



SIMILARIDADE GENÉTICA ENTRE ACESSOS DO BANCO DE GERMOPLASMA DE CAMARATUBA (*Cratylia argentea*) BASEADA EM MARCADORES ISSR

GIZELE DE ANDRADE LUZ¹; KARINA DE SOUSA LEITE²; SULIMARY OLIVEIRA GOMES³; RAIMUNDO BEZERRA DE ARAUJO NETO⁴; MARIA DO SOCORRO CORTEZ BONA DO NASCIMENTO⁵; PAULO SARMANHO DA COSTA LIMA⁶;

1.UNIVERSIDADE ESTADUAL DO PIAUÍ - UESPI, TERESINA, PI, BRASIL; 2.FACULDADE ALIANÇA, TERESINA, PI, BRASIL; 3.UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ - UFPI, TERESINA, PI, BRASIL; 4,5,6.EMBRAPA MEIO-NORTE,

TERESINA, PI, BRASIL;

gyz_luz@hotmail.com

Resumo: A Camaratuba (*Cratylia argentea*) é uma leguminosa arbustiva com potencial forrageiro devido sua elevada produtividade, alto valor nutritivo, resistência à seca e adaptação a solos ácidos. Este trabalho teve como objetivo avaliar a similaridade genética entre 14 acessos de Camaratuba do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte. Foram selecionados oito primers para acessar o DNA genômico destes acessos. Através dos marcadores selecionados foi construída uma matriz binária a partir da qual foram realizadas análises para estimar as distâncias genéticas entre os acessos. O coeficiente de similaridade variou entre 0,25 a 0,7391. Os resultados obtidos indicam que os acessos do Banco de Germoplasma de Camaratuba apresentam baixa similaridade genética com genitores potenciais para o melhoramento genético.

Palavras-chave: camaratuba, diversidade genética, marcadores moleculares.

Introdução

A Camaratuba (*Cratylia argentea* (Desv.) Kuntze) é um arbusto que pertence à família Fabaceae predominante no cerrado brasileiro. Caracteriza-se pela sua extrema adaptação a solos ácidos e a alta tolerância à seca. Além de alta retenção de folhas verdes e capacidade de germinar durante o período da seca, constituindo uma forragem de qualidade nesta época (ARGEL; PIZARRO, 1998; RAMOS; SOUZA; PIZARRO, 2003). Segundo Kamada (2006), a variabilidade gênica entre indivíduos de uma mesma espécie ou entre grupos de cruzamentos interespecíficos constitui-se uma etapa imprescindível no processo de melhoramento genético. Pois para obterem-se as variedades agrônômicas é necessário formar grupos de indivíduos a partir da diversidade das características desejadas. Portanto, é fundamental o conhecimento da variabilidade genética, sobretudo em espécies que ainda não foram domesticadas. Os marcadores moleculares têm sido úteis no estudo da diversidade genética. Entre os marcadores baseados em PCR (Polimerase Chain Reaction), o ISSR (Inter Simple Sequence Repeats) é



uma técnica simples, rápida, eficiente, de alta reprodutibilidade. E, envolve a amplificação de segmentos de DNA presentes entre duas regiões microssatélites idênticas orientadas em direções opostas (REDDY; SARLA; SIDDIQ, 2002). Este trabalho teve como objetivo avaliar a similaridade genética entre 14 acessos de Camaratuba do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte.

