



USO DE CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS E MARCADORES RAPD PARA IDENTIFICAÇÃO DE ACESSOS DUPLICADOS OU REDUNDANTES EM BANCO DE GERMOPLASMA DE MANDIOCA DO CERRADO

Graciele Bellon¹, Fábio Gelape Faleiro², Josefino de Freitas Fialho², Eduardo Alano Vieira², Graciete Teixeira Santos³, Carla Albuquerque de Souza³, João Batista dos Santos²

¹ Bolsista DTI/Estagiária, CNPq/Embrapa Cerrados, bellon@cpac.embrapa.br

² Embrapa Cerrados, CP 08223, 73310-970 Planaltina DF, ffaleiro@cpac.embrapa.br

³ Estagiárias Embrapa Cerrados/UFG/Uniceub

INTRODUÇÃO

O Banco Regional de Germoplasma de Mandioca do Cerrado (BGMC) na Embrapa Cerrados reúne cerca de 500 acessos da espécie *Manihot esculenta* Crantz. Alguns desses acessos têm apresentado desempenho agrônomo muito semelhante entre si. A identificação de acessos duplicados ou redundantes em coleções de germoplasma mantidas in vivo constitui uma atividade estratégica visando economia de tempo e recursos financeiros necessários à sua conservação e caracterização.

OBJETIVO

Utilizar características morfológicas e marcadores moleculares RAPD como ferramenta na identificação de acessos duplicados ou redundantes no BGMC.

RESULTADOS

Com base nas características morfológicas, os 22 acessos foram agrupados em sete grupos (Tabela 1). O número de acessos por grupo variou de 2 a 6, sendo que os acessos dentro de cada grupo apresentaram as mesmas características morfológicas. Com base apenas nas 13 características morfológicas, esta amostra de acessos teria uma redundância de 68%.

Na caracterização molecular, foram obtidos 164 marcadores RAPD, dos quais 59,1% foram polimórficos (Tabela 2). As distâncias genéticas entre os acessos variaram entre 0,022 e 0,215 (Tabela 3). As menores distâncias genéticas foram obtidas entre os acessos BGMC 1045 e BGMC 1046 (0,02), BGMC 799 e BGMC 842 (0,04), BGMC 842 e BGMC 964 (0,04). Estas duplas de acessos apresentaram as mesmas características morfológicas. Com base nos 164 marcadores moleculares e considerando como redundantes acessos com distâncias genética menor ou igual a 0,06, esta amostra de acessos teria uma redundância de 22,7%.

Tabela 1. Avaliação de 13 características morfológicas de 22 acessos de mandioca, mantidos no Banco Regional de Germoplasma de Mandioca do Cerrado (BGMC). Formação de 7 grupos, (cada grupo esta representado com a mesma cor) apresentando as mesmas características morfológicas.

Nº	Acesso	CPR	CRTPA	CER	HR	CFA	CCR	CP	CEC	FLC	PBA	FLO	CCC	CEC
1	BGMC 810	2	5	4	2	7	1	9	7	9	1	1	3	3
2	BGMC 882	2	5	4	2	7	1	9	7	9	1	1	3	3
3	BGMC 846	1	5	4	2	7	1	5	7	3	1	1	3	1
4	BGMC 847	1	5	4	2	7	1	5	7	3	1	1	3	1
5	BGMC 1045	1	5	4	3	3	1	7	7	5	0	1	2	3
6	BGMC 1046	1	5	4	3	3	1	7	7	5	0	1	2	3
7	BGMC 363	1	5	3	3	7	1	7	5	2	0	1	2	2
8	BGMC 1099	1	5	3	3	7	1	7	5	2	0	1	2	2
9	BGMC 872	1	5	4	2	3	3	9	7	5	0	1	3	2
10	BGMC 969	1	5	4	2	3	3	9	7	5	0	1	3	2
11	BGMC 884	1	5	4	2	7	1	7	5	2	1	1	2	2
12	BGMC 890	1	5	4	2	7	1	7	5	2	1	1	2	2
13	BGMC 916	1	5	4	2	7	1	7	5	2	1	1	2	2
14	BGMC 938	1	5	4	2	7	1	7	5	2	1	1	2	2
15	BGMC 1087	1	5	4	2	7	1	7	5	2	1	1	2	2
16	BGMC 1088	1	5	4	2	7	1	7	5	2	1	1	2	2
17	BGMC 799	1	5	4	2	5	4	9	7	2	0	1	3	2
18	BGMC 842	1	5	4	2	5	4	9	7	2	0	1	3	2
19	BGMC 929	1	5	4	2	5	4	9	7	2	0	1	3	2
20	BGMC 944	1	5	4	2	5	4	9	7	2	0	1	3	2
21	BGMC 964	1	5	4	2	5	4	9	7	2	0	1	3	2
22	BGMC 968	1	5	4	2	5	4	9	7	2	0	1	3	2

