

## CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE GENÓTIPOS UTILIZADOS COMO PORTA-ENXERTOS EM UM POMAR DE PESSEGUEIRO

**KNEIB, Roberta Bartz<sup>1\*</sup>; KNEIB, Raquel Bartz<sup>1</sup>; UENO, Bernardo<sup>2</sup>; MAYER, Newton Alex<sup>2</sup>; PINHEIRO, Natércia Lobato<sup>2</sup>; CASTRO, Caroline Marques<sup>2</sup>.**

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas/Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, e-mail: robertakneib@yahoo.com.br; \*bolsista PIBIC/CNPq <sup>2</sup>Embrapa Clima Temperado

### 1 INTRODUÇÃO

No Brasil, a produção de pêssego (*Prunus persica*) é oriunda basicamente de pomares de base familiar tendo grande importância social no país (MADAIL et. al., 2007). O Rio Grande do Sul é maior produtor brasileiro de pêssegos sendo responsável por mais de 50% da produção Nacional (AGRIANUAL, 2011).

Os porta-enxertos são utilizados na propagação de plantas frutíferas há mais de 2.000 anos, tendo como funções básicas o suporte da planta, o fornecimento de água e nutrientes e a adaptação da planta às condições do solo, clima e doenças (WEBSTER, 1995).

No Rio Grande do Sul, para a formação de porta-enxertos de pessegueiro a grande maioria dos viveiristas utiliza uma mistura varietal de caroços obtidos junto às indústrias de conservas da região de Pelotas-RS (PEREIRA; MAYER, 2005). Com isso, apenas para a cultivar-copa é que se tem o conhecimento sobre a origem genética do germoplasma. Os porta-enxertos, no entanto, em função da propagação por sementes, são heterozigotos, apresentando variabilidade genética, o que contribui para o aumento da desuniformidade entre as plantas nos pomares comerciais (WEBSTER, 1995). Entretanto, estudos que quantifiquem a magnitude da diversidade genética encontrada nos porta-enxertos que compõem esses pomares são escassos. Nesse sentido foi desenvolvido este trabalho com o objetivo de caracterizar a diversidade genética de porta-enxertos que compõem um pomar comercial de pessegueiro, localizado no interior do município de Pelotas, RS.

### 2 METODOLOGIA (MATERIAL E MÉTODOS)

O trabalho foi realizado no Laboratório de Biologia Molecular da Embrapa Clima Temperado. Foram coletadas raízes de 120 plantas de um pomar comercial de pessegueiro na região de Pelotas, RS. O pomar escolhido para o estudo é da cultivar-copa 'Santa Aurea', com seis anos de implantação e apresenta grande diversidade quanto ao vigor das plantas. Para a extração de DNA foi utilizado o protocolo de Ferreira & Grattapaglia (1996) modificado, no qual foi adicionado NaCl 5M ao isopropanol e foi acrescentada uma etapa de lavagem do DNA precipitado com Acetado de potássio 3M. O DNA extraído foi quantificado em gel de agarose a 1% com padrão de peso molecular  $\lambda$  Hind/III.

As reações de PCR foram realizadas com o kit Type-it Microsatellite PCR kit (QIAGEN). Foram analisados cinco *loci* SSR: BPPCT-009, BPPCT-002, BPPCT-026, BPPCT-023 e UDP-98407 (Tab. 1). As reações de PCR foram conduzidas em

termociclador modelo GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems) de acordo com o seguinte programa: 94°C por 1 min., seguido por 30 ciclos de 94°C por 45 seg., 57°C por 45 seg. e 72°C por 2 min., finalizando com 72°C por 4 min.

Os produtos da reação de amplificação foram separados por eletroforese em gel de agarose 2,5%. Como padrão de peso molecular foi adotado o marcador 10 pares de base (InvitroGen).

Para a análise dos dados foi realizada a leitura dos géis onde para cada *locus* de microssatélite os amplicons foram pontuados como um (1) para genótipo homozigoto, 0,5 para cada fragmento quando o genótipo foi heterozigoto e zero (0) para banda ausente, sendo posteriormente convertidos em uma matriz de dados a partir da qual foi estimada a distância genética entre os genótipos, por meio da distância de Rogers modificado (GOODMAN, STUBER, 1983).

Com base na matriz de distância genética foi construído um dendrograma pelo método de agrupamento da distância média UPGMA. O ajuste entre a matriz de dissimilaridade e o dendrograma foi estimado pelo coeficiente de correlação cofenética (*r*). As análises foram realizadas utilizando o programa NTSYS-pc (ROHLF, 2005).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos cinco *loci* analisados, na caracterização dos 120 genótipos, foram identificados sete alelos no total, com variação entre um e três alelos por *locus* (Tab. 1).

