

Divergência Genética entre Clones de Guaranaízeiro

F. J. do Nascimento Filho¹; A. L. Atroch¹; N. R. Sousa¹; T. B. Garcia¹;
M. da S. Cravo¹; E. F. Coutinho²

Introdução

O conhecimento da diversidade genética entre um grupo de progenitores é de grande importância para qualquer programa de melhoramento genético. Isto porque é necessário identificar combinações híbridas de maior efeito heterótico, em cujas descendências tenha-se maior probabilidade de recuperação de genótipos superiores (Cruz e Regazzi, 1997). Além disso, as medidas de distância genética têm sido úteis na avaliação de acessos em bancos de germoplasma, no estabelecimento das relações entre a diversidade genética e geográfica e também, para evitar a vulnerabilidade genética das culturas.

A utilização de técnicas multivariadas, para estimar a divergência genética, tem-se tornado comum entre os melhoristas de plantas. Dentre elas, as mais empregadas são: a análise por componentes principais, quando os dados são obtidos de experimentos sem repetições; a análise por variáveis canônicas, quando os dados são obtidos de experimentos com repetições e, por último, os métodos de agrupamento, cuja aplicação depende da utilização de uma medida de dissimilaridade previamente estimada (Machado, 1999).

Dentre as medidas de dissimilaridade, a distância euclidiana e a distância D^2 de Mahalanobis são as mais utilizadas nos programas de melhoramento genético. Um dos inconvenientes apresentados pela distância euclidiana, é o fato dela ser alterada com a mudança de escala de medições, com o número de caracteres estudados e não levar em conta o grau de correlação entre os mesmos. No entanto, para contornar o problema de escala, tem sido recomendado a padronização dos dados, e, para contornar a influência do número de caracteres, utiliza-se a distância euclidiana média (Cruz e Regazzi, 1997).

A análise de agrupamento, segundo Cruz e Regazzi (1997), tem por finalidade reunir, por algum critério de classificação, os progenitores (ou qualquer outro tipo de unidade amostral) em vários grupos, de tal forma que exista homogeneidade dentro do grupo e heterogeneidade entre grupos.

¹Pesquisador da Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus-AM, firmino.filho@cpaa.embrapa.br

²Pesquisador da Embrapa Clima Temperado, Pelotas-RS.

Com a possibilidade da clonagem pelo método da estaquia, a estratégia de melhoramento genético utilizada na cultura do guaraná tem sido a seleção clonal, ou seja, plantas superiores de diversas populações são propagadas assexuadamente. Estes clones são avaliados em ensaios de competição e os melhores são recomendados para plantio comercial. Entretanto, esta estratégia pode ter como consequência a limitação da diversidade genética, suscetibilidade dos genótipos a fatores bióticos e abióticos em face da uniformidade do plantio e a redução da possibilidade de ganhos adicionais futuros nos programas de seleção, uma vez que o melhorista passa a manejar um "pool" gênico de tamanho limitado. Duas alternativas são viáveis para ampliar a variabilidade genética no guaraná: uso da seleção recorrente e hibridação, visando a obtenção de variedades ou híbridos superiores.

Em um programa de hibridação, a escolha dos progenitores é o passo fundamental para o sucesso do programa. Estes progenitores devem apresentar bom desempenho e grande divergência genética, sob o risco de não se ampliar variabilidade genética suficiente para obter-se ganhos com a seleção.

O presente trabalho teve como objetivo identificar clones que possam ser utilizados em um programa de cruzamentos bi-parentais ou cruzamentos múltiplos, visando obtenção de híbridos com alto valor heterótico, bem como, materiais para propagação vegetativa.

Material e Métodos

O trabalho foi realizado na Embrapa - Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Ocidental (CPAA), em Manaus - AM. Os dados foram coletados em 148 clones de guaranazeiro (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*), em experimentos de competição de clones e no Banco Ativo de Germoplasma, instalados no Campo Experimental de Manaus, localizado a uma latitude de 03°08'05S, longitude de 60°01'W de GRT e numa altitude de 50 m acima do nível do mar; tipo climático Afi da classificação de Köppen (clima tropical chuvoso), caracterizado por apresentar temperatura média do mês mais frio nunca inferior a 18°C, e a precipitação pluviométrica do mês mais seco, acima de 60 mm (Boletim...1998).

