

VARIABILIDADE GENÉTICA DE ACESSOS DE MANDIOCA SIMILARES ÀS VARIEDADES 'PIONEIRA' E 'JAPONESA' MANTIDOS EM BANCO DE GERMOPLASMA E CULTIVADOS EM NÚCLEOS RURAIS COM BASE EM MARCADORES MOLECULARES



Cerrados

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

INTRODUÇÃO

A presença de variabilidade fenotípica entre acessos pode ter como base as diferenças genéticas, mas também pode ocorrer devido à plasticidade, ou seja, a possíveis ajustes que a planta pode exibir em resposta às variações do ambiente (interação genótipo x ambiente). Para avaliar as diferenças genéticas inter e intra-específicas, o uso de marcadores moleculares tem sido uma importante alternativa, fornecendo informações úteis para o entendimento das complexas relações genéticas entre os acessos, bem como para caracterizar e resolver problemas de ambigüidade em coleções de germoplasma (Carvalho et al., 2001).

OBJETIVO

Analisar a origem (genética ou devido à plasticidade) de diferenças fenotípicas verificadas em acessos da variedade 'Pioneira' e da 'Japonesa' cultivados no Distrito Federal e avaliar a variabilidade genética de acessos morfológicamente similares às variedades 'Pioneira' e 'Japonesa' mantidos no banco de germoplasma da Embrapa Cerrados utilizando marcadores moleculares do DNA.



Figura 1. Aspectos fenotípicos das variedades Pioneira (A) e Japonesa (B), produtores dos Núcleos Rurais do DF que fazem parte da pesquisa participativa (C e D), raízes da Pioneira (E) e foto do BAG da Embrapa Cerrados (F).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisados 27 acessos (Tabela 1), sendo 12 com características da variedade 'Pioneira' (BGMC 982), 13 da 'Japonesa' (BGMC 751) mantidos em bancos de germoplasma e cultivados em diferentes Núcleos Rurais do Distrito Federal. A Figura 1 ilustra aspectos fenotípicos das variedades Pioneira e Japonesa e produtores dos Núcleos Rurais do DF que fazem parte da pesquisa participativa realizada na Embrapa Cerrados. Foram também analisados os acessos BGMC 753 e o BGMC 1054 que apresentam características fenotípicas semelhantes entre si e diferentes das variedades 'Pioneira' e 'Japonesa'.

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 11 *primers* decâmeros: OPD7, OPD8, OPD16, OPE20, OPF1, OPG8, OPG9, OPG17, OPH12, OPH16 e OPH17. 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. Em seguida, os géis foram fotografados sob luz UV.

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 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 analisados no trabalho.

Nº Acesso	Nº Acesso	Nº Acesso
1 'Pioneira' BGMC 261	10 'Pioneira' NR São José P2	19 'Japonesa' NR Sobradinho
2 'Pioneira' BGMC 861	11 'Pioneira' NR Tabatinga P1	20 'Japonesa' NR Santos Dumont
3 'Pioneira' BGMC 880	12 'Pioneira' NR Tabatinga P2	21 'Japonesa' Bica do DF
4 'Pioneira' BGMC 904	13 'Japonesa' BGMC 751	22 'Japonesa' NR Santos Dumont
5 'Pioneira' BGMC 982	14 'Japonesa' BGMC 759	23 'Japonesa' NR Córrego do Atoleiro
6 'Pioneira' BGMC 1051	15 'Japonesa' BGMC 779	24 'Japonesa' NR Tabatinga
7 'Pioneira' NR Rio Preto P1	16 'Japonesa' BGMC 824	25 'Japonesa' Paulo Cardoso
8 'Pioneira' NR Rio Preto P2	17 'Japonesa' BGMC 825	26 BGMC 753
9 'Pioneira' NR São José P1	18 'Japonesa' BGMC 873	27 BGMC 1054

NR – Núcleo Rural

RESULTADOS

Os 11 *primers* decâmeros geraram um total de 130 marcadores RAPD, perfazendo uma média de 11,8 marcadores por *primer*. Destes, 52 (40,0%) foram monomórficos (Tabela 2). A Figura 2 ilustra os produtos de amplificação gerados com a utilização do *primer* OPD-16. As distâncias genéticas entre os acessos relacionados à variedade 'Pioneira' variaram de 0,026 a 0,197 e entre os acessos relacionados à 'Japonesa' de 0,031 a 0,150. Tais distâncias genéticas evidenciam que diferenças fenotípicas verificadas entre acessos da 'Pioneira' e entre acessos da 'Japonesa' podem ter origem genética. Dentro dos acessos morfológicamente relacionados à 'Pioneira' o acesso do Núcleo Rural de Tabatinga P2 (Nº 11) foi o que apresentou maiores distâncias genéticas em relação aos demais acessos. Dentro dos acessos relacionados à 'Japonesa', o acesso Nº 24 do mesmo Núcleo Rural foi o que apresentou maiores distâncias genéticas em relação aos demais acessos.

