



43ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia  
24 a 27 de Julho de 2006  
João Pessoa - PB

## **ANÁLISE DA VARIABILIDADE GENÉTICA MOLECULAR DE UMA COLEÇÃO DE TRABALHO DE GUANDU (**

FÁBIO GELAPE FALEIRO (1), FRANCISCO DUARTE FERNANDES (2), ALEXANDRE DE OLIVEIRA BARCELLOS (3), RONALDO PEREIRA ANDRADE (4), GRACIELE BELLON (5), KEIZE PEREIRA JUNQUEIRA (6), RENATO FERNANDO AMABILE (7), GERALDO BUENO MARTHA JÚNIOR (8), LOURIVAL VILELA (9), ALLAN KARDEC BRAGA RAMOS (10), CLÁUDIO TAKAO KARIA (11), RODOLFO GODOY (12)

(1) Pesquisador da Embrapa Cerrados, BR 020, Km18, Caixa Postal 08223, Planaltina, DF, CEP 73301-970. e-mail: ffaleiro@cpac.embrapa.br

(2,3,4,7,8,9,10,11) Pesquisadores da Embrapa Cerrados

(5,6) Estagiárias da Embrapa Cerrados

(12) Pesquisador da Embrapa Pecuária Sudeste

### **RESUMO**

O potencial uso do guandu (*Cajanus cajan*) em sistemas de integração lavoura-pecuária e para a recuperação de pastagens degradadas ainda não foi completamente explorado. Neste trabalho, a variabilidade genética de uma coleção de 15 acessos foi analisada com base em marcadores moleculares RAPD, visando auxiliar e subsidiar a seleção inicial de acessos para testes em sistemas de integração lavoura-pecuária e para a recuperação de pastagens. O DNA genômico de cada acesso foi extraído e 14 primers decâmeros [OPD (4, 7), OPE (11, 18), OPF (4, 5, 10, 12), OPG (4, 8, 13, 15), OPH (8,18)] foram utilizados para a obtenção de marcadores moleculares RAPD. Os marcadores obtidos foram convertidos em uma matriz de dados binários, a partir da qual foram estimadas as distâncias genéticas entre os acessos e realizadas análises de agrupamento. Foram obtidos 98 marcadores, sendo que apenas 19,4% dos mesmos foram polimórficos. As distâncias genéticas entre os 15 acessos variaram entre 0,000 e 0,052 e o acesso 'g59-95' foi o que apresentou maior média de distâncias genéticas dentro da coleção de trabalho. Os marcadores moleculares demonstraram uma baixa variabilidade genética desta coleção de trabalho. Para reduzir custos experimentais e evitar desnecessária trabalho de avaliação, acessos muito próximos geneticamente não deveriam ser incluídos nos testes agrônômicos em sistemas de integração lavoura-pecuária e para a recuperação de pastagens.

### **PALAVRAS-CHAVE**

germoplasma, leguminosa forrageira

**MOLECULAR GENETIC VARIABILITY ANALYSIS OF PIGEON PEA (CAJANUS CAJAN)  
WORK COLLECTION TO ASSIST THE SELECTION OF ACCESSIONS TO AGRONOMIC  
TESTS IN CROP-LIVESTOCK INTEGRATED SYSTEMS AND RECLAMATION DEGRADED  
PASTURE**

### **ABSTRACT**

The potential use of pigeon pea (*Cajanus cajan*) in crop-livestock integrated systems and to reclaim

pasture degraded has not been fully exploited. In order to nominate accessions to be included in agronomic tests in crop-livestock systems, the genetic variability of a "C. cajan" collection (15 accessions), was studied using RAPD markers. This collection is under evaluation for forage production and quality in a National Trial Network. A DNA sample of each accession was extracted and amplified using 15 decamer primers [OPD (4, 7), OPE (11, 18), OPF (4, 5, 10, 12), OPG (4, 8, 13, 15), OPH (8,18)] to obtain RAPD molecular markers. These markers, transformed into a binary matrix data, were used to estimate genetic distances among accessions and to perform cluster analysis. Ninety eight molecular markers were obtained and only 19.4% of them showed polymorphic patterns. The genetic distances among the 15 accessions ranged from 0.000 and 0.052 and "g59-95" was the accession with the largest genetic distance average in the collection. The molecular markers showed the low genetic variability of this collection and, to reduce experimental costs and avoid unnecessary evaluation work, genetically close accessions should not be included in the agronomic tests for crop-livestock systems and for reclaim degraded pasture.

## **KEYWORDS**

germplasm, forage leguminosae

## **INTRODUÇÃO**

O guandu (*Cajanus cajan*) é uma leguminosa tropical arbustiva que pode ser utilizada na composição de pastagens como fonte de proteína e também para a adubação verde. Seu vigoroso sistema radicular pivotante tem merecido atenção como alternativa para a descompactação do solo. Considerando suas características morfo-agronômicas, o guandu tem um excelente potencial para utilização em sistemas de integração lavoura-pecuária e para a recuperação de pastagens degradadas.

