

Distância genética entre linhagens avançadas de germoplasma de algodão com uso de marcadores de RAPD e microssatélites

Ivandilson Pessoa Pinto de Menezes⁽¹⁾, Lúcia Vieira Hoffmann⁽¹⁾, Milena Ferreira Alves⁽¹⁾,
Camilo de Lelis Morello⁽¹⁾ e Paulo Augusto Vianna Barroso⁽¹⁾

⁽¹⁾Embrapa Algodão, Caixa Postal 174, CEP 58107-720 Campina Grande, PB. E-mail: ivppmbio@yahoo.com.br, hoff@cnpa.embrapa.br, milenafalves@yahoo.com.br, morello@cnpa.embrapa.br, pbarroso@cnpa.embrapa.br

Resumo – O objetivo deste trabalho foi selecionar coeficientes de similaridade para serem aplicados a conjuntos de genótipos de algodoeiro com baixa diversidade genética. Analisou-se um conjunto de 65 linhagens e 4 cultivares de algodão, com marcadores de RAPD e SSR, e estimou-se a similaridade genética de acordo com sete coeficientes de similaridade: Coincidência Simples, Rogers & Tanimoto, Ochiai, Hamman, Jaccard, Dice e Russel & Rao. A adequação dos coeficientes ao conjunto de genótipos foi verificada por correlação entre as matrizes de distância, índice de consenso entre os dendrogramas e otimização de Tocher. As análises mostraram que o coeficiente de Russel e Rao foi divergente em relação aos demais e seu uso não é recomendável. Entre os parâmetros usados para avaliar a qualidade de informação de cada coeficiente, apenas o índice de consenso estabeleceu diferenças e os classificou em dois grupos: aquele em que a ausência simultânea é considerada e aquele em que ela é desconsiderada. Considerando-se a presença de apenas dois alelos microssatélites por loco e os maiores índices de consenso, os coeficientes de Coincidência Simples, Hamman e Rogers & Tanimoto devem ser preferidos, quando em conjuntos de genótipos de algodoeiro melhorados e com baixa diversidade.

Termos para indexação: *Gossypium hirsutum*, diversidade genética, marcadores RAPD, marcadores SSR.

Genetic distance among advanced lineages of cotton germplasm using RAPD and microsatellite markers

Abstract – The objective of this work was to select similarity coefficients to be used among sets of cotton genotypes with low genetic diversity. Sixty-five lineages and four cotton cultivars were analyzed by RAPD and SSR markers; and the genetic similarity was estimated by seven similarity coefficients: Simple Matching, Rogers & Tanimoto, Ochiai, Hamman, Jaccard, Dice and Russel & Rao. The adequacy of the use of each coefficient to the collected data was verified by correlation between the distance matrices, the consensus index between the dendrograms and the Tocher's optimization method. The coefficient of Russel & Rao was the most divergent, and its use is not recommended. Among the parameters used to estimate the quality of information provided by each coefficient, differences were observed only by the consensus index, which established two groups: one in which simultaneous absence of bands are taken into account, and other in which it is excluded. Considering the presence of only two microsatellite alleles per polymorphic locus and the higher consensus index coefficients, the Simple Matching, Hamman and Rogers & Tanimoto coefficients should be preferred when analyzing cotton elite genotypes with low genetic similarity.

Index terms: *Gossypium hirsutum*, genetic diversity, RAPD markers, SSR markers.

Introdução

A expansão da cotonicultura para o Centro Oeste pode, em grande parte, ser atribuída ao melhoramento genético. Entretanto, a base genética de *Gossypium hirsutum* que deu origem às cultivares é considerada restrita (Iqbal et al., 2001), e é necessário cuidado, portanto, para que não haja maior estreitamento da base genética das populações, e conseqüentemente redução

do ganho de seleção. Estimativas de diversidade podem auxiliar os programas de melhoramento em diversas etapas, particularmente quando da escolha dos genitores para a síntese de populações segregantes. Os principais métodos empregados pelos melhoristas, na obtenção de estimativas de diversidade, baseiam-se na genealogia dos genótipos, em que o coeficiente de parentesco é seu principal representante. Estimativas

de diversidade baseadas em características qualitativas e quantitativas também são freqüentes, com metodologias univariadas, como a capacidade específica de combinação obtida em delineamentos dialélicos, ou multivariada, como as distâncias genéticas e o estudo de componentes principais (Barroso et al., 2003).

Apesar do número relativamente elevado de publicações sobre diversidade molecular do algodoeiro, não se conhece nenhum programa de melhoramento que use, em sua rotina, tais estimativas para a tomada de decisão. Para que uma medida de diversidade seja empregada pelos melhoristas, é necessário que a estimativa de diversidade tenha sido obtida a partir de um estimador adequado. Assim como em outras culturas, diferentes coeficientes de similaridade e de distância genética foram empregados para estimar a diversidade entre genótipos de algodoeiro, sem que nenhuma razão para a escolha tenha sido explicitada (Lu & Myers, 2002; Rahman et al., 2002; Rana & Bhat, 2005). Trabalhos publicados sobre milho (Meyer et al., 2004) e feijoeiro (Emygdio et al., 2003) mostram que os agrupamentos podem variar com a escolha do coeficiente de similaridade, e que a análise da eficiência da projeção gráfica do agrupamento (Cruz, 2001) pode auxiliar na escolha dos coeficientes mais adequados.

