



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DO PARÁ
UNIDADE DE APOIO À PESQUISA E À PÓS-GRADUAÇÃO
EMBRAPA AMAZÔNIA ORIENTAL

XII SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO
CIENTÍFICA DA FCAP

VI SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO
CIENTÍFICA DA EMBRAPA
AMAZÔNIA ORIENTAL

10 a 12 de Dezembro 2002
CAMPUS DA FCAP - BELÉM - PARÁ



**A CONTRIBUIÇÃO DO PROFISSIONAL DE CIÊNCIAS
AGRÁRIAS NO USO E CONSERVAÇÃO DA BIODIVERSIDADE**

ANAIS

SIMILARIDADE GENÉTICA EM MANDIOCABA (*Manihot esculenta*) ATRAVÉS DE MARCADORES RAPD

FERREIRA, Silvaney Fonseca¹; COSTA, Maria Rosa²; CARDOSO, Eloísa Ramos³

Avanços significativos tem sido alcançados na conservação e conhecimento do potencial dos acessos de *Manihot esculenta* que compõem o Banco de germoplasma da Amazônia Oriental, onde é mantida parte representativa da diversidade genética desta espécie na Amazônia. Este banco é formado por acessos de grande valor pela sua qualidade e adaptação as condições ambientais do trópico úmido. Os estudos de caracterização, através de marcadores moleculares em associação com avaliação da divergência genética, nesta espécie tem sido realizados e são considerados prioritários, devido à presente necessidade de se quantificar a variabilidade genética dos acessos e verificar a similaridade entre eles a fim de sanar dúvidas quanto à origem e uso nos cruzamentos, além de auxiliar na escolha de acessos potenciais para o enriquecimento da variabilidade genética no próprio Banco. O uso combinado de marcadores morfológicos e moleculares subsidiará os trabalhos de melhoramento, na busca de cultivares mais produtivos e com características de qualidade que atendam demandas do setor produtivo, contribuindo, ainda, para o intercâmbio de material e de informações entre instituições de pesquisa. O objetivo deste trabalho foi examinar o polimorfismo gerado por marcadores RAPD e analisar a diversidade genética entre acessos de mandiocaba. O trabalho foi desenvolvido no laboratório de genética e biologia molecular da Embrapa Amazônia Oriental-LABGEN. O material analisado foi composto de 18 acessos de mandiocaba, provenientes do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Amazônia Oriental, em Belém, PA. O DNA genômico foi obtido através do protocolo de Nelson (1993) modificado. A concentração de DNA foi estimada em gel de agarose 1,0 %. As amostras utilizadas no RAPD, após a quantificação total, partiram de diluições da amostra total em água estéril, de modo a conter 5 ng/μl de DNA. Os primers utilizados foram: OPF01, OPF04, OPN07, OPN08, OPN20, OPO02, OPO05, OPO07, OPO08, OPO11, OPO12, OPO13, OPS01, OPS03, OPS05, OPT01, OPT04, OPT15 e OPT20. As reações foram desenvolvidas, de acordo com o protocolo de Williams et al. (1990), com pequenas modificações, num volume final de 13 μl, contendo água destilada autoclavada, 20 mM Tris-HCl (pH 8,0), 50 mM KCl, 2,0 mM MgCl₂, 200 μM de cada dNTP, BSA purificada (2,5 mg/ml), 1,3 μM primer arbitrário, 1U.I Taq DNA polimerase, 15 ng de DNA genômico e por fim adicionadas duas gotas de óleo mineral. As amplificações foram realizadas em termociclador de DNA Thermolyne Amplitron II modelo DB.80225, sendo realizados 40 ciclos de 1' a 94 °C, 1' a 37 °C e 2' a 72 °C, seguidos de mais 7 minutos a 72 °C, para a completa extensão dos produtos amplificados. O método utilizado para a separação dos produtos amplificados foi à eletroforese horizontal, em gel de agarose 1,5 %, corado com brometo de etídio 1mg/ml. Utilizou-se 13μl de cada reação, acrescido de 2 μl de uma solução de azul de bromofenol (40 %), mais sacarose. Foi utilizado TBE (Trizma base 0,1 M; ácido bórico 1M e EDTA 0,5M), como tampão do gel e de corrida. Após a eletroforese, os géis foram visualizados e fotografados em equipamento de foto documentação. O padrão de peso molecular utilizado foi o 1Kb ladder. Um total de 325 marcadores RAPD, com tamanhos variando de 300 a 2200 pb, foi amplificado pelos 19 *primers* utilizados, dos quais 254 eram polimórficos, gerando 78,15 % de polimorfismo. O número de marcadores amplificados variou de 29 (OPT-04) a 12 (OPN-08). O número de fragmentos polimórficos por *primer* variou de 18 (OPT-04 e OPO-07) a 6 (OPO-05)). Foram estimados os índices de similaridade para todos os indivíduos analisados. As maiores distâncias foram obtidas, comparando-se o acesso CAS 36,15 com o Manicuera 62 e o Abacate (18 %). Isto indica que estes acessos são candidatos potenciais como fonte de variabilidade, no programa de hibridização desta espécie, visando o melhoramento genético. Por outro lado a maior similaridade genética foi entre o BAG 1 e o BAG 3 (75 %). A análise do dendograma, gerado pelo método UPGMA, através do programa NTSYS-pc, 2.02, mostra a separação dos acessos, em dois grupos principais. No primeiro grupo, que se subdividiu em dois subgrupos, com coeficiente de similaridade, variando de 18 % a 73 %, incluem-se 9 materiais. No segundo grupo, que se dividiu em dois subgrupos, com similaridade genética variando de 38 % a 75 %, incluem-se 9 materiais. Os acessos São Francisco, CAS 36,9 e o Manicuera 62 foram distintos, em relação ao restante, constituindo subgrupos isolados, dentro do seu grupo. A avaliação da diversidade genética utilizando marcadores moleculares tem confirmando a existência de grande variabilidade genética nesta espécie e os marcadores RAPD mostraram-se eficientes para detectar polimorfismo podendo ser utilizados como uma poderosa ferramenta, na obtenção de informações úteis para o manejo do BAG e o direcionamento do programa de melhoramento genético.

¹Estagiária/Embrapa Amazônia Oriental/Licenciatura em Biologia –UFPA/3^o semestre.

² Eng. Agr., M.Sc. Pesquisadora da Embrapa Amazônia Oriental.

³ Eng. Agr., M.Sc. Pesquisadora da Embrapa Amazônia Oriental.