**Tabela 1** - *Loci* SSR utilizados na caracterização de 120 genótipos de porta-enxerto de pessegueiro e o respectivo número de alelos identificados por *locus* SSR.

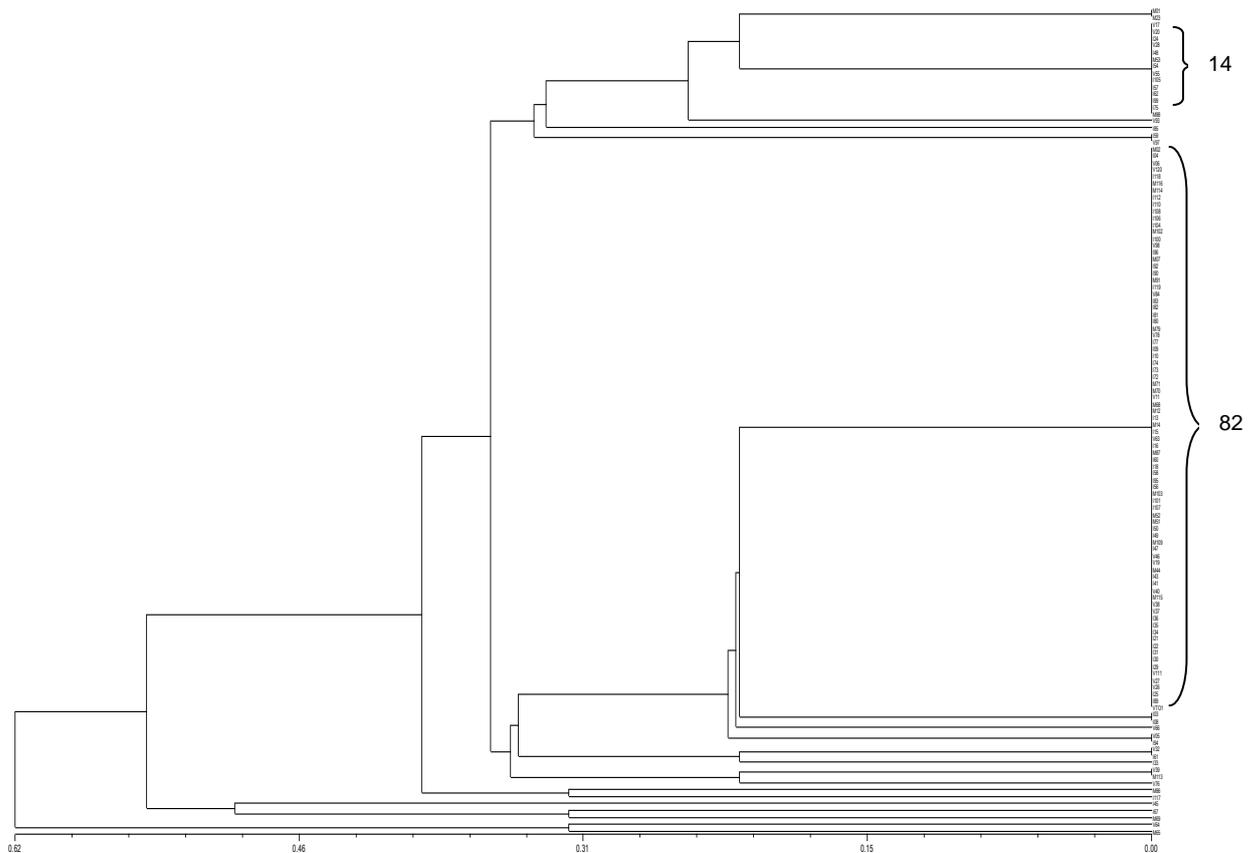
Loci SSR	Sequencia <i>foward</i>	Sequencia <i>reverse</i>	nº total de alelos
BPPCT-009	ATTCGGGTCGAACTCCCT	ACGAGCACTAGAGTAACCCTCTC	1
BPPCT-002	TCG ACA GCT TGA TCT TGA CC	CAA TGC CTA CGG AGA TAA AAG AC	1
BPPCT-026	ATACCTTTGCCACTTGCG	TGAGTTGGAAGAAAACGTAACA	1
BPPCT-023	TGCAGCTCATTACCTTTTGC	AGATGTGCTCGTAGTTCGGAC	2
UDP98-407	AGCGGCAGGCTAAATATCAA	AATCGCCGATCAAAGCAAC	2

