



CARACTERIZAÇÃO DA DIVERSIDADE DO GERMOPLASMA DE MAMONA (*Ricinus communis* L.) UTILIZANDO MARCADORES MICROSSATÉLITES

Miklos Maximiliano Bajay¹; Maria Imaculada Zucchi²; Márcia Barreto de Medeiros³; Tammy Aparecida Manabe Kiihl²; Maurício Dutra Zanotto⁴; José Baldin Pinheiro¹

1 Departamento de Genética, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" ESALQ.; 2 Pólo Centro Sul-APTA/SAASP ; 3 Centro Nacional de Pesquisa de Algodão, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária; 4 Departamento de Produção Vegetal, Faculdade de Ciências Agrônomicas de Botucatu UNESP; miklosbajay@yahoo.com.br

RESUMO – A mamona (*Ricinus communis*) é uma cultura de clima tropical de importância social e econômica no Brasil e no mundo. O sucesso dos programas de melhoramento depende do conhecimento sobre a diversidade genética do banco ativo de germoplasma. Uma biblioteca genômica foi construída visando a seleção dos fragmentos que contêm regiões microssatélites e a partir destas foram desenvolvidos marcadores SSR, que foram utilizados para estimar a diversidade genética dos acessos do banco de germoplasma da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) e da UNESP - Botucatu. A partir dos 41 locos analisados, 26 apresentaram polimorfismo, revelando 111 alelos (4,27 por loco). O valor da riqueza alélica média foi 2,554. A heterozigosidade média esperada ($H_E=0,473$) foi muito maior do que a observada ($H_O = 0,054$), indicando taxa relativamente alta de endogamia nos genótipos estudados, confirmada através do alto valor médio de G_{IS} (0,845), provenientes da endogamia da espécie e também do modo como são propagados nos bancos de germoplasma. Os resultados de diversidade indicam a formação de dois grupos geneticamente distintos, um grupo é composto pelos acessos da EMBRAPA e o outro grupo é composto pelos acessos do IAC e pelos genótipos da UNESP – Botucatu. O conhecimento gerado nesse estudo sobre a diversidade genética da mamona pode ser utilizado para uma melhor eficiência na conservação dessa diversidade, no manejo do germoplasma e orientando os programas de melhoramento genético no desenvolvimento de novos genótipos.

Palavras-chave – Diversidade genética, marcadores microssatélites, germoplasma, mamona

INTRODUÇÃO

A cultura da mamona vem ganhando destaque no cenário agrícola brasileiro, proporcionando estímulos ao seu plantio e ao desenvolvimento tecnológico. As sementes contêm um óleo com excelentes propriedades para o uso industrial, sendo de grande importância por ser o único óleo vegetal solúvel em álcool e por requerer menos calor a produção de combustível (biodiesel), que outros óleos vegetais.





O sistema de reprodução da mamoneira é caracterizado pela ocorrência simultânea da autofecundação e do cruzamento natural. A caracterização molecular de coleções de germoplasma utilizando marcadores microssatélites é inédita no país e as informações geradas são de suma importância para a identificação, exploração e conservação da variabilidade genética dessa espécie.

METODOLOGIA

A Embrapa Algodão (CNPq) cedeu genótipos provenientes de 38 acessos representativos de seu banco de germoplasma de mamona. Também foram utilizados no presente estudo, 76 acessos provenientes do banco de germoplasma de mamona do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) e sete genótipos cedidos pela UNESP – Botucatu, que são utilizados no desenvolvimento de híbridos no programa de melhoramento da instituição.

O DNA dos acessos foi extraído a partir de folhas jovens recém-expandidas seguindo o protocolo CTAB (DOYLE ; DOYLE, 1990) e quantificados comparando-se com o DNA-padrão do fago lambda.

Para a caracterização da variabilidade genética na espécie foi construída uma biblioteca genômica para a seleção dos fragmentos contendo microssatélites (SSR). O protocolo utilizado para a construção da biblioteca foi descrito por Billotte et. al. (1999), com modificações, e otimizado pelo pesquisador Angie-Marie Risterruci, do CIRAD/França.

A estruturação da variabilidade foi visualizada através de dendrogramas no programa NTSYS, construídos pela matriz de distâncias genéticas modificada por Roger e pelo critério de agrupamento UPGMA, e para isto foi utilizado utilizando o programa TFGA.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram obtidos 26 marcadores SSR polimórficos, dos quais, 12 estão disponibilizados em BAJAY *et al.* (2009). As análises indicaram um baixo polimorfismo, foi observado um total de 111 alelos (4,27 alelos/ loco). Desses quais 37 alelos (33,33%), apresentaram uma frequência inferior a 5 %, sendo considerados alelos raros. Quarenta e um alelos (36,93%) são privados, sendo observados em somente uma das três populações analisadas. A riqueza alélica média foi de 2,554.





O conjunto de 38 acessos que representa uma amostra do banco de germoplasma da Embrapa apresentou maior número de alelos (82) e a maior riqueza alélica (2,256) entre as três populações.

