

# Divergência Genética entre Acessos que Compõem a Coleção de Trabalho do Programa de Melhoramento de Batata da Embrapa

AngelaRohr<sup>1</sup>; Caroline Marques Castro<sup>2</sup>; Arione da Silva Pereira<sup>3</sup>

## Resumo

A batata é um dos principais alimentos da dieta humana. Um grande desafio dos programas de melhoramento deste tubérculo é de encontrar genótipos superiores que atendam às demandas de mercado e do sistema produtivo. Para auxiliar os programas de melhoramento a caracterização molecular do germoplasma assume um papel fundamental, uma vez que permite que se conheça a diversidade genética disponível e assim sejam estabelecidas estratégias para melhor explorar esta variabilidade. O objetivo deste trabalho foi de caracterizar com marcadores SSR genótipos de batata que compõem a coleção de trabalho do programa de melhoramento genético da EMBRAPA. Foram caracterizados 140 genótipos de batata, incluindo cultivares e clones avançados do programa com 10 *loci* SSR. O número de alelos encontrados por *locus* variou de dois a sete, sendo identificados 39 alelos no total. A similaridade média geral entre os genótipos foi de 0,44, valor adotado como critério para identificar os grupos no dendrograma. No total foram identificados dez grupos. A identificação dos diferentes grupos possibilita um direcionamento nas futuras hibridações a fim de explorar de forma eficiente a variabilidade disponível.

## Introdução

No Brasil, a batata é a principal cultura olerícola, tanto em área, aproximadamente 150 mil ha/ano, como em preferência alimentar (Agriannual 2010). As exigências do mercado, assim como as constantes alterações que sofre o sistema produtivo fazem com que um número cada vez maiores de caracteres sejam necessário para atender a demanda por novas cultivares de batata. No processo de seleção aproximadamente 40 diferentes características são consideradas (Gebhardt et al. 2007). Novas variedades devem ser economicamente sustentáveis, com maior produtividade e menor custo de produção, com características que atendam ao beneficiamento ou consumo fresco, além de serem resistentes a pragas e doenças e usarem de forma eficiente água e minerais (Bradshaw 2007).

Frente ao desafio de desenvolver cultivares de batata que atendam as necessidades da sociedade, estratégias que auxiliem no processo de seleção e identificação de genótipos de interesse devem ser adotadas. Nesse sentido, a análise da divergência genética no germoplasma disponível ao programa de melhoramento genético é extremamente importante, uma vez que permite a obtenção de informações a respeito da diversidade deste germoplasma, auxiliando na definição dos cruzamentos artificiais para melhor explorar a variabilidade genética (Mohammadi and Prasanna 2003). O melhoramento, principalmente em longo prazo, deve ser baseado em estratégias que possibilitem maximizar a distância entre os genitores dos blocos de cruzamentos, favorecendo a complementação de alelos para aumentar a heterose (Silva et al. 2009).

Este trabalho teve como objetivo estimar a divergência genética entre genótipos que compõem a coleção de trabalho do programa de melhoramento genético de batata da EMBRAPA.

## Material e Métodos

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Clima Temperado, em Pelotas - RS. Foram caracterizados com marcadores microssatélites (SSR) 140 genótipos de batata

---

<sup>1</sup>Bióloga, Mestranda em Fitomelhoramento, do PPGA da Universidade Federal de Pelotas. UFPel, Cx. Postal 354, - Pelotas, RS -CEP 96010-900, Pelotas – RS. Email: angelbio10@yahoo.com.br

<sup>2</sup>Eng<sup>a</sup>. Agr<sup>a</sup>. Dra. - Pesquisadora Embrapa Clima Temperado, BR 392, km 78, Caixa Postal 403, CEP: 96010-971 Pelotas – RS. Email: caroline.castro@cpact.embrapa.br

<sup>3</sup>Eng<sup>o</sup>. Agr<sup>o</sup>. Dr. - Pesquisador Embrapa Clima Temperado, BR 392, km 78, Caixa Postal 403, CEP: 96010-971 Pelotas – RS. Email: arione.pereira@cpact.embrapa.br

(*Solanum tuberosum* L.), destes, 13 são cultivares desenvolvidas por programas de melhoramento nacionais, 30 são cultivares oriundas de outros países (Holanda, Hungria, Itália, Argentina, Alemanha, Estados Unidos, Peru, Irlanda, Canadá, Índia, Chile e Itália), 82 são clones avançados do programa de melhoramento da EMBRAPA e 15 são clones desenvolvidos por programas de outros países (França, Chile e do Centro Internacional de La Papa – CIP, no Peru).

