

# VARIABILIDADE EM POPULAÇÃO DE *Stevia rebaudiana* COMO SUBSÍDIO PARA A SELEÇÃO E MELHORAMENTO GENÉTICO

Fábio G. Faleiro<sup>1</sup>; Carlos R. Spehar<sup>1</sup>; Ailton V. Pereira<sup>1</sup>, Elayne B. C. Pereira<sup>1,2</sup>; Graciele Bellon<sup>1</sup>; Ana Maria Barros<sup>1</sup>; Nilton T. V. Junqueira<sup>1</sup>; Luciana C. Silva<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Embrapa Cerrados, CP 08223, 73310-970 Planaltina-DF; <sup>2</sup>Agência Goiana de Desenvolvimento Rural e Fundiário. e-mail: ffaleiro@cpac.embrapa.br

## INTRODUÇÃO

A *stevia*, *Stevia rebaudiana*, é uma planta da qual são extraídos steviosídeos, substâncias edulcorantes naturais. Com base em um mercado emergente, plantios experimentais têm sido conduzidos no Cerrado. As populações utilizadas nestes plantios têm apresentado baixa produtividade, contudo variações fenotípicas têm sido verificadas.

Considerando a *stevia* como uma alternativa para a diversificação das atividades agrícolas no Cerrado, estudos exploratórios relacionados à produção de mudas, resposta a fotoperíodo, resistência a pragas e doenças e avaliação de germoplasma foram conduzidos na Embrapa Cerrados no último ano. A Figura 1 ilustra alguns dos experimentos realizados. Para a finalização e refinamento de tais estudos uma parceria entre a Embrapa e a Steviafarma Ltda está sendo concretizada. Um dos estudos exploratórios de grande importância é a seleção e o melhoramento genético da espécie visando a adaptação e o estabelecimento de sistemas de produção no Cerrado.

## OBJETIVO

Analisar a variabilidade fenotípica e genotípica em populações de *stevia* com base em características morfo-agronômicas e moleculares, como subsídio para programas de seleção e melhoramento genético.

## MATERIAL E MÉTODOS

Altura de planta, perfilhamento, quantidade de folhas, aspecto fitossanitário e período juvenil foram avaliadas em plantas de uma população em Planaltina, DF. Dez plantas contrastantes para características morfo-agronômicas foram genotipadas com base em marcadores RAPD. O DNA genômico de cada material foi extraído e amplificado para obtenção de marcadores 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, MgCl<sub>2</sub> 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 9 *primers* decâmeros: OPD-07, OPE-18, OPF-01, OPF-14, OPG-08, OPG-09, OPH-12, OPH-16 e OPH-17. As amplificações foram aplicadas em gel de agarose (1,2%), corado com brometo de etídio. 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 distâncias genéticas e coeficiente de similaridade entre os diferentes materiais genéticos, utilizando-se o coeficiente de Nei e Li com o auxílio do Programa Genes (CRUZ, 1997). Com base na matriz de distâncias, foi realizada uma análise de agrupamento por métodos hierárquicos utilizando como critério o método do UPGMA (*Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean*) e dispersão gráfica baseada em escalas multidimensionais usando o método das coordenadas principais, com auxílio do Programa SAS (SAS INSTITUTE Inc., 1990) e do Programa Statistica (STATSOFT Inc., 1999).



Figura 1. Experimentos exploratórios com *Stevia rebaudiana* relacionados à produção de mudas (A e B), resposta a fotoperíodo (C e D), resistência a pragas e doenças (E) e avaliação de germoplasma (F).

## RESULTADOS

As plantas avaliadas apresentaram alta variabilidade fenotípica para todas as características. A altura das plantas variou de 30 a 90 cm e o período juvenil de 15 a 75 dias (Figura 2). Variações fenotípicas também foram verificadas na quantidade e morfologia das folhas, perfilhamento e aspecto fitossanitário (Figura 2).

Com relação à caracterização molecular, os 9 *primers* utilizados nas amplificações geraram um total de 69 marcadores RAPD, dos quais 49 (71,1%) foram polimórficos. A média de marcadores RAPD por *primer* foi de 7,7. As distâncias genéticas entre as plantas variaram entre 0,134 e 0,307 (Tabela 1) e as análises de agrupamento e dispersão gráfica mostraram a existência de pelo menos quatro grupos de origem genética diferente (Figura 3).

Tabela 2. Matriz de distâncias genéticas entre 10 plantas de *Stevia rebaudiana*, calculada com base no complemento do coeficiente de similaridade de Nei e Li, baseado em 69 marcadores RAPD.