O objetivo deste trabalho foi selecionar um coeficiente de similaridade, para se estimar a diversidade genética em um conjunto de genótipos de algodoeiro herbáceo com baixa diversidade.

Material e Métodos

Foi analisado um conjunto de 69 genótipos de algodoeiro herbáceo, constituído por 4 cultivares e 65 linhagens endogâmicas (Tabela 1), todos desenvolvidos pelo Programa de Melhoramento da Embrapa Algodão, que utilizou o método genealógico. Os genótipos de 1 a 4 e de 5 a 69 são, respectivamente, cultivares e linhagens produzidas pela Embrapa. O código das linhagens inclui o ano em que elas foram selecionadas (número após a sigla CNPA). A maioria dos genótipos provém de cruzamentos com genitores diferentes, que passaram por pelo menos 5 gerações de autofecundação.

O DNA genômico foi extraído de folhas de plantas de 3 a 4 semanas, em que cada genótipo foi representado por um indivíduo. Amostras de tecidos foliares com 50 a 100 mg foram congeladas com nitrogênio líquido e trituradas. Adicionaram-se 600 µL de tampão de extração (2% de CTAB, 1,4 M de NaCl, 0,2 M de EDTA, 0,1 M de Tris HCl pH 8, 2% de PVP 40 e 0,2% de 2-mercaptoetanol). A suspensão foi incubada a 65°C por 30 min,

Tabela 1. Genótipos de algodoeiro empregados na comparação dos coeficientes de similaridade⁽¹⁾.

Número	Genótipo	Número	Genótipo	Número	Genótipo
1	BRS Aroeira	24	CNPA 00 999	47	CNPA 01 3088
2	Delta Opal	25	CNPA 00 1021	48	CNPA 01 1420
3	BRS Ipê	26	CNPA 00 1148	49	CNPA 01 3076
4	CNPA ITA90II	27	CNPA 00 1255	50	CNPA 01 1366
5	CNPA 98 10004	28	CNPA 00 1207	51	CNPA 01 2057
6	CNPA 98 05948	29	CNPA 00 204	52	CNPA 01 646
7	CNPA 98 243	30	CNPA 00 1088	53	CNPA 01 1375
8	CNPA 98 05941	31	CNPA 00 1093	54	CNPA 01 1984
9	CNPA 98 05975	32	CNPA 00 2099	55	CNPA 01 1335
10	CNPA 98 647	33	CNPA 01 1289	56	CNPA 01 1097
11	CNPA 00 1212	34	CNPA 01 1940	57	CNPA 01 1885
12	CNPA 00 1120	35	CNPA 01 2091	58	CNPA 01 32
13	CNPA 00 130	36	CNPA 01 2662	59	CNPA 01 13
14	CNPA 00 1072	37	CNPA 01 3113	60	CNPA 01 2433
15	CNPA 00 997	38	CNPA 01 2887	61	CNPA 01 22
16	CNPA 00 1167	39	CNPA 01 921	62	CNPA 01 3033
17	CNPA 00 1156	40	CNPA 01 2161	63	CNPA 01 1276
18	CNPA 00 991	41	CNPA 01 1340	64	CNPA 01 2617
19	CNPA 00 1222	42	CNPA 01 1949	65	CNPA 01 1272
20	CNPA 00 174	43	CNPA 01 12	66	CNPA 01 1463
21	CNPA 00 1256	44	CNPA 01 1149	67	CNPA 01 3031
22	CNPA 00 995	45	CNPA 01 3072	68	CNPA 01 3109
23	CNPA 00 1077	46	CNPA 01 149	69	CNPA 01 2058

⁽¹⁾Os genótipos de número 1 a 4 e de 5 a 69 são, respectivamente, cultivares e linhagens produzidos pelo Programa de Melhoramento da Embrapa.

emulsionada com 600 μL de clorofórmio e álcool isoamílico (24:1), e as fases foram separadas por centrifugação a 11.700 g por 10 min. À fase aquosa foi adicionada uma parte de álcool isopropanol gelado (v/v), e a mistura foi centrifugada a 11.700 g por 10 min. O DNA precipitado foi lavado com álcool a 70% e absoluto e ressuspenso em tampão TE (10 mM Tris; 1 mM EDTA). Aliquotas do volume total de DNA extraído foram quantificadas por comparação visual das bandas, geradas de uma série de concentrações conhecidas de DNA fago λ (50, 100, 200 e 300 ng) em géis de agarose a 0.8%. Posteriormente, o DNA foi diluído em TE (pH 8) a 10 ng μL^{-1} para as reações de PCR.

Obtiveram-se marcadores RAPD por meio de 38 iniciadores de 10 b dos conjuntos Operon A (10, 13, 18), C (12), E (16, 19, 20), M (4, 5, 7, 8, 9, 11), N (2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 11, 12, 14, 15, 17), P (1, 2, 3, 6, 9, 17) e Z (7, 11, 12, 16, 17, 19, 20). As reações PCR foram feitas com desnaturação inicial a 94°C por 5 min, seguida de 45 ciclos compostos por: desnaturação a 94°C por 1 min, anelamento do iniciador a 35°C por 1 min e amplificação a 72°C por 2 min. Ao final dos 45 ciclos, uma amplificação adicional a 72°C por 5 min foi realizada. Os fragmentos obtidos foram analisados em géis de agarose, corados com brometo de etídeo, e observados em transluminador de ultravioleta.

