

## AVALIAÇÃO DA DIVERGÊNCIA GENÉTICA EM MAMOEIRO COM BASE NA INTEGRAÇÃO DE MARCADORES RAPD E AFLP

Laercio Francisco Cattaneo<sup>1</sup>, Messias Gonzaga Pereira<sup>2</sup>, Gonçalo Apolinário de Souza Filho<sup>3</sup>, José Tarcisio Lima Thiebaut<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural - Incaper/CRDR, Cx. Postal 62, CEP 29900-970, Linhares – ES, lfcattaneo@ig.com.br; <sup>2</sup>Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal – LMGV, Av. Alberto Lamego, 2000, CEP 28013-602, Campos dos Goytacazes – RJ; <sup>3</sup>CCB/UENF; <sup>4</sup>Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias – CCTA/UENF

### INTRODUÇÃO

O conhecimento da variabilidade genética entre as diversas populações de mamoeiros é importante para o desenvolvimento de cultivares superiores e também para a seleção de progenitores visando a exploração dos efeitos da heterose em cultivares híbridas.

As técnicas de marcadores de DNA, conhecidas como RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) e AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*), têm sido usadas para estimar a diversidade genética, facilitar a seleção genotípica, identificar germoplasma, construir mapas genéticos de ligação e obter informações sobre a estrutura das características quantitativas, aumentando a eficiência dos programas de melhoramento genético (BORÉM, 1997; FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998; VOS et al., 1995; LIU, 1998; RAMALHO et al., 2000).

O polimorfismo genético gerado por marcadores RAPD é de natureza binária, sendo caracterizado pela ausência ou presença do marcador no gel, conferindo-lhe a característica dominante, sendo, por conseguinte, para a maioria dos locos, impossível a distinção entre indivíduos homocigotos dominantes e heterocigotos (WILLIAMS et al., 1990; WELSH; McCLELLAND, 1990; FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998; LIU, 1998).

Os marcadores AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) se baseiam na amplificação seletiva, via PCR (Polymerase Chain Reaction), de fragmentos de DNA genômico total, gerados pela clivagem com enzimas de restrição (ZABEAU; VOS, 1993; VOS et al., 1995; LIU, 1998).

Os marcadores AFLP se destacam pelo grande número de fragmentos que detectam em apenas um gel, tornando-se muito eficiente na amostragem do genoma. A principal limitação dos marcadores AFLP é serem marcadores dominantes (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1988; LIU, 1988; RAMALHO et al., 2000). Dessa forma, apenas um alelo é detectado, ou seja, o que é amplificado e visualizado no gel. Os genótipos homocigotos não podem ser diretamente separados dos heterocigotos e o padrão de bandas se caracteriza por fornecer dados binários, ou seja, presença e ausência de banda. Eventualmente, de acordo com Liu (1998), as marcas podem ser identificadas como codominantes.

O objetivo do trabalho foi avaliar a divergência genética entre 22 genótipos de mamoeiros, provenientes do Estado do Espírito Santo e do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) da UENF, utilizando a integração de marcadores RAPD+AFLP.

### MATERIAL E MÉTODOS

As análises de DNA do mamoeiro por meio de marcadores RAPD e AFLP, foram realizadas no Laboratório de Melhoramento Genético Vegetal, Setor de Genética Aplicada, do Centro de Ciências e Tecnologia Agropecuária da Universidade Estadual do Norte Fluminense, localizado em Campos dos Goytacazes, Estado do Rio de Janeiro.

Os 22 genótipos de mamoeiros avaliados foram: 'Sunrise Solo', 'Improved Sunrise Solo Line 72/12',

'Baixinho de Santa Amália', 'Caliman G', 'Caliman SG', 'Caliman D', 'Caliman GB', 'Santa Bárbara', 'São Mateus', 'Grampola', 'Kapoho Solo', 'Saint Pierre', 'Sunrise Solo 783', 'Waimanalo', todos de origem havaiana do grupo 'Solo'; 'JS - 11', 'JS - 12', 'Costa Rica', 'Maradol', 'Tailândia', do grupo 'Formosa', e os dióicos 'Califlora' e Andy.

O isolamento do DNA genômico foi feito de acordo com o protocolo descrito por Doyle e Doyle (1990), com algumas modificações, utilizando-se amostras compostas de folhas jovens, coletadas em seis plantas de cada genótipo estudado.

As análises de amostras de DNA por meio de marcadores RAPD foram feitas utilizando-se 34 iniciadores da série OPERON Technologies (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998), enquanto as análises de DNA por meio de marcadores AFLP, utilizaram-se de 03 combinações de iniciadores (CAG-ACT; CAG-AGG e CAG-ACC), de acordo com Zabeau e Vos, (1993) e Vos et al. (1995). Por meio de análise multivariada, utilizando-se o complemento aritmético do Índice de Jaccard, foram estimados os coeficientes de dissimilaridade genética entre os genótipos analisados com os dois marcadores (DIAS, 1998; LIU, 1998). A análise de agrupamento foi feita pelo método hierárquico UPGMA, utilizando o programa computacional Statistica (STATSOFT, 1995).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises de DNA por meio de marcadores RAPD feitas utilizando-se 34 iniciadores da série OPERON Technologies, detectaram 80 locos monomórficos e 75 locos polimórficos.