A extração de DNA foi realizada de acordo com o protocolo DArT® (DART 2010). A caracterização molecular foi realizada com base em 10 *loci* SSR: STM1106, STM5114, STG0010, STG0001, STI0014, STI0030, STG0025, STI0004, STI0001 e STG0016 (Ghislainet al. 2009). As reações de PCR foram realizadas em um volume final de 20 µL, contendo 20 ng de DNA genômico, 0,5 µM de cada *primer*, 200 µM de dNTP e 1 U de *Taq* em 10 mM de Tris-HCl pH 8,3, 1,5 mM de MgCl<sub>2</sub> e 50 mM de KCl. As reações foram realizadas em termociclador GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) de acordo com o seguinte programa: 3 min a 94°C, 2 min a temperatura de anelamento ( $T_a$ ) de cada *primer* e 1 min 30 s a 72°C seguido de 29 ciclos de 1 min a 94°C, 2 min a  $T_a$  e 1 min 30 s a 72°C com uma extensão final de 5 min a 72°C. Os produtos da amplificação foram separados por eletroforese em gel de agarose ultra-pura 3,0% e visualizados em transiluminador por meio de coloração com gel red.

As amplificações obtidas foram classificadas conforme presença (1) e ausência (0) de bandas. Para o cálculo da similaridade genética entre os genótipos foi utilizado o coeficiente de Jaccard e, com base na matriz de similaridade gerada, foi construído um dendrograma por meio do método de agrupamento UPGMA. A similaridade média geral foi utilizada como ponte de corte para definir os grupos no dendrograma. Para cada grupo identificado foi calculada a similaridade média intra-grupo. As análises foram realizadas com o auxílio do programa computacional NTSYS (Rohlf 2005). Para a verificação do ajuste entre a matriz de similaridade e o respectivo dendrograma foi estimado o coeficiente de correlação cofenética ( $r$ ).

## Resultados e Discussão

Na análise dos 140 genótipos de batata com 10 *loci* SSR foram identificados no total 39 alelos. O número de alelos por *locus* variou de dois a sete. O *locus* STI0001 apresentou a maior diversidade alélica, com sete alelos, seguido por STI0004, com cinco, STI0004, STI0014, STM1106 e STI0030, com quatro, STG0016, STG0010 e STG0001 com três e STM5114 com dois alelos. O *locus* com a maior frequência de alelos nulos foi STG0001 (3,57%), já os *loci* STM1106 e STI0030, não apresentaram alelos nulos. Feingold et al. (2005) obtiveram uma amplitude de 1 a 16 alelos por *locus* analisando 30 genótipos de batata com 61 *loci* SSR. Rosa et al. (2010) avaliaram 14 cultivares de batata com 24 *loci* SSR e detectaram 127 diferentes alelos no total, com amplitude de 1 a 12 alelos por *locus*. Em um trabalho realizado na análise de 41 genótipos de batata, incluindo as subespécies *tuberosum* e *andigena*, com 19 combinações de *loci* SSR foram observados no total 67 alelos. Embora o número de *loci* analisados no presente trabalho seja inferior aos demais citados, o número médio de alelos identificados por *locus* é semelhante ao encontrado por Barandalla et al. (2006).

Para cada um dos 140 acessos analisados foi identificado um perfil único, sendo possível, com os 10 *loci* SSR, discriminar 100% dos genótipos estudados. A similaridade média entre os genótipos avaliados foi de 44%, e o coeficiente de correlação cofenética entre a matriz de similaridade e o dendrograma foi de 0,62. A similaridade média entre os genótipos (0,44) foi adotada como ponto de corte para identificar os grupos formados pelo dendrograma, no total dez grupos (Fig. 1).

Entre as cultivares avaliadas, as duas provenientes da Argentina, ‘Frital’ e ‘Newen’, ficaram separadas dos demais genótipos, respectivamente nos grupos I e II. Esse resultado mostra que embora sendo países vizinhos, Brasil e Argentina trabalham com bases genéticas distintas. O terceiro grupo foi formado por quatro clones avançados do programa de melhoramento da EMBRAPA, com uma similaridade média intra-grupo de 0,51. As cultivares ‘Monalisa’, ‘Elisa’ e ‘Rioja’ formaram o quarto grupo juntamente com um clone avançado da EMBRAPA, com 0,53 de similaridade média intra-grupo. O quinto grupo foi formado por três, dos quatro clones avançados provenientes do CIP, juntamente com as cultivares ‘Granola’ e ‘Atlantic’, com similaridade média intra-grupo de 0,52. Já o outro clone avançado do CIP formou o sexto grupo junto com um clone avançado da EMBRAPA e as cultivares europeias ‘Ágria’ e ‘Balmoral’, similaridade intra-grupo de 0,53. No sétimo grupo, com seis genótipos e similaridade média de 0,48, encontra-se a ‘Macaca’, cultivar antiga, de origem desconhecida, mas presumivelmente do programa de melhoramento genético do IPEAS/Embrapa Clima Temperado (Pereira et al. 2008) e cinco clones avançados da EMBRAPA.

