

SIMILARIDADE GENÉTICA DE ACESSOS DE *Arachis pinto* COM DIFERENTES NÍVEIS DE PRODUTIVIDADE DE MATERIA SECA COM BASE EM MARCADORES RAPD

Fábio Gelape Faleiro^{1*}, Ronaldo Pereira Andrade¹, Cláudio Takao Karia¹, Maria Cristina R. Cordeiro¹, Thiago Lívio P. O. Souza², Juliana Lucas Mérida³

¹Embrapa Cerrados, Caixa Postal 08223, CEP 73301-970, Planaltina-DF

²Universidade Federal de Viçosa; ³Universidade de Brasília

*e-mail: ffaleiro@cpac.embrapa.br

INTRODUÇÃO

A busca de leguminosas de uso múltiplo, com importante papel nos sistemas de cultivos anuais e perenes, para plantio direto, cobertura vegetal ou adubação verde, além de sua utilização como forrageira é extremamente necessária e urgente (Karia e Andrade, 1996). O amendoim forrageiro, *Arachis pinto* Krapovickas & Gregory, apresenta grande potencial por apresentar hábito de crescimento rasteiro, com boa cobertura do solo, alta produção de massa, capacidade de fixar nitrogênio e fornecimento de forragem de boa qualidade. Apesar desse potencial, a variabilidade genética entre acessos da espécie ainda não foi adequadamente avaliada, considerando a quantidade de acessos disponíveis (Valls et al., 1994). A caracterização morfo-agronômica, a produção de forragem e sementes e a tolerância ao sombreamento têm sido utilizadas na caracterização de acessos de *A. pinto* (Figura 1.) (Carvalho, 1996; Paganella, 2001; Andrade et al., 2002).

OBJETIVO

Avaliar a similaridade genética de 10 acessos de *A. pinto* com diferentes níveis de produtividade de matéria seca, utilizando marcadores moleculares RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*).

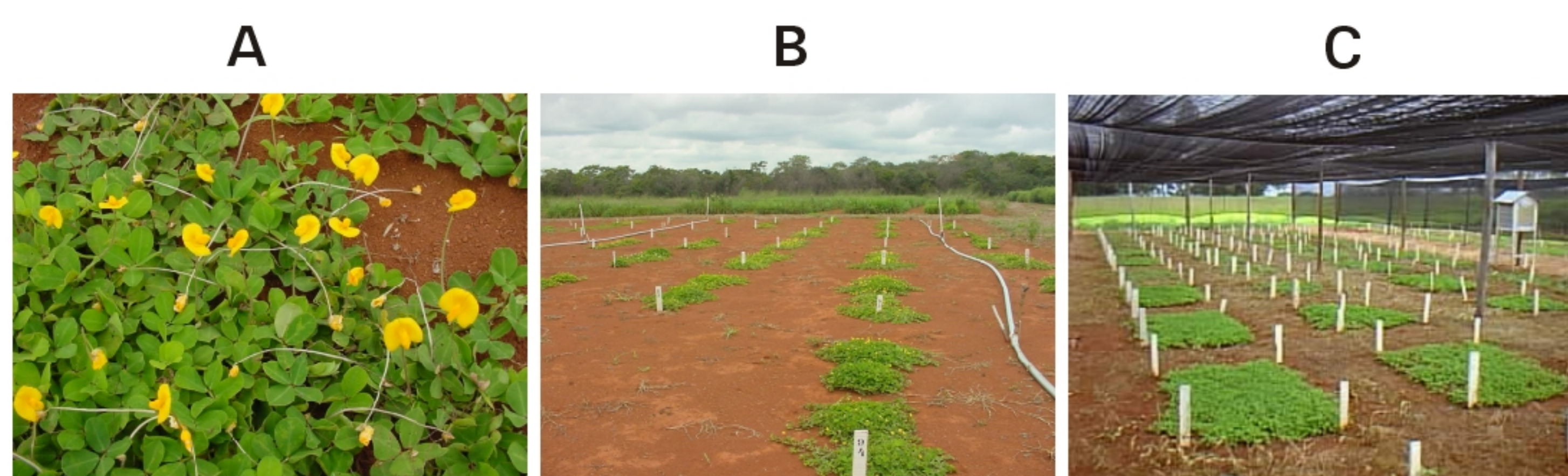


Figura 1. Ramificações de *Arachis pinto* (A); experimento de campo para avaliação de características morfo-agronômicas (B) e experimento para avaliação da produção de forragem em diferentes níveis de oferta de radiação (C).