Plantas	PL 1	PL 2	PL 3	PL 4	PL 5	PL 6	PL 7	PL 8	PL 9	PL 10
PL 1	0,000									
PL 2	0,240	0,000								
PL 3	0,209	0,206	0,000							
PL 4	0,273	0,194	0,231	0,000						
PL 5	0,208	0,210	0,188	0,134	0,000					
PL 6	0,250	0,225	0,206	0,164	0,210	0,000				
PL 7	0,240	0,299	0,262	0,161	0,185	0,139	0,000			
PL 8	0,208	0,209	0,206	0,235	0,209	0,247	0,229	0,000		
PL 9	0,174	0,210	0,194	0,169	0,160	0,225	0,195	0,200	0,000	
PL 10	0,217	0,247	0,200	0,250	0,237	0,307	0,270	0,259	0,211	0,000

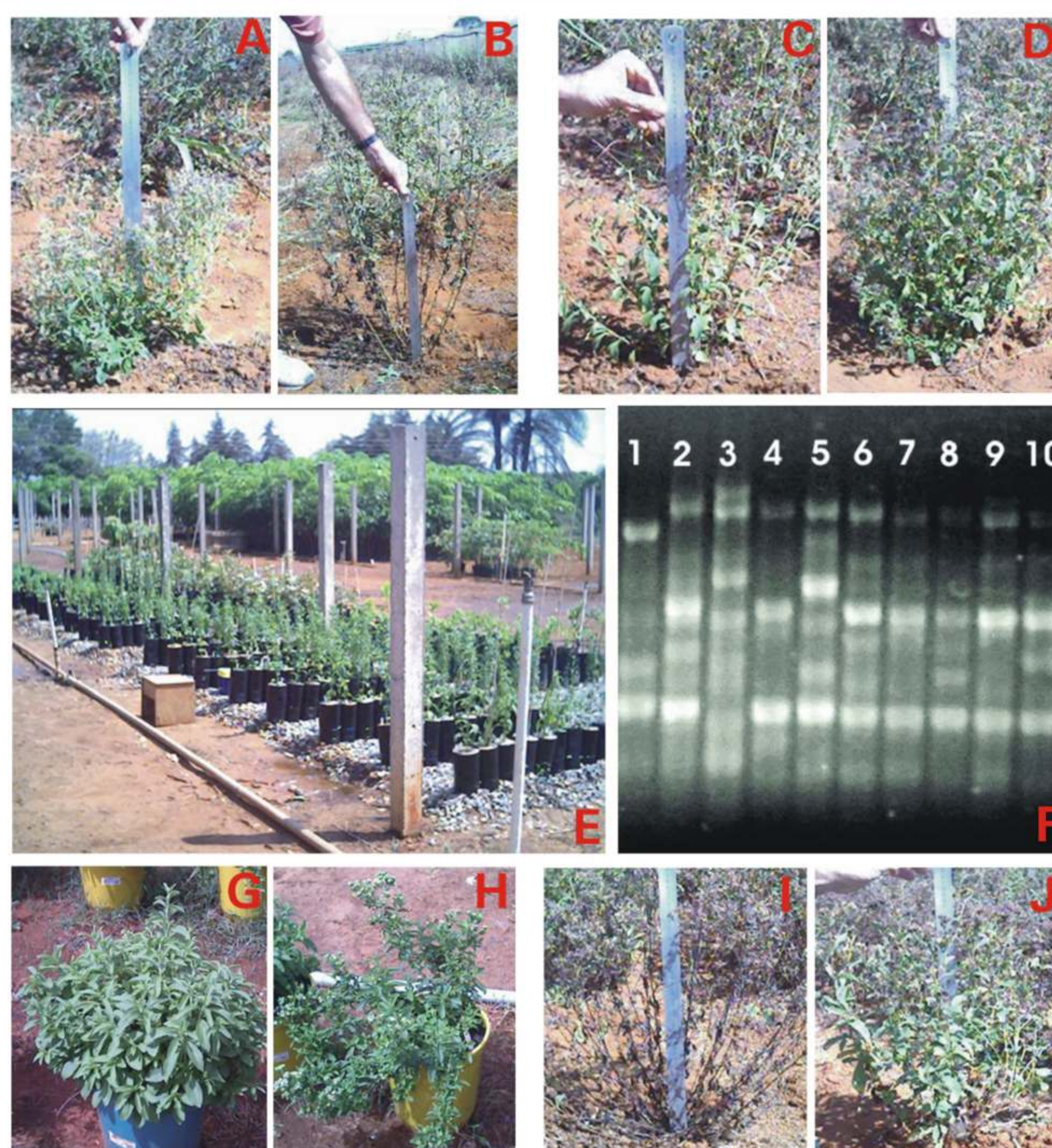


Figura 2. Variabilidade de plantas de *stevia* com relação a: altura da planta (A e B), perfilhamento (C e D), período juvenil (E), marcadores RAPD (F), quantidade e morfologia das folhas (G e H) e aspecto fitossanitário (I e J).

