade genética dentro do grupo do tipo solitário, com $H_E = 0,79$, variação que foi maior que a dos grupos de hábito cespitoso. A análise com AMOVA demonstrou grande diferenciação entre os grupos, com 32,35% de variação genética entre grupos. A distância genética par a par com base em F_{ST} mostrou que houve diferença significativa entre os grupos, e que o grupo do tipo solitário teve mais proximidade genética com um dos grupos do tipo cespitoso, do que entre os grupos do tipo cespitoso, indicando que o material pode ser utilizado em programas de melhoramento.

Introdução

O gênero *Oenocarpus*, família Arecaceae ou família das palmeiras, possui muitas características notáveis. Suas espécies produzem frutos cuja polpa é apreciada para produção de vinho e podem gerar óleo semelhante ao azeite de oliva. Cinco espécies de *Oenocarpus* ocorrem na Amazônia e entre essas, *O. mapora* se destaca pelo uso de seu palmito e de seu fruto (Balick 1986). Essa palmeira é bastante explorada pelas populações que convivem próximo, porém seu mercado ainda é local. Apesar de a espécie apresentar geralmente hábito cespitoso, Balick (1986) cita que a espécie pode também apresentar hábito solitário. Entre 1984 a 1992, a Embrapa realizou coletas de espécies do gênero *Oenocarpus* na Amazônia brasileira para estabelecer um banco de germoplasma desse gênero, incluindo a espécie *O. mapora*. Acessos coletados no Acre, Amazonas e Pará possuíam hábito cespitoso, porém foram coletados acessos na região noroeste do Pará que possuíam hábito solitário. Esses materiais foram classificados como *O. minor*, que segundo alguns autores não possui característica qualitativa que a distinga de *O. mapora* (Bernal et al. 1991) e por isso ela é considerada uma forma reduzida da espécie. Estudos de caracterização molecular podem auxiliar na classificação de espécies e na determinação de grupos. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi comparar acessos de *O. mapora* de hábito cespitoso e de hábito solitário por meio de marcadores de DNA microssatélites.

Material e Métodos

Foram selecionados acessos de *O. mapora* pertencentes ao banco de germoplasma do complexo *Oenocarpus/Jessenia* da Embrapa Amazônia Oriental. Foram selecionados indivíduos de *O. mapora* de hábito cespitoso provenientes de dois locais do Amazonas: Itacoatiara, com 13 indivíduos e Parintins, com oito. 18 indivíduos de hábito solitário coletados em Oriximiná e Terra Santa no Pará foram amostrados e compuseram o grupo do tipo solitário. O DNA total foi extraído de acordo com procedimento de Doyle &

1 ¹ Graduanda em Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará, bolsista PIBIC/CNPq/Embrapa. E-mail: lilikbiologia@hotmail.com

2 ² Pesquisadora A da Embrapa Amazônia Oriental – CPATU. E-mail: elisa.moura@embrapa.br

3 ³ Pesquisadora A da Embrapa Amazônia Oriental – CPATU. E-mail: socorro-padilha.oliveira@embrapa.br

4 ⁴ Técnica B da Embrapa Amazônia Oriental – CPATU. E-mail: leonaria.souza@embrapa.br

Doyle (1990). As amostras de DNA foram ressuspensas em tampão TE (10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH 8.0) e RNase. O DNA foi quantificado em gel de agarose 1% comparando com DNA do fago lambda em diferentes concentrações (50, 100 e 200 ng.ml⁻¹) e depois foi diluído para 10ng.ml⁻¹.

Foram usados cinco *primers* microssatélites: AG5-5#12, desenvolvido por Lepsch-Cunha et al. (2003), e Ob03, Ob07, Ob15 e Ob17, por Montufar et al. (2007). As reações de PCR foram preparadas para volume final de 20 ml, contendo 30 ng de DNA genômico, 50 µM de cada desoxirribonucleotídeo trifosfatado (dATP, dCTP, dGTP e dTTP), 0,1 µM de cada par de *primer* (*forward* e *reverse*), 10 mg.ml⁻¹ de BSA (albumina bovina sérica), 0,6 unidades de *Taq* DNA polimerase e tampão de reação contendo MgCl₂ (1 mM) fornecido pelo fabricante. O programa do termociclador foi de acordo com Montufar et al. (2007) com diferentes temperaturas de anelamento, variando de 56 to 59°C. Os produtos de amplificação foram separados em eletroforese vertical com gel de poliacrilamida a 6%. Os géis foram visualmente interpretados e cada *primers* representou um loco e cada banda com diferente padrão de migração representou um alelo.

Foram estimados os parâmetros de diversidade para cada grupo: número total de alelos, locos polimórficos, média de alelos por loco, heterozigosidades observada e esperada pelo programa GENEPOP (Raymond e Rousset 1995; Rousset 2008). O coeficiente de endogamia F_{IS} de Wright e as distâncias genéticas entre cada par de grupos baseado em F_{ST} foram realizados no programa ARLEQUIN (Excoffier, Laval e Schneider 2005). A significância das distâncias genéticas foi testada pela permutação dos indivíduos entre os grupos. Foi verificada a partição da variação genética total entre e dentro de grupos foi detectada pelo teste AMOVA (Excoffier, Smouse e Quattro 1992) no programa ARLEQUIN.

