



## DIVERSIDADE GENÉTICA DE GENÓTIPOS DE PINHÃO-MANSO CULTIVADOS EM SERGIPE 1

Vanice Dias de Oliveira<sup>1</sup>; Allívia Rouse Ferreira dos Santos<sup>1</sup>; Gilvânia Melo da Silva<sup>2</sup>; Ana Veruska Cruz da Silva<sup>3</sup>; Ana da Silva Lédo<sup>3</sup> e Ivênio Rubens de Oliveira<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Mestranda em Agroecossistemas-UFS; <sup>2</sup>Graduanda Farmácia-UFS; <sup>3</sup>Pesquisador(a) da Embrapa Tabuleiros Costeiros; e-mail: vanice\_dias@yahoo.com.br

**RESUMO** – O conhecimento da variabilidade genética de áreas produtoras de pinhão-manso se faz necessário para o manejo de plantio e para a elaboração de estratégias de melhoramento genético. Diante de tal importância, este trabalho teve como objetivo caracterizar geneticamente genótipos de pinhão-manso, cultivados em áreas experimentais da Embrapa Tabuleiros Costeiros em dois municípios de Sergipe (Umbaúba e Carira), por meio de marcadores moleculares RAPD. Folhas de 20 indivíduos de cada área foram submetidas à extração de DNA pelo método CTAB 2% e para geração de polimorfismo foram empregados 31 iniciadores de síntese. Os resultados das amplificações serviram para construção de uma matriz binária, que foi usada para estimar a similaridade genética entre os genótipos e agrupá-los pelo método UPGMA. Também foi calculado o erro de similaridade associado e o valor mínimo de similaridade (Sgm). Entre os indivíduos foi encontrada uma similaridade média de 0,55 ( $\pm 0,08$ ). A amplitude das similaridades variou de 0,18 a 1,00. O Sgm foi igual a 0,72, e a partir deste foi possível a formação de oito grupos maiores e alguns genótipos foram mais divergentes por estarem isolados. Pode-se concluir que há a necessidade de introdução de novos genótipos devido à baixa diversidade genética existente.

**Palavras-chave** – *Jatropha curcas* L.; biodiesel; marcadores moleculares e RAPD.

### INTRODUÇÃO

O pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.), planta da família das Euforbiáceas, a mesma da mamona e da mandioca, tem sido utilizado desde tempos antigos em aplicações medicinais, fabricação de óleo para iluminação de casas e vilarejos, como cerca-viva e para a produção de sabão (SATURNINO et al., 2005). Recentemente ganhou atenção especial para produção de biodiesel e espalhou-se além de seu centro da origem para países tropicais e subtropicais por causa de sua resistência à seca, propagação fácil, teor de óleo elevado, crescimento rápido, adaptação a várias condições agroclimáticas e usos múltiplos da planta (HELLER, 1996).

<sup>1</sup> Apoio Financeiro: FAPITEC-SE





No Brasil, não há cultivares melhoradas que possam ser recomendadas com segurança para os produtores (BELTRÃO et al., 2006) e para tanto, se faz necessário caracterizar e estudar a diversidade genética, que fornecem informações básicas para composição de bancos de germoplasma e melhoramento genético (HOSBINO et al., 2002).

Esta caracterização pode ser feita por meio de marcadores morfológicos e moleculares sendo estes últimos mais precisos, por não serem influenciados pelo ambiente (OLIVEIRA et al., 2007). Dentre os marcadores moleculares de DNA baseados em PCR, o RAPD destaca-se por ser um método rápido e com o menor custo (FERREIRA & GRATTAPALIA, 1998). Desta forma, o objetivo deste trabalho foi caracterizar, por meio de marcadores RAPD, genótipos de pinhão-manso cultivados em duas áreas produtoras experimentais no Estado de Sergipe, Umbaúba e Carira.

## METODOLOGIA

Para o estudo da variabilidade genética, foram coletadas amostras de folhas de 20 genótipos de pinhão-manso cultivados experimentalmente em dois municípios do Estado de Sergipe: Umbaúba (PM1) e Carira (PM2). A extração do DNA foi realizada no Laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Tabuleiros Costeiros, Aracaju, utilizando-se o método CTAB 2%, proposto por Doyle & Doyle (1991), com modificações.

