

DISTÂNCIAS GENÉTICAS ENTRE ACESSOS DE PINHÃO MANSO DA COLEÇÃO DE TRABALHO DA EMBRAPA CLIMA TEMPERADO A PARTIR DE DADOS MOLECULARES E MORFOLÓGICOS.

Rérinton Joabél Pires de Oliveira (Embrapa Clima Temperado, rerinton@yahoo.com.br); Juliana Castelo Branco Villela (Embrapa Clima Temperado, jbrancov@gmail.com); Mario Álvaro Aloísio Veríssimo (Embrapa Clima Temperado, maaverissimo@gmail.com); Sérgio Delmar dos Anjos e Silva (Embrapa Clima Temperado, sergio.anjos@cpact.embrapa.br); Éberson Diedrich Eicholz (Embrapa Clima Temperado, eberson.eicholz@cpact.embrapa.br).

Palavras Chave: *Jatropha curcas* L., distâncias genéticas, molecular.

1 - INTRODUÇÃO

O pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) é uma espécie oleaginosa perene pertencente à família Euphorbiaceae, de fácil propagação e que pode apresentar relevante importância social e econômica para o Brasil, especialmente como fonte de biocombustível (Laviola et al. 2010). Essa espécie ainda é pouco estudada nos diversos aspectos agrônômicos, fisiológicos, moleculares e fitopatológicos.

Segundo Saturnino et al. (2005), a maioria dos países interessados na cultura do pinhão manso está estudando a diversidade genética dessa espécie e fazendo a coleta de germoplasma, dentro de seu próprio território. No Brasil não é diferente, e assim como em outros estados, no Rio Grande do Sul, a planta existe de forma espontânea (Casagrande Júnior et al., 2007).

A análise da distância genética é uma ferramenta auxiliar de grande importância em programas de melhoramento, pois é um elo entre a conservação e a utilização dos recursos genéticos disponíveis. As medidas de distância genética podem ser estimadas com base na avaliação morfológica (Cruz e Regazzi, 1997), por meio de dados moleculares através do polimorfismo de DNA (Oliveira, 1998; Diniz Filho, 2000), ou ainda mediante informações disponíveis da genealogia (Loiselle et al., 1991; Barbosa-Neto et al., 1996; Kim e Ward, 1997; Van Beuningen e Buseh, 1997). Neste sentido, Objetivou-se com este trabalho avaliar as distâncias genéticas entre acessos de pinhão manso a partir de dados moleculares e morfológicos.

2 - MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado no campo experimental e no Laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Clima Temperado, Pelotas – RS (coordenadas geográficas: 31°40'47"S e 52°26'24"W; 60m de altitude) utilizando-se os 18 acessos que compõem a coleção de trabalho da Embrapa Clima Temperado.

A extração do DNA foi realizada a partir de tecidos de folhas jovens de pinhão manso, segundo o protocolo Ferreira e Grattapaglia (1996). Foi realizado um “screening” dos “primers” de modo a selecionar os melhores “primers” para o presente estudo. Dos 48 pares de primer testados foram selecionados os mais polimórficos. As reações de amplificação foram desenvolvidas utilizando GOTaq Green Master Mix[®], segundo o protocolo proposto pelo fabricante. O programa de amplificação foi constituído por 30 ciclos, com temperatura de anelamento dos primers

de 60°C. O produto da amplificação foi separado em gel de agarose 3,5%, e visualizado em luz ultravioleta por meio de coloração com brometo de etídio.

As ampliações obtidas foram classificadas independentemente conforme presença (1) e ausência (0) de bandas. Os dados gerados foram utilizados para o cálculo da similaridade genética entre todos os pares de indivíduos, com o auxílio do programa computacional NTSYS pc 2.1 (Rohlf, 2000).

As características morfológicas avaliadas foram: número de inflorescências, número e peso de frutos, e percentagem de plantas com oídio.

Para o cálculo da similaridade genética, foi utilizado o coeficiente de Dice (Dice, 1945) e com base na matriz de similaridade foi gerado um dendrograma por meio do método de agrupamento UPGMA. Para a verificação do ajuste entre a matriz de similaridade e o respectivo dendrograma, foi estimado o coeficiente de correlação cofenética (r), conforme Sokal e Rohlf (1962).

