

Similaridade Genética no Germoplasma de Guaranazeiro

Nelcimar Reis Sousa¹, Firmino José do Nascimento Filho¹, André Luiz Atroch¹

Introdução

O guaranazeiro (*Paullinia cupana* var. *sorbilis* (Mart.) Ducke) é um dos componentes da diversidade cultural e vegetal de reconhecido potencial econômico para a agricultura amazônica. A exploração da espécie em plantios racionais agrega valores para produtores, diretamente pela elaboração de produtos naturais, como o pó de guaraná usado no preparo de sucos ou indiretamente como fonte de matéria-prima para aproveitamento da cafeína natural na industrialização de produtos medicinais e refrigerantes.

A Embrapa Amazônia Ocidental tem concentrado esforços para reunir variabilidade genética em coleção *in vivo* de germoplasma, visando sua utilização no melhoramento da espécie. A coleção constitui na principal reserva de alelos para busca de soluções para os problemas da cultura, tais como a ocorrência de doenças e a baixa produtividade. Os primeiros esforços de pesquisa permitiram a seleção de clones com elevados potenciais produtivos e tolerantes a doenças.

A continuidade das pesquisas se faz necessária para fundamentar a tomada de decisão sobre implementação de novos procedimentos técnicos que assegurem a manutenção da variabilidade genética da espécie sem comprometer a obtenção de ganhos genéticos futuros na seleção de populações e/ou clones. O estudo da similaridade genética entre os clones de guaraná conservados e clones selecionados poderá fornecer dados importantes para estabelecer estratégias de conservação e utilização no melhoramento.

A informação molecular pode auxiliar no direcionamento de enriquecimento da base genética durante o andamento de um programa de melhoramento, bem como na avaliação da redundância e deficiências das coleções de germoplasma, gerando dados sobre a eficiência do processo de coleta, manutenção, manejo e ampliação de um banco de germoplasma (Scroch et al. 1992). Considerado o mais simples em termos operacionais, o RAPD apresenta a vantagem da utilização de iniciadores de seqüência arbitrária para dirigir a reação de amplificação, eliminando assim a necessidade do conhecimento prévio de seqüência (Williams et al., 1990).

Neste trabalho foram geradas informações sobre a similaridade genética em nível molecular para os diversos clones da coleção de germoplasma da Embrapa Amazônia Ocidental, com a perspectiva de aumentar o conhecimento sobre o recurso genético e orientar novas decisões no programa de pesquisa da cultura.

¹Embrapa Amazônia Ocidental, Caixa Postal 319, CEP 69011-970, Manaus AM, e-mail: nelcimar@cpa.embrapa.br

Material e Métodos

O estudo reuniu clones descendentes das primeiras coletas de sementes em plantios tradicionais da região de Maués até clones da última coleta de estacas realizada nos municípios de Iranduba, Manaus e Maués; os quais são identificados respectivamente por CIR, CMA e CMU. Foram analisados 75 clones da coleção da Embrapa Amazônia Ocidental, mantida no campo experimental da sede da Embrapa Amazônia Ocidental. Localizada no km 29 da Rodovia AM010 (Manaus-Itacoatiara), em área com altitude de 50m, em relação ao nível do mar, latitude de 02°52" S e longitude de 59°52" W Gr, com temperatura média anual de 26°C e uma precipitação superior a 60mm no mês mais seco do ano.

O DNA genômico de cada clone foi isolado de acordo com o protocolo de extração CTAB e a reação de RAPD foi semelhante a utilizada por Ferreira & Grattapaglia (1998). Os fragmentos amplificados de DNA foram separados em gel de agarose 1% e corado com brometo de etídio. As imagens dos géis foram capturadas com máquina digital e arquivadas em computador para análise dos padrões de bandas. A matriz binária resultante serviu para estimar as similaridades genéticas, com base no coeficiente de Dice (Rohlf 1992). Na análise dos dados foram construídos dendrogramas para melhor visualização das relações entre os clones.

