

VARIABILIDADE GENÉTICA DE ACESSOS DE MANDIOCA MORFOLOGICAMENTE SIMILARES À ETNOVARIEDADE 'BURITI' COM BASE EM MARCADORES MOLECULARES



Fábio Gelape Faleiro^{1*}, Josefino de Freitas Fialho¹, Graciele Bellon¹, Eduardo Alano Vieira¹, Wânia Maria Gonçalves Fukuda²

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

Cerrados

Introdução

As coleções de germoplasma de mandioca no Brasil consistem predominantemente de formas silvestres, etnovarietades e variedades melhoradas, as quais têm sido agrupadas com base, principalmente, em descritores morfológicos (Fukuda e Alves, 1987). Um dos grupos de acessos de mandioca de interesse para a pesquisa é formado por materiais que apresentam crescimento indeterminado com ausência ou pequeno número de ramificações somente no ápice da haste principal. Os acessos desse grupo apresentam elevada similaridade morfológica à etnovarietade 'Buriti' (Figura 1). O uso de marcadores moleculares tem sido uma importante ferramenta, fornecendo informações adicionais e complementares aos descritores morfo-agronômicos permitindo uma caracterização mais detalhada dos acessos e de seus relacionamentos genéticos. Entre as vantagens dos marcadores moleculares estão a não influência do ambiente e o número praticamente ilimitado de polimorfismos genéticos.

Objetivo

Avaliar a variabilidade genética de acessos mantidos no banco de germoplasma da Embrapa Cerrados que apresentam características típicas da etnovarietade 'Buriti' e estudar a base e os relacionamentos genéticos entre esses acessos e a etnovarietade 'Buriti' com base em marcadores moleculares RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*).



Figura 1. Algumas características fenotípicas de acessos que apresentam elevada similaridade morfológica à etnovarietade 'Buriti'.

RESULTADOS

Os nove *primers* decâmeros geraram um total de 101 marcadores RAPD, perfazendo uma média de 11,2 marcadores por *primer*. Destes, 55 (54,4%) foram monomórficos (Tabela 2). As distâncias genéticas entre os acessos variaram de 0,006 a 0,233, com uma média de 0,092. As menores distâncias genéticas foram verificadas entre os acessos BGMC 1008 e BGMC 1161 (0,006); BGMC 1158 e BGMC 1161 (0,006). Os acessos BGMC 895, BGMC 928, BGMC 1031 e BGMC 1117 foram os que mais diferiram dos demais (Tabela 3).

A análise de agrupamento via dendrograma (Figura 2) obtida com base na matriz de distâncias genéticas ilustra a proximidade genética entre a maioria dos acessos analisados. Com base na análise de agrupamento, pode-se dividir os 19 acessos em três grupos de similaridade genética. Um dos grupos é formado por 15 dos 19 acessos. Dentro deste grupo maior, é possível observar relacionamentos genéticos muito próximos entre alguns materiais, mostrando uma redundância de acessos dentro do germoplasma. Chama a atenção, dois subgrupos dentro deste grupo maior, um formado pelos acessos BGMC 754 e 758 e o outro pelos acessos BGMC 967, 1008, 1080, 1086, 1158, 1161 e 1184.

O gráfico de dispersão dos acessos (Figura 3) ilustra a formação dos três grupos de similaridade. A proximidade genética dos acessos BGMC 967, 1008, 1080, 1086, 1158, 1161 e 1184 (10, 12, 14, 15, 17, 18 e 19) e dos acessos BGMC 754 e 758 (1 e 2) também é ilustrada pelo gráfico. Os acessos que compõem os grupos 2 (BGMC 895 e 928) e 3 (BGMC 1031 e 1117) apesar da similaridade genética, não são redundantes, ocupando regiões gráficas distintas.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos mostraram que a maioria dos acessos morfológicamente similares à 'Buriti' são muito próximos geneticamente, possivelmente devido a uma mesma origem genética. Por outro lado permitiu a identificação de acessos que contribuem para a ampliação da base genética, formando diferentes grupos de similaridade.