MATERIAIS E MÉTODOS

Uma coleção de trabalho composta por 10 acessos de *A. pinto* foi analisada neste trabalho. Entre os acessos estão o BRA 013251 (cv. Amarello), BRA 031828 (cv. Belmonte) e oito acessos promissores (Ap 05, Ap 11, Ap 16, Ap 31, Ap 61, Ap 65, Ap 68, Ap 74 e Ap 75) selecionados, na Embrapa Cerrados, com base em componentes agrônômicos da produção de forragem e sementes (Carvalho, 1996) (Tabela 1). Estes acessos foram avaliados para a produção de forragem em quatro níveis de oferta de radiação por Andrade et al. (2002) e os dados de produção média de matéria seca são também apresentados na Tabela 1.

Folhas de cada acesso foram coletadas e o DNA genômico extraído utilizando o método do CTAB, com modificações (Faleiro et al., 2003). Amostras de DNA de cada material genético foram amplificadas pela técnica de RAPD. 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 19 primers decâmeros: OPD-02, OPD-07, OPD-08, OPD-09, OPD-13, OPD-19, OPE-02, OPE-20, OPF-02, OPF-05, OPF-12, OPF-18, OPF-20, OPG-10, OPG-12, OPG-19, OPH-02, OPH-04 e OPH-19. As amplificações foram efetuadas em termociclador, programado para 40 ciclos, cada um constituído pela seguinte seqüência: 15 segundos a 94 °C, 30 segundos a 35 °C e 90 segundos a 72 °C. Após os 40 ciclos, foi feita uma etapa de extensão final de 6 minutos a 72 °C e finalmente, a temperatura foi reduzida para 4 °C. Após a amplificação, foram adicionados, a cada amostra, 3 µl de uma mistura de azul de bromofenol (0,25%) e glicerol (60%) em água. 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 similaridades e distâncias genéticas entre os diferentes acessos, com base no coeficiente de similaridade de Nei & Li, utilizando-se o Programa Genes. A matriz de distâncias genéticas foi utilizada para realizar a análise agrupamento por meio de dendrograma, utilizando-se como critério de agrupamento o método do UPGMA (*Unweighted pair-group arithmetic average*), com auxílio do Programa SAS e Statística.

RESULTADOS

Os 19 primers decâmeros geraram um total de 161 marcadores RAPD, perfazendo uma média de 8,5 marcadores por primer. A Figura 2 ilustra o padrão de amplificação de amostras de DNA gerado pelo primer OPH-19. Dos 161 marcadores, 84 (52,2%) foram monomórficos, o que indica baixa variabilidade genética entre os acessos avaliados. Esta baixa variabilidade pode ser explicada pelo critério utilizado para estabelecer a coleção de trabalho, baseado apenas em características agrônômicas relacionadas à produção de matéria seca e de sementes (Carvalho, 1996).

As similaridades genéticas entre os 10 acessos de *A. pinto* variaram entre 0,824 a 0,971 (Tabela 1). O acesso Ap 74 foi o que apresentou menores similaridades genéticas com os demais acessos. O cv. Belmonte apresentou altas similaridades genéticas de 0,961 e 0,947 com os acessos Ap 61 e Ap 65, respectivamente. Com base nestas altas similaridades e considerando-se os locais de coleta (Itabuna, Simões Filho e Jussari), todos municípios do Estado da Bahia, suspeita-se que esses acessos tenham a mesma origem genética. Os dados obtidos por Andrade et al. (2002) para produtividade de matéria seca (Tabela 1), reforçam estas evidências. Por outro lado o acesso Ap 75, que também apresentou a mesma produtividade do cv. Belmonte, seria uma alternativa para ampliar a base genética dos cultivares recomendados, considerando que a similaridade genética de 0,862 em relação ao cv. Belmonte e 0,91 em relação ao cv. Amarello.