As características utilizadas para o cálculo da divergência genética foram o comprimento do ramo principal aos 12 meses de idade (CRP), o número de ramos aos 12 meses de idade (NR), o número de folhas aos 12 meses de idade (NF) e a produção de sementes torradas (PROD), em kg/planta (média de seis anos de avaliação).

A divergência genética foi estimada por análise de agrupamento, em que a medida de dissimilaridade utilizada foi a distância euclidiana média padronizada e o método de agrupamento, o de otimização de Tocher. A formação dos grupos teve como critério o valor máximo da medida de dissimilaridade encontrado no conjunto das menores distâncias envolvendo cada progenitor.

A padronização dos dados foi realizada, de acordo com Cruz e Regazzi (1997), por: $\chi_{ij} = \frac{X_{ij}}{S(X_j)}$

em que $S(X_j)$ é o desvio-padrão dos dados do j-ésimo caráter, então $d_{ij} = \sqrt{\sum (\chi_{ij} - \bar{\chi}_{ij})^2}$ é a distância euclidiana média baseada em dados padronizados e η é o número de caracteres analisados em que: χ_{ij} é a observação no i-ésimo progenitor ($i=1,2,\dots,p$), em referência ao j-ésimo caráter ($j=1,2,\dots,n$) estudado.

Foi utilizado o programa GENES (Cruz, 1997), para realização das análises de divergência genética. Após a formação inicial dos grupos foi realizada uma análise de variância entre e dentro de grupos, para cada característica, utilizando o procedimento General Linear Model (GLM) do programa SAS.

Também utilizou-se o método do vizinho mais próximo para formação de um dendrograma entre os grupos de clones, por meio do programa MAPGEN, da Universidade Federal de Lavras (Minas Gerais).

Resultados e Discussão

Os clones avaliados, bem como as médias originais para os caracteres CRP, NR, NF e PROD, encontram-se na Tabela 1. A Tabela 2 resume os resultados das estimativas das distâncias genéticas dos 148 clones. Os clones mais distantes geneticamente foram CMA247 e CMU687, e os mais próximos, CMU384 e CMU801. As estimativas das distâncias genéticas permitiram a formação de sete grupos distintos, pelo método de Tocher (Tabela 3). Este resultado indica que a divergência genética entre os clones, atualmente em uso no programa de melhoramento genético do guaranazeiro da Embrapa Amazônia Ocidental, não é grande, pois dois grupos foram formados com dois clones e três grupos foram formados somente com um único clone, concentrando-se a maioria dos clones em dois grupos.

Tabela 1.Médias de comprimento do ramo principal (CPR), em cm, número de ramos (NR) e número de folhas (NF), aos 12 meses de idade, e produção de sementes torradas, em kg/planta (PROD), de 148 clones de guaranazeiro. Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, 1999.

