



USO DE MARCADORES ISSR NA AVALIAÇÃO DE CULTIVARES TRADICIONAIS DE MANDIOCA

HOCHMÜLLER, Juliana Hernandez¹; DAMBRÓZ, Alice Prates Bisso¹; GOLLE, Diego Pascoal²; KOEFENDER, Jana³; MANFIO, Candida Elisa³; CAMERA, Juliane Nicolodi⁴; KAIPER, Cristiane^{5 6}

Palavras- chave: Germoplasma. Marcador molecular. *Manihot esculenta*.

INTRODUÇÃO

Diversas cultivares são utilizadas para plantio da Mandioca (*Manihot esculenta* Crantz.) no Alto Jacuí, entretanto, poucas são as informações existentes sobre as mesmas e, em muitos casos, na compra das ramas, é incerto se o material genético que está sendo disponibilizado refere-se, realmente, ao desejado. Além disso, a entrada de material genético de outros Estados e de procedência duvidosa põe em risco a manutenção dos recursos genéticos existentes e tradicionalmente cultivados no Alto Jacuí, os quais estariam mais adaptados a região. Adicionalmente, acredita-se que muitas das cultivares utilizada são as mesmas, embora possuam nomenclaturas diferentes, bem como há possibilidade de cultivares de mesma nomenclatura serem, na realidade, distintas.

O objetivo do trabalho foi avaliar a variabilidade genética do germoplasma regional de *M. esculenta* produzido na região do Alto Jacuí/RS, com vistas ao incremento da produtividade e conservação de recursos genéticos.

MATERIAL E MÉTODOS

Cinquenta e três variedades tradicionais resgatadas em oito municípios da Região do Alto Jacuí do Estado do Rio Grande do Sul, juntamente a duas variedades testemunhas,

¹ Acadêmica do curso de Agronomia da Universidade de Cruz Alta. E-mail: juhernandezh@yahoo.com.br; alice_pbd@outlook.com

² Prof. Orientador, Dr., Universidade de Cruz alta. E-mail: dgolle@unicruz.edu.br

³ Prof^a. Dr^a, Universidade de Cruz alta. E-mail: jkoefener@unicruz.edu.br / candidamanfio@gmail.com

⁴ Bolsista DOCFIX-CAPEF/FAPERGS, Universidade de Cruz Alta. E-mail: ju_camera@yahoo.com.br

⁵ Bióloga, Esp., Técnica de Laboratório – UNICRUZ. E-mail: ckaiper@unicruz.edu.br E-mail: ckaiper@unicruz.edu.br

⁶ Polo de Inovação Tecnológica do Alto Jacuí, Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais “in vitro”, Prédio 1, Sala 111, Campus, UNICRUZ, Cruz Alta, RS, Brasil. Cep: 98.020-290.

Apoio: SDECT-RS:Convênio SCIT 48/2013 e Bolsa PIBIC EM CNPq



obtidas da FEPAGRO, foram cultivadas na área experimental do Pólo de Inovação Tecnológica do Alto Jacuí, Campus Universitário da UNICRUZ.

Para extração de DNA foi utilizado um foliolo de cada planta com cem dias de cultivo, este material foi secado em temperatura ambiente. Posteriormente, foi realizado o isolamento de DNA, em que foi utilizado o protocolo desenvolvido por Dellaporta (1983) modificado (adição de β -Mercaptoetanol e etapa de filtragem supridas).

As soluções de DNA obtidas foram analisadas em espectrofotômetro NanoDrop® ND-1000 UV-Vis, em que foram estimadas a concentração de ácido nucleico (ng/ μ l), razão A260/A280 (indicativo de contaminação por proteínas) e razão A260/A230 (indicativo de contaminação por polissacarídeos).