Nas análises de DNA por meio de marcadores AFLP, as 03 combinações de iniciadores utilizados (CAG – ACT; CAG – AGG; CAG – ACC), possibilitaram a obtenção de 64 locos monomórficos e 119 locos polimórficos. Na Figura 1, encontra-se o dendrograma da distância genética dos 22 genótipos com base em análises RAPD+AFLP, obtido pelo complemento aritmético do índice de Jaccard, utilizando-se o método hierárquico UPGMA. Verifica-se que os genótipos foram agrupados em 10 grupos.

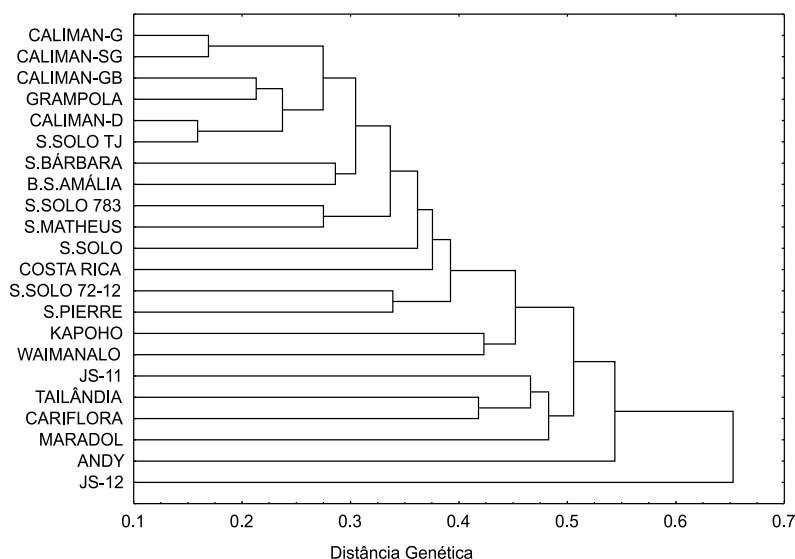


FIGURA 1 – Dendrograma da dissimilaridade genética de 22 genótipos de mamoeiro, com base na integração de marcadores RAPD + AFLP, obtido pelo método UPGMA, utilizando a distância do complemento aritmético do índice de Jaccard.

No primeiro grupo, formado exclusivamente por genótipos pertencentes ao grupo 'Solo', ficaram agrupados 'Caliman-G', 'Caliman-SG', 'Caliman-GB', 'Grampola', 'Caliman D' e 'S. Solo TJ'; no segundo grupo ficaram os genótipos 'S. Bárbara' e 'B.S. Amália' e no terceiro grupo ficaram os genótipos 'S. Solo – 783' e 'São Matheus'. O quarto grupo foi formado pelo genótipos 'Sunris Solo', No quinto grupo ficou o genótipo 'Costa Rica'. No sexto grupo ficaram agrupados os genótipos 'S Solo 72-12' e 'S. Pierre'. No sétimo grupo 'Kapoho' e 'Waimanalo'. O oitavo grupo foi formado pelos genótipos 'JS-11', 'Tailândia', 'Califlora' e 'Maradol'. No nono grupo ficou o genótipo s 'Andy' enquanto o genótipo 'JS-12' ficou no décimo grupo. A integração de marcadores RAPD+AFLP, nas condições em que foram realizadas as análises dos 22 genótipos de mamoeiro, mostraram-se adequados ao estudo da diversidade genética do mamoeiro, proporcionando maior discriminação dos genótipos, em relação às características de cada genótipo e em relação ao grupo a que pertencem, 'Solo' ou 'Formosa'.

## CONCLUSÃO

A integração de marcas RAPD+AFLP mostrou-se bastante eficiente na detecção de variabilidade genética entre os 22 genótipos de mamoeiros, possibilitando discriminá-los em 10 grupos.

## REFERÊNCIAS

DIAS, L. A. S. Análises multidimensionais. In: ALFENAS, A. C. (ed.) **Eletrforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microorganismos**. Viçosa, MG: UFV, 1988, p. 405-475.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v. 12, p. 13-15, 1987.

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

LIU, B. H. **Statistical genomics: linkage, mapping and QTL analysis**. New York: CRC Press. 1998. 611p.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B. dos.; PINTO, C. A. B. P. **Genética na agropecuária**. Lavras, Minas Gerais: UFLA, 2000. 472p.

STATSOFT, **Statistica for Windows**. Tulsa, OK: Statsoft, 1995.

VOS, P.; HOGERS, R.; BLEEKER, M.; REIJANS, M.; LEE, T. VAN de; HORNES, M.; FRIJTERS, A.; POT, J.; PELEMAN, J.; KUIPER, M.; ZABEAU, M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. **Nucleic Acids Research**, v. 21, p. 4407-4414, 1995.

ZABEAU, M.; VOS, P. **European patent application**. Publication nº: EP 0534858, 1993