Resultados e Discussão

Dezesseis *primers* foram selecionados e produziram 150 bandas úteis para a análise da similaridade do germoplasma de guaraná. O número de bandas polimórficas variou de cinco (OPAQ-05) a treze (OPAL-09 e OPAL-20), com a média em torno de nove bandas por *primer*. Em espécies propagadas assexuadamente, assim como o guaraná, a quantidade de bandas tem sido variável, 88 em mandioca (Colombo et al., 2000) e 149 em acerola (Salla et al., 2002). Em rambutan (*Nephelium lappaceum* L.), espécie da mesma família do guaraná, 73 bandas polimórficas foram suficientes para caracterizar acessos da coleção de germoplasma (Chew et al., 2002). O número elevado de bandas polimórficas sugere a presença de elevado polimorfismo entre os clones de guaraná.

Na matriz dos coeficientes de similaridade observou-se claramente que os coeficientes de similaridade variaram de 0,49 a 0,82, com similaridade média de 0,67. Os clones CMU948 e CMU949 foram os mais similares (0,82), enquanto CMA227 e CMA463 foram os menos similares (0,49). O grau de similaridade foi próximo ao observado em estudos da variabilidade intraespecífica de germoplasma de espécies alógamas, tais como 0,49 a 0,96, em rambutan (Chew et al., 2002); e 0,53 a 0,90 em pupunha (Sousa et al., 2001).

A presença de apenas dois indivíduos similares (CMU948 e CMU949) com valor máximo de similaridade genética (0,82) sugerem que a coleção conserva ampla variação genética (Figura 1). Os

clones predominantes na coleção são de Maués, isso pode significar que a região contém muita diversidade para ser explorada. Por outro lado, a falta de agrupamento relacionado com os locais de

coleta fortalece a idéia de que todo o germoplasma de guaraná realmente possa ter sido derivado da população de plantas cultivadas naquela região.