A alta similaridade genética entre o cv. Amarello e o acesso Ap 05 de 0,962 também chama a atenção. A produtividade média de matéria seca desses dois materiais foram as mesmas estatisticamente tanto no experimento de Andrade et al. (2002) como no de Carvalho (1996). Alta similaridade genética (0,942) e mesma produtividade de matéria seca também foram verificadas entre os acessos Ap11 e Ap16.

Pela análise de agrupamento (Figura 3), fica evidente a formação de três grupos a uma distância de ligação de 0,10: o grupo 1 formado pelo cv. Amarello e o acesso Ap 05, o grupo 2 formado pelos acessos Ap 11 e Ap 16 e o grupo 3 formado pelo cv. Belmonte e os acessos Ap 61 e Ap 65. Os demais acessos não se agruparam entre si, sendo que o acesso Ap 74 foi o que mais divergiu dos demais.

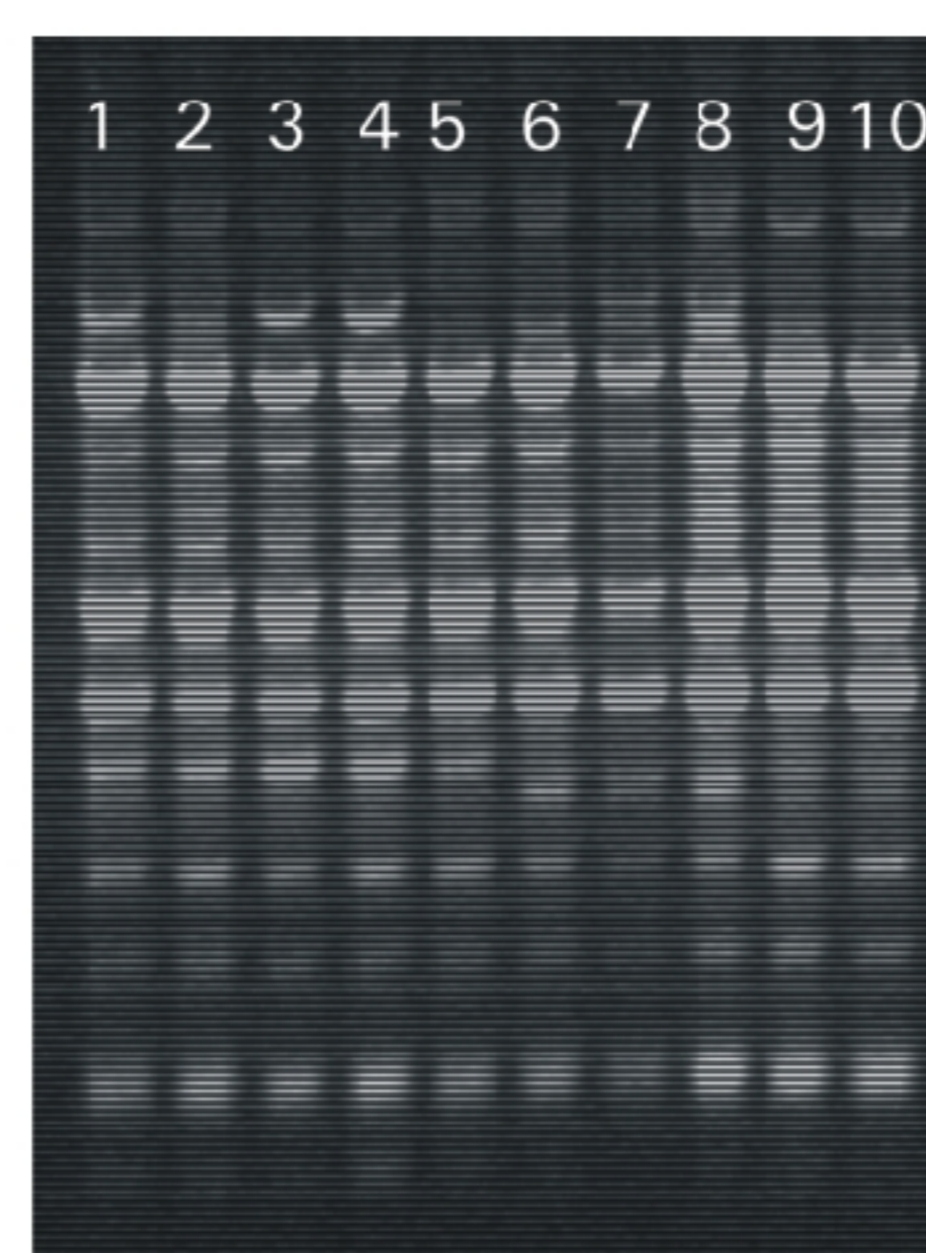


Figura 2. Produtos de amplificação de 10 amostras de DNA de *Arachis pinto*, gerados pelo primer OPH-19.