O oitavo grupo, com similaridade média de 0,56, é composto por 12 genótipos, sendo três cultivares: ‘Ana’ do Brasil, ‘Shepody’ do Canadá e ‘Chipsona’ da Índia; e nove clones avançados, dois da França e sete

brasileiros. O nono grupo, com similaridade média de 0,49, agrupou 93 genótipos (66,42% do germoplasma avaliado). Este grupo é composto principalmente (77,41%) por clones avançados desenvolvidos pelo programa de melhoramento de batata da EMBRAPA, dos quais estão incluídos clones com fonte de resistência a requeima, a insetos e também clones com baixo teor de açúcares redutores, juntamente com as cultivares holandesas, 'Markies', 'Voyager', 'Agata', 'Cupido', 'Asterix', 'Caesar', 'Desiree' e 'Spunta', as cultivares alemãs 'Elvira' e 'Panda', a cultivar húngara 'White Lady', as cultivares chilenas 'Pukara', 'Yagana' e 'Ona' e as cultivares brasileiras 'Clara', lançada em 2010, 'Cristina', 'Cota', 'Catucha', 'Baronesa', 'Cristal' e 'Monte Bonito'. O último grupo identificado, com similaridade média de 0,53, é formado por dez indivíduos, incluindo as cultivares europeias 'Amorosa' e 'Imola' e oito clones avançados do programa de melhoramento da EMBRAPA, dos quais dois são fonte de resistência ao vírus Y, derivada da subespécie *andigena*.

O presente trabalho mostrou que embora mais da metade dos clones avaliados encontram-se agrupados em um grande grupo, agrupamentos menores foram identificados e as hibridações realizadas no programa de melhoramento devem ser priorizadas entre genótipos classificados em grupos distintos a fim de explorar de forma mais eficiente a variabilidade disponível.

## Agradecimentos

À CAPES, CNPq e Embrapa Clima Temperado pelo apoio com os recursos financeiros para a realização do trabalho.

## Referências

Agrianual 2010 (2010) **Anuário estatístico da agricultura brasileira**. Editora FNP Consultoria & Comércio, São Paulo, 520p.

Barandalla L, Galarreta JIR, Rios D and Ritter E (2006) Molecular analysis of local potato cultivars from Tenerife Island using microsatellite markers. **Euphytica** **152**: 283-291.

Bradshaw JE (2007) Potato-Breeding Strategy In: Vreugdenhil D (ed). **Potato Biology and Biotechnology Advances and Perspectives**. Editora Elsevier, Amsterdã, p. 157-177

DART Diversity Arrays Technology Pty. Ltd. Disponível em: <http://www.diversityarrays.com/samplesub.html>. Acesso em 19 de agosto de 2010.

Feingold S, Lloyd J, Norero N, Bonierbale M and Lorenzen J (2005) Mapping and characterization of new EST-derived microsatellite for potato (*Solanum tuberosum* L.). **Theoretical and Applied Genetics** **111**:456-466.

Gebhardt C, Pajeroska-Mukhtar K, Achenbach U, Sattarzadeh A, Bormann C, Ilarionova E and Ballvora A (2007) Candidate gene approach to identify genes underlying quantitative traits and develop diagnostic markers in potato. **Crop Science** **47**:106-111

Ghislain M, Núñez J, Herrera MDR, Pignataro J, Guzman F, Bonierbale M and Spooner DM (2009) Robust and highly informative microsatellite-based genetic identity kit for potato. **Molecular Breeding** **23**: 377-388

Mohammadi SA and Prasanna BM (2003) Analyses of genetic diversity in crop plants – Salient statistics tools and considerations. **Crop Science** **43**: 1235-1248

Pereira AS, Silva ACF, Castro CM, Medeiros CAB, Hirano E, Nazareno NRX, Bertoncini O, Melo PE and Souza ZS. (2008) **Catálogo de cultivares de batata**. Editora Embrapa Clima temperado, Pelotas, 39p.