Clone1	CPR	NR	NF	PROD	Clone	CPR	NR	NF	PROD
CMA183	93,80	9,10	24,40	0,60	CMA514	76,00	3,60	16,70	0,54
CMA189	64,80	6,00	24,00	1,16	CMU174	64,80	7,70	18,30	0,29
CMA190	32,00	4,40	13,70	0,44	CMU259	80,60	8,90	30,90	0,55
CMA191	17,50	2,90	11,50	0,62	CMU263	67,30	3,80	16,80	0,89
CIR196	99,20	6,00	25,00	1,12	CMU268	57,00	3,90	15,40	0,62
CIR201	52,20	5,50	15,40	0,79	CMU300	39,00	4,13	14,00	1,06
CIR202	13,30	3,40	16,00	0,89	CMU375	57,60	4,60	24,70	0,87
CIR203	52,50	2,70	17,00	0,54	CMU376	57,00	5,97	24,30	0,13
CIR212	82,40	7,40	31,90	0,32	CMU377	53,40	4,30	12,20	0,94
CIR213	65,10	2,90	17,70	0,40	CMU378	56,10	5,50	22,20	0,41
CIR215	95,60	5,00	20,00	1,51	CMU379	52,60	4,10	14,90	0,37
CIR217	82,10	4,00	25,00	1,14	CMU380	75,50	6,00	27,00	1,06
CIR220	97,80	7,50	34,50	0,44	CMU381	55,30	6,00	20,00	1,47
CMA222	143,00	8,77	41,00	1,10	CMU382	33,40	3,90	11,40	0,25
CMA223	89,40	8,00	24,00	1,30	CMU383	55,80	6,60	24,80	0,44
CMA224	130,88	10,00	48,00	1,04	CMU384	64,90	5,50	22,20	0,24
CMA225	153,63	11,00	54,00	1,28	CMU385	135,70	6,00	35,00	1,33
CMA227	173,31	10,00	54,00	1,54	CMU387	39,40	6,00	16,30	0,84
CMA228	147,76	11,00	54,00	1,17	CMU388	63,10	6,00	20,00	1,02
CMA229	124,40	8,40	31,10	1,20	CMU389	61,70	4,00	15,00	1,53
CMA242	99,40	14,40	32,90	0,60	CMU390	34,80	3,50	9,90	0,80
CMA247	157,20	14,00	85,00	1,53	CMU391	67,50	6,20	20,50	0,35
CMA274	130,50	10,00	42,00	1,16	CMU393	61,80	6,70	24,80	0,27
CMA276	137,14	11,00	48,00	1,17	CMU394	47,70	3,60	18,50	0,44
CMA280	84,40	8,40	22,60	0,54	CMU396	50,30	4,60	17,40	0,61
CMA285	116,70	5,20	24,40	0,48	CMU397	61,10	6,32	26,30	0,95
CMA286	32,20	4,20	14,80	0,55	CMU399	41,00	7,50	22,30	0,17
CMA287	109,30	8,50	31,20	0,26	CMU501	66,50	4,50	23,90	0,33
CMA347	84,00	4,80	17,50	0,78	CMU502	54,60	2,80	10,60	1,00
CMA348	112,10	5,80	32,20	0,44	CMU503	35,90	3,50	13,10	0,53
CMA349	86,80	6,30	28,10	0,57	CMU504	30,00	2,90	9,80	0,60
CMA350	99,70	7,50	27,40	0,77	CMU505	65,50	2,88	11,00	0,98
CMA351	35,80	3,90	11,80	0,43	CMU601	97,60	4,80	23,20	1,03
CMA358	74,00	7,00	21,30	1,28	CMU605	84,90	5,00	19,00	1,17
CMA366	115,70	7,40	30,90	0,57	CMU607	58,00	3,00	13,00	0,85
CMA367	52,50	13,70	12,80	0,24	CMU608	121,00	7,00	33,00	2,04
CMA368	72,10	9,60	27,30	0,59	CMU609	126,00	3,75	24,00	1,28
CMA369	66,30	8,20	31,60	0,62	CMU610	89,12	4,00	16,10	1,26
CMA370	58,40	7,70	29,30	0,85	CMU611	133,30	13,00	47,00	1,22
CMA371	96,30	9,10	42,30	0,80	CMU612	92,00	8,00	26,00	1,62
CMA372	38,30	4,10	9,60	1,05	CMU613	117,00	10,00	38,00	1,28
CMA374	82,70	9,20	39,90	0,59	CMU614	76,60	5,70	23,30	0,91
CMA426	98,90	7,90	26,30	1,30	CMU615	98,50	7,00	18,00	1,04
CMA427	82,10	4,70	21,30	0,56	CMU616	157,20	5,00	20,00	1,00
CMA431	112,50	10,30	46,30	0,50	CMU617	89,80	4,00	24,00	1,13
CMA433	107,50	7,00	36,10	0,47	CMU618	64,10	3,12	10,19	1,10
CMA436	80,80	5,40	21,70	0,33	CMU619	147,80	5,00	41,00	1,00
CMA437	89,40	5,10	20,40	0,46	CMU620	133,60	7,00	27,00	1,00

Tabela 1. Continuação.

