



17^o Seminário de Iniciação Científica e 1^o Seminário de Pós-graduação da Embrapa Amazônia Oriental. 21 a 23 de agosto de 2013, Belém-PA

ANÁLISE DA VARIABILIDADE GENÉTICA EM ACESSOS DE MANDIOCA RESISTENTES A PODRIDÃO MOLE

Lígia Cristine Gonçalves Pontes¹, Elisa Ferreira Moura Cunha², Carlos Rogério de Sousa Silva³, Paulo Sérgio Bevilaqua de Albuquerque⁴,

¹ Bolsista Pibic Embrapa Amazônia Oriental, Laboratório de Genética, lilikbiologia@hotmail.com

² Pesquisadora A Embrapa Amazônia Oriental, Laboratório de Genética, elisa.moura@embrapa.br

³ Bolsista Recém-Doutor CEPLAC-ERJOH, Laboratório de Biologia Molecular, carlos-roger@hotmail.com

⁴ Pesquisador da CEPLAC-ERJOH, Laboratório de Biologia Molecular, psbalbuq@oi.com.br

Resumo: A mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) é uma espécie do gênero *Manihot* importante na culinária brasileira, principalmente no Norte e Nordeste. Como toda cultura, a mandioca também sofre com doenças e pragas em seu cultivo. No estado do Pará uma das principais doenças que acometem a cultura da mandioca é a podridão mole da raiz, causada pelos patógenos *Phytophthora spp.* e *Fusarium spp.* A busca de variabilidade genética para a resistência a essa doença é essencial para dar suporte aos programas de melhoramento da espécie. No presente trabalho, foi avaliada a ocorrência de variabilidade genética em sete acessos de mandiocas do BAG da Embrapa da Amazônia Oriental que são resistentes à podridão mole da raiz por meio de marcadores microsatélites. Foi extraído o DNA desses acessos e realizado a análise em PCR utilizando sete marcadores moleculares do tipo microsatélites (GA136, SSRY04, SSRY09, SSRY164, SSRY19, SSRY20 e SSRY21) e análise foi realizada em eletroforese capilar. Os dados foram transformados em matriz de 1 e 0 e foi utilizado o coeficiente de Jaccard para verificar a similaridade genética entre os acessos. Com estas análises, foi gerado o dendrograma pelo método UPGMA entre os acessos, bem como foram observadas as frequências alélicas e a variabilidade genética do grupo de acessos. Foi encontrada variabilidade genética entre os acessos de mandioca do BAG da Embrapa da Amazônia oriental resistentes a podridão.

Palavras-chave: *Manihot esculenta*, microsatélites, UPGMA

Introdução

O gênero *Manihot* apresenta duas espécies de importância econômica: a *M. esculenta* Crantz (mandioca), com raízes tuberosas para a produção de farinha, amido e consumo in natura e *M. glaziovii* para produção do látex (Faraldo et. al, 2000). No Norte e Nordeste brasileiro a mais popular é a mandioca, que é utilizada como base na alimentação em forma de farinha, mingau e na alimentação



17º Seminário de Iniciação Científica e 1º Seminário de Pós-graduação da Embrapa Amazônia Oriental. 21 a 23 de agosto de 2013, Belém-PA

do paraense no tacacá e no molho do tucupí.

No BAG de mandioca da Embrapa Amazônia Oriental são mantidos materiais provenientes de propriedades de agricultores familiares de todo o Pará (Moura et al, 2011). É importante conhecer as doenças da mandioca e procurar formas de proteção do plantio. A podridão radicular, causada principalmente, por *Phytophthora* sp. e *Fusarium* sp é um dos fatores limitantes da produção de mandioca em algumas áreas da região Norte e Nordeste, particularmente na região de Várzea e Terra Firme dos estados do Pará, Amazonas e Amapá (Erra et al., 2009).