Marcadores microssatélites foram obtidos com uso dos 19 pares iniciadores: BNL1665, BNL3995, BNL3558, BNL3008, BNL1597, BNL1059, BNL3816, BNL3792, BNL2496, BNL3902, BNL1434, BNL2590, BNL3408, BNL2255, BNL3084, BNL2572, BNL3147, BNL3646 e CM43 (Liu et al., 2000). As reações de amplificação foram realizadas com o programa tipo “touch down” conforme Liu et al. (2000), com as seguintes etapas: desnaturação inicial a 95°C por 2 min; 10 ciclos de 94°C por 15 s, 65°C por 30 s – com redução de um grau a cada ciclo, e uma extensão a 72°C por 1 min; 35 ciclos de 94°C por 15 s, 55°C por 30 s e 72°C por 1 min; extensão final a 72°C por 6 min. Os fragmentos amplificados foram separados em eletroforese vertical, em gel desnaturante de poliácridamida 6%, e visualizados após coloração com prata, conforme descrito por Creste et al. (2001).

Os marcadores RAPD foram avaliados, tendo-se atribuído os valores 1 para presença e 0 para ausência

da banda de marcadores. Os marcadores microssatélites também foram avaliados como marcadores dominantes, tendo sido atribuídos os valores 1 para o alelo maior e 0 para o alelo menor. A matriz binária foi empregada para se estimar a similaridade genética entre cada par de genótipos, tendo sido empregados sete coeficientes de similaridade: Coincidência Simples, Rogers & Tanimoto, Ochiai, Hamman, Jaccard, Dice (Nei & Li) e Russel & Rao. As análises de agrupamento dos genótipos para cada coeficiente foram obtidas a partir do método de média aritmética não ponderada (“unweighted pair group method with arithmetic mean” – UPGMA) pelo programa NTSYS (“Numerical Taxonomy and Multivariate System”) versão 2.0 (Rohlf, 1992). Utilizou-se o método de otimização de Tocher, para a determinação de grupos de linhagens com o mesmo padrão de similaridade, pelo programa Genes (Cruz, 2001).

A comparação entre as matrizes de similaridade, estimada para cada coeficiente de similaridade, foi feita com o módulo MAXCOMP do programa NTSYS-pc. A normalização da estatística Z de Mantel foi usada para se determinar a associação entre duas matrizes. A diferença entre os dendrogramas foi estimada com o índice de consenso (Cic), que produz uma estimativa relativa de similaridade entre os dendrogramas, calculado pelo programa NTSYS (Rohlf, 1992).

A projeção da matriz de similaridade em espaço bidimensional (Cruz & Vianna, 1994) foi realizada com o programa Genes (Cruz, 2001). A comparação entre os diferentes coeficientes de similaridade foi realizada por meio da correlação entre as distâncias originais e as distâncias obtidas pela dispersão bidimensional, pelo grau de distorção e pelo valor de estresse. A qualidade do ajuste entre a distância genética original e a obtida na projeção gráfica do dendrograma é estimada pelo parâmetro estresse, considerado insatisfatório, regular, bom, excelente e perfeito, quando os valores de estresse são 40, 20, 10, 5 e 0%, respectivamente (Kruskal, 1964; Meyer et al., 2004).

Resultados e Discussão

Os 38 iniciadores RAPD amplificaram 280 fragmentos de DNA, dos quais 70 foram polimórficos (25%). Os fragmentos polimórficos foram amplificados por 28 iniciadores, com média de 2,5 e amplitude de 1 a 8 fragmentos polimórficos por iniciador.

Dos pares de iniciadores SSR, entre os 19 testados, 9 foram polimórficos: BNL3008, 3816, 2496, 3902, 1434, 2590, 3408, 3255 e CM43. O polimorfismo encontrado foi de 47%. A maior taxa de polimorfismo em SSR deve ter ocorrido por terem sido utilizados iniciadores já sabidamente polimórficos em outros acessos de algodão (Liu et al., 2000; Bertini et al., 2006). Cada iniciador amplificou apenas um loco, e o número de alelos produzidos nos locos polimórficos foi igual a 2, com tamanhos idênticos aos previamente descritos (Liu et al., 2000; Gutiérrez et al., 2002; Bertini et al., 2006). Todas as linhagens e cultivares foram sempre homozigotas, fato coerente com o nível elevado de endogamia esperado nos genótipos. Assim, as informações fornecidas pelos marcadores SSR e RAPD foram similares.