Os genótipos de Botucatu apresentaram o menor número de alelos (52) e também a menor riqueza alélica, esses resultados são esperados devido ao pequeno tamanho amostral ($n=7$).

As heterozigosidades médias esperadas H_e (0,473) e H_s (0,369) foram muito maiores do que a heterozigosidade observada H_o (0,054), indicando taxa relativamente alta de endogamia nos três conjuntos de genótipos estudados.

CONCLUSÃO

Os genótipos avaliados representam grande parte da variabilidade genética de mamona disponível no Brasil e os marcadores SSR sintetizados nesse trabalho poderão contribuir para o melhor entendimento da diversidade genética da espécie e também auxiliar nos programas de melhoramento.

A partir dos resultados obtidos neste estudo, é possível afirmar que os programas de melhoramento de mamona devem utilizar genitores provenientes dos dois bancos de germoplasma para obter o máximo de variação genética disponível no país para a cultura da mamona. Visto que os acessos analisados possuem uma quantidade significativa de alelos raros e cada banco tem um *pool* genético bem diferenciado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLAN G.; WILLIAMS A.; RABINOWICZ P.D.; CHAN A. P.; RAVEL J.; KEIM P. Worldwide genotyping of castor bean germplasm (*Ricinus communis* L.) using AFLPs and SSRs. **Genetical Research Crop Evolution**, Gatersleben, v. 55, p. 365–378, 2007.

BAJAY, M. M.; PINHEIRO J. P.; BATISTA, C. E. A.; NÓBREGA, M. B. M.; ZUCCHI M. I. Development and characterization of microsatellite markers for castor (*Ricinus communis* L.), an important oleaginous species for biodiesel production. **Conservation Genetic Resources**, Durham, 2009. Disponível em: <<http://www.springerlink.com/content/t6677g608151t113/>>. Acesso em: 25 nov. 2009.





BILLOTTE, N.; LAGODA, P.J.L.; RISTERUCCI, A.M.; BAURENS, C. Microsatellite-enriched libraries: applied methodology for the development of SSR markers in tropical crops. **Fruits**, Les Ulis, v.54, p.277-288, 1999.

DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. Isolation of DNA from fresh tissue. **Focus**, Rockville, v. 12, n. 27, p. 13-15, 1990.

EVANNO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. **Molecular Ecology**, Vancouver, n. 14, p. 2611-2620, 2005.

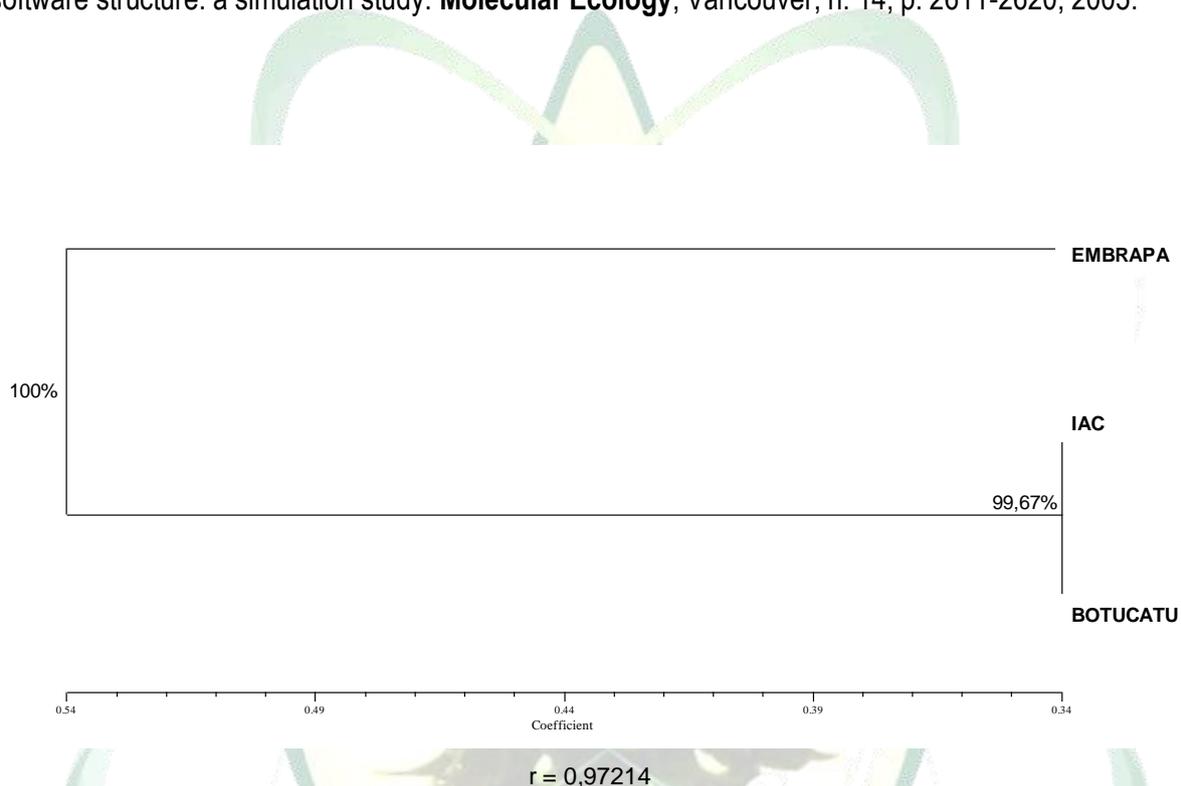


Figura 1 - Dendrograma de todas as amostras agrupada nas três populações, construído pelas distâncias de Rogers-W e pelo agrupamento UPGMA. Incluindo os valores de bootstrap e o valor cofenético, representado como r





