

## Distância Genética entre algumas Variedades Brasileiras de Algodão Medida por Marcadores RAPDs

Lúcia Vieira Hoffmann<sup>1</sup>  
Andrezza Miná de Andrade<sup>2</sup>  
Carlos Eduardo de Araújo Batista<sup>2</sup>  
Fábio Rodrigo Araújo Pereira<sup>2</sup>  
Roseane Gomes Jácome<sup>2</sup>  
Paulo Augusto Vianna Barroso<sup>1</sup>

A variabilidade genética é essencial, tanto em populações de melhoramento, para que se possam buscar plantas com as melhores combinações gênicas, como para a cultura, para que haja menor vulnerabilidade, por exemplo, na suscetibilidade a patógenos.

A principal espécie de algodão cultivada no Brasil é *Gossypium hirsutum*, sendo presentes as raças *G. hirsutum* var *latifolium*, que é herbáceo anual e cultivado em todas as regiões do Brasil, e a raça *G. hirsutum* var Marie Galante, que é conhecido como algodoeiro arbóreo, é perene, e é cultivado apenas na região Nordeste.

O objetivo deste estudo foi de estimar por marcadores moleculares a diversidade genética presente entre algumas cultivares de algodão cultivadas no Brasil, e também a dificuldade de gerar mapas genéticos a partir de cruzamentos entre estas variedades.

Foram utilizadas as seguintes variedades brasileiras de algodão: CNPA ITA 90, CNPA 6M, Coodetec 401, Deltaopal e Makina. As plantas foram avaliadas com os marcadores moleculares RAPD. Procedeu-se a extração de DNA conforme descrito por Ferreira e Grattapaglia (1998).

As reações de RAPD foram preparadas em um volume total de 25 mL por reação, sendo constituídas por 0,2 mM de cada dNTP; 5 mM de cloreto de magnésio; 50 ng de DNA; 0,2 mM de *primer* em Tris-HCl 10 mM pH 8,3; KCl 50 mM e 1 unidade de taq DNA polimerase.

Foi realizada desnaturação inicial a 94 °C por 5 minutos, seguida de 45 ciclos, cada qual com desnaturação a 94 °C por 1 minuto, anelamento dos *primers* a 35 °C por 1 minuto e amplificação a 72 °C por 2 minutos. Ao final, foi dado um período adicional de 5 minutos a 72 °C para que as extensões se completassem.

<sup>1</sup>Engº Agrº D.Sc. Embrapa Algodão, Rua Osvaldo Cruz, 1143, Centenário, CEP: 58107-720, Campina Grande, PB.

<sup>2</sup>Biólogos, Universidade Estadual da Paraíba.

Foram testados oitenta e um primers Operon, sendo sete do kit A (1, 2, 4, 10, 13, 18 e 20); sete do kit C (6, 8, 9, 10, 12, 18 e 19); quinze do kit E (2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 11, 12, 13, 15, 16, 18, 19 e 20); dez do kit M (2, 4, 5, 6, 7, 8, 11, 14, 16 e 18), 20 do kit N (completo), oito do kit P (2, 3, 5, 10, 13, 14, 17 e 18) e 14 do kit Z (Z7 a Z20). Os produtos de amplificação foram separados em eletroforese, em cubas horizontais, em géis contendo 1,4% de agarose em tampão TBE (0,09M de Tris, 0,09M de ácido bórico e 2 mM de EDTA). Os géis foram corados com brometo de etídeo 10mg/mL e analisados em transluminador com luz ultra violeta.

A similaridade genética foi obtida através do coeficiente de distância de Nei (Nei, 1978). Posteriormente, foi feito agrupamento por UPGMA (*Unweighted pair group method with arithmetical averages*).

## Resultados

Foram utilizados oitenta e um primers RAPD geraram 658 marcadores, dos quais 104 foram polimórficos. Portanto, o polimorfismo foi de 15,8%. Os primers polimórficos, com os respectivos números de bandas polimórficas, estão apresentados na Tabela 1. Nota-se que entre os 81 primers testados, 29 foram monomórficos (36%).

A Tabela 2 mostra que as variedades Mákina e Deltaopal foram bastante uniformes, enquanto que as variedades Coodetec 401 e CNPA6M foram mais heterogêneas. O primer N18 foi o único a gerar um marcador RAPD polimórfico entre as duas plantas da variedade Mákina. O mesmo primer N18, e também o N6, geraram bandas polimórficas entre as duas plantas da variedade Deltaopal. As duas plantas da variedade Coodetec diferiram entre si quanto às bandas geradas por três primers RAPDs: N3, N6 e N10, o último com duas bandas polimórficas.