O BAG vem sendo caracterizado quanto a diferentes caracteres, incluindo a resistência a podridão mole da raiz no campo. Alguns acessos de mandioca no BAG podem apresentar resistência a esses tipos de doenças. Esta resistência pode ser devido a diferentes alelos de resistência a doença ou as características morfológicas de cada planta. Se tiver grande diversidade entre os acessos, possivelmente há diferentes fontes de resistência, assim, a segurança será maior e com a variabilidade genética há maior base para o melhoramento genético.

O objetivo desse trabalho é avaliar a diversidade entre sete acessos de mandiocas do BAG da Embrapa da Amazônia Oriental resistentes à podridão mole por meio de marcadores microssatélites.

Material e Métodos

Foram selecionadas plantas com resistência a podridão mole da raiz observada nas avaliações do BAG, incluindo três cultivares já lançadas (BRS Kiriris, BRS Mari e BRS Poti). O DNA genômico foi extraído de acordo com o método de DOYLE & DOYLE (1990) e quantificado em gel de agarose 1%, utilizando DNA lambda de diferentes concentrações como padrões. O DNA das amostras foi diluído para 10 ng. μl^{-1} .

Os acessos de mandioca foram genotipados utilizando sete primers microssatélites de mandioca: GA 136, SSRY 04, SSRY 09, SSRY 164, SSRY 19, SSRY 20 e SSRY 21 cada um com sua respectiva temperatura de anelamento e sua amplitude específica. Para amplificação do DNA foi preparadas reações de PCR com volume final de 13 μl . As reações foram amplificadas em termociclador, programado com diferentes temperaturas de anelamento dos primers.

Foram realizadas quatro reações (PCR) para cada amostra, e em cada reação foi adicionado um dos sete primers marcados com uma das fluorescências (6-FAM, NED, PET, ou VIC). Uma alíquota de 1 μl foi retirada de cada reação para o mesmo genótipo, totalizando 4 μl . As amostras foram submetidas à eletroforese capilar, utilizando o analisador automático de capilar ABI PRISM 3130



Genetic Analyser (Applied Biosystems). As corridas foram analisadas pelo programa GeneMapper 4.0 (Applied Biosystems).

Resultados e Discussão

A partir das análises foi possível observar que os sete acessos utilizados apresentam pouca similaridade entre si, sendo estes valores comprovados na matriz de similaridade, onde as menores similaridades ocorrem entre os acessos CPATU 193 e BRS Kiriris, e entre CPATU 219 e CPATU 100, com valores de 0,04762 e 0,071743, respectivamente (Tabela 1). Ainda de acordo com a Tabela 1, podemos identificar que os acessos BRS Mari e CPATU 100 são os mais similares, sendo o mesmo valor encontrado para similaridade entre os acessos CPATU 100 e CPATU 099 ambos com os valores de 0,41667.

O dendrograma de similaridade genética foi gerado com base no método de agrupamento UPGMA e, considerando a média de aproximadamente 0,24 correspondente às similaridades entre os acessos como o ponto de corte, houve a delimitação em três grupos, com poucos subgrupos entre eles. O grupo I ficou representado pelo acesso CPATU 099; o II apresentou os acessos CPATU 100, CPATU 219 e BRS Poti; e, por fim, o III foi constituído pelos acessos BRS Kiriris, CPATU 193 e BRS Mari (Figura 1).

Tabela 1 – Matriz de similaridade genética obtida pelo coeficiente de Jaccard a partir de genotipagem com microssatélites de acessos de mandioca pertencentes ao BAG da Embrapa Amazônia Oriental com resistência a doença podridão mole da raiz

Acessos	BRS Mari	BRS Kiriris	BRS Poti	CPATU 193	CPATU 100	CPATU 099	CPATU 219
BRS Mari	1						
BRS Kiriris	0,31579	1					
BRS Poti	0,36842	0,22727	1				
CPATU 193	0,16667	0,04762	0,22222	1			
CPATU 100	0,41667	0,28571	0,1875	0,4	1		
CPATU 099	0,29412	0,27778	0,2	0,28571	0,41667	1	
CPATU 219	0,09524	0,2	0,14286	0,22222	0,07143	0,17647	1



