

CORRELAÇÃO ENTRE DESCRITORES MULTICATEGÓRICOS E MARCADORES ISSR EM ACESSOS DO BANCO DE GERMOPLASMA DE SERINGUEIRA DA EMBRAPA

Jamile da Silva Oliveira⁽¹⁾, Fábio Gelape Faleiro⁽¹⁾, Wanderlei Antonio Alves de Lima⁽¹⁾, Josefino de Freitas Fialho⁽¹⁾, Adriano Delly Veiga⁽¹⁾, Marcelo Fideles Braga⁽¹⁾, Ailton Vitor Pereira⁽²⁾

⁽¹⁾ Embrapa Cerrados, jamile.oliveira@embrapa.br, fabio.faleiro@embrapa.br, wanderlei.lima@embrapa.br, josefinno.fialho@embrapa.br, adriano.veiga@embrapa.br, marcelo.fideles@embrapa.br ⁽²⁾ Embrapa Produtos e Mercado, ailton.pereira@embrapa.br

Palavras-chave: caracterização morfológica, caracterização molecular, diversidade genética, *Hevea* spp.

INTRODUÇÃO

A seringueira (*Hevea brasiliensis* Müell. Arg.), por ser a única espécie explorada comercialmente e que produz quantidades de látex de alta qualidade para a produção de borracha natural (ROSADO et al, 2006), possui grande potencial socioeconômico e ambiental. A borracha da seringueira é matéria prima utilizada no transporte, indústria, material bélico e outros, perfazendo cerca de 50 mil produtos diferentes, aplicações como adesivos, pneumáticos, luvas descartáveis, material cirúrgico (tubos intravenosos, seringas, estetoscópios, cateteres e esparadrapos), preservativos, pisos e revestimentos, impermeabilização de fios e tecidos (BRAGANÇA, 2009).

Países como Tailândia, Indonésia, Malásia, Índia e Vietnã despontaram como os maiores produtores de borracha natural do mundo e juntos somam cerca de 81% de toda a borracha produzida em 2012. Neste mesmo ano, o Brasil produziu apenas cerca de 1,51% do total mundial e o Estado de São Paulo contribuiu com cerca de 54% da produção nacional (IAC, 2015).

As características morfológicas são de grande importância para subsidiar trabalhos de seleção e melhoramento genético da espécie. Segundo Alem et al. (2015), o vigor, que é uma característica determinada a partir da medida do perímetro do caule, pode ser considerado o caráter mais importante para determinar a precocidade de um clone de seringueira, permitindo que o heveicultor tenha um retorno mais rápido do seu investimento. Caracteres morfológicos juntamente com marcadores moleculares, podem ser utilizados para estimar a variabilidade genética entre clones de seringueira, seja com uso desses marcadores de forma isolada ou conjunta. Estudos sobre a variabilidade genética de diferentes genótipos da espécie geram importantes informações para subsidiar diferentes práticas de manejo, estabelecimento e manejo de bancos de germoplasma e também diferentes etapas de seleção e recombinação no melhoramento genético (FALEIRO, 2007). Para tais estudos, caracteres morfológicos e moleculares têm sido utilizados isoladamente ou em conjunto. Neste trabalho, objetivou-se avaliar a correlação entre as distâncias genéticas obtidas por meio de descritores multicategóricos e marcadores ISSR em acessos de seringueira.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado em 29 acessos de seringueira pertencentes ao Banco de Germoplasma de Seringueira (BGHevea) e no Laboratório de Genética e Biologia Molecular da Embrapa Cerrados. Maiores detalhes podem ser observados na Tabela 1. Um acesso de *Hevea spruceana* foi utilizado como outgroup.

Foram avaliados 17 descritores morfológicos multicategóricos, os quais foram obtidos avaliando-se 12 estruturas de cada planta no Banco de Germoplasma. Distâncias genéticas entre os acessos foram estimadas com base no coeficiente de coincidência simples. Para análises moleculares, foram obtidos marcadores utilizando a técnica ISSR, utilizando a metodologia de extração de DNA do CTAB, com algumas modificações (FALEIRO et al., 2003). Ao término da amplificação e posterior separação eletroforética, os géis foram fotografados sob luz ultravioleta. Os marcadores ISSR gerados foram convertidos em uma matriz de dados binários e distâncias genéticas foram estimadas com base no coeficiente de Nei e Li.