A variedade que mais diferiu das demais foi a variedade CNPA 6M, como pode ser observado na Tabela 2 e Figura 1. Este resultado era esperado, por esta ser uma variedade de algodão mocó, *Gossypium hirsutum* var. *marie galante*, enquanto as outras variedades são todas de algodoeiro herbáceo, *G. hirsutum* var. *hirsutum*.

Tabela 1. Primers avaliados para as variedades Coodetec 401, CNPA 6M, Mákina, ITA 90 e Deltaopal, número de bandas obtidos (N) e número de bandas polimórficas (P). M indica todas as bandas monomórficas.

Primer	N	P	Primer	N	P
A1	9	1	N3	5	1
A2	7	1	N4	9	1
A4	14	1	N5	12	4
A10	6	1	N6	7	1
A13	4	1	N7	7	1
A18	7	1	N8	6	M
A20	5	M	N9	8	2
C6	14	1	N10	12	10
C8	14	M	N11	11	6
C9	6	M	N12	12	2
C10	15	2	N13	6	M
C12	4	1	N14	10	1
C18	5	2	N15	13	1
C19	15	1	N16	10	M
E2	14	2	N17	12	5
E3	1	M	N18	11	4
E4	1	M	N19	10	4
E5	5	1	N20	9	2
E6	9	1	P2	15	1
E7	15	M	P3	9	1
E9	1	M	P5	3	M
E11	6	2	P10	1	M
E12	5	M	P13	13	M
E13	2	M	P14	11	M
E15	6	M	P17	14	2
E16	8	4	P18	4	M
E18	3	1	Z7	9	2
E19	7	1	Z8	6	M
E20	13	2	Z9	1	M
M2	8	M	Z10	6	2
M4	12	1	Z11	12	3
M5	6	3	Z12	12	1
M6	11	1	Z13	3	M
M7	8	2	Z14	6	M
M8	6	1	Z15	12	M
M11	14	2	Z16	4	1
M14	7	M	Z17	7	2
M16	10	M	Z18	6	M
M18	1	M	Z19	5	M
N1	3	1	Z20	13	4
N2	9	2			

Khan et al. (2000) analisaram por RAPD 31 diferentes espécies de *Gossypium*, e encontraram 99,8% de bandas polimórficas. Linos et al. (2002) analisaram DNAs de variedades desenvolvidas ou cultivadas nos Estados Unidos, Grécia, Espanha e Austrália e encontraram 62,5% de polimorfismo entre os marcadores RAPD. Entre doze cultivares e

Tabela 2. Similaridade genética entre as variedades, Deltaopal, CNPA ITA 90, Mákina, CNPA 6M e Coodetec 401, utilizando marcadores RAPD.

	Coo a	Coo b	6M a	6M b	Makina a	Makina b	ITA 90	Deltaopal a
Coo401- b	0,81							
CNPA6M a	0,09	0,22						
CNPA6M b	0,16	0,28	0,88					
Makina a	0,69	0,88	0,28	0,34				
Makina b	0,69	0,88	0,28	0,34	1,00			
ITA 90	0,81	0,81	0,22	0,28	0,88	0,88		
Deltaopal a	0,72	0,91	0,31	0,38	0,97	0,97	0,91	
Deltaopal b	0,72	0,91	0,31	0,38	0,97	0,97	0,91	1,00

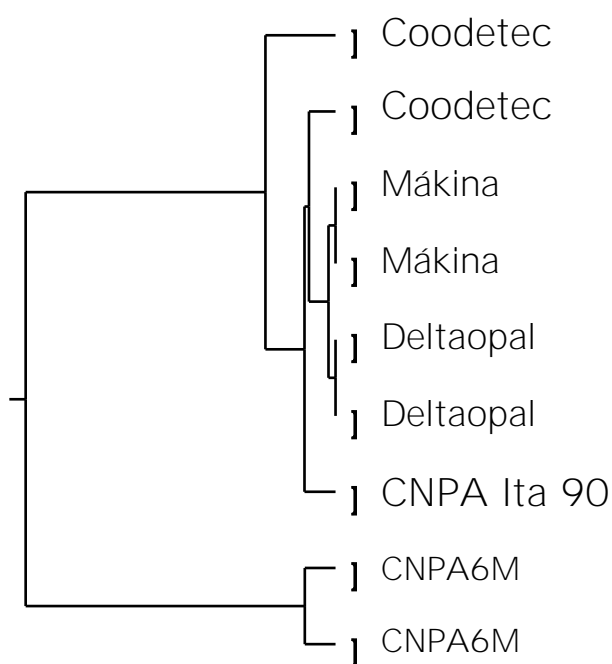


Fig. 1. Dendrograma - Agrupamento por marcadores RAPDs das plantas a e b da variedade Coodetec 401, a e b da variedade CNPA 6M, a e b da variedade Mákina, CNPA Ita 90 e a e b da variedade Deltaopal.