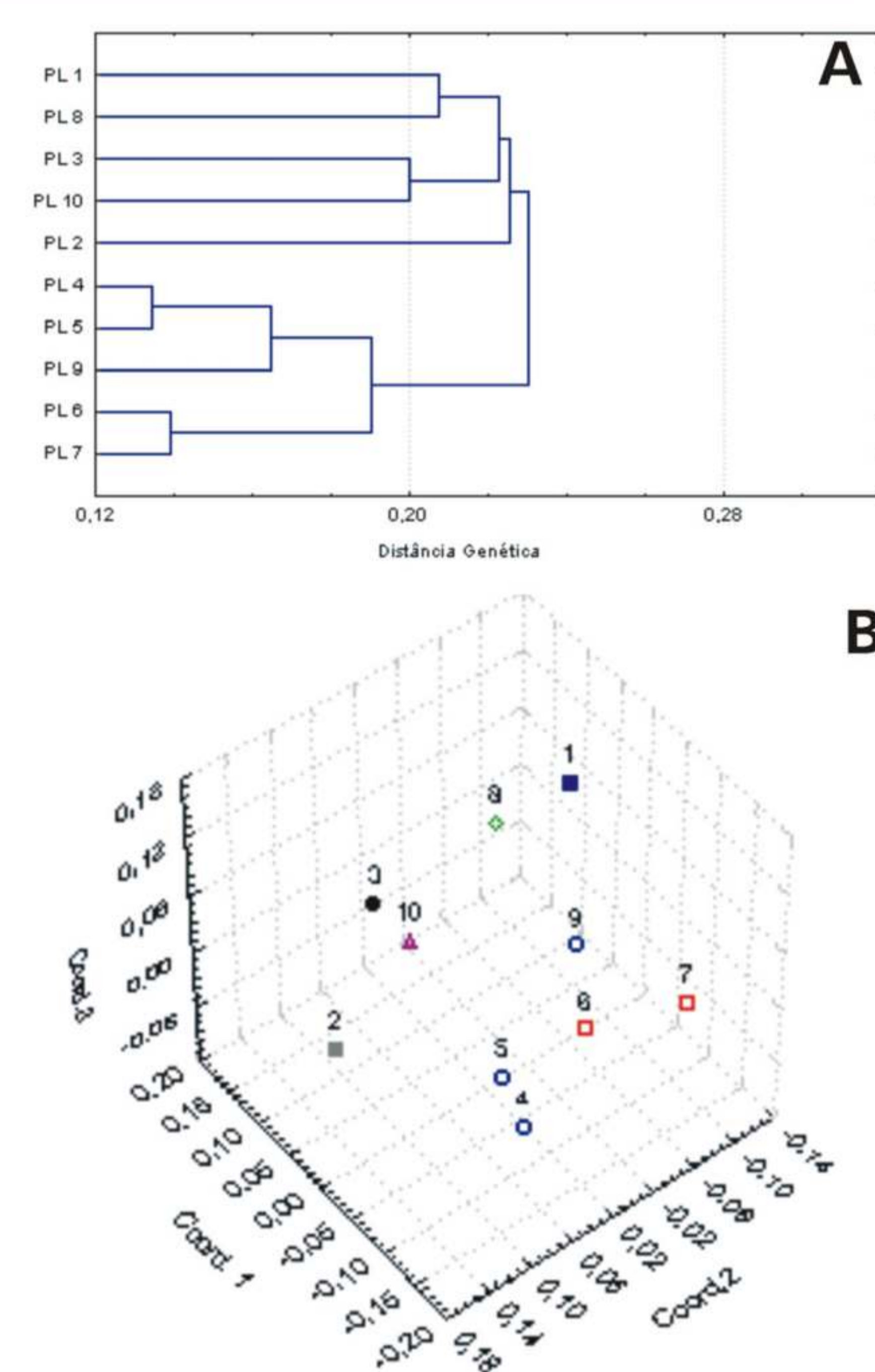


Figura 3. Análise de agrupamento (A) e dispersão gráfica em 3D de 10 plantas de *stevia* com base na matriz de distâncias genéticas calculada utilizando 69 marcadores RAPD.

## CONCLUSÕES

As características morfo-agronômicas e os marcadores RAPD evidenciaram a variabilidade genética de plantas de *stevia*, a qual será a base de um programa de seleção e melhoramento genético da cultura visando a adaptação às condições do Cerrado.

## LITERATURA CITADA

- CRUZ, C.D. *Programa Genes: aplicativo computacional em genética e estatística*. Viçosa: Editora UFV, 1997. 648p.
- SAS INSTITUTE Inc. *SAS/STAT user's guide*. Version 6, 4 ed. SAS Institute, North Carolina, Cary. 1989.
- STATSOFT Inc. *Statistica for Windows [Computer program manual]*. Tulsa, OK. StatSoft Inc. 2300 East 14<sup>th</sup> Street, Tulsa. 1999.