Material e Métodos

Foram coletadas folhas jovens de 14 acessos de Camaratuba oriundos do Banco de Germoplasma de forrageiras nativas da Embrapa Meio-Norte em Teresina. O DNA genômico foi extraído com o kit Qiagen, quantificado em gel de agarose (0,8%) com TBE 0,5x e corado com GelRed™, comparando-o ao DNA λ na concentração de 100ng. As amostras de DNA foram amplificadas via PCR. Cada reação continha: tampão 1x [10 mM Tris-HCl; 50 mM KCl; 1,5 mM MgCl₂] (Biolabs), 1 mM de dNTP, 0,3 μ M de primer, 0,5 U de Taq DNA Polimerase (Biolabs), 0,5 μ L de DNA genômico (7 ng), H₂O *MiliQ* em um volume final de 10 μ L. Foram selecionados os oito primers desenvolvidos pelo Laboratório de Biotecnologia da British Columbia University (UBC 808, UBC 818, UBC 827, UBC 830, UBC 835, UBC 836, UBC 848 e UBC 886). As amplificações foram realizadas em termociclador Veriti™ 96 Well Thermal Cycler (Applied Biosystems) sob as seguintes condições: 1 ciclo de 94°C-1'30"; 40 ciclos (94°C-40", 50°C-45", 72°C-2'); 72°C-7'; 4°C-∞. Os produtos amplificados foram separados em gel de agarose (1,5%) conduzido a 110 V por 4 horas, corados com GelRed™ e fotodocumentados sob luz ultravioleta. Foi construída uma matriz para os fragmentos amplificados codificados em sistema binário, atribuindo-se (1) para presença e (0) para ausência de bandas. Para cálculo do coeficiente de similaridade de Jaccard, coeficiente de correlação cofenético (r) e índice de confiabilidade de *bootstrap* foi usado o programa Past v.1.34 (HAMMER *et al.*, 2001). A análise de agrupamento foi realizada pelo método de ligação média entre grupos (UPGMA).

Resultados e Discussão

Foram selecionados oito primers ISSR que proporcionaram bandas polimórficas, indicando a existência de diversidade genética entre os acessos utilizados de Camaratuba. O número de bandas geradas por cada primer variou entre cinco e 23. A matriz de similaridade demonstrou a existência de variabilidade entre os acessos, com coeficientes de similaridade variando entre 0,25 e 0,7391 (Tabela 1). A maior similaridade está entre os acessos cinco e 11 e a menor entre os acessos quatro e 14. A correlação cofenética de 0,89 indicou que não há distorções significativas entre a matriz e o dendrograma obtido. O dendrograma gerado com média de similaridade de 0,4775 permitiu a

separação dos genótipos em cinco grupos (Figura 1). A utilização de acessos com baixa similaridade genética em cruzamentos é uma estratégia frequentemente empregada pelos programas de melhoramento com objetivo de obter maior valor híbrido. Com base nos resultados observados na matriz de similaridade e no dendrograma, constatou-se que os acessos 1, 4, 6, e 14 são genitores potenciais para o melhoramento genético. Pois o reconhecimento de indivíduos com alta variabilidade genética otimiza a seleção de genitores para cruzamentos, uma vez que, o cruzamento entre os mais divergentes deve gerar maior segregação (FRANCO; CASSINI; OLIVEIRA, 2001).

Tabela 1. Matriz de similaridade genética entre 14 genótipos de Camaratuba gerada pelo coeficiente de Jaccard.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	1													
2	0,6087	1												
3	0,6383	0,5532	1											
4	0,2593	0,2549	0,3400	1										
5	0,5294	0,5417	0,5400	0,4167	1									
6	0,2727	0,3750	0,3800	0,4634	0,4286	1								
7	0,5306	0,4797	0,5102	0,3830	0,7046	0,3674	1							
8	0,4546	0,4615	0,4906	0,3462	0,5385	0,4400	0,7111	1						
9	0,4490	0,4565	0,4583	0,3261	0,5435	0,3696	0,4783	0,4038	1					
10	0,4231	0,4286	0,4600	0,3913	0,6087	0,3750	0,5435	0,5833	0,4889	1				
11	0,4286	0,4074	0,4364	0,4583	0,7391	0,4400	0,6042	0,5472	0,4898	0,6170	1			
12	0,4237	0,4035	0,4561	0,3454	0,5849	0,4074	0,5283	0,5636	0,4528	0,7021	0,5926	1		
13	0,4444	0,3706	0,4528	0,3600	0,5294	0,3462	0,5625	0,4815	0,4490	0,5745	0,5094	0,7143	1	
14	0,4407	0,3966	0,4483	0,2500	0,4407	0,2623	0,4643	0,4500	0,3448	0,3966	0,4500	0,4444	0,3934	1

