

VARIABILIDADE GENÉTICA DE *Mahanarva spectabilis* (Distant, 1909), COLETADAS EM DIFERENTES LOCAIS E HOSPEDEIROS, COM BASE EM MARCADORES MOLECULARES RAPD



Fábio Gelape Faleiro^{1*}, Silvana Vieira de Paula-Moraes¹, Keize Pereira Junqueira¹, Graciele Bellon¹, Allan Kardec Braga Ramos¹, Marina de Fátima Vilela¹, Gervásio Silva Carvalho², Alexander Machado Auad³, Sayuri Takada¹

Cerrados

¹Embrapa Cerrados, CP 08223, 73310-970 Planaltina-DF; ²PUCRS, Porto Alegre-RS; ³Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora-MG; *e-mail: ffaleiro@cpac.embrapa.br

INTRODUÇÃO

Levantamentos recentes sobre ocorrência, mapeamento e estudos taxonômicos identificaram *Mahanarva spectabilis* (Distant, 1909) como uma espécie impactante em pastagens no Centro Norte do Brasil. Estudos sobre a variabilidade genética desta espécie, embora de grande importância, ainda são incipientes. O uso de marcadores moleculares é uma interessante ferramenta para estudos de variabilidade genética por meio da análise direta do DNA.

OBJETIVO

Analisar a variabilidade genética de espécimes de *M. spectabilis* coletados em diferentes locais e diferentes hospedeiros com base em marcadores moleculares do tipo RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*).

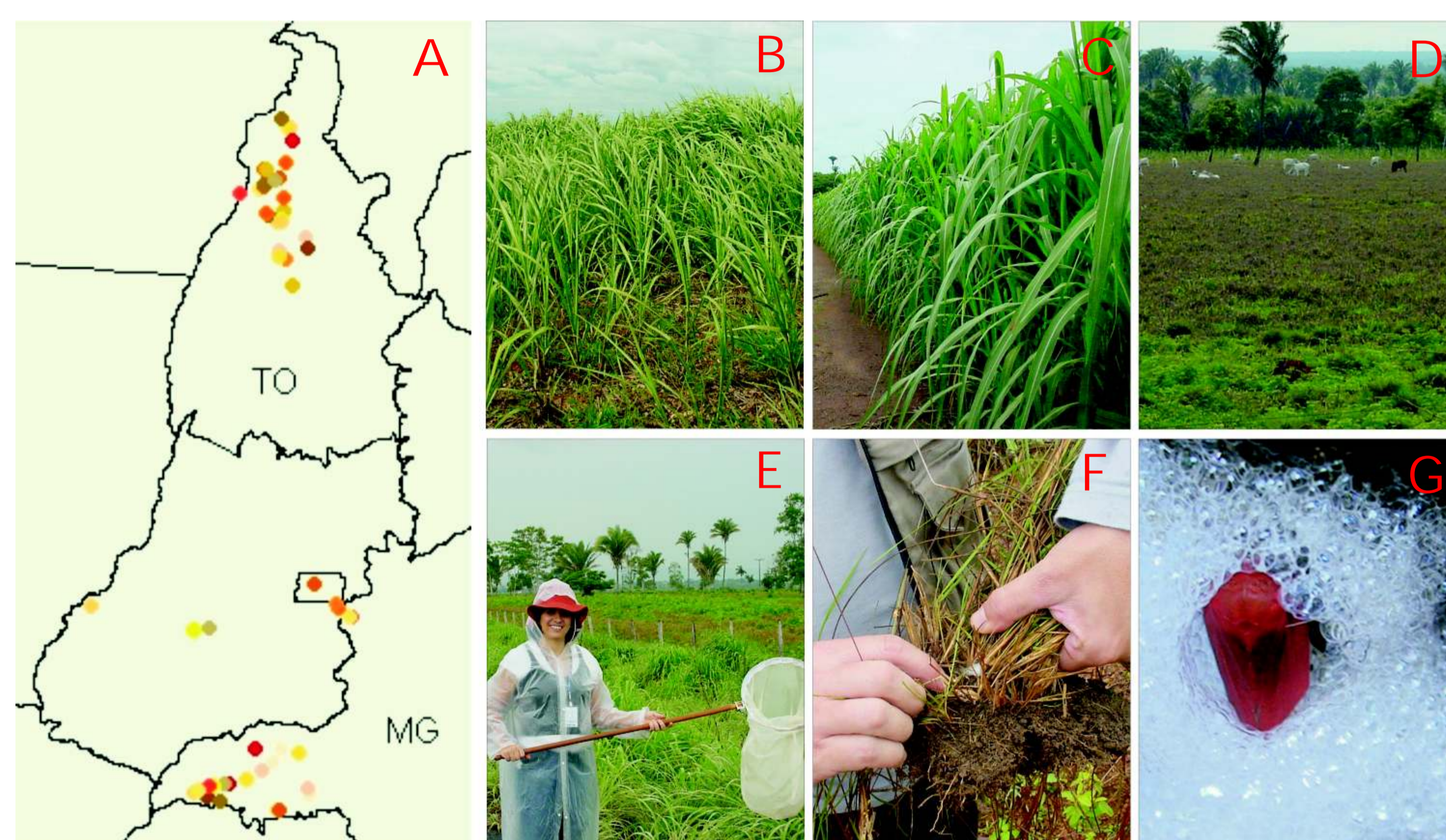


Figura 1. Pontos de coleta (A), plantas hospedeiras (B-D) e metodologia de coleta (E-G) de *Mahanarva spectabilis*.

