

## Estimativa da variabilidade genética entre acessos de gérbas com o uso de caracteres morfológicos e moleculares

**DAIANE DE PINHO BENEMANN<sup>1</sup>; LUIS WILLIAM PACHECO ARGE<sup>1</sup>; ISADORA ESCOSTEGUY<sup>1</sup>; WILLIAM SILVA BARROS<sup>2</sup>; VALMOR JOÃO BIANCHI<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Laboratório de cultura de tecidos de plantas, Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil – Daiane\_bio@yahoo.com.br

<sup>2</sup>Instituto de Física e Matemática, Departamento de Matemática e Estatística, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil

### 1. INTRODUÇÃO

A gérbas (*Gerbera hybrida*,  $2n = 2x = 50$ ) é uma planta ornamental nativa do Sul da África, Madagascar, e da Ásia tropical (BREMER, 1994). As cultivares de gérbas são comercialmente cultivadas em todo o mundo. Suas flores são duráveis e muito atraentes por apresentarem uma ampla variedade de cores, sendo esta última uma das principais características morfológicas de interesse agrônomo e também para programas de melhoramento (REZENDE, 2005).

A análise da variabilidade genética em *Gerbera* spp. tem como objetivo gerar informações sobre as relações genéticas existentes dentre os genótipos deste gênero, além de ser um pré-requisito para programas de melhoramento. Das estratégias disponíveis para avaliar a variabilidade genética, o uso de marcadores moleculares é de grande aplicabilidade, pois auxilia na melhor compreensão dos genomas, podendo ser utilizado em testes de paternidade, na caracterização de variabilidade genética, para a elucidação de relações genéticas existentes entre genótipos, auxilia no desenvolvimento de metodologias para a manutenção da variabilidade genética existente em bancos de germoplasmas e possibilita a identificação de genes ou a associação de marcas relacionadas a importantes características de interesse biológico e agrônomo (HAYDEN et al., 2010).

Outra abordagem para estudar a variabilidade genética é através da análise das características morfológicas e fenotípicas, devido sua relativa simplicidade. A análise de variabilidade baseada neste tipo de marcador não é totalmente resolutive e confiável, pois o número de caracteres é limitado, existe forte influencia dos fatores ambientais e pelo estágio de desenvolvimento da planta. Apesar disso, a caracterização molecular não substitui as análises morfofenológicas, mas podem ser utilizadas de forma complementar, tanto na caracterização quanto em estudos de variabilidade genética de cultivares (FUFA et al., 2005).

Nesse contexto, o presente estudo foi realizado com o objetivo de verificar a variabilidade de caracteres morfológicos (caracteres quantitativos e qualitativos) e moleculares, a fim de auxiliar na identificação de genótipos contrastantes para uso em programas de melhoramento de *Gerbera* spp.

### 2. MATERIAL E MÉTODOS

Para realização deste trabalho foram utilizados 32 acessos de gérbas: Igor (1, 5 e 17), Terra Fame (2, 13, 18, 23, 25, 27, 29 e 31), Goldem G. (4, 9, 0, 14, 20, 24 e 26), Kozak (6) Tipo Selvagem (7 e 21), Pink Elegance (8), Deranagem (12 e 15), Cariba (16 e 22), Mystique (19), G32 (32), Monique (34), Orça (40 e 42) e

Pacific (45). Todos os acessos foram provenientes do banco de germoplasma da empresa Pró-Clone-SP, Brasil.

A avaliação dos acessos foi realizada mediante a caracterização 21 caracteres morfológicos, sendo 9 caracteres quantitativos e 12 qualitativos. Quanto aos caracteres quantitativos, as medidas foram mensuradas de acordo com descritores oficiais de gérbera do MAPA (2005), conforme segue: 1- comprimento da folha; 2- largura do conjunto de flores liguladas do raio interno; 3- comprimento da flor ligulada do raio externo; 4- largura da flor ligulada do raio externo; 5- número de folhas; 6- comprimento da haste; 7- diâmetro da haste; 8- diâmetro do capítulo; e 9- número de capítulos por acesso avaliado.