As matrizes de similaridade calculadas a partir dos sete diferentes coeficientes estudados apresentaram alto valor de correlação de Pearson e de Spearman, o que indica elevada concordância entre as estimativas obtidas pelos diferentes coeficientes (Tabela 2). A correlação verificada entre os coeficientes de Coincidência Simples, Hamman e Rogers & Tanimoto mostrou não haver diferença na utilização desses coeficientes. Os coeficientes foram próximos de 1, com exceção dos relativos aos de Russel & Rao, o mais discrepante. Ainda, exceto o coeficiente de Russel & Rao, todos os demais coeficientes de similaridade foram máximos entre as cultivares BRS Ipê e CNPA Ita 90II, cuja elevada similaridade deveu-se à BRS Ipê ter sido obtida por meio de seleção dentro de CNPA Ita 90. Os menores coeficientes de similaridade foram observados entre a linhagem CNPA GO 2001 646 e as linhagens CNPA GO 2000 1167 e CNPA GO 2000 1093. Embora haja exceções, a maioria dos genótipos avaliados

apresentou similaridade elevada, o que concorda com análises anteriores, realizadas em conjuntos semelhantes de genótipos de algodoeiro (Iqbal et al., 2001; Gutiérrez et al., 2002; Lu & Myers, 2002; Rahman et al., 2002; Zhang et al., 2005; Bertini et al., 2006). Segundo McCarty et al. (2007), os programas de melhoramento do algodoeiro estão baseados no uso de limitada diversidade genética e as cultivares e linhagens elite possuem base genética estreita. A alta uniformidade genética deve-se ao elevado número de seleções dentro das cultivares e ao uso continuado de um pequeno conjunto de genitores (Bowman, 2000), o que pode aumentar a vulnerabilidade da cultura e estabelecer patamares de produtividade (Van Esbraeck & Bowman, 1998; Carvalho et al., 2003).

Os índices de consenso (Cic) entre os dendrogramas obtidos a partir dos diferentes coeficientes de similaridade variaram de 0,17 a 1,00 (Tabela 3). O índice de consenso comparou a proporção de agrupamentos comuns entre os dendrogramas, e os valores estimados separaram os coeficientes em três grupos: Russel & Rao; Coincidência Simples, Rogers & Tanimoto e Hamman; Jaccard, Dice e Ochiai. O coeficiente de Russel & Rao produziu valores de coincidência muito baixos, com índices de consenso entre 0,17 e 0,20, e é, portanto, o coeficiente com maior disparidade em relação aos demais. O segundo grupo apresentou índices de consenso iguais ou próximos a um, o que indica que praticamente todos os agrupamentos presentes no dendrograma foram idênticos. No terceiro grupo, o consenso entre os dendrogramas de Jaccard e Dice foi elevado, porém os valores verificados com Ochiai foram menores. Quando coeficientes pertencentes aos dois grupos

Tabela 2. Coeficientes de correlação de Spearman, acima da diagonal, e de Pearson, abaixo da diagonal, entre as estimativas de similaridade genética entre cultivares e linhagens de algodão herbáceo⁽¹⁾.

	CS	RT	H	O	J	D	RR
CS		1,00	1,00	0,98	0,98	0,98	0,70
RT	1,00		1,00	0,98	0,98	0,98	0,70
H	1,00	1,00		0,98	0,98	0,98	0,70
O	0,98	0,97	0,98		1,00	1,00	0,83
J	0,98	0,98	0,98	1,00		1,00	0,83
SD	0,98	0,97	0,98	1,00	1,00		0,83
RR	0,75	0,74	0,75	0,86	0,86	0,86	

⁽¹⁾CS, Coincidência Simples; RT, Rogers & Tanimoto; O, Ochiai; J, Jaccard; D, Dice; H, Hamman; RR, Russel & Rao.

Tabela 3. Comparação da similaridade dos dendrogramas obtidos por sete diferentes coeficientes de similaridade e agrupados com método UPGMA, por meio do índice de consenso Cic⁽¹⁾.

	CS	RT	H	O	J	SD
RT	0,97	1,00				
H	1,00	0,97	1,00			
O	0,55	0,55	0,55	1,00		
J	0,64	0,64	0,64	0,82	1,00	
SD	0,61	0,61	0,61	0,80	0,94	1,00
RR	0,19	0,20	0,19	0,17	0,20	0,20

⁽¹⁾CS, Coincidência Simples; RT, Rogers & Tanimoto; O, Ochiai; J, Jaccard; D, Dice; H, Hamman; RR, Russel & Rao.

diferentes foram comparados, os valores de consenso foram intermediários (entre 0,55 e 0,61), o que indica existência de diferenças elevadas entre os agrupamentos.

Apesar dos índices de consenso relativamente baixos entre os dendrogramas dos coeficientes que consideraram ou não a ausência simultânea, a estrutura dos agrupamentos foi similar, exceto, novamente, aquele gerado por Russel & Rao.

As diferenças entre os dendrogramas devem-se a alterações dentro da estrutura dos agrupamentos principais (Figuras 1 e 2). Todos os dendrogramas tiveram dois agrupamentos principais e três linhagens que não se agruparam. O primeiro grupo foi formado quase exclusivamente por linhagens selecionadas em 2001 (CNPA 01), e o segundo englobou as cultivares, a totalidade das linhagens de 1998, algumas linhagens de 2001 e a maioria das linhagens