RESULTADOS

Foram obtidos 82 marcadores, sendo que apenas 12,2% dos mesmos foram monomórficos. As distâncias genéticas entre os espécimes variaram entre 0,108 e 0,627 (Tabela 2). A menor distância genética foi obtida entre os espécimes P17-TO e P22-TO, ambos coletados em Tocantins e em pastagem de *Brachiaria brizantha* cv. Marandú. O baixo número de marcadores monomórficos e as altas distâncias genéticas evidenciam a alta variabilidade genética dos espécimes analisados. O espécime que mais diferiu dos demais foi o P41-TO, coletado em Tocantins em cana-de-acúcar (Figura 2).

Tabela 2. Matriz de distâncias entre 11 espécimes de cigarrinha das pastagens, baseada em 82 marcadores RAPD. Os números (1 a 11) correspondem aos espécimes da Tabela 1.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	0,000	0,121	0,259	0,294	0,259	0,288	0,281	0,364	0,365	0,373	0,474
2	0,121	0,000	0,280	0,200	0,221	0,299	0,259	0,395	0,373	0,463	0,487
3	0,259	0,280	0,000	0,233	0,273	0,258	0,262	0,355	0,423	0,472	0,719
4	0,294	0,200	0,233	0,000	0,108	0,179	0,244	0,462	0,493	0,415	0,595
5	0,259	0,221	0,273	0,108	0,000	0,194	0,224	0,365	0,385	0,509	0,529
6	0,288	0,299	0,258	0,179	0,194	0,000	0,200	0,455	0,474	0,418	0,552
7	0,281	0,259	0,262	0,244	0,224	0,200	0,000	0,408	0,429	0,410	0,594
8	0,364	0,395	0,355	0,462	0,365	0,455	0,408	0,000	0,111	0,627	0,446
9	0,365	0,373	0,423	0,493	0,385	0,474	0,429	0,111	0,000	0,600	0,379
10	0,373	0,463	0,472	0,415	0,509	0,418	0,410	0,627	0,600	0,000	0,759
11	0,474	0,487	0,719	0,595	0,529	0,552	0,594	0,446	0,379	0,759	0,000

CONCLUSÕES

Os resultados evidenciaram a variabilidade genética de *M. spectabilis*, havendo uma tendência de agrupamento de espécimes oriundos de regiões geograficamente mais próximas e ou do mesmo hospedeiro.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisados 10 espécimes de *M. spectabilis* coletados em Tocantins (7), Minas Gerais (2) e Distrito Federal (1) a partir dos hospedeiros *Brachiaria brizantha* cv. Marandú (6), *Cynodon* sp (1), capim-elefante (2) e cana-de-acúcar (1). Um espécime de *Deois* sp. foi utilizado como *outgroup*. (Tabela 1).

O DNA genômico de cada espécime foi extraído e 9 *primers* decâmeros (D-4, D-7, E-20, F1, F-14, G-8, G-9, H-4 e H-12) utilizados para a obtenção de marcadores moleculares RAPD. As reações de amplificação foram feitas em um volume total de 13 μ L, contendo Tris-HCl 10 mM (pH 8,3), KCl 50 mM, MgCl₂ 3 mM, 100 μ M de cada um dos desoxiribonucleotídeos (dATP, dTTP, dGTP e dCTP), 0,4 μ M de um *primer* (Operon Technologies Inc., Alameda, CA, EUA), uma unidade da enzima Taq polimerase e, aproximadamente, 15 ng de DNA. Após a amplificação, as 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 e as marcas analisadas.

Os marcadores RAPD gerados foram convertidos em uma matriz de dados binários, a partir da qual foram estimadas as distâncias genéticas entre os espécimes, com base no complemento do coeficiente de similaridade de Nei & Li, utilizando-se o Programa Genes (Cruz, 1997). A matriz de distâncias genéticas foi utilizada para realizar a análise de agrupamento, utilizando como critério, o método do UPGMA, com auxílio do Programa SAS e do Programa Statistica (Statsoft Inc., 1999).

Tabela 1. Espécimes de cigarrinhas das pastagens analisados no presente trabalho com os respectivos locais de coleta e hospedeiros.