Para os caracteres qualitativos foram atribuídos códigos sequenciais numéricos de acordo com os descritores oficiais para gérbera (MAPA, 2005), modificado conforme segue: 1- profundidade das incisões da porção mediana da folha: pouco profunda (3), média (5), profunda (7); 2- pilosidade na fase superior da folha: presente (1) e ausente (2); 3- intensidade da cor verde na fase superior da folha: claro (1) e escuro (2); 4- nível do ápice das flores liguladas do raio externo em relação ao ápice do involúcro: abaixo (1), no mesmo nível (2) e acima (3); 5- forma da flor ligulada do raio externo: estreito elíptica (1) e estreito ovalada (2); 6- forma do ápice da flor ligulada do raio externo: agudo (1) e arredondado (2); 7- número de cores da flor ligulada do raio externo: uma (1) e duas (2); 8- disco escuro (DE): ausente (1) e presente (2); 9- cor principal do estigma (CE): branco (1), amarelo (2), alaranjado (3), rosa (4), vermelho (5), roxo (6) e marrom (7); 10- cor principal das anteras (CA): amarelo (1), alaranjado (2), rosa (3), vermelho (4), roxo (5) e marrom (6); 11- cor da flor (CFR): amarelo (1), branco (2), vermelho (3), laranja (4) e rosa (5); 12- tipo de capítulo: simples (1), semi-dobrado (2) e dobrado (3).

O DNA genômico total foi extraído conforme descrito por DOYLE; DOYLE (1987). Dezesete marcadores EST-SSR desenvolvidos por BENEMANN et al. (2012) foram utilizados nesse estudo. Os procedimentos para PCR (Polymerase Chain Reaction) e separação dos fragmentos amplificados foram os descritos por BENEMANN et al. (2012).

Realizou-se a análise multivariada dos caracteres quantitativos, utilizando a distância de Mahalanobis (D<sub>2</sub>) (HAIR, 2005), para a obtenção da matriz de distâncias. A análise de dissimilaridade das características qualitativas foi conduzida com dados na forma de binários utilizando o coeficiente Simple Matching (SOKAL; MICHENER, 1958). A análise dos dados moleculares foi realizada da mesma forma, ou seja, na forma de binários utilizando o coeficiente Simple Matching para calcular a dissimilaridade genética, seguido do agrupamento pelo método UPGMA.

Com a soma das matrizes de dissimilaridade genética dos caracteres morfológicos e moleculares foi realizada a análise de agrupamento dos caracteres utilizando o algoritmo UPGMA (ROHLF, 1970). Todas as análises foram realizadas no programa Genes v. 7.0 (CRUZ, 2006).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

O dendrograma obtido pela soma das matrizes genéticas resultou em uma dissimilaridade média de 3,87 e correlação cofenética (r) de 0,92, com a formação de 11 grupos (Figura 1). O primeiro grupo foi formado por todos os acessos Golden G., que possuem inflorescência do tipo semi-dobrada e cor amarela. O Segundo grupo foi formado somente pelo acesso Kozak (6), que também possui inflorescência do tipo semi-dobrada e cor laranja. No estudo de variabilidade