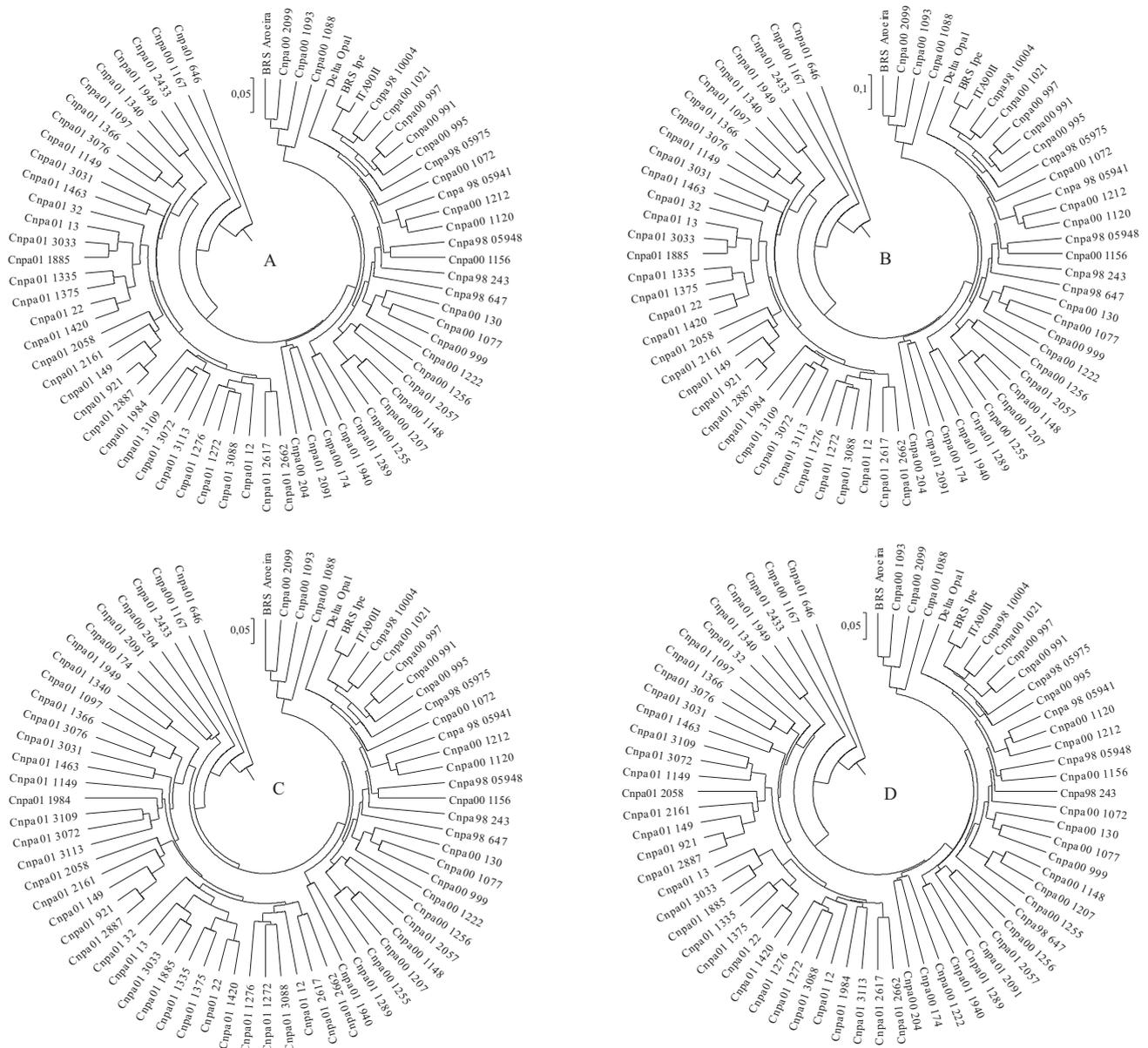


Figura 1. Dendrogramas obtidos pelo agrupamento, segundo UPGMA, dos 69 genótipos. A, Coincidência Simples; B, Hamman; C, Rogers & Tanimoto; D, Jaccard.

de 2000. Todos esses dendrogramas foram capazes de verificar que o conjunto de linhagens selecionadas em 2001 era diferente das cultivares e das linhagens selecionadas em anos anteriores. Porém, a relação entre os genótipos dentro de cada um dos grandes grupos foi muito similar entre os dendrogramas baseados nos coeficientes de Coincidência Simples, Hamman e Roger e Tanimoto, bem como entre os coeficientes de Dice & Jaccard. Da mesma maneira que observado por Duarte et al. (1999), as diferenças

nos agrupamentos foram verificadas entre genótipos com similaridades mais baixas.

O nível de estresse entre todas as projeções gráficas dos respectivos coeficientes utilizados foi acima de 65% (Tabela 4). Assim, todos os coeficientes estudados na análise comparativa, quanto à eficiência de projeção das matrizes de dissimilaridade entre as cultivares e linhagens de algodão, em espaço bidimensional, foram insatisfatórios conforme a classificação de adaptabilidade de projeção gráfica