Clone1	CPR	NR	NF	PROD	Clone	CPR	NR	NF	PROD
CMU621	83,10	7,50	22,10	0,70	CMU719	77,60	3,10	11,40	0,34
CMU622	74,00	6,50	18,90	0,88	CMU722	23,90	4,40	13,60	1,10
CMU623	57,34	7,00	20,00	1,03	CMU723	102,80	5,10	39,30	0,55
CMU624	73,60	7,00	27,00	1,00	CMU725	79,80	4,30	24,40	0,66
CMU625	96,40	6,40	21,90	0,74	CMU726	41,50	3,80	11,30	0,49
CMU627	128,00	6,10	35,60	0,66	CMU798	51,80	4,50	18,00	0,47
CMU628	129,41	5,00	23,00	0,86	CMU801	63,60	5,20	20,60	0,25
CMU629	110,10	8,20	30,80	0,70	CMA846	60,40	10,10	45,40	1,07
CMU631	119,37	5,00	28,00	1,00	CMA850	63,20	6,80	29,20	1,62
CMA639	89,70	3,40	21,30	0,71	CMU860	55,40	3,60	17,70	0,16
CMU687	14,60	1,60	3,80	0,35	CMU861	69,60	4,40	24,90	0,61
CMU690	90,30	4,40	28,20	0,51	CMU862	82,17	5,60	21,20	0,72
CMU691	105,10	5,10	44,41	0,60	CMU868	45,40	3,00	15,50	0,23
CMU692	115,30	7,60	38,60	0,38	CMU871	119,30	3,60	28,60	1,55
CMU693	60,10	4,40	22,10	0,27	CMU874	83,40	5,70	28,10	0,41
CMU696	39,70	2,60	9,12	0,46	CMU877	101,20	4,60	22,40	0,65
CMU697	48,80	4,80	19,20	0,35	CMU879	48,20	3,90	13,70	0,29
CMU698	36,70	4,30	23,10	0,75	CMU880	79,50	7,00	30,60	0,39
CMU703	77,50	4,70	26,10	0,33	CMU881	33,30	2,80	8,70	0,17
CMU706	63,40	3,20	17,50	0,65	CMU882	68,80	2,60	10,50	0,91
CMU707	42,60	4,60	16,20	0,27	CMU886	42,60	3,80	14,40	0,23
CMU708	44,30	2,90	14,40	0,74	CMU888	57,80	5,40	19,00	0,49
CMU711	63,70	4,10	16,30	0,48	CMU897	70,70	5,60	18,70	0,44
CMU714	84,10	5,50	31,20	0,40	CMU900	82,00	3,40	19,80	0,39
CMU717	103,30	6,10	31,60	0,37	CIR849	75,10	5,50	55,50	0,53
CMU718	58,70	4,10	19,80	0,32	CIR903	49,75	6,80	27,90	0,48

¹CMU Clones procedentes de Maués; CMA Clones procedentes de Manaus; CIR Clones procedentes de Iranduba.

Tabela 2. Resumo das estimativas das distâncias genéticas, com base na distância euclidiana média padronizada, entre 148 clones de guaranazeiro, para os caracteres comprimento do ramo principal (CRP), em cm, número de ramos (NR) e número de folhas (NF), aos 12 meses de idade, e produção de sementes torradas, em g/planta (PROD). Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus, 1999.

Distância genética	Estimativa	Clone
Máxima	5,0666	CMA247 e CMU687
Mínima	0,09503	CMU384 e CMU801
Soma das estimativas	13657,51855	
Soma de quadrados das estimativas	21756,05078	
Média das estimativas	1,25552	

Tabela 3. Grupos de progenitores estabelecidos pelo Método de Tocher, com base na dissimilaridade expressa pela distância euclidiana média padronizada.

Grupo	Progenitores
1	Demais Clones
2	CMA225, CMA228, CMA276, CMA224, CMA274, CMA222, CMU613, CMU611, CMA227, CMA431, CMU385, CMU619, CMA846, CMU812 e CMU608
3	CMU616 e CMU871
4	CMA242 e CMA367
5	CIR849
6	CMU687
7	CMA247

Isto pode ser explicado pelo fato de que, as coletas de ramos de matrizes para formação dos clones foi restrita aos Municípios de Manaus, Maués e Iranduba, no Estado do Amazonas, não sendo suficientes para representar a diversidade genética da cultura. Ou, que a diversidade geográfica não está correlacionada com a diversidade genética, fato confirmado pela existência de clones de origens geográficas diferentes que foram classificados no mesmo grupo de divergência genética e clones da mesma origem geográfica classificados em grupos diferentes.

Cruz (1990) relata que a escolha de progenitores para cruzamentos tem sido feita, algumas vezes, tomando-se a diversidade geográfica como indicador da diversidade genética. Porém este critério tem recebido críticas, pelo fato de não quantificar a divergência entre as populações e, em muitos casos, por não existir relação entre a divergência genética e a diversidade geográfica.

Murty e Arunachalam (1966) e Upadhyay e Murty (1970), citam que a deriva genética e a seleção em vários ambientes podem causar maior diversidade que a distância geográfica. Além disso, atualmente, as trocas de germoplasma de várias espécies entre pesquisadores e instituições, causam perdas de individualidade e ocorrência de tipos particulares em virtude da interferência humana (Cruz, 1990).

A origem e evolução do guaranazeiro, bem como sua domesticação pelos índios amazônicas, e a seleção artificial realizada por instituições de pesquisa, corroboram os resultados obtidos neste trabalho.