Os valores de distâncias genéticas obtidas com base nos marcadores morfológicos e moleculares foram ponderados, de modo que o maior valor fosse de 100. Após isso, foi realizada a



análise descritiva das estimativas de distâncias genéticas (valores mínimo e máximo, média e o coeficiente de variação), e estimadas correlações de Pearson entre tais estimativas, com o auxílio do programa Genes (CRUZ, 2013).

Tabela 1. Relação dos acessos utilizados do banco de germoplasma de seringueira da Embrapa Cerrados, Planaltina, DF, 2017.

Amostra	BGHevea	Genótipos	Origem
1	745	OS 22	Malásia
2	759	PB 291	Malásia
3	762	PB 311	Malásia
4	763	PB 312	Malásia
5	764	PB 413	Malásia
6	765	PB 324	Malásia
7	766	PB 326	Malásia
8	768	PB 350	Malásia
9	769	PB 355	Malásia
10	770	PC 119	Malásia
11	776	PM 10	Malásia
12	840	RRIM 713	Malásia
13	850	RRIM 901	Malásia
14	859	RRIM 937	Malásia
15	860	RRIM 938	Malásia
16	863	SCAT 7/20/56	China
17	648	GT 1	Indonésia
18	831	RRIM 600	Malásia
19	778	PR 255	Indonésia
20	749	PB 217	Malásia
21	639	F 4542	Pará
22	638	F 4512	Pará
23	746	P 10	Pará
24	<i>H. spruceana</i>	Spr	Acre
25	635	CPAC 1	Amazonas
26	752	PB 235	Malásia
27	676	IAN 6486	Pará
28	677	IAN 6543	Pará
29	771	PC 140	Malásia

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A diversidade genética existente entre os acessos do BGHevea da Embrapa Cerrados foi evidenciada pela análise da estatística descritiva entre as distâncias genéticas obtidas, utilizando os descritores morfológicos multicategóricos e marcadores moleculares ISSR. Houve grande amplitude e variância de valores das distâncias genéticas estimadas, com base nos dois grupos de caracteres avaliados. Essa informação é importante, pois para que haja progresso genético por meio da seleção de genótipos superiores é necessária a existência de variabilidade genética entre os acessos avaliados (FREITAS et al., 2009).

Na Tabela 2, observa-se que os descritores multicategóricos apresentaram valores mínimo e máximo de 0,00 e 100; respectivamente. As distâncias genéticas obtidas por meio dos marcadores ISSR apresentaram valores mínimo e máximo de 10,24 e 100, respectivamente. Mediante a observação dos valores apresentados de desvio padrão (DP), verificou-se a existência de diferença entre os acessos para os dois grupos de caracteres avaliados, corrobora a alta variabilidade genética entre os 29 acessos de seringueira avaliados (Tabela 2).



Quanto às estimativas dos coeficientes de correlação de Pearson entre as distâncias genéticas estimadas com base nos descritores multicategóricos e marcadores ISSR, observou-se, que as distâncias obtidas com base nos descritores apresentaram correlação positiva e significativa com as distâncias obtidas com base nos marcadores ISSR (Tabela 3).

Tabela 2. Estatística descritiva, valores mínimos, média, máximo, variância e desvio padrão das estimativas de distância genética utilizando descritores multicategóricos e marcadores ISSR em 29 acessos de *Hevea* spp. do Banco de Germoplasma da Embrapa Cerrados, Planaltina/DF.