uma linhagem de *G. hirsutum* analisadas por RAPD por Multani et Lyon (1995), 66,7% dos marcadores foram polimórficos. Iqbal et al. (1997) mediram por RAPD a diversidade genética de vinte e duas variedades comerciais de *G. hirsutum* e um *G. arboreum* e detectaram 89,1% de polimorfismo. Entretanto, se os valores de polimorfismo servem como referência, não há possibilidade de comparação direta devido às diferenças dos

materiais vegetais, pois a diversidade dentro de espécies é sempre menor que entre espécies.

Nos programas de melhoramento de algodão, cruzamentos com materiais não aparentados às variedades comerciais, buscando incremento da variedade genética, tem sido realizados com baixa frequência, e raramente geram variedades. Van Esbroeck e Bowman (1998) acreditam que uma possível causa da dificuldade de realização de tais cruzamentos com sucesso possa ser a dificuldade de recombinação genética quando são cruzados materiais diversos, causada pela dificuldade de pareamento durante a meiose devido à diferenças nas seqüências de DNA, ou à existência de genes que influenciam a taxa de recombinação (Baker et al., 1976).

## Conclusões

Este trabalho permitiu uma estimativa da distância genética entre algumas variedades e identificou marcadores polimórficos que podem ser usados em trabalhos com marcadores moleculares em algodão.

## Referências Bibliográficas

BAKER, B. S.; CARPENTER, A. T. C.; ESPOSITO, M.S.; SANDLER, L. The genetic control of meiosis. Annual Review of Genetics, v. 10, p. 109-122, 1976.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. 3 ed. Brasília, Embrapa, 1998. 220p.

IQBAL, M. J.; AZIS, N.; SAEED, N. A.; ZAFAR, Y.; MALIK, K. A. Genetic diversity evaluation of some elite cotton varieties by RAPD analysis. *Theoretical and Applied Genetics*, v. 94, p. 139-44, 1997.

KHAN, S. A.; HUSSAIN, D.; ASKARI, E.; STEWART, J. M.; MALIK, K. A.; ZAFAR, Y. Molecular phylogeny of *Gossypium* species by DNA fingerprinting. *Theoretical and Applied Genetics*, v.101, n. 5-6, p. 931-8, 2000.

LINUS, A. A.; BEBELI, P. J.; KALTSIKES, P. J.

Cultivar identification in upland cotton using RAPD markers. *Australian Journal of Agriculture Research*, n.53, p. 637-642, 2002.

MULTANI, D. S.; LYON, B. R. Genetic fingerprinting of Australian cotton cultivars with RAPD markers. *Genome*, v. 38, p. 1005-8, 1995.

NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics*, v. 89, p. 583-590, 1978.

VAN ESBROECK, G.; BOWMAN, D. T. Cotton germplasm diversity and its importance to cultivar development. *Journal of Cotton Science*, v.2, p. 121-129, 1998.

#### Comunicado Técnico, 254

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:  
Embrapa Algodão  
Rua Osvaldo Cruz, 1143 Centenário, CP 174  
58107-720 Campina Grande, PB  
Fone: (83) 3315 4300 Fax: (83) 3315 4367  
e-mail: sac@cnpa.embrapa.br  
1ª Edição  
Tiragem: 500



Ministério da Agricultura,  
Pecuária e Abastecimento



#### Comitê de Publicações

Presidente: Luiz Paulo de Carvalho  
Secretária Executiva: Nivia M.S. Gomes  
Membros: Cristina Schetino Bastos  
Fábio Akiyoshi Suinaga  
Francisco das Chagas Vidal Neto  
Gilvan Barbosa Ferreira  
José Américo Bordini do Amaral  
José Wellington dos Santos  
Nair Helena Arriel de Castro  
Nelson Dias Suassuna

**Expedientes:** Supervisor Editorial: Nivia M. S. Gomes

Revisão de Texto: Nísia Luciano Leão  
Tratamento das ilustrações: Geraldo F. de S. Filho  
Editoração Eletrônica: Geraldo F. de S. Filho