Rohlf FJ. **NTSYSpc**: numerical taxonomy and multivariate analysis system. Setauket: Applied Biostatistics, (2005) v. 2.2

Rosa PM, Campos TD, Souza ACBD, Sforça DA, Torres GAM and Souza AP (2010) Potato cultivar identification using molecular markers. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **45**: 110-113

Silva GO, Pereira AS, Souza VQD, Castro CM, Carvalho FIFD and Viera EA (2009) Distâncias genéticas entre genótipos de batata a partir de dados morfológicos, moleculares e genealógicos. **Semina: Ciências Agrárias** **30**: 983-992

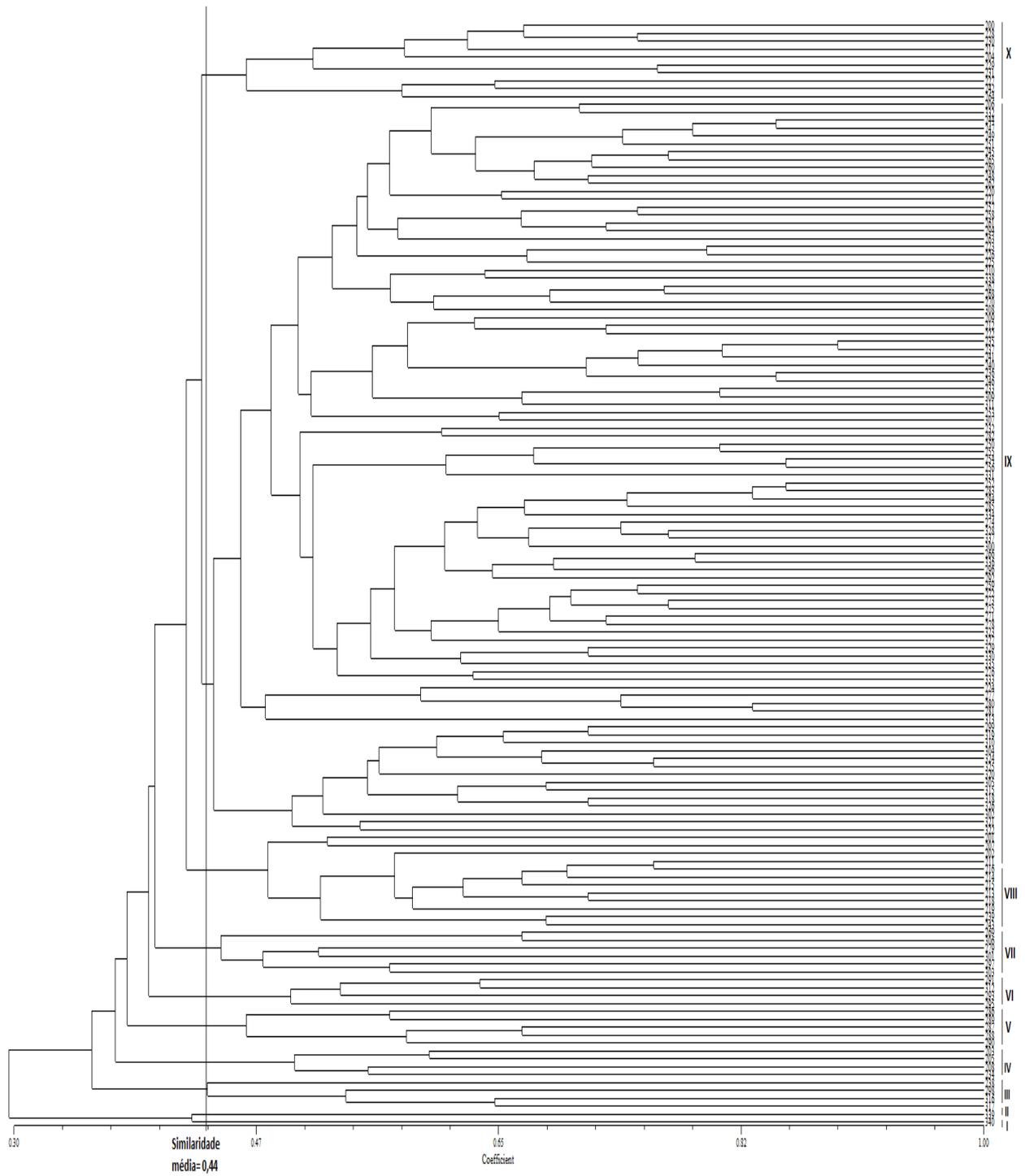


Figura 1. Dendrograma gerado da análise de dez *loci* SSR em 140 genótipos de batata, com base na matriz de similaridade de Jaccard, agrupados pelo método UPGMA. Pelotas, 2011.