3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

O dendrograma obtido a partir da análise molecular (Figura 1) apresentou uma similaridade média de 0,73. O emprego da similaridade média como critério para a separação propiciou a visualização de três grupos, sendo que no grupo III ficaram os acessos L1P20-1°, L3P7-1°, L7P10-1°, L1P10-1°, L2P19-1°, L1P9-1°. Neste agrupamento foi possível verificar que o genótipo L1P20 foi o mais distante em relação aos demais acessos. O grupo I conteve os acessos L1P10EN e L1P1EN; e no grupo II ficaram os acessos L3P11EN, L3P3EN, L3P18EN, L8P5-2°, L3P1EN, L6P9-2°, L6P3-2°, L8P10-2°, L5P11-2°, L4P5-2°.

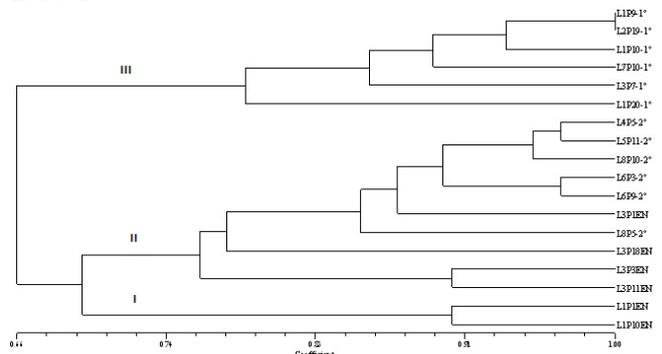


Figura 1. Dendrograma de 18 acessos de pinhão manso obtidos a partir da análise molecular de microssatélites utilizando o índice de similaridade de Dice (1945) e o método de agrupamento UPGMA. O valor do coeficiente de correlação cofenética (r) é de 0,78. Embrapa Clima Temperado, Pelotas-RS, 2010.

Quanto aos caracteres morfológicos, o dendrograma obtido apresentou uma dissimilaridade média de 0,70 (Figura 2). A análise dos quatro caracteres morfológicos gerou agrupamentos que evidenciaram a separação dos acessos em três grupos principais, como segue: O grupo III foi o que conteve a maioria dos acessos como segue: L1P9-1°, L3P1EN, L4P5-2°, L3P18EN, L3P3EN; L1P10-1°, L8P5-2°, L8P10-2°, L1P20-1°, L6P9-2°, L5P11-2°, L1P1EN, L6P3-2° e L1P10EN. O grupo II foi formado por dois acessos; L3P7(1°) e L2P19 (1°). O genótipo L7P10(1°) foi o que mais se distanciou, formando o grupo I.

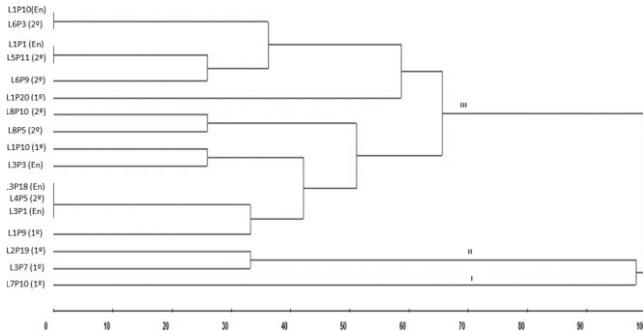


Figura 2. Dendrograma de 18 acessos de pinhão manso obtidos a partir de quatro caracteres morfológicos da planta utilizando o índice de dissimilaridade de Dice (1945) e o método de agrupamento UPGMA. O valor do coeficiente de correlação cofenética (r) é de 0,84. Embrapa Clima Temperado, Pelotas-RS, 2010.

Neste segundo dendrograma foi possível verificar distanciamento dos acessos L2P19(1°), L3P7(1°) e L7P10(1°) em relação aos demais, sendo que este último apresentou maior dissimilaridade formando o grupo I (Fig. 2).