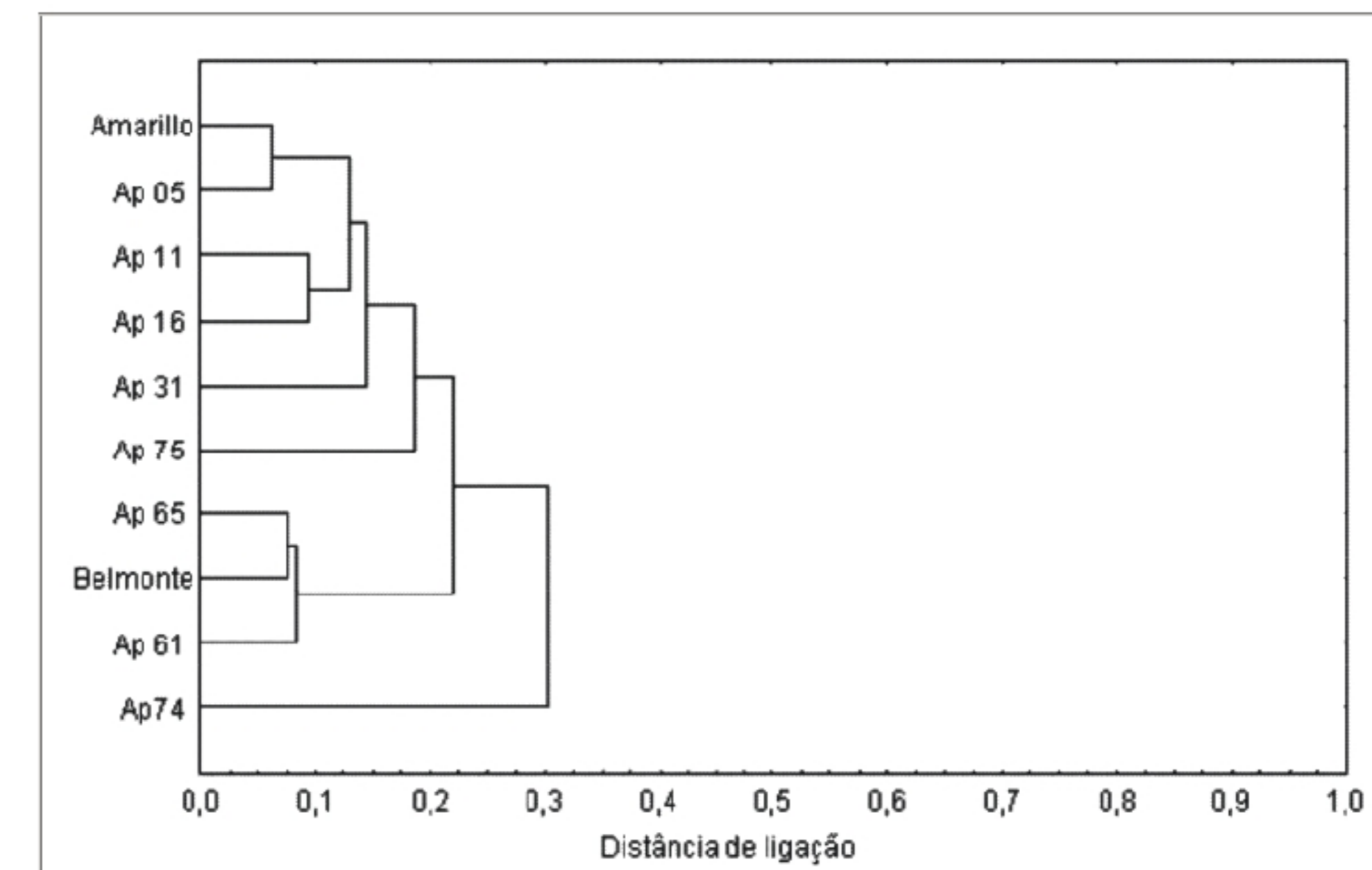


Figura 3. Análise de agrupamento de 10 acessos de *Arachis pinto* com base na matriz de distâncias genéticas, adotando-se o método do UPGMA (*Unweighted pair-group arithmetic average*).

