

VARIABILIDADE GENÉTICA DE UMA COLEÇÃO DE TRABALHO DE GUANDU (*Cajanus cajan*) COM BASE EM MARCADORES MOLECULARES

Fábio Gelape Faleiro^{1*}, Francisco Duarte Fernandes¹, Renato Fernando Amabile¹, Allan Kardec Braga Ramos¹, Cláudio Takao Karia¹, Graciele Bellon¹, Ferdinando Barbosa¹, Ronaldo Pereira Andrade¹, Rodolfo Godoy²

¹Embrapa Cerrados, CP 08223, 73310-970 Planaltina-DF; ²Embrapa Pecuária Sudeste
*e-mail: ffaleiro@cpac.embrapa.br



INTRODUÇÃO

O guandu (*Cajanus cajan*) é uma leguminosa tropical arbustiva, muito versátil, com usos múltiplos e muito promissora para a composição de pastagens, principalmente como fonte proteica na suplementação dos animais durante o período seco (Lourenço et al., 1994; Favoretto et al., 1995). Apesar do potencial, seu uso na alimentação animal ainda é bastante restrito. Tal restrição ocorre porque os cultivares existentes foram desenvolvidos para uso como plantas anuais na adubação verde, não apresentando muitas características desejáveis de plantas forrageiras (Godoy et al., 1994).

Considerando o potencial do guandu como leguminosa forrageira, a Embrapa Pecuária Sudeste e Embrapa Cerrados têm caracterizado coleções e selecionado acessos com características agrônomicas desejáveis como a alta produção e qualidade de forragem e baixo teor de taninos. Os acessos selecionados estão sendo avaliados por uma rede de instituições visando a recomendação regionalizada dos melhores acessos e o estudo da interação genótipo x ambiente. O objetivo principal dos Ensaio em Rede é selecionar acessos de guandu com alto desempenho agrônomico e adaptativo e caracterizar o germoplasma para utilização em futuros programas de seleção e melhoramento genético.

OBJETIVO

Avaliar a variabilidade genética e complementar as avaliações agrônomicas da coleção de trabalho composta por 18 acessos de guandu, utilizando marcadores moleculares RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*).

MATERIAL E MÉTODOS

Os materiais genéticos analisados no presente trabalho foram 18 acessos de guandu, sendo três cultivares (Fava Larga, Anão e Caqui) e 11 acessos pré-selecionados com base em características morfológicas e desempenho agrônomico na Embrapa Pecuária Sudeste e quatro na Embrapa Cerrados (Tabela 1). A Figura 1 ilustra alguns desses acessos de guandu.

Folhas de cada acesso foram coletadas e o DNA genômico extraído e amplificado para obtenção de marcadores RAPD. A extração foi feita utilizando o método do CTAB, com algumas modificações (Faleiro et al., 2003). As reações de amplificação foram feitas em um volume total de 13 µL, contendo Tris-HCl 10 mM (pH 8,3), KCl 50 mM, MgCl₂ 3 mM, 100 µM de cada um dos desoxiribonucleotídeos (dATP, dTTP, dGTP e dCTP), 0,4 µM de um primer (Operon Technologies Inc., Alameda, CA, EUA), uma unidade da enzima *Taq* polimerase e, aproximadamente, 15 ng de DNA. Para obtenção dos marcadores RAPD foram utilizados 18 primers decâmeros: OPD (4, 7, 8, 16), OPE (11, 18, 20), OPF (4, 5, 10, 12, 14), OPG (4, 8, 9, 13, 17), OPH (12). Após a amplificação, foram adicionados, a cada amostra, 3 µL de uma mistura de azul de bromofenol (0,25%) e glicerol (60%) em água. A eletroforese foi feita em gel de agarose (1,2%), corado com brometo de etídio, submerso em tampão TBE (Tris-Borato 90 mM, EDTA 1 mM). Essas amostras foram aplicadas em gel de agarose (1,2%), corado com brometo de etídio, submerso em tampão TBE (Tris-Borato 90 mM, EDTA 1 mM). A separação eletroforética foi de, aproximadamente, quatro horas, a 90 volts. Ao término da corrida, os géis foram fotografados sob luz ultravioleta.

Os marcadores RAPD gerados foram convertidos em uma matriz de dados binários, a partir da qual foram estimadas as distâncias genéticas entre os diferentes acessos, com base no complemento do coeficiente de similaridade de Nei & Li. A matriz de distâncias genéticas foi utilizada para realizar a análise de agrupamento por métodos hierárquicos, utilizando-se o método do UPGMA como critério de agrupamento.



Figura 1. Aspecto fenotípico de alguns acessos de guandu analisados neste trabalho: Anão (A), Caqui (B), Fava Larga (C), g149-99 (D), g186-99 (E), g138-99 (F), g108-99 (G), g57-95 (H) e g54-escuro (I).