Na análise dos 120 genótipos de pessegueiro a similaridade média geral encontrada entre os genótipos foi de 0,804 (80,41%), com amplitude de 0,77 a 1,0. Pela análise de agrupamento, tendo como base a distância média geral entre os genótipos (0,19), os porta-enxertos foram distribuídos em 20 grupos (Figura 1). Destes, em um único grupo encontram-se 82 dos 120 porta-enxertos analisados, com 100% de similaridade intra-grupo. Em um segundo grupo encontram-se 14 genótipos, os quais também apresentam 100% de similaridade. Os genótipos restantes estão distribuídos nos demais grupos, os quais são formados por um a três genótipos cada. O ajuste entre a matriz de distância genética e o dendrograma foi alto, com coeficiente de correlação cofenética de 0,98.

Os resultados encontrados neste trabalho sugerem que a variabilidade genética presente nos porta-enxertos do pomar em estudo é baixa, os genótipos mais distantes apresentaram 77% de similaridade. Bouhadida et al. (2011) ao analisar 94 cultivares de pessegueiro, na sua maioria cultivares locais da Espanha, com 15 *loci* SSR, encontraram similaridade média geral de 0,38. O número de *loci* analisados no

nosso trabalho foi de apenas cinco, o que pode contribuir para uma subestimação da magnitude da variabilidade genética. Sendo que, alguns trabalhos mostram que a análise de três a seis *loci* SSR é suficiente para discriminar cultivares de pessegueiro (DIRLEWANGER et. al., 2002; BOUHADIDA et. al., 2011).

A baixa variabilidade genética encontrada neste trabalho pode ser justificada pelo fato de que para produção de mudas os viveiristas utilizam uma mistura de caroços obtidos junto às indústrias de conservas. Dependendo das cultivares processadas na indústria no dia em que foram disponibilizados os caroços aos viveiristas, pode-se ter um único, ou poucos genótipos disponíveis, resultando em uma baixa variabilidade genética nos porta-enxertos.



**Figura 1** - Agrupamento dos 120 porta-enxertos de pessegueiro pelo método de UPGMA obtido a partir da análise de cinco *loci* de microssatélites com base na matriz de distância genética de Rogers modificado.

#### 4 CONCLUSÃO

A variabilidade genética encontrada nos genótipos utilizados como porta-enxertos em um pomar comercial de pessegueiro na região de Pelotas, RS, é baixa, sugerindo que poucos genótipos deram origem aos porta-enxertos estudados.

#### 5 REFERÊNCIAS

AGRIANUAL 2011. **Anuário da agricultura brasileira**. São Paulo: FNP Consultoria e Comércio, 2011. 482p.

BOUHADIDA, M.; MORENO, M.A.; GONZALO, M.J.; ALONSO, J.M.; GOGORCENA, Y. Genetic variability of introduced and local Spanish peach cultivars determined by SSR markers. **Tree Genetics and Genomes**, v. 7, p. 257-270, 2011.

DIRLEWANGER, E.; COSSON, P.; TAVAUD, M.; ARANZANA, M.J.; POIZAT, C.; ZANETTO, A.; ARÚS, P.; LAIGRET, F. Development of microsatellite markers in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] and their use in genetic diversity analysis in peach and sweet cherry (*Prunus avium* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, v. 105, p. 127-138, 2002.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 2 ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 1995. p. 220

GOODMAN, M.M.; STUBER, C.W. Races of maize: VI. Isozyme variation among races of maize in Bolívia. **Maydica**, Bergamo, V.28 p. 169-187, 1983.

MADAIL, J.C.M.; RASEIRA, M. do C.B. BELARMINO, L.C.; SILVA, B.A. da. Economia o pêssego no Brasil. In: **SIMPOSIO REGIONAL TRES FRONTERAS EN EL CULTIVO DEL DURAZNERO**, Uruguay, 2007. CD-ROOM.

PEREIRA, F.M.; MAYER, N.A. **Pessegueiro: tecnologias para a produção de mudas**. Jaboticabal: Funep, 2005. 65p.

ROHLF, F.J. **NTSYSpc: numerical taxonomy and multivariate analysis system**. Setauket: Applied Biostatistics, 2005. v. 2.2.

WEBSTER, A.D. Rootstock and interstock effects on deciduous fruit tree vigour, precocity, and yield productivity. **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, v.23, p.373-382, 1995b.