Marcadores	Mínimo	Média	Máximo	Variância	Desvio Padrão
Multicategóricos	0,00	41,87	100,00	37,63	248,16
ISSR	10,24	59,01	100,00	28,06	274,20

Na correlação das matrizes de distâncias genéticas obtidas, o coeficiente de correlação encontrado foi baixo ($r=0,11$, $P<0,01$), porém, significativo pelo teste t e pelo teste de Mantel com 10.000 simulações, embora, não significativo pela Tabela A11 de Snedecor & Cochran (1974).

O resultado da estimativa de correlação indicou a complementaridade e coerência entre os grupos de características estudados. O resultado da correlação de Pearson, também ressalta a importância do uso das diferentes grupos de características para estudos mais completos de diversidade genética de recursos genéticos de seringueira, pois cada uma das ferramentas estima a variabilidade de forma distinta.

Tabela 3. Estimativas dos coeficientes de correlação de Pearson entre as distâncias genéticas calculadas com base nos marcadores multicategóricos e marcadores ISSR em 29 acessos de *Hevea* spp. do Banco de Germoplasma da Embrapa Cerrados, Planaltina/DF.

Marcadores	Descritores Multicategóricos
ISSR	0,11**

**significativo pelo teste t a 1% de probabilidade

Na Figura 1 está ilustrada a baixa correlação existente entre as distâncias genéticas obtidas entre os descritores multicategóricos e os marcadores ISSR. Esse resultado indica que a caracterização dos genótipos de seringueira dever ser realizada utilizando as duas estratégias, como ferramentas complementares no processo de caracterização.

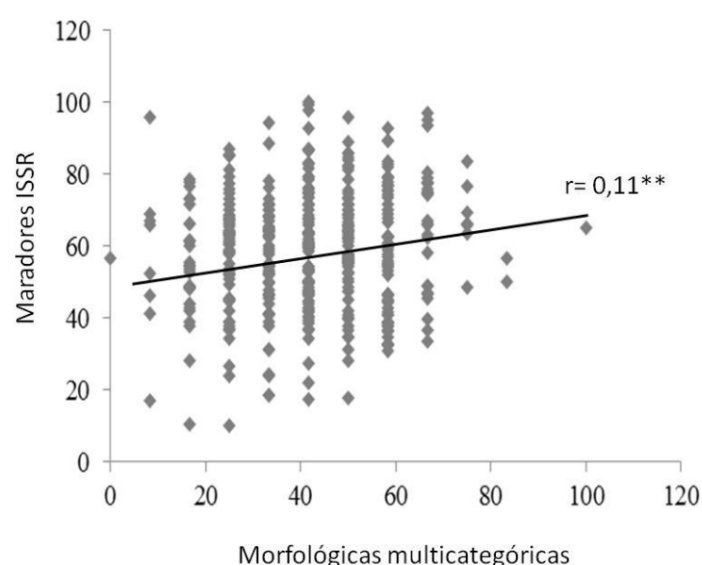


Figura 1. Gráfico da correlação entre as distâncias genéticas obtidas entre 29 acessos de *Hevea* spp. do Banco de Germoplasma da Embrapa Cerrados, com base em características morfológicas multicategóricas e marcadores moleculares ISSR.

A possibilidade de utilização de diferentes tipos de caracteres de forma complementar pode ser considerada como o melhor caminho para a caracterização de recursos genéticos e estudos de diversidade genética. O uso de marcadores moleculares do DNA é estratégico, por não sofrerem influência do ambiente e por permitirem a obtenção de um número praticamente ilimitado de polimorfismos genéticos obtidos diretamente do DNA (FALEIRO, 2007). Por sua vez, o uso de marcadores morfológicos é fundamental para a caracterização e distinguibilidade fenotípica de acessos/cultivares.

Uma análise da distribuição de frequência das estimativas de distâncias genéticas mostra que, com base nos descritores multicategóricos, a maioria dos valores de distância genética ficaram entre 41 e 60 e com base em marcadores moleculares ISSR, a maioria das distâncias ficaram entre 61 e 80 (Figura 2). Este resultado mostra que marcadores moleculares apresentam um maior poder de diferenciação dos acessos, quando comparados com os descritores morfológicos multicategóricos.