RESULTADOS

Os 18 primers decâmeros geraram um total de 156 marcadores RAPD, perfazendo uma média de 8,7 marcadores por primer. Dos 156 marcadores, apenas 44 (28,2%) foram polimórficos. Esta porcentagem de marcadores polimórficos é bem menor que as verificadas em coleções de trabalho de outras espécies de forrageiras avaliadas na Embrapa Cerrados como *Stylosanthes guianensis* (89,3%), *Panicum maximum* (84,8%), *Penisetum purpureum* (66,7%) e *Arachis pintoi* (47,8%). A baixa média de marcadores por primer e porcentagem de marcadores polimórficos evidenciam uma baixa variabilidade genética da coleção de trabalho analisada. Esta baixa variabilidade pode ser devida ao estreitamento da base genética da coleção de trabalho devido à pré-seleção dos acessos com base em características agrônomicas, principalmente relacionadas à produção de matéria seca.

As distâncias genéticas entre os 18 acessos de guandu variaram entre 0,004 e 0,076 com média de apenas 0,042 (Tabela 1). Esta distância média entre os acessos é bem menor que as verificadas em coleções de trabalho de *Stylosanthes guianensis* (0,332), *Panicum maximum* (0,283), *Penisetum purpureum* (0,139) e *Arachis pintoi* (0,111). As maiores distâncias genéticas foram obtidas entre os acessos Anão e g108-99 (0,076) e entre os acessos g54-escuro e g109-99 (0,074). Chama a atenção a pequena distância genética entre os acessos Fava Larga e Caqui (0,013). O acesso que apresentou maior média de distâncias genéticas dentro da coleção de trabalho foi o Anão.

A análise de agrupamento realizada com base nas distâncias genéticas evidencia o estreitamento da base genética da coleção de trabalho analisada (Figura 2). A Figura 3 ilustra tal estreitamento em relação a outras coleções de trabalho avaliadas na Embrapa Cerrados. Agrupamentos de acessos muito próximos geneticamente foram formados, como aqueles ilustrados em chaves na Figura 2. Os acessos pré-selecionados na Embrapa Cerrados ficaram todos no mesmo grupo. Com base em tais agrupamentos, a coleção de 18 acessos poderia ser reduzida para 8 acessos sem uma perda significativa da variabilidade genética.

Tabela 1. Matriz de distâncias genéticas entre os 18 acessos de guandu, calculadas com base no complemento do coeficiente de similaridade de Nei & Li, utilizando 156 marcadores RAPD.

Acesso	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	
1 - g186-99	0,000																		
2 - g108-99	0,007	0,000																	
3 - g109-99	0,010	0,012	0,000																
4 - g138-99	0,013	0,015	0,011	0,000															
5 - g149-99	0,015	0,018	0,014	0,010	0,000														
6 - g186-99	0,018	0,022	0,018	0,014	0,010	0,000													
7 - g108-99	0,022	0,028	0,024	0,020	0,016	0,012	0,000												
8 - g109-99	0,025	0,030	0,026	0,022	0,018	0,014	0,010	0,000											
9 - g138-99	0,028	0,034	0,030	0,026	0,022	0,018	0,014	0,010	0,000										
10 - g149-99	0,030	0,036	0,032	0,028	0,024	0,020	0,016	0,012	0,008	0,000									
11 - Anão	0,034	0,040	0,036	0,032	0,028	0,024	0,020	0,016	0,012	0,008	0,000								
12 - g186-99	0,036	0,042	0,038	0,034	0,030	0,026	0,022	0,018	0,014	0,010	0,006	0,000							
13 - g108-99	0,038	0,044	0,040	0,036	0,032	0,028	0,024	0,020	0,016	0,012	0,008	0,004	0,000						
14 - g109-99	0,040	0,046	0,042	0,038	0,034	0,030	0,026	0,022	0,018	0,014	0,010	0,006	0,002	0,000					
15 - Fava Larga	0,042	0,048	0,044	0,040	0,036	0,032	0,028	0,024	0,020	0,016	0,012	0,008	0,004	0,000	0,000				
16 - Caqui	0,044	0,050	0,046	0,042	0,038	0,034	0,030	0,026	0,022	0,018	0,014	0,010	0,006	0,002	0,000	0,000			
17 - Anão	0,046	0,052	0,048	0,044	0,040	0,036	0,032	0,028	0,024	0,020	0,016	0,012	0,008	0,004	0,000	0,000	0,000		
18 - Caqui	0,048	0,054	0,050	0,046	0,042	0,038	0,034	0,030	0,026	0,022	0,018	0,014	0,010	0,006	0,002	0,000	0,000	0,000	0,000