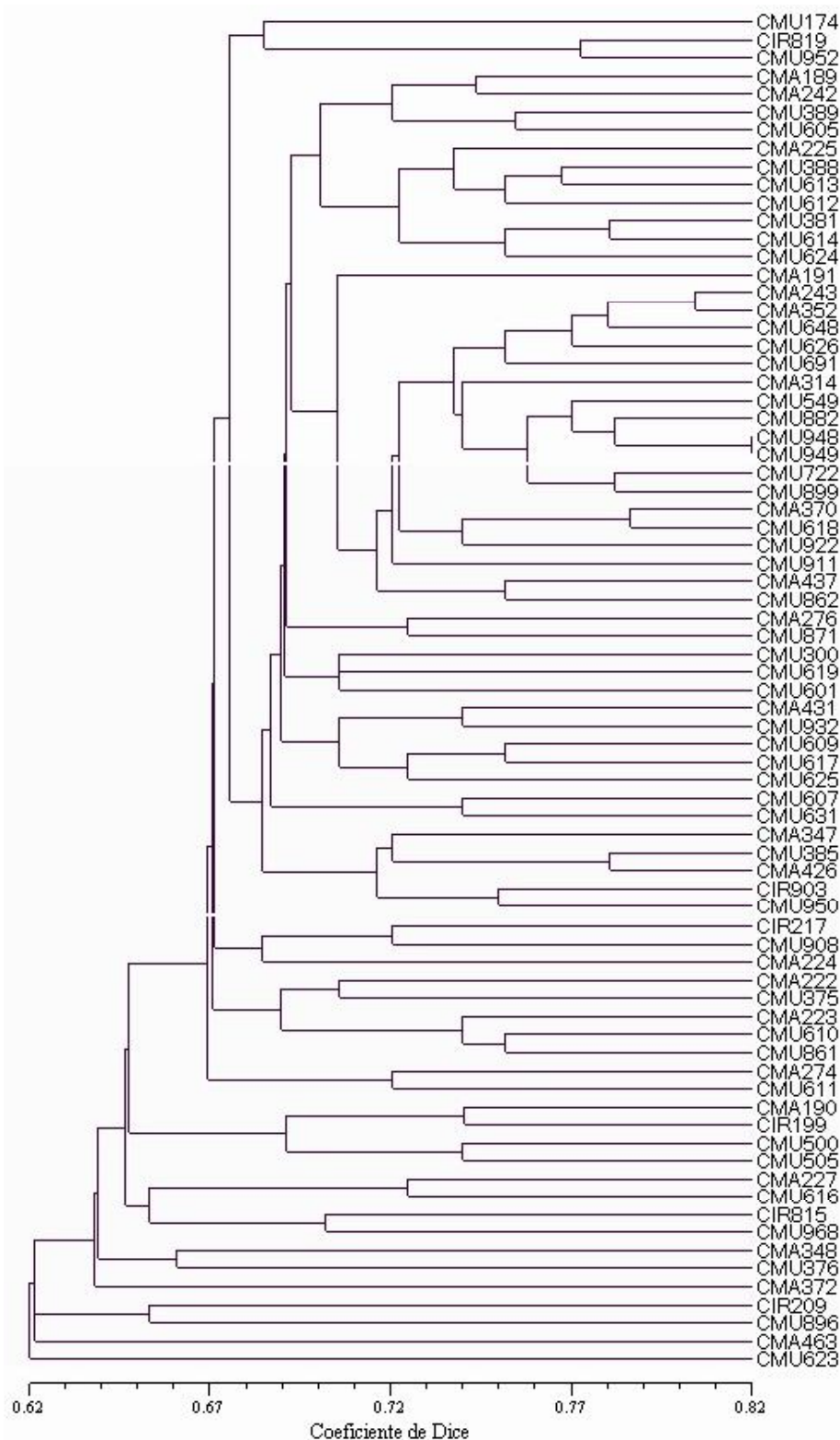


Figura 1. Dendrograma das similaridades genéticas entre germoplasma guaraná, método UPGMA.

Conclusões

Não houve associação da similaridade genética com os locais de coleta sugerindo que os clones avaliados possam ter sido derivado de populações de plantas com origem única.

Em função dos resultado, acredita-se que seria mais vantajoso um esforço de prospecção para localização de populações naturais na região de distribuição da espécie, alto do Rio Negro, no estado do Amazonas, do que novas coletas em áreas de .

Literatura Citada

CHEW, P. C., CLYDE, M.M.; NORMAH; MN; SALMA, I. DNA polymorphism in accessions of *Nephelium lappaceum* L. In: RAO, V.R.; BROWN, A. H. D.; JACKSON, M. T. (Ed.). **Managing plant genetic diversity**. Roma: IPGRI, 2002. p.57-60, 2002.

COLOMBO, C.; SECOND, G.; CHARRIER, A. Diversity within American cassava germ plasm based on RAPD markets. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v.23, n.1, p.189-199, 2000.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. Brasília: Embrapa-CENARGEN, 1996, 220p..

ROHLF, F.J. **Numerical taxonomy and multivariate analysis system**. Version 1.70. Exeter Software, Setauket, N.Y. 1992.

SALLA, M. F. S; RUAS, C. de F.; RUAS, P. M.; CARPENTIERI-PÍPOLO, V. Uso de marcadores moleculares na análise da variabilidade genética em acerola (*Malpighia emarginata* D. C.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n.1, p.15-22, 2002.

SCROCH, P.; TIVANG, J.; NIENHUIS, J. Genetic relationships using RAPD Markers Data. In: APPLICATIONS OF RAPD TECHNOLOGY TO PLANT BREEDING, Minneapolis, 1992. **Proceedings...**Minneapolis: Crop Science Society of America, 1992, p.26-30.

SOUZA, N. R.; RODRIGUES, D. P.; CLEMENT, C. R.; NAGÃO, E. O.; ASTOLFI FILHO, S. Discriminação de raças primitivas de pupunha (*Bactris gasipaes*) na amazônia brasileira por meio de marcadores moleculares (RAPDs). **Acta Amazônica**, Manaus, v.31, n.4, p.539-545, 2002.

WILLIAMS, J.G.K.; KUBELIK, A.R.; LIVAK, K.J. et al. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, Oxford, v.18, n.22, p.6531-6535, 1990.