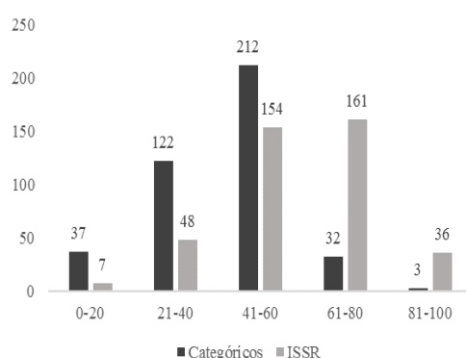


Figura 2. Frequência das distâncias genéticas obtidas entre 29 acessos de seringueira com base em descritores morfológicos multicategóricos e marcadores ISSR.

Bicalho et al. (2008) buscando estimar a similaridade genética entre genótipos de seringueira, provenientes de regiões distintas do País, com base em marcadores moleculares RAPD, observaram que os índices de similaridade estimados para todos os genótipos variaram de 0,56 a 1,00, apresentando média de 0,77, onde as menores classes de similaridade estão representadas por um maior número de genótipos. Gouvêa et al. (2010) realizaram estudos com SSR e encontraram alta diversidade genética para 60 genótipos de *H. brasiliensis*.

No presente estudo, tanto os descritores morfológicos multicategóricos quanto os marcadores moleculares ISSR, mostraram-se ferramentas informativas na caracterização da divergência existente entre os diferentes acessos de seringueira do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Cerrados, podendo ser utilizados nas etapas de caracterização e no melhoramento genético da espécie.

CONCLUSÃO

Há correlação significativa e positiva entre as distâncias genéticas obtidas com base em descritores multicategóricos e marcadores moleculares dos acessos de seringueira, porém para trabalhos mais completos de caracterização dos acessos, recomenda-se a obtenção e interpretação dos grupos de características de forma separada.

REFERÊNCIAS

- ALEM, H. M.; GOUVÊA, L. R. L.; SILVA, G. A. P.; OLIVEIRA, A. L.; GONÇALVES, P. S. Avaliação de clones de seringueira para a região noroeste do Estado de São Paulo. **Revista Ceres**, v. 62, n.5, p. 430-437, 2015.
- BICALHO, K. C.; OLIVEIRA, L. E. M. DE; SANTOS, J. B. DOS.; MESQUITA, A. C.; MENDONÇA, E. G. Similaridade genética entre clones de seringueira (*Hevea brasiliensis*), por meio de marcadores RAPD. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 5, p. 1510-1515, set/out. 2008.

CRUZ, C.D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 35, n. 3, p. 271-276, 2013.

FALEIRO, F. G. **Marcadores genético-moleculares aplicados aos programas de conservação e uso de recursos genéticos**. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2007. 102p.

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).

GOUVÊA, L. R. L.; RUBIANO, L. B.; CHIORATTO, A. F.; ZUCCHI, M. I.; PAULO DE SOUZA GONÇALVES, P. S. Genetic divergence of rubber tree estimated by multivariate techniques and microsatellite markers. **Genetics and Molecular Biology**, n. 33, v.2, p. 308-318, 2010.

INSTITUTO DE ECONOMIA AGRÍCOLA-IEA. Custos de manutenção e rentabilidade da seringueira em plena produção, Região Noroeste do Estado de São Paulo, 2014.

IAC. A importância da borracha natural. 2015. Online.<http://iac.impulsahost.com.br/areasdepesquisa/seringueira/importancia.php>.

ROSADO, P. L.; PIRES, M. D. M.; SANTOS, D. F. D. Borracha natural: Mercado externo e interno. In: ALVARENGA, A. D. P.; ROSADO, P. L.; CARMO, C. A. F. DE S. DO; TÔSTO, S. G. (Orgs.). **Seringueira: aspectos econômicos e sociais e perspectivas para o seu fortalecimento**. Viçosa-MG: Editora UFV, 2006. p. 49-72.

SNEDECOR, G.W.; COCHRAN, W. G. **Statistical Methods**, The Iowa State University Press, Ames, Iowa, 1974, 593p.