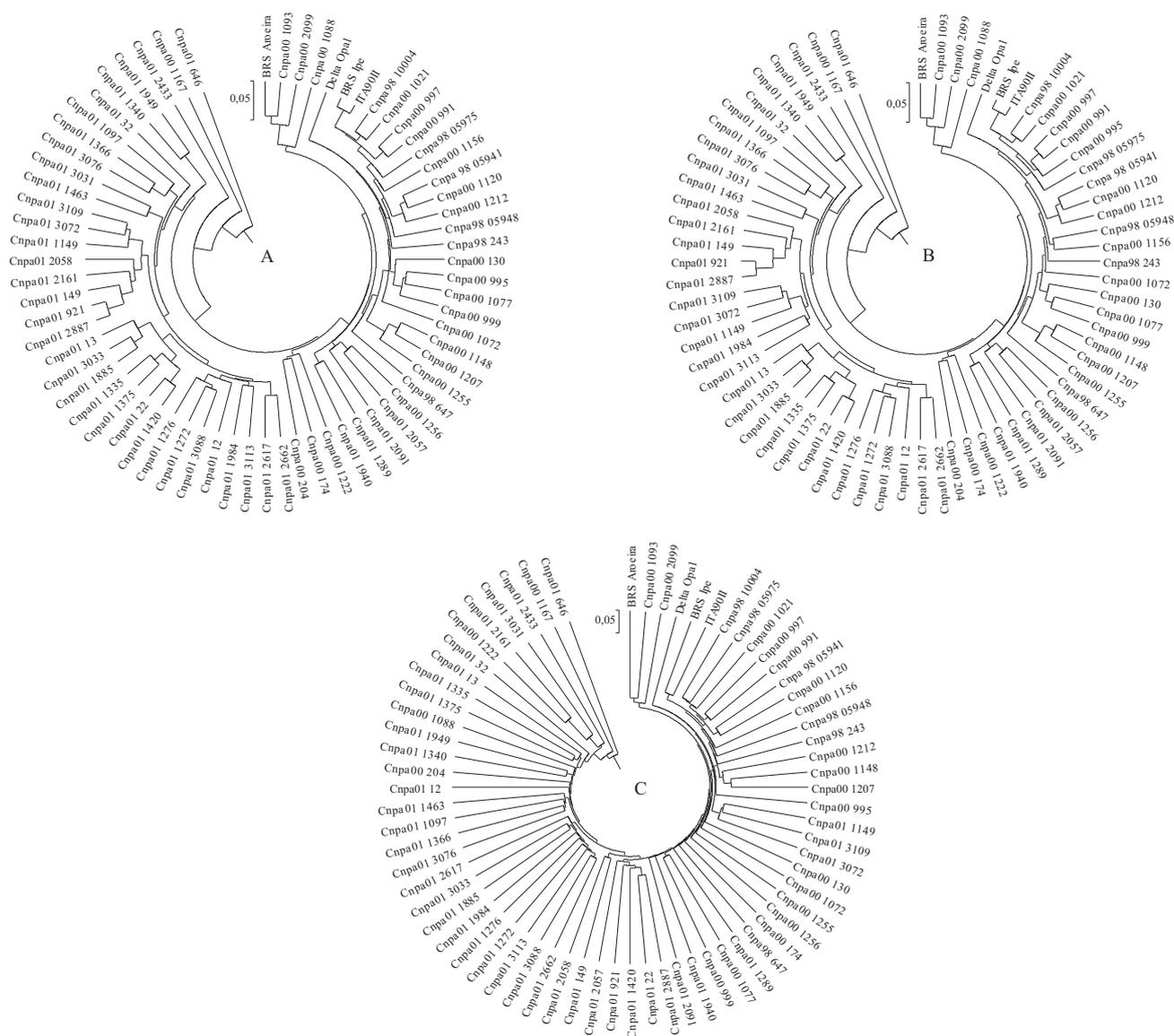


Figura 2. Dendrogramas obtidos pelo agrupamento, segundo UPGMA, dos 69 genótipos. A, Dice; B, Ochiai; C, Russel & Rao.

de Kruskal (1964). O elevado nível de estresse obtido impede que comparações sejam realizadas entre os coeficientes de similaridade. Portanto, o uso de projeções bidimensionais, em conjuntos

de genótipos de algodoeiro similares aos usados no presente trabalho, deve ser feito com cautela, conforme já havia sido verificado em milho por Meyer et al. (2004).

Tabela 4. Parâmetros utilizados na análise da eficiência da projeção gráfica das distâncias genéticas em espaço bidimensional e correlações cofenéticas.

Coeficiente	Análise de eficiência		
	Distorção (%)	Correlação	Estresse (%)
Coincidência Simples	35,212	0,081	68,698
Rogers & Tanimoto	30,653	0,106	67,209
Hamman	34,416	0,123	66,963
Ochiai	39,510	0,104	65,117
Jaccard	27,969	0,080	66,399
Sorenscen Dicer	14,246	0,053	88,385
Russel & Rao	48,745	0,023	65,411

A aplicação do método de otimização de Tocher ao agrupamento dos genótipos resultou na formação de 35 grupos idênticos, para seis coeficientes de similaridade, e de apenas dois grupos para o coeficiente de Russel & Rao (Tabela 5). Novamente a informação fornecida pelo coeficiente de Russel & Rao foi discrepante dos demais. A igualdade entre os agrupamentos gerados pelo método de Tocher ratifica a similaridade no conteúdo de informação fornecida pelos coeficientes que consideram e que não consideram a ausência simultânea para as estimativas de similaridade.

Tabela 5. Agrupamento de cultivares e linhagens de algodão, pelo método de otimização de Tocher, considerando-se coeficientes de similaridade de Coincidência Simples (CS), Rogers & Tanimoto (RT), Ochiai (O), Jaccard (J), Dice (D), Hamman (H) e Russel & Rao (RR).