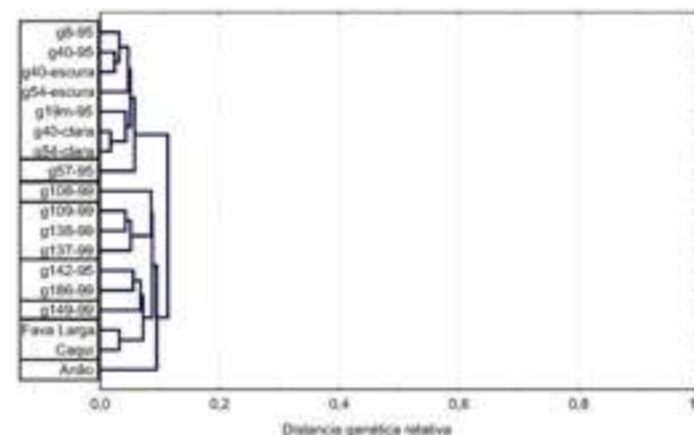


Figura 2. Análise de agrupamento de três materiais genéticos de soja com base na matriz de distâncias genéticas calculadas usando 158 marcadores RAPD. O método do UPGMA foi utilizado como critério de agrupamento.

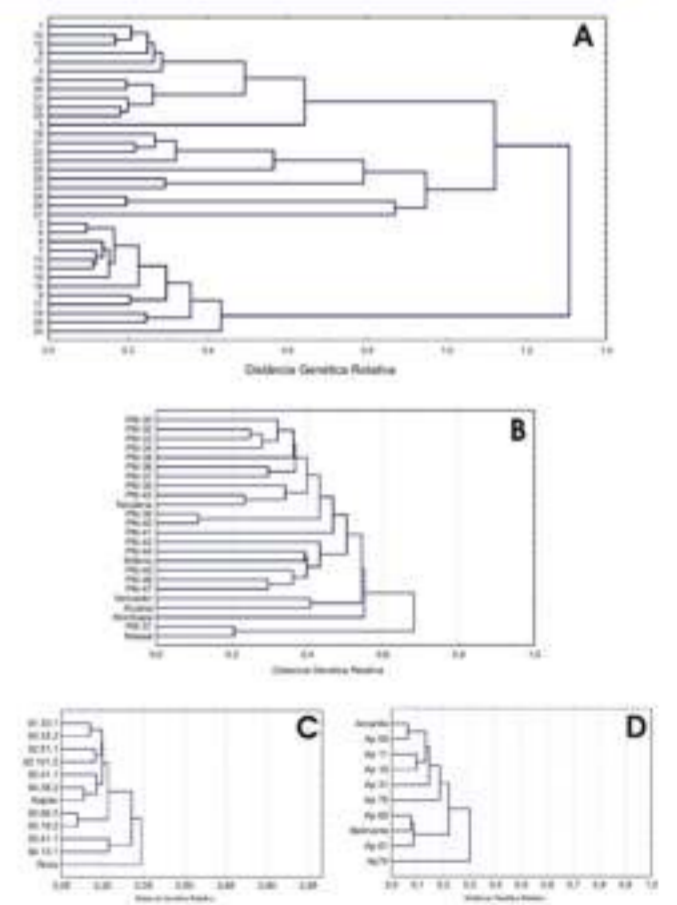


Figura 3. Análise de agrupamento de coleções de trabalhos de *Stylosanthes guianensis* (A), *Panicum maximum* (B), *Penisetum purpureum* (C) e *Arachis pintoi* (D) avaliadas na Embrapa Cerrados com base em matrizes de distâncias genéticas calculadas usando marcadores RAPD. O método do UPGMA foi utilizado como critério de agrupamento.

CONCLUSÕES

Os marcadores moleculares demonstraram uma baixa variabilidade genética da coleção de trabalho de guandu e a presença de acessos muito próximos geneticamente. Os resultados obtidos evidenciaram a necessidade de ampliar a base genética da coleção de trabalho para aumentar a chance de sucesso na seleção e no melhoramento genético.

LITERATURA CITADA

FALERO, F.G.; FALERO, A.S.G.; CORDEIRO, M.C.R. et al. Metodologia para operacionalizar a extração de DNA de espécies nativas do cerrado. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2003a. (Comunicado Técnico No. 92) 6p.
FAVORETTO, V.; PAULA, G.H.; MALHEROS, E.B. et al. Produção e qualidade da forragem aproveitável de cultivares de guandu durante o período seco. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 30, p. 1009-1015, 1995.
GODOY, R.; BATISTA, L.A.R.; NEGREIROS, G.F. Avaliação agrônomico de guandu forrageiro (*Cajanus cajan* L.) Millsp. Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia, v. 23, p. 730-742, 1995.
LOURENÇO, A.J.; MATSUS, E.; DELISTOIANOV, J. Composição botânica da forragem disponível e da selecionada por bovinos em pastos de capim colorado consorciado com centroseima e, ou, galactea com ou sem acesso a banco de proteína de guandu. Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia, v. 23, p. 100-109, 1994.