Conforme Ducke (1937), a cultura do guaranazeiro propagou-se das suas origens do alto Orenoco e alto Rio Negro venezuelano, para o baixo Rio Negro, onde está estabelecida a sua maior área de cultivo, a região de Maués

no Amazonas, delimitada pelos Rios Madeira, Maués e Paraná dos Ramos. Entretanto, Cavalcante (1967) é da opinião de que o possível centro de origem do guaranazeiro seria o município de Santarém, Pará, por ter sido encontrado em estado provavelmente “espontâneo” em uma mata virgem da região.

A estimativa da divergência genética na cultura do guaranazeiro apresenta duas vantagens, segundo Nascimento Filho et al., (1992): a identificação de progenitores com máxima divergência genética, destinados a cruzamentos; e a identificação de progenitores produtivos com máxima similaridade genética, destinados a propagação vegetativa.

Os resultados obtidos indicam que, para obter-se populações segregantes com possibilidade de superioridade sobre os pais, a partir de cruzamentos bi-parentais, os clones mais produtivos de cada grupo deveriam ser intercruzados. Entretanto, o fato de dois genitores serem divergentes não implica em superioridade de seus híbridos, conforme Ferreira (1993), em milho. Por outro lado, Oliveira (1995) relata que, a média de uma população segregante depende da frequência dos locos fixados com alelos favoráveis e da frequência de locos em heterozigose. Quando os genitores utilizados são adaptados, a frequência de locos favoráveis é alta.

Os clones utilizados são materiais com alta frequência de locos em heterozigose, porém não se pode afirmar que exista uma alta frequência de locos com alelos favoráveis fixados, pois a clonagem foi realizada em plantas matrizes cuja população não tinha sido melhorada, e que a expressão fenotípica poderia estar sendo grandemente influenciada pelo ambiente. Entretanto, a formação de populações segregantes, a partir de cruzamentos bi-parentais ou múltiplos, entre os melhores clones de cada grupo, aumentaria a probabilidade de surgimento de combinações híbridas superiores.

Em relação à propagação vegetativa, principalmente aqueles clones geneticamente mais próximos, como é o caso dos clones CMU384 e CMU801, poderiam ser utilizados para formação de uma população com desenvolvimento vegetativo uniforme e de base genética não restrita a uma única fonte, ou seja, um “pool” clonal, para plantio em condições comerciais.

Observa-se na Tabela 4 que existe variabilidade genética entre os grupos formados pelo método de Tocher para as quatro características consideradas na avaliação. Portanto, existe possibilidade de ganhos com a seleção de progêniens provenientes de cruzamentos entre clones de grupos distintos.

Tabela 4. Resumo das análises de variância para os caracteres comprimento do ramo principal (CRP), em cm, número de ramos (NR) e número de folhas (NF), aos 12 meses de idade, e produção de sementes torradas, em g/planta (PROD).

FV	GL	Quadrados Médios			
		CRP	NR	NF	PROD
Entre Grupos	6	9,6188 **	12,3780 **	14,1897 **	6,4708 **
Dentro de Grupos	141	0,6332	0,5158	0,4387	0,7672
CV(%)	33,27		30,18	31,29	45,59

**Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F.

O dendrograma (Fig. 1) formado pelo método do vizinho mais próximo, a partir das distâncias genéticas entre os grupos, permite visualizar que os grupos 1, 4 e 5, são muito próximos e podem ser considerados como um único grupo.