Material e métodos

Foram analisados 19 acessos (Tabela 1) do banco de germoplasma da Embrapa Cerrados que apresentam similaridade morfológica à etnovarietade 'Buriti'. 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 para obtenção dos 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, 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 nove *primers* decâmeros: OPD7, OPD8, OPE20, OPF1, OPG9, OPG17, OPH12 e OPH17. As amplificações foram efetuadas em termociclador programado para 40 ciclos, cada um constituído pela seguinte sequência: 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 seis 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 distâncias genéticas entre os diferentes acessos, 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 via dendrograma e a dispersão gráfica baseada em escalas multidimensionais usando o método das coordenadas principais, com auxílio do Programa SAS (SAS Institute Inc, 1989) e do Programa Statistica (Statsoft Inc., 1999).

Tabela 1. Acessos de mandioca com características morfológicas da etnovarietade 'Buriti' analisados no presente trabalho.

Nº Acesso	Nº Acesso	Nº Acesso
1 BGMC 754	8 BGMC 933	14 BGMC 1080
2 BGMC 758	9 BGMC 942	15 BGMC 1086
3 BGMC 763	10 BGMC 967	16 BGMC 1117
4 BGMC 831	11 BGMC 972	17 BGMC 1158
5 BGMC 870	12 BGMC 1008	18 BGMC 1161
6 BGMC 895	13 BGMC 1031	19 BGMC 1184
7 BGMC 928		

Tabela 2. *Primers* utilizados para obtenção dos marcadores RAPD e respectivos número de bandas polimórficas e monomórficas.

Primer	Sequência 5' 3'	Nº de bandas polimórficas	Nº de bandas monomórficas
OPD-07	TTGGCACGGG	12	1
OPD-08	GTGTGCCCCA	5	6
OPD-16	AGGGCGTAAG	4	7
OPE-20	AACGGTGACC	3	10
OPF-01	ACGGATCCTG	8	3
OPG-09	CTGACGTGAC	4	8
OPG-17	ACGACCGACA	5	5
OPH-12	ACGCGCATGT	2	7
OPH-17	CACTCTCCTC	3	8
TOTAL		46	55