genética conduzido somente com marcadores moleculares EST-SSRs (BENEMANN et al., 2012), foi encontrado o valor de similaridade genética de 1,0 entre os acessos Kozak e Golden, e neste estudo o valor de 0,98. O terceiro grupo foi formado pelos acessos de Deranagem, que possuem inflorescência tipo semi-dobrada e cor rosa. Todos os acessos de Terra Fame, agruparam-se no quarto grupo, os quais possuem inflorescência tipo simples e cor amarela. O quinto grupo incluiu os acessos de Igor e de Cariba, ambos apresentam inflorescência do tipo semi-dobrada, porém, com cores diferentes, sendo Igor de cor rosa e Cariba cor vermelha. O sexto grupo foi formado pelos acessos de Orça, G32 e Monique, os quais possuem inflorescência do tipo simples e semi-dobrada, respectivamente, e cores branca, amarela e vermelha, respectivamente. O restante dos acessos, Pacific, Pink Elegance, Mystique e os tipos selvagens, se agruparam individualmente. Os acessos de Mystique e tipo selvagem (21), possuem inflorescência simples e cor laranja, enquanto Pink Elegance é semi dobrada de cor rosa e o acesso tipo selvagem (7) é simples de cor vermelha. Os acessos do tipo selvagem (grupos 9 e 10), que não são comerciais, foram os mais distantes dos demais acessos.

A variabilidade genética em gérbera detectada em nosso estudo, também foi detectada por CARDOSO et al. (2009) ao estudarem a divergência em 7 genótipos de gérbera, utilizando descritores qualitativos e quantitativos, alguns desses também utilizados neste trabalho. DA MATA et al. (2009) utilizaram marcadores RAPD para análise da variabilidade genética, enquanto BENEMANN et al. (2012) e GONG; DENG (2012) analisaram a variabilidade genética utilizando marcadores EST-SSRs desenvolvidos para gérbera.

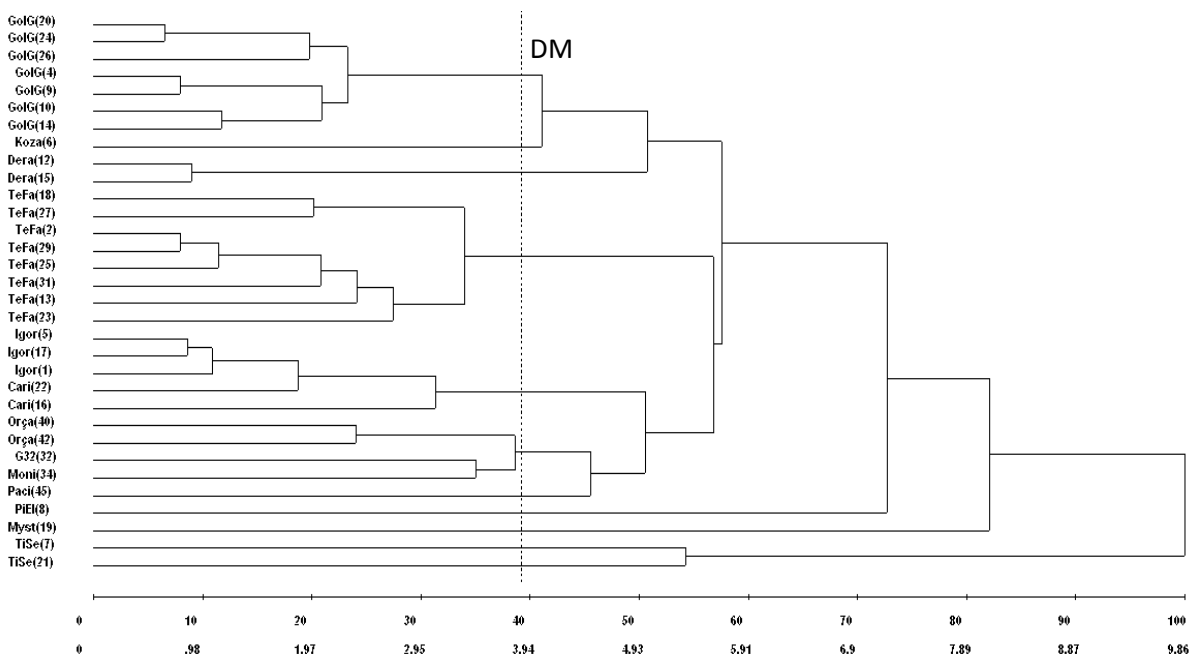


Figura 1. Dendrograma de agrupamento dos 32 acessos de gérbera, gerado pelo método UPGMA, com base na análise de caracteres morfológicos (quantitativos e qualitativos) e marcadores EST-SSR. DM= Dissimilaridade média