Tabela 1 - Estimativas por loco de índices relacionados à variabilidade genética dos 121 genótipos analisados distribuídos em três populações.

| Locos | PIC | H_e | H_o | H_s | D_{ST'} | H_{T'} | G_{ST'} | G_{IS} | R |
|--------------|------------|----------------------|----------------------|----------------------|------------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|----------|
| Rco01 | 0,048 | 0,049 | 0,000 | 0,052 | 0,001 | 0,053 | 0,019 | 1,000 | 1,184 |
| Rco02 | 0,431 | 0,5 | 0,025 | 0,109 | 0,577 | 0,686 | 0,842 | 0,798 | 2,45 |
| Rco03 | 0,352 | 0,457 | 0,000 | 0,134 | 0,469 | 0,604 | 0,777 | 1,000 | 1,97 |
| Rco05 | 0,463 | 0,475 | 0,109 | 0,452 | 0,001 | 0,453 | 0,001 | 0,668 | 2,81 |
| Rco06 | 0,723 | 0,758 | 0,079 | 0,682 | 0,227 | 0,909 | 0,249 | 0,815 | 4,087 |
| Rco08 | 0,671 | 0,717 | 0,033 | 0,417 | 0,396 | 0,813 | 0,487 | 0,937 | 3,601 |
| Rco09 | 0,667 | 0,723 | 0,232 | 0,353 | 0,483 | 0,836 | 0,578 | 0,591 | 3,476 |
| Rco11 | 0,371 | 0,494 | 0,06 | 0,418 | 0,135 | 0,553 | 0,243 | 0,448 | 1,99 |
| Rco12 | 0,575 | 0,653 | 0,085 | 0,396 | 0,35 | 0,746 | 0,469 | 0,842 | 2,841 |
| Rco13 | 0,532 | 0,564 | 0,052 | 0,573 | 0,272 | 0,845 | 0,322 | 0,928 | 3,137 |
| Rco15 | 0,519 | 0,602 | 0,24 | 0,597 | 0,006 | 0,603 | 0,009 | 0,57 | 2,72 |
| Rco18 | 0,524 | 0,609 | 0,000 | 0,532 | 0,121 | 0,654 | 0,186 | 1,000 | 2,737 |
| Rco19 | 0,091 | 0,095 | 0,017 | 0,096 | 0,483 | 0,579 | 0,834 | 0,818 | 1,983 |
| Rco20 | 0,393 | 0,412 | 0,054 | 0,468 | 0,084 | 0,553 | 0,152 | 0,928 | 2,565 |
| Rco22 | 0,539 | 0,611 | 0,066 | 0,341 | 0,362 | 0,704 | 0,515 | 0,859 | 2,766 |
| Rco23 | 0,506 | 0,556 | 0,017 | 0,547 | 0,068 | 0,615 | 0,11 | 0,968 | 2,851 |
| Rco26 | 0,668 | 0,705 | 0,034 | 0,56 | 0,395 | 0,956 | 0,414 | 0,953 | 3,822 |
| Rco29 | 0,237 | 0,253 | 0,000 | 0,337 | 0,054 | 0,391 | 0,137 | 1,000 | 1,883 |
| Rco30 | 0,527 | 0,557 | 0,034 | 0,496 | 0,03 | 0,526 | 0,057 | 0,927 | 3,113 |
| Rco31 | 0,582 | 0,66 | 0,009 | 0,252 | 0,531 | 0,783 | 0,678 | 0,978 | 2,869 |
| Rco33 | 0,203 | 0,23 | 0,017 | 0,311 | 0,126 | 0,437 | 0,287 | 0,694 | 1,684 |
| Rco34 | 0,298 | 0,326 | 0,157 | 0,237 | 0,039 | 0,276 | 0,142 | 0,62 | 2,091 |
| Rco35 | 0,485 | 0,561 | 0,000 | 0,504 | 0,024 | 0,528 | 0,046 | 1,000 | 2,636 |
| Rco36 | 0,083 | 0,087 | 0,008 | 0,089 | 0,008 | 0,096 | 0,08 | 0,901 | 1,323 |
| Rco40 | 0,124 | 0,129 | 0,05 | 0,175 | 0,002 | 0,176 | 0,009 | 0,845 | 1,512 |
| Rco41 | 0,426 | 0,524 | 0,034 | 0,474 | 0,25 | 0,724 | 0,345 | 0,953 | 2,307 |
| Média | 0,434 | 0,473 | 0,054 | 0,369 | 0,211 | 0,581 | 0,364 | 0,845 | 2,554 |