Tabela 3. Matriz de distâncias genéticas entre 19 acessos de mandioca com características morfológicas da etnovarietade 'Buriti' calculadas com base em 101 marcadores moleculares.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1 BGMC 754	0,000	0,014	0,058	0,062	0,104	0,159	0,119	0,088	0,131	0,083	0,088	0,095	0,218	0,072	0,057	0,194	0,085	0,091	0,086
2 BGMC 758	0,014	0,000	0,056	0,038	0,094	0,130	0,082	0,076	0,091	0,072	0,084	0,085	0,184	0,060	0,041	0,185	0,067	0,071	0,068
3 BGMC 763	0,058	0,056	0,000	0,075	0,057	0,109	0,103	0,086	0,110	0,071	0,053	0,082	0,182	0,071	0,055	0,169	0,060	0,070	0,079
4 BGMC 831	0,062	0,038	0,075	0,000	0,087	0,152	0,108	0,062	0,080	0,055	0,065	0,061	0,208	0,043	0,039	0,194	0,063	0,047	0,051
5 BGMC 870	0,104	0,094	0,057	0,087	0,000	0,102	0,122	0,073	0,080	0,063	0,057	0,047	0,146	0,053	0,086	0,108	0,060	0,045	0,054
6 BGMC 895	0,159	0,130	0,109	0,152	0,102	0,000	0,092	0,143	0,156	0,151	0,113	0,143	0,200	0,143	0,139	0,148	0,162	0,150	0,118
7 BGMC 928	0,119	0,082	0,103	0,108	0,122	0,092	0,000	0,122	0,136	0,128	0,091	0,133	0,233	0,128	0,125	0,188	0,151	0,147	0,123
8 BGMC 933	0,088	0,076	0,086	0,082	0,073	0,143	0,122	0,000	0,063	0,050	0,058	0,044	0,200	0,034	0,053	0,114	0,045	0,036	0,057
9 BGMC 942	0,131	0,091	0,110	0,080	0,080	0,156	0,136	0,063	0,000	0,067	0,071	0,061	0,183	0,068	0,071	0,104	0,049	0,046	0,058
10 BGMC 967	0,083	0,072	0,071	0,055	0,053	0,151	0,128	0,050	0,067	0,000	0,031	0,016	0,228	0,022	0,040	0,143	0,027	0,012	0,028
11 BGMC 972	0,088	0,084	0,053	0,065	0,057	0,113	0,091	0,058	0,071	0,031	0,000	0,037	0,143	0,043	0,045	0,111	0,063	0,048	0,057
12 BGMC 1008	0,095	0,085	0,082	0,061	0,047	0,143	0,133	0,044	0,061	0,016	0,037	0,000	0,216	0,016	0,045	0,127	0,022	0,006	0,022
13 BGMC 1031	0,218	0,184	0,182	0,208	0,186	0,200	0,233	0,200	0,183	0,228	0,143	0,216	0,000	0,212	0,191	0,094	0,220	0,212	0,208
14 BGMC 1080	0,072	0,060	0,071	0,043	0,053	0,143	0,128	0,034	0,068	0,022	0,043	0,016	0,212	0,000	0,028	0,143	0,038	0,012	0,017
15 BGMC 1086	0,057	0,041	0,055	0,039	0,086	0,139	0,125	0,053	0,071	0,040	0,045	0,045	0,191	0,028	0,000	0,159	0,034	0,030	0,040
16 BGMC 1117	0,194	0,185	0,169	0,194	0,108	0,148	0,188	0,114	0,104	0,143	0,111	0,127	0,094	0,143	0,159	0,000	0,143	0,134	0,121
17 BGMC 1158	0,085	0,067	0,060	0,063	0,060	0,162	0,151	0,045	0,049	0,027	0,063	0,022	0,220	0,028	0,034	0,143	0,000	0,006	0,028
18 BGMC 1161	0,091	0,071	0,070	0,047	0,045	0,150	0,147	0,036	0,046	0,012	0,048	0,006	0,212	0,012	0,030	0,134	0,006	0,000	0,018
19 BGMC 1184	0,086	0,068	0,079	0,051	0,054	0,118	0,123	0,057	0,050	0,028	0,057	0,022	0,208	0,017	0,040	0,121	0,028	0,018	0,008