Tabela 1. Produtividade média de matéria seca (t/ha), Estado de origem e matriz de similaridade genética entre 10 acessos de *Arachis pinto* baseada no complemento de similaridade de Nei & Li, calculado com base em 161 marcadores RAPD.

Nº Acesso	Produt. ^a	Origem	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1 Amarello	5,61 cd	Bahia	1									
2 Ap 05	6,75 abc	Goiás	0,962	1								
3 Ap 11	4,97 d	MG ^b	0,922	0,91	1							
4 Ap 16	5,72 bcd	MG	0,936	0,92	0,942	1						
5 Ap 31	6,83 ab	Goiás	0,896	0,916	0,904	0,926	1					
6 Ap 61	7,60 a	Bahia	0,907	0,912	0,864	0,899	0,912	1				
7 Ap 65	7,11 a	Bahia	0,888	0,889	0,876	0,886	0,877	0,971	1			
8 Belmonte	7,11 a	Bahia	0,889	0,889	0,857	0,87	0,883	0,961	0,947	1		
9 Ap 74	5,90 bcd	MG	0,833	0,838	0,827	0,824	0,829	0,872	0,84	0,837	1	
10 Ap 75	7,08 a	MG	0,91	0,897	0,879	0,889	0,867	0,874	0,855	0,862	0,852	1

^aProdutividade média de matéria seca (t/ha), de um total de três cortes, avaliada em quatro níveis de oferta de radiação por Andrade et al. (2002). As médias seguidas pela mesma letra não diferem, entre si, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ^bMinas Gerais

CONCLUSÕES

- Os marcadores RAPD evidenciam uma baixa variabilidade genética da população de trabalho de 10 acessos de "A. pinto" analisada neste trabalho.
- O acesso Ap 75 apresenta-se como uma alternativa para ampliar a base genética dos atuais cultivares recomendados, considerando-se sua produtividade de matéria seca e a sua dissimilaridade em relação ao cv. Belmonte.
- De um modo geral, os acessos com altas similaridades genéticas entre si apresentaram, estatisticamente, a mesma produtividade média de matéria seca.

LITERATURA CITADA

- ANDRADE, R.P.; KARIA, C.T.; SOUZA, M.A. . Tolerância ao sombreamento de acessos de "Arachis pinto". In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 39, 2002, Recife. Anais... Sociedade Brasileira de Zootecnia. CD-ROM. Forragicultura.
- CARVALHO, M.A. . Caracterização dos componentes agrônômicos da produção de forragem e sementes de "Arachis pinto" e "Arachis repens" (Leguminosae). Brasília, DF: Universidade de Brasília - UnB, 1996. 117p. Dissertação (Mestrado em Ciências) Universidade de Brasília, 1996.
- FALEIRO, F.G.; FALEIRO, A.S.G.; CORDEIRO, M.C.R. et al. . Metodologia para operacionalizar a extração de DNA de espécies nativas do cerrado. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2003. (Comunicado Técnico) (no prelo).
- KARIA, C.T.; ANDRADE, R.P. . Avaliação preliminar de espécies forrageiras no Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados: perspectivas futuras. In: SIMPÓSIO SOBRE O CERRADO, 8, 1996, Brasília. Anais... Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1996. p. 471-475.
- PAGANELLA, M.B. . Caracterização morfo-agronômica de cultivares e acessos selecionados de "Arachis pinto" Krapov. e W.C. Gregory (Leguminosae). Brasília, DF: Universidade de Brasília - UnB, 2001. 81p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) Universidade de Brasília, 2001.
- VALLS, J.F.M.; MAASS, B.L.; LOPES, C.R. . Genetic resources of wild *Arachis* and genetic diversity. In: KERRIDGE, P.C.; HARDY, B. (Eds.) Biology and agronomy of forage "Arachis". Cali, Colômbia: CIAT. 1994. P. 28-42.