Para analisar o potencial do guandu como leguminosa forrageira, a Embrapa tem caracterizado coleções e selecionado acessos com características agrônomicas desejáveis como a alta produtividade, valor nutricional e baixo teor de taninos (Godoy, 1995). O potencial do guandu em sistemas de integração lavoura-pecuária e para recuperação de pastagens ainda não foi adequadamente estudado. Considerando o potencial do guandu, a análise da variabilidade genética dentro da espécie é de grande importância. Utilizando marcadores moleculares, Faleiro et al. (2005) analisaram uma coleção de 18 acessos selecionados na Embrapa Cerrados e Pecuária Sudeste. Neste trabalho, marcadores moleculares foram utilizados para avaliar a variabilidade genética de uma nova coleção de trabalho de guandu composta por 15 acessos, visando complementar características morfo-agronômicas e dar subsídio para a seleção de materiais para testes em sistemas de integração lavoura-pecuária e recuperação de pastagens degradadas.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Os materiais genéticos analisados no presente trabalho foram 13 acessos pré-selecionados com base em características morfológicas e desempenho agrônomico na Embrapa Pecuária Sudeste, além das variedades Fava Larga e Anão (Tabela 1). 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 pela técnica de 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, MgCl<sub>2</sub> 3 mM, 100 µM de cada um dos desoxiribonucleotídios (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 14 primers decâmeros: [OPD (4, 7), OPE (11, 18), OPF (4, 5, 10, 12), OPG (4, 8, 13, 15), OPH (8,18)]. As amplificações foram efetuadas em termociclador programado para 40 ciclos, cada um constituído pela seguinte seqüência: 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. 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 análise de agrupamento por métodos hierárquicos com o auxílio do Programa Statistica (Statsoft Inc., 1999). O método do UPGMA foi utilizado como critério de agrupamento.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os 14 primers decâmeros geraram um total de 98 marcadores RAPD, perfazendo uma média de 7,0 marcadores por primer. Dos 98 marcadores, apenas 19 (19,4%) foram polimórficos. A baixa média de marcadores por primer e porcentagem de marcadores polimórficos evidenciam uma baixa variabilidade genética da coleção de trabalho analisada. Faleiro et al. (2005), analisando uma outra coleção de trabalho de guandu, com base em marcadores moleculares, também verificaram uma baixa variabilidade genética, obtendo-se uma média de 8,7 marcadores por primer e apenas 28,2% de marcas polimórficas. Como relatado por Faleiro et al. (2005), esta baixa variabilidade pode ser devida ao estreitamento da base genética da coleção de trabalho devido à pré-seleção dos acessos com base em características agrônômicas, principalmente relacionadas à produção de matéria seca.

As distâncias genéticas entre os 15 acessos de guandu variaram entre 0,000 e 0,052 com média de apenas 0,030 (Tabela 1). A maior distância genética foi obtida entre os acessos g59-95 e g168-99, g59-95 e g3-94, g3-94 e g167-97. Os acessos g9m-97 e g29m-94 foram geneticamente idênticos com base nos 98 marcadores analisados. O acesso que apresentou maior média de distâncias genéticas dentro da coleção de trabalho foi o g59-95. A análise de agrupamento realizada com base nas distâncias genéticas evidencia o estreitamento da base genética da coleção de trabalho analisada (Figura 1). Os marcadores moleculares demonstraram a existência de acessos muito próximos geneticamente. Tal proximidade genética e a estreita base da coleção de trabalho devem ser levadas em consideração na seleção de acessos a serem testados em sistemas de integração lavoura-pecuária e recuperação de pastagens degradadas.

## CONCLUSÕES

Os marcadores moleculares demonstraram uma baixa variabilidade genética da coleção de trabalho de guandu. Para reduzir custos experimentais e evitar desnecessária trabalho de avaliação, acessos muito próximos geneticamente não deveriam ser incluídos nos testes agrônômicos em sistemas de integração lavoura-pecuária e recuperação de pastagens degradadas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CRUZ, C.D. . Programa Genes: aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: Editora UFV, 1997. 442p.
2. FALEIRO, F.G.; FALEIRO, A.S.G.; CORDEIRO, M.C.R. et al. . Metodologia para operacionalizar a extração de DNA de espécies nativas do cerrado. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2003. (Comunicado Técnico No.92) 6p.
3. FALEIRO, F.G.; FERNANDES, F.D.; AMABILE, R.F. et al. Erro! Indicador não definido.
4. GODOY, R.; BATISTA, L.A.R.; NEGREIROS, G.F. . Avaliação agrônômica de guandu forrageiro ("Cajanus cajan" (L.) Millsp.). Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia, v. 23, p. 730-742, 1995.
5. STATISTICA for Windows [Computer program manual]. Tulsa, OK: StatSoft, Inc., 2300 East 14th Street, Tulsa. 1999.