A escolha dos iniciadores ISSRs foi realizada utilizando-se *kits* disponíveis, e assim foram utilizados 16 primers já desenvolvidos para a espécie. As reações de amplificação foram realizadas em um volume total de 15 μ l contendo: *buffer* PCR (1X), 2mM de dNTPs, 2,5 mM de MgCl₂, 1,5 U Taq DNA polimerase, 1,5 μ M de *primer* e 40 ng de DNA *template*. As reações de amplificação serão realizadas em termociclador MJ Research PTC-100® onde foi utilizado o seguinte perfil térmico: 94°C por 40 segundos, 50°C por 30 segundos, 72°C por 2 minutos. Serão realizados 35 ciclos. Antes dos ciclos, será realizada uma desnaturação inicial a 94°C por 5 minutos e, após os ciclos, uma extensão final a 72°C por 10 minutos.

Os produtos de PCR foram visualizados em gel de agarose (2%), utilizando-se para isso uma corrida eletroforética horizontal e a coloração das bandas com o uso de brometo de etídio. A visualização foi realizada em transluminador e fotodocumentada. A partir dos produtos amplificados, foi construída uma matriz binária baseada na presença e ausência de bandas características de cada iniciador para cada um dos acessos. Para análise de similaridade, foi utilizado o coeficiente de Jaccard e de “simple matching”, por meio do programa Arlequin 3.0 (EXCOFFIER et al., 2005), e o dendrograma foi construído com base no agrupamento estatístico UPGMA. As cultivares foram agrupadas em dendrograma com base no coeficiente de Jaccard.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observa-se no dendrograma gerado com base nas similaridades de Jaccard valores que variam entre 0,0 a 1,0 (Figura 1), estes resultados indicam elevada variabilidade genética entre os materiais genéticos em estudos. Estudos realizados por Siqueira et al., (2009), estimando a diversidade genética entre 42 acessos de mandioca, provenientes de cinco regiões