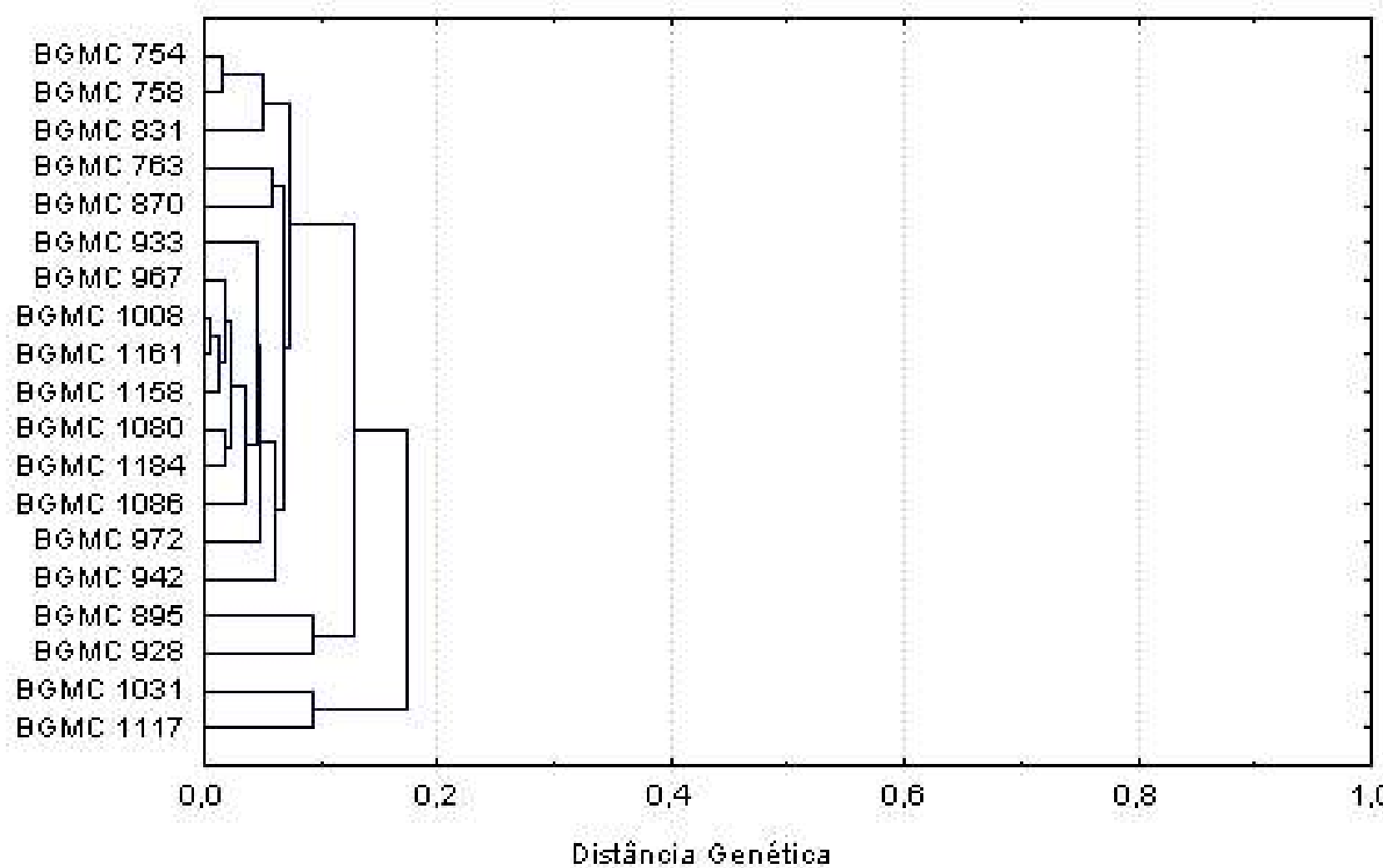


Figura 2. Análise de agrupamento de 19 acessos de mandioca com base na matriz de distâncias genéticas calculadas utilizando-se 101 marcadores RAPD. O método do UPGMA foi utilizado como critério de agrupamento.