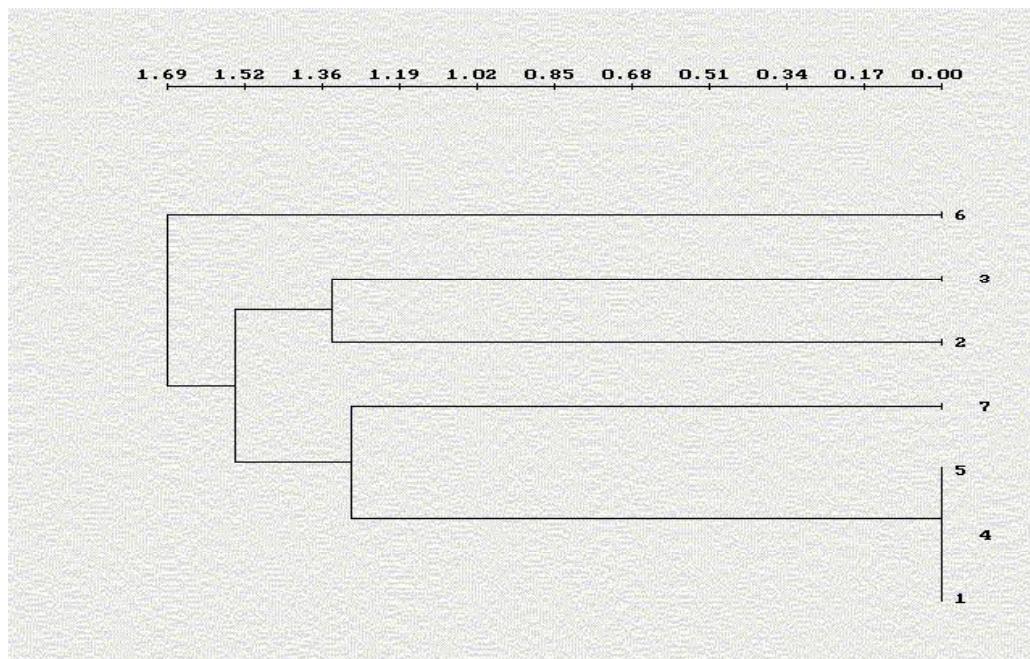


Fig. 1. Dendrograma de distâncias genéticas entre grupos de clones de guaranazeiro obtido pelo método do vizinho mais próximo.

Grupo 1: Demais clones; **Grupo 2:** CMA225, CMA228, CMA276, CMA 224, CMA 274, CMA222, CMU613, CMU611, CMA227, CMA431, CMU385, CMU619, CMA846, CMU812 e CMU608; **Grupo 3:** CMU616 e CMU871; **Grupo 4:** CMA242 e CMA367; **Grupo 5:** CIR849; **Grupo 6:** CMU687; **Grupo 7:** CMA247.

Conclusões

- A divergência genética dos clones atualmente em uso no programa de melhoramento genético do guaranazeiro da Embrapa Amazônia Ocidental não é grande.
- A formação de populações segregantes, a partir de cruzamentos biparentais ou múltiplos, entre os clones mais produtivos de cada grupo, aumenta a probabilidade de surgimento de combinações híbridas superiores.
- Os clones CMU384 e CMU801, são os mais próximos geneticamente e podem ser utilizados na formação de uma população com desenvolvimento vegetativo uniforme para uso em plantios comerciais.

Literatura Consultada

BOLETIM AGROMETEOROLÓGICO. Manaus: Embrapa - CPAA, 1998. 23p.

CAVALCANTE, P.B., 1967. O guaraná (*Paullinia cupana* var. *sorbilis*) em estado provavelmente expontâneo, no planalto de Santarém, Pará. Belém, **Boletim do Museu Goeldi**, n.26, jan. 1967.

CRUZ, C.D. **PROGRAMA GENES: aplicativo computacional em genética e estatística.** Viçosa: UFV, 1997. 442p.

CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético.** 2. ed. Viçosa: UFV, 1997. 390p.

CRUZ, C. D. **Aplicação de algumas técnicas multivariadas no melhoramento de plantas.** Piracicaba: ESALQ, 1990. 188p. (Tese Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas).

DUCKE, A. Diversidade dos guaranás. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, p.155-156, 1937.

FERREIRA, D.F. **Métodos de avaliação da divergência genética em milho e suas relações com os cruzamentos dialélicos.** Lavras: UFLA, 1993. 72p. (Dissertação Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).

MACHADO, C.F. **Procedimentos para a escolha de genitores de feijão.** Lavras: UFLA, 1999. 118p. (Dissertação Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).

F. J. do Nascimento Filho et. al.

MURTY, B.R.; ARUCHANALAM, V. The nature of genetic divergence in relation to breeding system in crop plants. **Indian J. Genet.**, New Delhi, v.26, p.188-189, 1966.

UPADHYAY, M.K.; MURTY, B.R. Genetic divergence in relation to geographical distribution in pearl millet. **Indian J. Genet.**, New Delhi, v.30, p.704-715, 1970.

NASCIMENTO FILHO, F.J. do; CRUZ, C.D.; GARCIA, T.B. Divergência genética em plantas jovens de guaranazeiro e possibilidades de melhoramento. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.27, n.12, p.1571-1577, dez. 1992.

OLIVEIRA, L.B. **Alternativas na escolha dos parentais em um programa de melhoramento do feijoeiro**. Lavras: UFLA, 1995. 60p. (Dissertação Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).