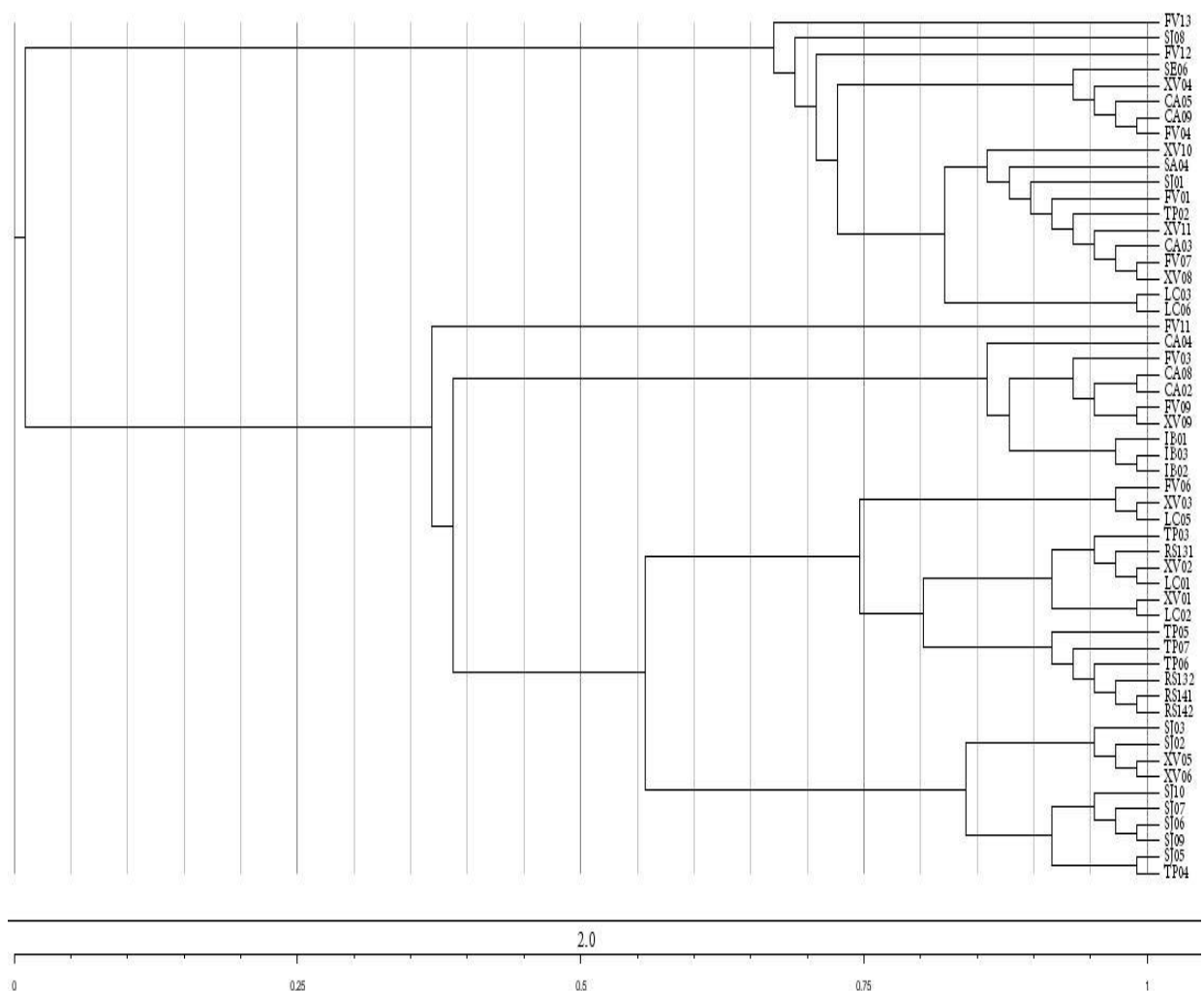


brasileiras, por meio de microssatélites, também constataram alta variabilidade genética, ocorrendo a formação de cinco grupos, esta alta variabilidade genética foi devido a polinização cruzada e a propagação vegetativa da cultura.

A similaridade genética apresentada pelo coeficiente de Jaccard, para as variedades estudadas indicou maior proximidade entre as variedades FV07 e XV08, além de menor proximidade LC 02 e LC 06 (Figura 1). Trabalhos desenvolvidos por Peroni (1998) relatou que a diversidade genética encontrada dentro dos sistemas agrícolas tradicionais é semelhante a do centro de origem da espécie.

Quando observado o dendograma com valores de similaridade de Jaccard de 0,5 pode-se observar a formação de quatro grupos.

Figura 1 – Dendograma de acessos de mandioca com base no índice de similaridade de Jaccard. Universidade de Cruz Alta, RS, UNICRUZ, 2015.





CONCLUSÃO

Há divergências genéticas entre as variedades tradicionais de mandiocas estudadas, o que identifica a eficiência do uso de marcador molecular (IRRS).

REFERÊNCIAS

DELLAPORTA, S.L.; WOOD, J.; HICKS, J.B. A plant minipreparation: version II. **Plant Molecular Biology Report**, v.1, p.19-20, 1983.

EXCOFFIER, L.L.G.; SCHNEIDER, S. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. **Evol Bioinform**, v.1, p.47–50, 2005.

PERONI, N. **Taxonomia folk e diversidade intra- específica de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) em roças de agricultura tradicional em áreas de Mata Atlântica do sul do Estado de São Paulo**. 191 p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz Queiroz, Piracicaba. 1998.

SIQUEIRA, M.V.B.M.; SILVA, J.R.Q.; BRESSAN, E.A.; BORGES, A.; PEREIRA, K.J.C.; PINTO, J.G.; VEASEY, E.A. Genetic characterization of cassava (*Manihot esculenta*) landraces in Brazil assessed with simple sequence repeats. **Genetics and Molecular Biology**, v.32, p.104-110, 2009.