17º Seminário de Iniciação Científica e 1º Seminário de Pós-graduação da Embrapa Amazônia Oriental. 21 a 23 de agosto de 2013, Belém-PA

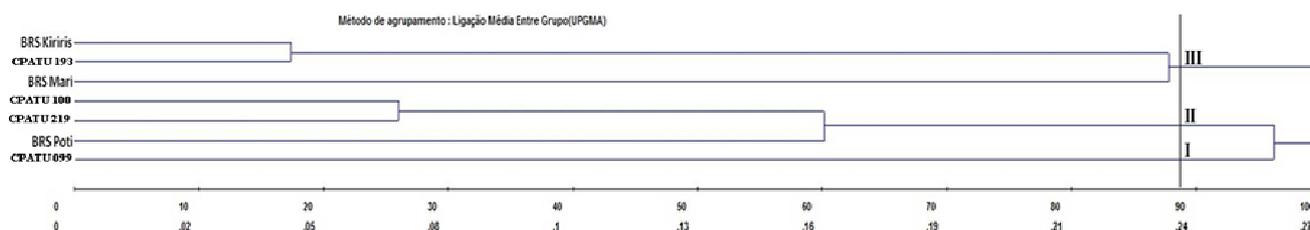


Figura 1 – Dendrograma de similaridade entre os acessos partir de genotipagem com microssatélites de acessos de mandioca pertencentes ao BAG da Embrapa Amazônia Oriental com resistência a doença podridão mole da raiz.

Todos os sete locos foram polimórficos, e foi gerando um total de 35 alelos, com média de 5 alelos/loco, sendo o loco mais polimórfico o SSRY 04 com sete alelos e o menos polimórfico foi o GA 136, com quatro alelos. A heterozigosidade esperada no grupo apresentou valor relativamente alto para os locos utilizados, com média de 0,736, com variação de 0,602 para o primer GA 136 a 0,776 para o primer SSRY 21, demonstrando existência de variabilidade genética em um grupo de mandiocas com resistência a doença podridão mole da raiz, indicando que há variabilidade a ser explorada nos programas de melhoramento genético.

Conclusões

Foi encontrada variabilidade genética entre os acessos do BAG da Embrapa da Amazônia Oriental resistentes a podridão mole detectada por marcadores microssatélites.

Referências Bibliográficas

- ALBUQUERQUE, A.S.; Recomendações Técnicas em Caráter de Prevenção à Ocorrência da Podridão Mole das Raízes da Mandioca e da Macaxeira, **Comunicado técnico**, 188, ISSN 1517-2244, 2007
- DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v.12, p.13-15, 1990
- ERRA, I. M. R. de S.; SILVA, G. S. da; NASCIMENTO, F. S.; LIMA, L. K. F.; *Scytalidium lignicola* em mandioca: ocorrência no Estado do Maranhão e reação de cultivares ao patógeno. **Summa phytopathol.** [online]. 2009, vol.35, n.4, pp. 327-328. ISSN 0100-5405.
- FARALDO, M. I. F.; SILVA, R. M. da; ANDO, A.; MARTINS, P. S.; .Variabilidade genética de etnovarietades de mandioca em regiões geográficas do Brasil. **Scientia Agricola** Set 2000, vol.57, no.3, p.499-505. ISSN 0103-9016
- MOURA, E.F, FARIAS NETO, J. T., RAMALHO, G.F, SILVA, D.T. da, SAMPAIO, J. E. Duplicatas no banco de germoplasma de mandioca da Embrapa Amazônia Oriental detectada por marcadores microssatélites. XIV Congresso Brasileiro de Mandioca, 2011, Maceió, AL. **Anais**, 2011