Grupo	Coeficientes de similaridade						
	CS	H	RT	O	J	D	RR
1	1, 2	1, 2	1, 2	1, 2	1, 2	1, 2	1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69
2	3, 5	3, 5	3, 5	3, 5	3, 5	3, 5	2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68
3	4, 6	4, 6	4, 6	4, 6	4, 6	4, 6	
4	7, 9	7, 9	7, 9	7, 9	7, 9	7, 9	
5	8, 10	8, 10	8, 10	8, 10	8, 10	8, 10	
6	11, 13	11, 13	11, 13	11, 13	11, 13	11, 13	
7	12, 14	12, 14	12, 14	12, 14	12, 14	12, 14	
8	15, 17	15, 17	15, 17	15, 17	15, 17	15, 17	
9	16, 18	16, 18	16, 18	16, 18	16, 18	16, 18	
10	19, 21	19, 21	19, 21	19, 21	19, 21	19, 21	
11	20, 22	20, 22	20, 22	20, 22	20, 22	20, 22	
12	23, 25	23, 25	23, 25	23, 25	23, 25	23, 25	
13	24, 26	24, 26	24, 26	24, 26	24, 26	24, 26	
14	27, 29	27, 29	27, 29	27, 29	27, 29	27, 29	
15	28, 30	28, 30	28, 30	28, 30	28, 30	28, 30	
16	31, 33	31, 33	31, 33	31, 33	31, 33	31, 33	
17	32, 34	32, 34	32, 34	32, 34	32, 34	32, 34	
18	35, 37	35, 37	35, 37	35, 37	35, 37	35, 37	
19	36, 38	36, 38	36, 38	36, 38	36, 38	36, 38	
20	39, 41	39, 41	39, 41	39, 41	39, 41	39, 41	
21	40, 42	40, 42	40, 42	40, 42	40, 42	40, 42	
22	43, 45	43, 45	43, 45	43, 45	43, 45	43, 45	
23	44, 46	44, 46	44, 46	44, 46	44, 46	44, 46	
24	47, 49	47, 49	47, 49	47, 49	47, 49	47, 49	
25	48, 50	48, 50	48, 50	48, 50	48, 50	48, 50	
26	51, 53	51, 53	51, 53	51, 53	51, 53	51, 53	
27	52, 54	52, 54	52, 54	52, 54	52, 54	52, 54	
28	55, 57	55, 57	55, 57	55, 57	55, 57	55, 57	
29	56, 58	56, 58	56, 58	56, 58	56, 58	56, 58	
30	59, 61	59, 61	59, 61	59, 61	59, 61	59, 61	
31	60, 62	60, 62	60, 62	60, 62	60, 62	60, 62	
32	63, 65	63, 65	63, 65	63, 65	63, 65	63, 65	
33	64, 66	64, 66	64, 66	64, 66	64, 66	64, 66	
34	67, 69	67, 69	67, 69	67, 69	67, 69	67, 69	
35	68	68	68	68	68	68	

De acordo com as análises realizadas, o coeficiente de Russel & Rao foi o mais discrepante, resultado já verificado em relação a outras espécies (Duarte et al., 1999; Emygdio et al., 2003; Meyer et al., 2004; Balestre et al., 2008). Seu uso em populações de algodoeiro similares às empregadas no presente trabalho, com baixa variabilidade e homozigóticas, não parece ser recomendável. Os demais coeficientes forneceram informações similares e foram capazes de classificar da mesma maneira os genótipos mais divergentes. Os coeficientes de correlação entre as matrizes de distância e o índice de consenso entre os dendrogramas foram capazes de discriminar os coeficientes em dois grupos. Um grupo foi composto pelos coeficientes de Roger & Tanimoto, Coincidência Simples e Hamman, e o outro por Jaccard, Ochiai e Dice. Considerando-se os valores dos índices de consenso, os coeficientes do primeiro grupo seriam mais adequados a este conjunto de dados. Esta conclusão é reforçada pelo tipo de polimorfismo nos locos microssatélites (amplo predomínio de dois alelos por loco) e a presença exclusiva de indivíduos homozigotos, verificada no presente estudo e em outros trabalhos realizados com genótipos similares de algodoeiro (Gutiérrez et al., 2002; Bertini et al., 2006; Lacape et al., 2007). Todos os coeficientes desse grupo apresentaram bom desempenho e podem ser usados em conjuntos de genótipos de algodoeiro com elevada similaridade, o que fornece informações idênticas ou quase idênticas. Ressalva-se que esses coeficientes devem ser usados apenas em conjuntos de genótipos com baixa diversidade. Em conjuntos com maior variabilidade, devem-se preferir os coeficientes que desconsideram ausências simultâneas, como Jaccard e Dice.

Conclusões

1. O coeficiente de Russel & Rao não deve ser usado para estabelecer relações filogenéticas entre genótipos de algodoeiro com baixa diversidade.
2. Os coeficientes Coincidência Simples, Rogers & Tanimoto e Hamman são adequados para a realização de estudos filogenéticos, em conjuntos de genótipos de algodoeiro com baixa diversidade.
3. Todos os coeficientes analisados são inadequados para a projeção das médias da distância genética

calculada entre aos pares das cultivares e linhagens de algodão, em espaço bidimensional.