Cor da polpa da raiz(CPR) (1)- branca, (2)- creme/ Cor dos ramos terminais nas plantas adultas (CRTPA)- (5) verde-arroxado/ Cor externa da raiz(CER) - (3) marrom claro, (4) marrom escuro/ Hábito de ramificação (HR) - (2)dicotômico, (3)tricotômico/ Cor da folha apical (CFA) - (3)verde claro,(5) verde escuro, (7)verde arroxado/ Cor do córtex da raiz(CCR) - (1) branco ou creme, (2) amarelo, (3) rosado/ Cor do pecíolo (CP) - (5)vermelho esverdeado, (7)vermelho, (9)roxo/ Cor externa do caule(CEC) - (5)dourado,(7)prateado/ Forma do lóbulo central(FLC) - (2)elíptica lanceolada,(3) obovada-lanceolada, (5) lanceolada, (4) linear-pirâmidal/ Pubescência do broto apical (PBA)- (0) ausência, (1) presença/ Floração (FLO) - (1)presença/ Cor do córtex do caule(CCC) - (2)verde claro, (3)verde escuro/ Cor da epiderme do caule(CEC)- (1)creme, (2) marrom claro, (3) marrom escuro.

CONCLUSÕES

Tanto a caracterização morfológica quanto a molecular foram úteis na identificação de acessos duplicados ou redundantes, entretanto a caracterização molecular apresentou maior resolução ou maior capacidade de detecção da variabilidade genética.

MATERIAL E MÉTODOS

Treze características morfológicas foram utilizadas para avaliar 22 acesso de mandioca mantidos no Banco de Germoplasma de mandioca da Embrapa Cerrado: Cor da polpa da raiz (CPR), Cor dos ramos terminais nas plantas adultas (CRTPA), Cor externa da raiz(CER), Hábito de ramificação (HR), Cor da folha apical (CFA), Cor do córtex da raiz(CCR), Cor do pecíolo (CP), Cor externa do caule(CEC), Forma do lóbulo central(FLC), Pubescência do broto apical (PBA), Floração (FLO), Cor do córtex do caule(CCC), Cor da epiderme do caule(CEC) (Tabela 1). As avaliações foram realizadas de acordo com as recomendações de Fukuda e Guevara (1998). A Figura 1 ilustra algumas dessas características.

O DNA genômico de cada acesso foi extraído utilizando o método do CTAB, com modificações (Faleiro et al., 2003). Dez primers decâmeros foram utilizados para a obtenção de marcadores moleculares RAPD (Tabela 2). Os marcadores foram convertidos em uma matriz de dados binários, e estimadas as distâncias genéticas entre os acessos com base no complemento de similaridade de Nei e Li(1979), utilizando-se o Programa Genes (Cruz, 1997).

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	15	4
OPD-08	GTGTGCCCA	0	13
OPD-16	AGGGCGTAAG	9	6
OPE-20	AACGGTGACC	8	7
OPF-01	ACGGATCTCT	6	10
OPG-08	TCACGTCCAC	19	5
OPG-09	CTGACGTCAC	17	3
OPG-17	ACGACCGACA	6	8
OPH-12	ACGCGCATGT	7	7
OPH17	CACCTCTCTC	10	4
		97	67



Manihot esculenta Crantz.