As reações de RAPD foram baseadas no método descrito por Williams et al. (1990), usando 31 primers da Bioneer. As reações de amplificação foram conduzidas em termociclador Biocycler em um volume total de 25µL contendo 14,8 µL de água ultra-pura; 5,0 µL de tampão PCR 10X (Promega, USA); 0,5µL de Mix de dNTPs (10mM), 0,2µL (5 U) da enzima Taq DNA polimerase (Easy Path); 2,5µL do primer (5 mM) e 2µL do DNA genômico. Foi utilizada, para cada primer, uma reação controle. As reações foram submetidas a 35 ciclos de amplificação após a desnaturação inicial a 96°C por 5 minutos. Cada ciclo constituiu-se de 45 segundos para desnaturação a 95°C, 45 segundos para anelamento a 36°C, 45 segundos para a extensão a 72°C. Ao final dos 35 ciclos foi realizada uma extensão final de 10 minutos a 72°C. Os produtos da amplificação foram separados por eletroforese em gel de agarose 1,0% em tampão TBE 1X a 120 V por cerca de 120 minutos, e corado com brometo de etídio e os produtos visualizados e fotografados sob luz ultravioleta.

Na avaliação dos géis, a presença (1) e ausência (0) de bandas foram usadas para a construção da matriz binária que foi utilizada para calcular a porcentagem de polimorfismo obtida com cada primer utilizado, além das estimativas das similaridades genéticas entre cada par de indivíduos





empregando o coeficiente de Jaccard e método de agrupamento UPGMA (SNEATH e SOKAL, 1973). Para análises foi utilizado o programa FreeTree (PAVLICEK et al., 1999) e para geração do dendograma foi utilizado o TreeView (PAGE, 1996). Posteriormente também foi calculado o erro de similaridade associado e o valor mínimo de similaridade (Sgm) como sugerido por Skroch et al. (1992).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A amplificação com 31 primers gerou 111 bandas, das quais 42 foram polimórficas (37,83%) e 69 monomórficas (66,96%). A média de bandas por primer foi 3,58 e 1,35 foi a média de bandas polimórficas por primer. Doze primers foram totalmente monomórficos e as análises de divergência foram feitas com os 19 que apresentaram bandas polimórficas.

A matriz de similaridade genética, baseada no coeficiente de Jaccard, evidenciou similaridade média entre os indivíduos de 0,55 ( $\pm 0,08$ ). A amplitude das similaridades variou de 0,18 ( $\pm 0,08$ ) a 1,00 ( $\pm 0,00$ ). Esta última similaridade máxima (100%) foi observada entre os genótipos PM2-19 e PM2-20, e a mínima para os indivíduos PM1-7 e PM2-6.

O valor Sgm, acima do qual os indivíduos são considerados semelhantes, foi igual a 0,72, a partir deste nível, observando o dendograma (Figura 1), houve a formação de oito grupos maiores distintos, sendo que dois grupos com três genótipos (Grupo I – PM1-15, 11 e 14; Grupo II – PM1-18, 19 e 20), um com quatro genótipos (Grupo III - PM1-9, 13, 10 e 12), quatro grupos destes apresentaram dois genótipos, (Grupo IV – PM1-1 e 2; Grupo V – PM1-4 e 8; Grupo VI - PM1-6 e 7, Grupo VII - PM2-4 e PM2-50), outro grupo com 14 genótipos (Grupo VIII - PM2- 12, 10, 8, 9, 11, 7, 6, 15, 16, 17, 19, 20, 13 e 14) e os outros genótipos foram considerados os mais divergentes por apresentarem apenas um indivíduo por grupo.

Com base nos resultados, observa-se que a área experimental de Carira (PM2), apresenta os genótipos mais similares. Em Umbaúba, mesmo os genótipos apresentando a formação de mais grupos mais dissimilares, o nível de variabilidade genética encontrado pode ser considerado baixo. Um provável para isto pode está associado ao fato dos lotes de sementes que compuseram os plantios foram retirados de uma mesma matriz, ocasionado a base genética estreita entre os indivíduos

Desta maneira, recomenda-se que, com base nos resultados obtidos destas duas áreas experimentais, sejam selecionados e priorizados genótipos que apresentem características





agronômicas desejáveis para produção e que sejam mais divergentes para composição de um banco de germoplasma e programas de melhoramento.

## CONCLUSÃO

Os genótipos estudados das duas áreas experimentais evidenciaram baixo nível de variabilidade genética com os marcadores RAPD.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BELTRÃO, N. E. de M.; SEVERINO L. S.; VELOSO, J. F.; JUNQUEIRA, N.; FIDELIS, M.; GONÇALVES, N. P.; SATURNINO, H. M.; ROSCOE, R.; GAZZONI, D.; DUARTE, J. de O.; DRUMOND, M. A.; ANJOS, J. B. dos. Alerta sobre o plantio de pinhão-mansão no Brasil. Embrapa Algodão. Documentos, 155. Campina Grande, 2006. 15p.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. 3. ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 1998. 220 p.