O gráfico de dispersão (Figura 3) obtido com base na matriz de distâncias genéticas ilustra a proximidade genética entre os acessos relacionados à variedade 'Pioneira' (1 a 12) e entre os acessos relacionados à 'Japonesa' (13 a 25), entretanto evidencia as diferenças genéticas do acesso Nº 11 em relação à 'Pioneira' e do acesso Nº 24 em relação à 'Japonesa'. Os acessos BGMC 753 (26) e o BGMC 1054 (27) utilizados como referência ficaram em posições distintas do gráfico evidenciando as diferenças genéticas entre si e em relação aos acessos relacionados à 'Pioneira' e à 'Japonesa'.

A origem da variabilidade genética dentro dos acessos da mesma variedade deve ser melhor investigada, entretanto uma possível explicação é a ocorrência de cruzamentos dentro da mesma variedade, originando sementes e plantas que durante os sucessivos plantios adquiriram uma vantagem competitiva.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos indicam que diferenças fenotípicas (produtividade, qualidade) verificadas dentro de acessos de variedades cultivadas em diferentes Núcleos Rurais do Distrito Federal podem ter origem genética. Nesse sentido, tais materiais são muito interessantes em futuros trabalhos de seleção e melhoramento genético.

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

Primer	Seqüência 5' 3'	Nº de bandas polimórficas	Nº de bandas monomórficas
OPD-07	TTGGCACGGG	13	2
OPD-08	GTGTGCCCA	8	7
OPD-16	AGGCGTAAG	7	6
OPE-20	AACGGTGACC	3	10
OPF-01	ACGATCCTG	10	0
OPG-08	TCACGTCCAC	15	2
OPG-09	CTGACGTCCAC	7	5
OPG-17	ACGACGGACA	3	7
OPH-12	ACGCGCATGT	4	4
OPH-16	TCTCAGCTGG	2	4
OPH-17	CACTCTCCTC	6	5
TOTAL		78	52

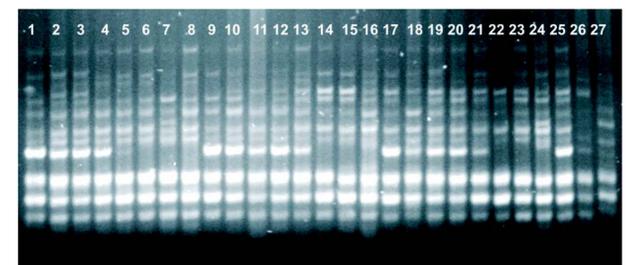


Figura 2. Produtos de amplificação de DNA genômico de 27 acessos de mandioca gerados com a utilização do *primer* OPD-16. Os números dos acessos correspondem aos apresentados na Tabela 1

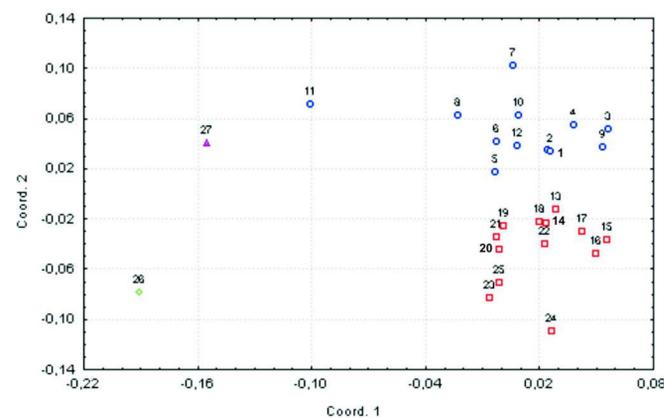


Figura 3. Dispersão gráfica de 27 acessos de mandioca com base na matriz de distâncias genéticas calculadas utilizando-se 130 marcadores RAPD. Os números dos acessos correspondem aos apresentados na Tabela 1.

LITERATURA CITADA

- CARVALHO, L.J.C.B.; SCHAAL, B.A. Assessing genetic diversity in the cassava (*Manihot esculenta* Crantz) germplasm collection in Brazil using PCR-based markers. *Euphytica*, Wageningen, v. 120, p. 133-142, 2001.
- 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, Nº 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>.