#### 4. CONCLUSÕES

A soma das matrizes de dissimilaridade dos dados morfológicos e moleculares possibilitou elucidar a divergência genética existente entre os diferentes acessos de gérbera. Os resultados obtidos neste estudo poderão auxiliar programas de melhoramento genético de gérbera para orientar a realização de cruzamento controlados na tentativa de selecionar progênies mais promissoras.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CARDOSO, R.D.L.; GRANDO, M.F.; BASSO, S.M.S.; SEGEREN, M.; AUGUSTIN, L.; SUZIN, M. Caracterização citogenética, viabilidade de pólen e hibridação artificial em gérbera. **Horticultura Brasileira**, v.27, p.040-044, 2009.
- BENEMANN, D.P.; MACHADO, L.N.; ARGE, L.W.P.; BIANCHI, V.J.; OLIVEIRA, A.C.; MAIA, L.C.; PETERS, J.A. Identification, characterization and validation of SSR markers from gerbera EST database. **Plant Omics journal**, v.5, n.2, p.159-166, 2012.
- BREMER, K. **Asteraceae: cladistics and classification**. Portland: Timber, 1994.
- Rezende, R.K.S. **Aspectos do cultivo *in vitro* e divergência genética em gérbera (*Gerbera jamesonii*)**. 2005, 91f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Vegetal) – Universidade Federal de Lavras.
- CRUZ, C.D.; CARNEIRO, P.C.S. **Biometric models applied to genetic improvement**. 3rd. 2v, UFV ed. Viçosa-MG, 2006.
- DA MATA, T.L.; SEREGEN, M.I.; FONSECA, A.S.; COLOMBO, C.A. Genetic divergence among gerbera accessions evaluated by RAPD. **Scientia Horticulturae**, v.121, p.92-96, 2009.
- DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochem Bull**, v.19, p.11-15, 1987.
- FUFA, H.; BAENZIGER, P.S.; BEECHER B.S.; DWEIKAT, I.; GRAYBOSCH, R.A.; ESKRIDGE, K.M. Comparison of phenotypic and molecular marker-based classifications of hard red winter wheat cultivars. **Euphytica**, v.145, p.133-146, 2005.
- GONG, L.; DENG, Z. Selection and application of SSR markers for variety discrimination, genetic similarity and relation analysis in gerbera (*Gerbera hybrid*). **Scientia Horticulturae**, v.138, p.120-127, 2012.
- HAIR, J.R., J. F. et al. **Análise multivariada de dados**. 5ª ed. Porto Alegre: Bookman, 2005.
- Hayden, M.J.; Tabone, T.L.; Nguyen, T.M.; Coventry, S.; Keiper, F.J.; Fox, R.L.; Chalmers, K.J.; Mather, D.E.; Eglinton, J.A. An informative set of SNP markers for molecular characterization of Australian barley germplasm. **Crop Plant Science**, v.61, p.70-83, 2010.
- SOKAL, R.R.; MICHENNER, C.D. **A statistical method for evaluating systematic relationships**. The University of Kansas Science Bulletin, v.28, p.1409-1438, 1958.
- ROHLF, F.J. Adaptive hierarchical clustering schemes. **Systematic Zool**, v.19, p.58-82, 1970.
- MAPA- **Ministério da agricultura**. Instruções para execução dos ensaios de distinguibilidade, homogeneidade e estabilidade de cultivares de Gerbera. Acessado em 20 de Março de 2011. Online. Disponível em: [www.agricultura.gov.br](http://www.agricultura.gov.br)