Referências

- BALESTRE, M.; VON PINHO, R.G.; SOUZA, J.C.; LIMA, J.L. Comparison of maize similarity and dissimilarity genetic coefficients based on microsatellite markers. **Genetics and Molecular Research**, v.7, p.695-705, 2008.
- BARROSO, P.A.V.; GERALDI, I.O.; VIEIRA, M.L.C.; PULCINELLI, C.E.; VENCOSKY, R.; DIAS, C.T. dos S. Predicting performance of soybean populations using genetic distances estimated with RAPD markers. **Genetics and Molecular Biology**, v.26, p.343-348, 2003.
- BERTINI, C.H.C. de M.; SCHUSTER, I.; SEDIYAMA, T.; BARROS, E.G. de; MOREIRA, M.A. Characterization and genetic diversity analysis of cotton cultivars using microsatellites. **Genetics and Molecular Biology**, v.29, p.321-329, 2006.
- BOWMAN, D.T. Attributes of public and private cotton breeding programs. **Journal of Cotton Science**, v.4, p.130-136, 2000.
- CARVALHO, L.P. de; LANZA, M.A.; FALLIERI, J.; SANTOS, J.W. dos. Análise da diversidade genética entre acessos de banco ativo de germoplasma de algodão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.38, p.1149-1155, 2003.
- CRESTE, S.; TULMANN NETO, A.; FIGUEIRA, A. Detection of single sequence repeat polymorphisms in denaturing polyacrylamide sequencing gels by silver staining. **Plant Molecular Biology Reporter**, v.19, p.299-306, 2001.
- CRUZ, C.D. **Programa Genes**: versão Windows, aplicativo computacional em genética e estatística. Viçosa: UFV, 2001. 648p.
- CRUZ, C.D.; VIANA, J.M.S. A methodology of genetic divergence analysis based on sample uni projection on two-dimensional space. **Revista Brasileira de Genética**, v.17, p.69-73, 1994.
- DUARTE, J.M.; SANTOS, J.B. dos; MELO, L.C. Comparison of similarity coefficients based on RAPD markers in the common bean. **Genetics and Molecular Biology**, v.22, p.427-432, 1999.
- EMYGDIO, B.M.; ANTUNES, I.F.; CHOER, E.; JORGE, J.L. Eficiência de coeficientes de similaridade em genótipos de feijão mediante marcadores RAPD. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.38, p.243-250, 2003.
- GUTIÉRREZ, O.A.; BASU, S.; SAHA, S.; JENKINS, J.N.; SHOEMARKER, D.B.; CHEATHAM, C.L.; MCCARTY JUNIOR, J.C. Genetic distance among selected cotton genotypes and its relationship with F₂ performance. **Crop Science**, v.42, p.1841-1847, 2002.
- IQBAL, M.J.; REDDY, O.U.K.; EL-ZIK, K.M.; PEPPER, A.E. A genetic bottleneck in the 'evolution under domestication' of upland cotton *Gossypium hirsutum* L. examined using DNA fingerprinting. **Theoretical and Applied Genetics**, v.103, p.547-554, 2001.
- KRUSKAL, J.B. Multidimensional scaling by optimizing goodness of fit to a nonmetric hypothesis. **Psychometrika**, v.29, p.1-27, 1964.

- LACAPE, J.M.; DESSAUW, D.; RAJAB, M.; NOYER, J.L.; HAU, B. Microsatellite diversity in tetraploid *Gossypium* germplasm: assembling a highly informative genotyping set of cotton SSRs. **Molecular Breeding**, v.19, p.45-58, 2007.
- LIU, S.; SAHA, S.; STELLY, D.; BURR, B.; CANTRELL, R.G. Chromosomal assignment of microsatellite loci in cotton. **Journal of Heredity**, v.91, p.326-332, 2000.
- LU, H.J.; MYERS, G.O. Genetic relationships and discrimination of ten influential upland cotton varieties using RAPD markers. **Theoretical and Applied Genetics**, v.105, p.325-331, 2002.
- MCCARTY, J.C.; WU, J.; JENKINS, J.N. Use of primitive derived cotton accessions for agronomic and fiber traits improvement. **Crop Science**, v.47, p.100-110, 2007.
- MEYER, A.D.; GARCIA, A.A.F.; SOUZA, A.P.; SOUZA, C.L. Comparison of similarity used for cluster analysis with dominant markers in maize (*Zea mays* L.). **Genetics and Molecular Biology**, v.27, p.83-91, 2004.
- RAHMAN, M.; HUSSAIN, D.; ZAFAR, Y. Estimation of genetic divergence among elite cotton cultivars: genotypes by DNA fingerprinting technology. **Crop Science**, v.42, p.2137-2144, 2002.
- RANA, M.K.; BHAT, K.V. RAPD markers for genetic diversity study among Indian cotton cultivars. **Current Science**, v.88, p.1956-1961, 2005.
- ROHLF, F.J. **NTSYS-pc numerical taxonomy and multivariate analysis system**: version 1.7. New York: Exeter Software, 1992. 236p.
- VAN ESBROECK, G.; BOWMAN, D.T. Cotton germplasm diversity and its importance to cultivar development. **Journal of Cotton Science**, v.2, p.121-129, 1998.
- ZHANG, J.; LU, Y.; CANTRELL, G.R.; HUGHS, E. Molecular marker diversity and field performance in commercial cotton cultivars evaluated in the Southwestern USA. **Crop Science**, v.45, p.1483-1489, 2005.

Recebido em 25 de março de 2008 e aprovado em 25 de setembro de 2008