HELLER J. Physic nut—*Jatropha curcas* L. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. 1996. 66 p.

HOSBINO, A. A.; PALARIERI, D.A.; BRAVO, J. P.; PEREIRA, T. E. B.; LOPES, G. G. Marcador microssatélite na conservação de germoplasma vegetal. Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento, n.29. 2002.

OLIVEIRA, A. C. B. de; CAIXETA, E. T.; ZAMBOLIM, E. M.; ZAMBOLIM, L.; SAKIYAMA, N. S. Aplicação técnica de marcadores moleculares no melhoramento de plantas. Documentos, IAC, Campinas, 81, 2007. 17p.

PAGE, R. D. M. TreeView: an application to display phylogenetic trees on personal computers. Computer Applications in the Biosciences, 12, 1996. p. 357–358.

PAVLICEK, A.; HRDA, S.; FLEGR, J. FreeTree – freeware program for construction of phylogenetic trees on the basis of distance data and bootstrap/jackknife analysis of the tree robustness. Application in the RAPD analysis of genus *Frenkelia*. Folia Biol. (Praha). 45, 1999. p. 97-99.



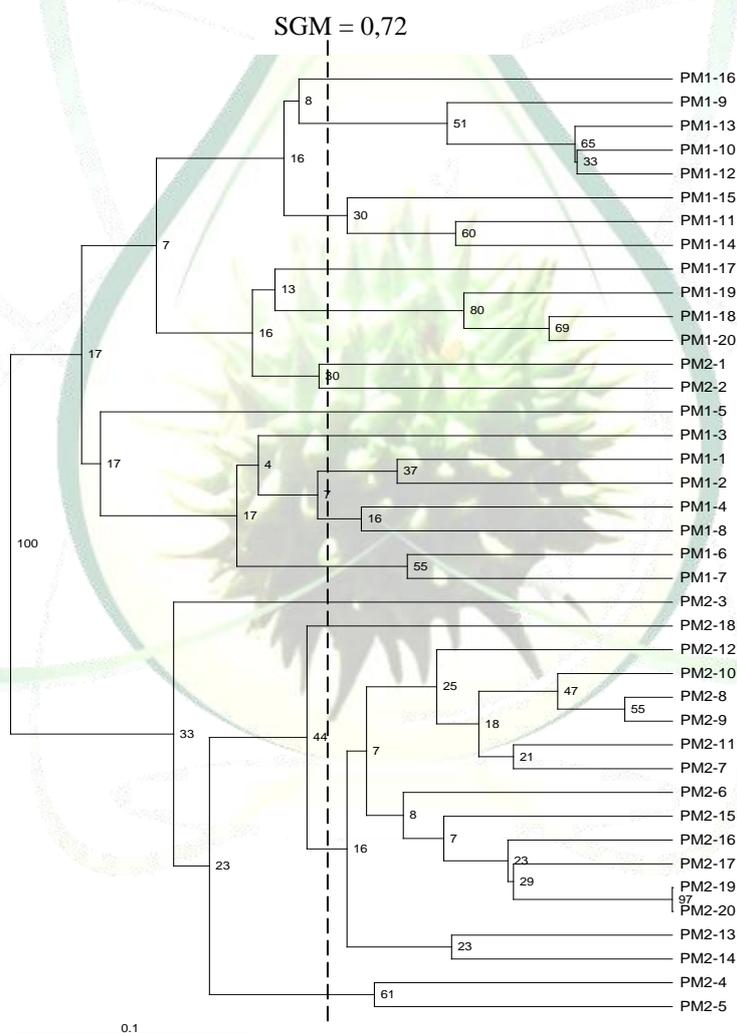


SATURNINO, H.M.; PACHECO, D.D.; KAKIDA, J.; TOMINAGA, N; GONÇALVES, N. P. Cultura do pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.). Informe agropecuário. v. 26, n. 229, Belo Horizonte, MG, 2005. p. 44-78.

SKROCH, P.W.; TIVANG, J. & NIENHUIS, J. Analysis of genetic relationships using RAPD marker data. Proceedings of IUFRO International Conference, Cali, v.2, n.3, p.23-30, 1992.

SNEATH, P.H.A.; SOKAL, R.R. Numerical taxonomy — the principles and practice of numerical classification. (W. H. Freeman: San Francisco.) 1973.

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



**Figura 1.** Dendrograma de similaridade genética a partir do coeficiente de Jaccard e agrupado pelo método UPGMA entre 40 genótipos de *Jatropha curcas* L. cultivados em duas áreas do Estado de Sergipe. PM1 – Umbaúba e PM2- Carira.

