

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

Fábio Gelape Faleiro¹; Josefino de Freitas Fialho¹; Graciele Bellon¹;

Eduardo Alano Vieira¹, Wânia Maria Gonçalves Fukuda²

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

E-mail: ffaleiro@cpac.embrapa.br;

²*Embrapa Mandioca e Fruticultura*, Caixa Postal 007, 44380-000 Cruz das Almas, BA.

INTRODUÇÃO

A presença de variabilidade fenotípicas entre acessos podem ter como base as diferenças genéticas, mas também podem 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).

Nesse trabalho, marcadores moleculares RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) foram utilizados para avaliar a variabilidade genética de acessos morfológicamente similares às variedades ‘Pioneira’ e ‘Japonesa’ mantidos no banco de germoplasma da *Embrapa Cerrados* e cultivados em diferentes Núcleos Rurais no Distrito Federal. O objetivo principal de tal avaliação foi analisar a origem (genética ou devido à plasticidade) de diferenças fenotípicas verificadas em acessos da mesma variedade cultivados no Distrito Federal.

METODOLOGIA

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. 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 uL, contendo Tris-HCl 10 mM (pH 8,3),

KCl 50 mM, MgCl₂ 3 mM, 100 uM de cada um dos desoxiribonucleotídios (dATP, dTTP, dGTP e dCTP), 0,4 uM 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. 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 ul 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.

Tabela 1. Acessos de mandioca analisados no presente trabalho.

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

NR – Núcleo Rural.

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).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

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. 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 morfologicamente 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 (Fig. 1) 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’.

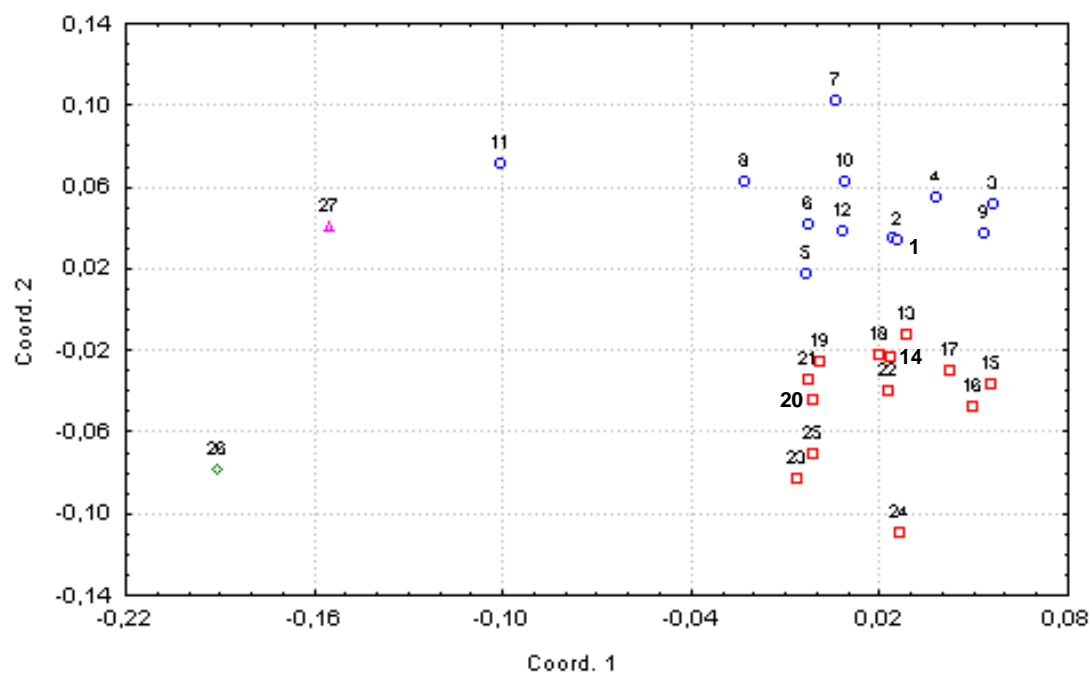


Fig. 1. Dispersão gráfica de 27 acessos de mandioca com base na matriz de distâncias genéticas calculadas utilizando-se 130 marcadores RAPD. Os números dos acessos correspondem aos apresentados na Tabela 1.

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.

CONCLUSÃO

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.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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, 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>.