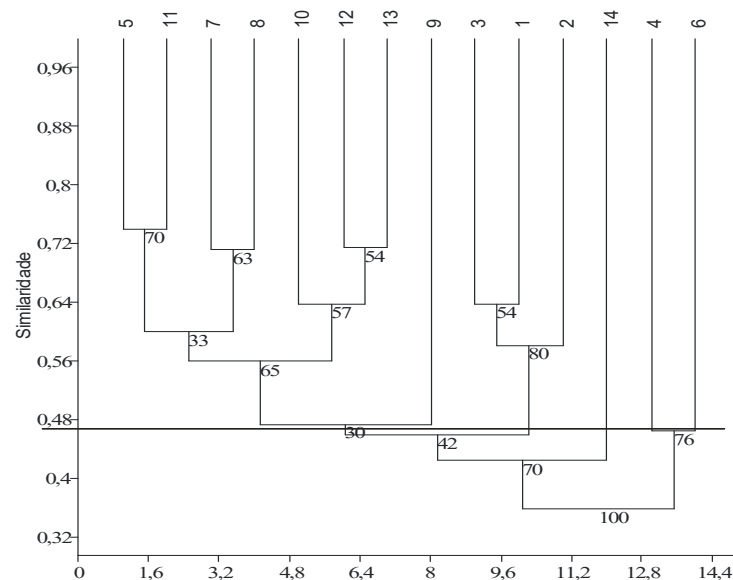


Figura 1: Análise de agrupamento para os 14 acessos de Camaratuba (*Cratylia argentea*)

Conclusão



Foi verificada baixa similaridade genética entre os acessos analisados. Portanto, o Banco de Germoplasma de Camaratuba apresenta grande diversidade gênica com genitores promissores para programas de melhoramento genético.

Os marcadores moleculares ISSR são eficientes para avaliar a similaridade genética de Camaratuba.

Agradecimentos

PAC/ Embrapa pelo suporte financeiro. A FUNARBE pela bolsa.

Referências

- ARGEL, P.J. & LASCANO, C.E.. *Cratylia argentea*: una nueva leguminosa arbustiva para suelos ácidos en zonas subhúmedas tropicales. **Pasturas tropicales**, v.20, n.1, p.37-43, 1998.
- FRANCO, M.C.; CASSINI, S. T. A.; OLIVEIRA, V. R.; TSAI, S. M. Caracterização da diversidade genética em feijão por meio de marcadores RAPD. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 2, p. 381-385, fev. 1997.
- HAMMER, O.; HARPER, D.A.T.; RYAN, P.D.. PAST: Paleontological Statistics software package for education and data analysis. **Paleontologia Electronica**, v.4, issue 1, art.4, 9pp. 2001.
- KAMADA, T.. **Avaliação da diversidade genética de populações de fáfia (*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen) por RAPD, caracteres morfológicos e teor de beta-ecdisona**. Tese de doutorado. Viçosa: UFV, 106f. 2006.
- RAMOS, A.K.B; SOUZA, M.A de; PIZARRO, E. A.. Algumas informações sobre a produção e o armazenamento de sementes de *Cratylia argentea*. In: EMBRAPA. **Centro de pesquisa agropecuária dos cerrados (Planaltina, DF)**. Circular técnica 25. Planaltina, p.1- 4. ISSN 1517-0187. 2003.
- REEDY, M.P.; SARLA, N.; SIDDIQ, E.A.. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. **Euphytica**, v.128, p.9-17, 2002.