Resultados e Discussão

Foi detectada variabilidade genética nos três grupos analisados, sendo dois de *O. mapora* do tipo cespitoso e um com indivíduos de tipo solitário (Tabela 1). Os materiais do tipo cespitoso foram selecionados pela proximidade geográfica do local de coleta com a origem dos materiais do tipo solitário, que foram coletados em Terra Santa e Oriximiná, no noroeste do Pará. O grupo de materiais do tipo solitário apresentou maior diversidade genética ($H_E = 0,79$), o que pode ser explicado pelo fato desse grupo ser composto por maior número de acessos ou plantas que deram origem às sementes. Os indivíduos que compõem os grupos do tipo cespitoso foram coletados de menor número de plantas ou acessos.

A AMOVA detectou grande diferenciação entre os grupos (Tabela 2), com $\Phi_{ST} = 0,32^{**}$, porém com maior porção genética dentro do que entre os grupos, o que é comum para uma espécie alogama como é *O. mapora*. Estudo com marcadores RAPD também detectou diferenciação entre populações de *O. mapora*, todas de hábito cespitoso, porém em menor escala (Moura e Oliveira 2012).

Tabela 1 Estimativas de parâmetros genéticos populacionais de três grupos de *Oenocarpus mapora* obtidas com a genotipagem por meio de cinco locos microssatélites.

Grupos	Local de Coleta	Número de indivíduos	<i>P</i>	Total de alelos	<i>A</i>	H_o	H_E	F_{IS}
Cespitoso 1	Itacotiara,AM	13	60%	14	2,8	0,75	0,60	-0,27
Cespitoso 2	Parintins,AM	8	100%	9	3,0	0,37	0,51	0,28
Solitário	Terra Santa e Oriximiná,PA*	18	100%	45	9,0	0,57	0,79	0,29

P: porcentagem de locos polimórficos; *A*: média de alelos por loco; H_o : heterozigosidade observada; H_E : heterozigosidade esperada; F_{IS} : coeficiente de endogamia.

Os valores de distância genética baseados na estatística F_{ST} par a par entre os grupos apontou que houve menor diferença entre um grupo do tipo cespitoso com o solitário (Tabela 3) do que entre os dois grupos de hábito cespitoso. O grupo cespitoso 1 é composto de materiais coletados em Itacotiara (AM), que geograficamente é mais próximo do local em que foram coletados os materiais do tipo solitário, em Terra Santa e Oriximiná no Pará, do que os materiais do grupo Cespitoso 2. Isso indica que a distância geográfica entre os materiais pode ter sido mais determinante para a distância genética do que o hábito de crescimento.

Tabela 2 Análise de variância molecular (AMOVA) para verificar a partição de variação genética entre e dentro de três grupos de *Oenocarpus mapora*, sendo dois grupos de hábito cespitoso e um grupo de hábito solitário.

Fonte de variação	G.L.	S.Q.	Componentes de variância	Porcentagem de variação
Entre grupos	2	40,54	0,76	32,35%
Dentro de grupos	75	118,60	1,58	67,65%
Total	77	159,14	2,34	

Tabela 3 Matriz de distâncias genéticas par a par baseada na estatística F_{ST} de Wright entre os três grupos de *Oenocarpus mapora* a partir da genotipagem com cinco locos microssatélites.

Grupo	Cespitoso 1	Cespitoso 2	Solitário
Cespitoso 1	0,00	-	-
Cespitoso 2	0,47**	0,00	-
Solitário	0,22**	0,36**	0,00

**distância genética significativa a 1% de probabilidade

Os resultados indicam que os indivíduos de hábito solitário coletados no noroeste paraense e classificados como *Oenocarpus mapora* possuem proximidade genética com os materiais de hábito cespitoso, podendo ser aproveitados no programa de melhoramento genético da espécie, caso haja interesse em introduzir essa característica a materiais comerciais. Os resultados também podem ser auxiliares na reclassificação desse material específico da espécie pertencente ao BAG da Embrapa, caso haja necessidade.

Agradecimentos

Os autores agradecem à FAPESPA pelo financiamento do trabalho realizado e ao CNPq pela concessão de bolsa de iniciação científica à segunda autora.

Referências

- Doyle JJ e Doyle JL (1990) Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, 12: 13-15.
- Balick MJ (1986). **Advances in Economic Botany, v.3: Systematics and Economic Botany of the Oenocarpus-Jessenia (Palmae) Complex**. Allen Press, Lawrence.
- Bernal RG, Galeano G e Henderson A (1991). Notes on *Oenocarpus* (Palmae) in the Colombian Amazon. **Brittonia** 43: 154-164.
- Excoffier, Laval LG, Schneider S (2005) Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. **Evolutionary Bioinformatics Online** 1:47-50.
- Excoffier L, Smouse PE e Quattro JM (1992). Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. **Genetics** 131: 479-491.
- Lepsch-Cunha N, Lund C A, Hamilton MB (2003) Isolation and characterization of nuclear microsatellite loci in the tropical arboreal palm *Oenocarpus bacaba* (Arecaceae). **Molecular Ecology Notes** 3: 435-437.
- Montufar R, Mariac C, Pham L, Pintaud JC (2007) Isolation of 23 polymorphic micrsatellite loci in the Neotropical palm *Oenocarpus bataua* Martius (Arecaceae). **Molecular Ecology Notes** 7: 75-78.
- Moura EF e Oliveira MSP (2012) Genetic diversity in a germplasm bank of *Oenocarpus mapora* (Arecaceae).

ceae). **Genetics and Molecular Research** 11: 4008-4018.

Raymond M., Rousset F (1995) GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. **Journal of Heredity**, 86:248-249

Rousset F (2008) Genepop'007: a complete reimplementation of the Genepop software for Windows and Linux. **Molecular Ecology Resources** 8: 103-106.