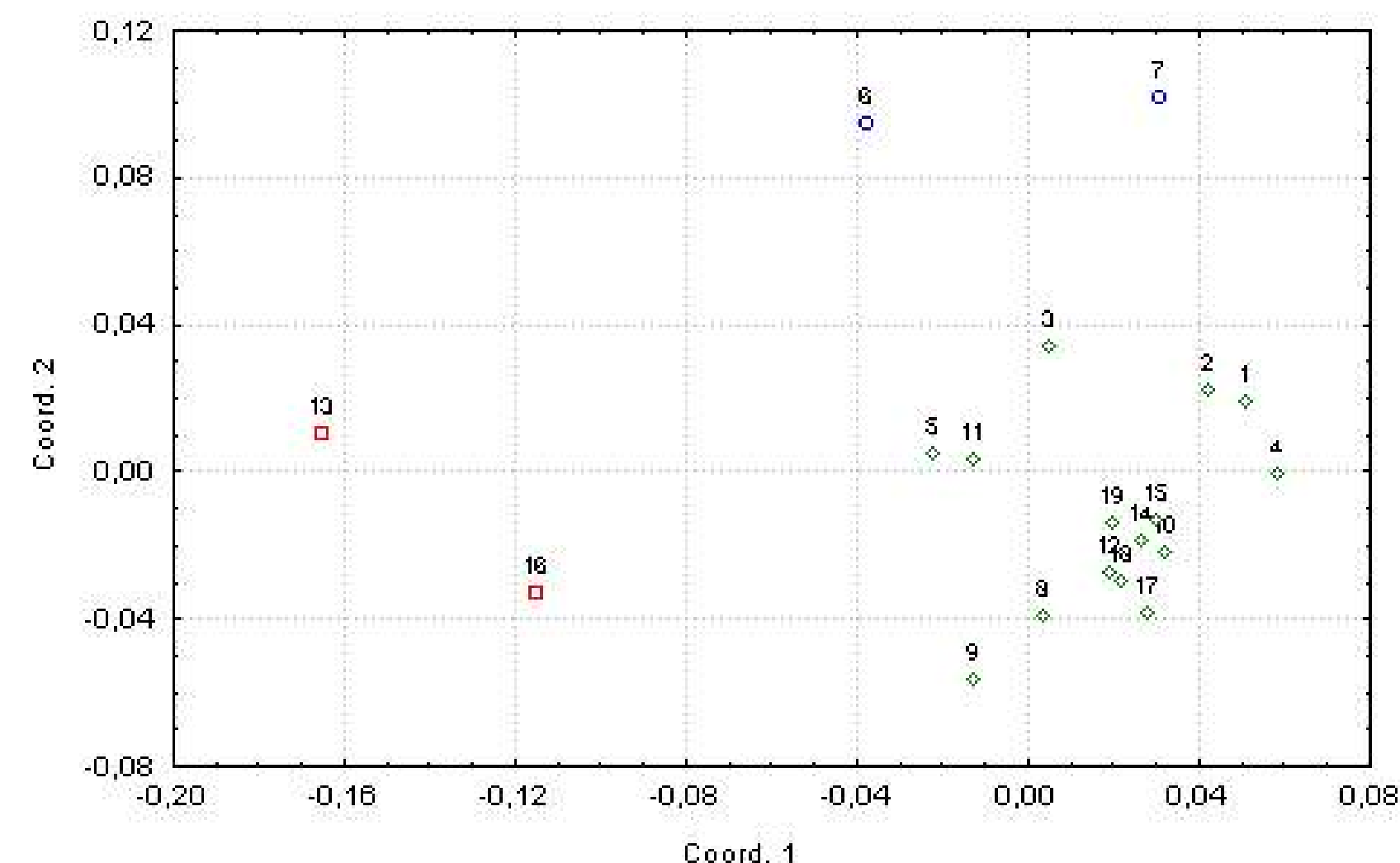


Figura 3. Dispersão gráfica de 19 acessos de mandioca com base na matriz de distâncias genéticas calculadas utilizando-se 101 marcadores RAPD. Os números dos acessos correspondem aos apresentados na Tabela 1.

Literatura citada

- FUKUDA, W.M.G.; ALVES, A.A.C. Banco ativo de germoplasma de mandioca do Centro Nacional de Mandioca e Fruticultura. Revista Brasileira de Mandioca, Cruz das Almas, v. 6, p. 65-97, 1987.
- CRUZ, C.D. Programa Genes: aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: Editora UFV, 1997. 648p.
- FALEIRO, F.G.; FALEIRO, A.S.G.; CORDEIRO, M.C.R.; KARIA, C.T. Metodologia para operacionalizar a extração de DNA de espécies nativas do cerrado. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2003. (Comunicado Técnico, N° 92).
- SAS INSTITUTE INC. SAS/STAT user's guide. Version 6, 4 ed. North Caroline: SAS Institute, 1989. 846p.
- STATSOFT INC. (1999) Statistica for Windows [Computer program manual] Tulsa: StatSoft Inc., 1999. <http://www.statsoft.com>.