Quando se compara os dados apresentados pelos dois dendrogramas, pode-se verificar que os acessos mais dissimilares que formam os grupos I (L7P10(1°)) e II (L3P7(1°) e L2P19(1°)) do segundo dendrograma, estão no grupo III do primeiro dendrograma (Figura 1).

A avaliação utilizando marcadores moleculares microssatélites, em conjunto com caracteres morfológicos tem confirmado a existência de grande variabilidade genética entre acessos de pinhão manso.

Embora as características moleculares e morfológica possam ser utilizadas com êxito para se mensurar os distanciamentos genéticos entre acessos de pinhão manso, os resultados não serão necessariamente iguais, devido ao fato de se utilizarem de critérios diferentes para o cálculo da similaridade. Neste contexto, torna-se necessário avaliar um número maior de caracteres morfológicos nas diferentes fases do desenvolvimento da cultura.

4 - CONCLUSÕES

- 1) Os acessos L7P1(1°), L3P7(1°) e L2P19 (1°), são os que apresentam maior distanciamento em relação aos demais acessos estudados.
- 2) Tanto o método molecular como o morfológico pode ser empregado com êxito para se mensurar a distância entre acessos de pinhão manso.

5 - AGRADECIMENTOS

A FINEP, Petrobrás e MDA pelo financiamento da pesquisa, e ao CNPq pela bolsa.

6 - REFERÊNCIAS

- ¹BARBOSA-NETO, J. F.; SORRELLS, M. E.; CISAR, G. Prediction of heterosis in wheat using coefficient of parentage and RFLP based estimates of genetic relationship. *Genome*, Montreal, v. 39, n. 6, p. 1142–1149, 1996.
- ²CASAGRANDE JÚNIOR, J. G.; SILVA, S. D. dos A. e; AIRES, R. F.; EMYGDIO, B.; Desenvolvimento de mudas de pinhão manso em condições controladas. In: SIMPÓSIO ESTADUAL DE AGROENERGIA. 2007, Pelotas. Anais... Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2007. 1 CDRom.
- ³CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. Divergência genética. In: CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. Métodos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Viçosa: UFV, 1997. p. 287-324. 6 v.
- ⁴DICE, L.R. Measures of the amount of ecological association between species. *Ecology*, Washington, v.26, n.3, p.297-307, 1945.
- ⁵DINIZ FILHO, J. A. Métodos filogenéticos comparativos. Ribeirão Preto: Holos, 2000.
- ⁶FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. 2.ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 1996. (EMBRAPA-CENARGEN).
- ⁷KIM, H. S.; WARD, R. W. Genetic diversity in Eastern U.S. soft winter wheat (*Triticum aestivum* L. em. Thell.) based on RFLPs and coefficient of parentage. *Theoretical and Applied Genetics*, New York, v. 94, n. 3/4, p. 472-479, 1997.
- ⁸LOISELLE, F.; TAI, G. C. C.; CHRISTIE, B. R. Pedigree, agronomic and molecular divergence of parents in relation to progeny performance in potato. *Potato Research*, Wageningen, v. 34, n. 3, p. 305-316, 1991.
- ⁹OLIVEIRA, A. C. Construção de Mapas Genéticos em Plantas. In: MILACH, S. C. K. (Ed.) Marcadores de DNA em Plantas. Porto Alegre: UFRGS, 1998.
- ¹⁰ROHLF, F. J. NTSYS-pc: numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 2.1. Exeter Software, New York, 2000. 98p.
- ¹¹SATURNINO, H. M.; PACHECO, D. D.; KAKIDA, J.; TOMINAGA, N.; GONÇALVES, N. P. Cultura do Pinhão manso (*Jatropha curcas* L.). Produção de oleaginosas para biodiesel. *Informe agropecuário*, Belo Horizonte, v. 26, n. 229, p. 44-74, 2005.
- ¹²SOKAL, R. R.; ROHLF, F. J. The comparison of dendrograms by objective methods. *Taxon*, Berlin, v.11, n.1, p.30-40, 1962.
- ¹³VAN BEUNINGEN, L. T.; BUSEH, R. H. Genetic diversity among North American spring wheat cultivars: I. Analysis of the coefficient of parentage matrix. *Crop Science*, Madison, v. 37, p. 570-579, 1997.