Tabela 3. Matriz de dissimilaridade genética entre 22 acessos de Mandioca calculada com base no complemento do coeficiente de similaridade de Nei e Li, utilizando-se 164 marcadores RAPD.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
1	0,00	0,14	0,17	0,17	0,19	0,20	0,17	0,17	0,18	0,17	0,20	0,18	0,16	0,20	0,18	0,22	0,19	0,17	0,16	0,19	0,18	0,18
2	0,14	0,00	0,12	0,10	0,15	0,13	0,15	0,15	0,13	0,12	0,18	0,15	0,13	0,14	0,13	0,18	0,16	0,14	0,13	0,10	0,15	0,15
3	0,17	0,12	0,00	0,00	0,15	0,14	0,15	0,17	0,13	0,14	0,15	0,14	0,13	0,16	0,14	0,15	0,18	0,15	0,15	0,15	0,16	0,15
4	0,17	0,10	0,00	0,00	0,12	0,13	0,15	0,13	0,13	0,16	0,14	0,14	0,08	0,14	0,17	0,17	0,13	0,14	0,10	0,13	0,13	0,13
5	0,19	0,15	0,15	0,12	0,00	0,08	0,12	0,11	0,14	0,14	0,15	0,13	0,12	0,13	0,11	0,14	0,14	0,12	0,13	0,12	0,13	0,12
6	0,20	0,13	0,14	0,12	0,02	0,00	0,11	0,12	0,13	0,13	0,14	0,12	0,11	0,15	0,12	0,15	0,13	0,12	0,13	0,13	0,12	0,11
7	0,17	0,15	0,15	0,13	0,12	0,11	0,00	0,00	0,12	0,11	0,15	0,11	0,10	0,14	0,12	0,16	0,12	0,10	0,10	0,14	0,10	0,11
8	0,17	0,15	0,17	0,15	0,11	0,12	0,09	0,00	0,13	0,15	0,17	0,15	0,15	0,18	0,16	0,15	0,14	0,12	0,13	0,16	0,13	0,15
9	0,18	0,13	0,13	0,13	0,14	0,13	0,12	0,13	0,00	0,11	0,15	0,15	0,13	0,14	0,15	0,15	0,17	0,14	0,14	0,13	0,15	0,16
10	0,17	0,12	0,14	0,13	0,14	0,13	0,11	0,15	0,11	0,13	0,13	0,13	0,13	0,15	0,15	0,15	0,16	0,14	0,10	0,12	0,12	0,12
11	0,20	0,18	0,15	0,16	0,15	0,14	0,15	0,17	0,15	0,15	0,00	0,13	0,12	0,15	0,15	0,17	0,17	0,16	0,15	0,19	0,16	0,16
12	0,18	0,15	0,14	0,14	0,13	0,12	0,11	0,15	0,15	0,12	0,13	0,00	0,12	0,16	0,07	0,12	0,12	0,10	0,13	0,14	0,11	0,10
13	0,16	0,13	0,14	0,14	0,12	0,11	0,10	0,15	0,13	0,13	0,12	0,12	0,00	0,13	0,13	0,15	0,12	0,11	0,10	0,12	0,10	0,11
14	0,20	0,14	0,16	0,08	0,13	0,15	0,14	0,18	0,14	0,13	0,15	0,16	0,13	0,00	0,12	0,15	0,16	0,12	0,13	0,11	0,12	0,12
15	0,18	0,13	0,14	0,14	0,11	0,12	0,12	0,16	0,15	0,13	0,15	0,07	0,13	0,12	0,00	0,12	0,14	0,11	0,13	0,12	0,12	0,11
16	0,22	0,18	0,15	0,17	0,14	0,15	0,16	0,15	0,15	0,15	0,17	0,12	0,15	0,16	0,13	0,08	0,16	0,14	0,10	0,17	0,14	0,14
17	0,19	0,16	0,18	0,17	0,14	0,13	0,12	0,14	0,17	0,16	0,17	0,12	0,12	0,16	0,14	0,15	0,00	0,04	0,06	0,12	0,08	0,08
18	0,17	0,14	0,15	0,13	0,12	0,10	0,12	0,14	0,14	0,16	0,10	0,11	0,12	0,11	0,14	0,04	0,00	0,04	0,10	0,04	0,04	0,04
19	0,17	0,13	0,15	0,14	0,13	0,13	0,10	0,13	0,14	0,14	0,15	0,13	0,10	0,13	0,13	0,18	0,06	0,04	0,00	0,11	0,06	0,06
20	0,16	0,10	0,15	0,10	0,13	0,13	0,14	0,16	0,13	0,10	0,19	0,14	0,12	0,11	0,12	0,17	0,12	0,10	0,11	0,00	0,10	0,12
21	0,19	0,15	0,16	0,13	0,12	0,12	0,10	0,13	0,15	0,12	0,16	0,11	0,10	0,12	0,12	0,14	0,06	0,04	0,06	0,10	0,00	0,04
22	0,18	0,15	0,15	0,13	0,12	0,11	0,11	0,15	0,16	0,12	0,16	0,10	0,11	0,12	0,11	0,14	0,06	0,04	0,06	0,12	0,04	0,00



Figura 1- Ilustração de algumas das características morfológicas avaliadas

BIBLIOGRAFIA CITADA

- 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: CPAC, 2003. 6p.
- CRUZ, C.D. Programa Genes: aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: UFV, 1997. 442p.
- STATSOFT INC. Statistica for Windows [Computer program manual] Tulsa, OK. StatSoft Inc. 2300 Ecast 14th Street, Tulsa, 1999.
- FUKUDA, W.M.G.; GUEVARA, C.L. Descritores morfológicos e agrônomicos para caracterização de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz.). Cruz das Almas: Embrapa: CNPMP – 1998, 38 p.