Nº	Indivíduo	Local de Coleta	Hospedeiro
1	P50-MG	Minas Gerais	Capim elefante
2	P65-MG	Minas Gerais	Capim elefante
3	P01-DF	Distrito Federal	<i>Cynodon</i>
4	P17-TO	Tocantins	<i>B. brizantha</i> cv. Marandú
5	P22-TO	Tocantins	<i>B. brizantha</i> cv. Marandú
6	P23-TO	Tocantins	<i>B. brizantha</i> cv. Marandú
7	P29-TO	Tocantins	<i>B. brizantha</i> cv. Marandú
8	P31-TO	Tocantins	<i>B. brizantha</i> cv. Marandú
9	P36-TO	Tocantins	<i>B. brizantha</i> cv. Marandú
10	P41-TO	Tocantins	Cana-de-acúcar
11	P70-GO 2 - <i>Deois</i> sp.*	Goiás	<i>B. decumbens</i>

* Espécime utilizada como *outgroup*

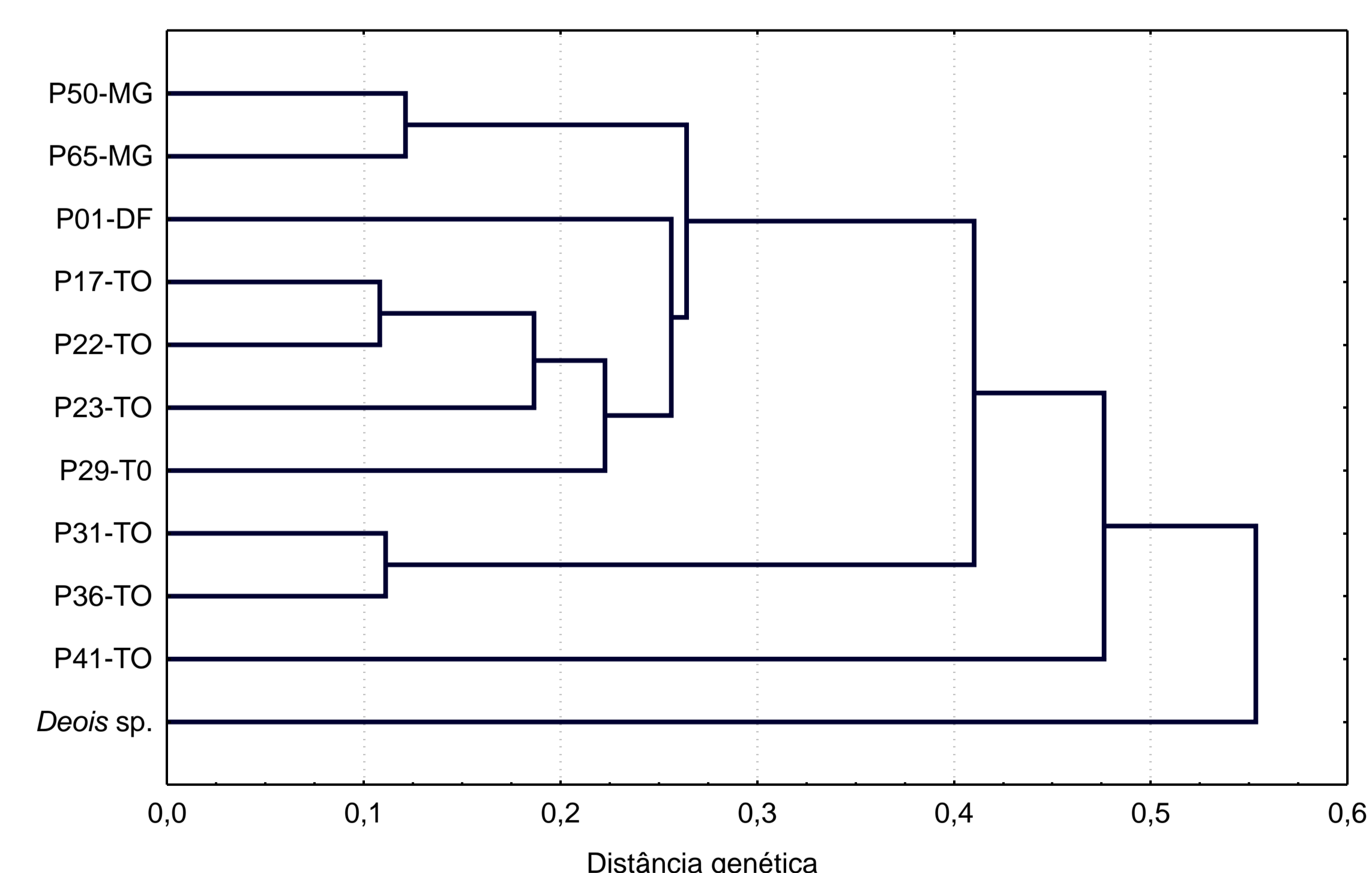


Figura 2. Análise de agrupamento de 10 espécimes de *Mahanarva spectabilis*, com base na matriz de distâncias genéticas calculadas utilizando 82 marcadores RAPD. O método do UPGMA foi utilizado como critério de agrupamento.

LITERATURA CITADA

CRUZ, C.D. . Programa Genes: aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: Editora UFV, 1997. 442p.

STATISTICA for Windows [Computer program manual]. Tulsa, OK: StatSoft, Inc., 2300 East 14th Street, Tulsa. 1999.