

CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE ACESSOS DE PINHÃO MANSO (*Jatropha curcas* L.)

MOREIRA, Laura Lemons¹, VILLELA, Juliana Castelo Branco¹; KNEIB, Raquel Bartz¹; LEMÕES, Juliana Silva¹; ÁVILA, Thais Trindade¹; PINHEIRO, Natércia Lobato²; SILVA, Sérgio Delmar dos Anjos²

^{1, 2} Laboratório de Biologia Molecular, Embrapa Clima Temperado – Pelotas RS
BR 392 – Km 78 – CEP 96001-970 – Caixa Postal 403. lauralmoreira@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

O pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) é uma espécie oleaginosa da família Euphorbiaceae, encontrada em quase todas as regiões intertropicais, de ocorrência natural em todo o território brasileiro. O pinhão manso pode ser considerado uma promissora oleaginosa como alternativa para a produção de biodiesel (BRASIL, 1985).

Botanicamente, é um arbusto grande, de crescimento rápido, lenhoso e perene, com alto teor de óleo na semente (cerca de 38% do peso), tolerância ao déficit hídrico e com raízes curtas e pouco ramificadas. A planta é monóica, com menor número de flores femininas. O fruto é capsular ovóide, trilobular com uma semente em cada cavidade, com relação semente/fruto de 53 a 62%. Ocorre naturalmente em diversos estados brasileiros onde é comum ser encontrado como cerca de divisas e, nos quintais mais antigos, próximo a antigas moradias, onde era usado como fonte caseira de óleo para queimar. O conhecimento técnico sobre esta planta é limitado (SATURNINO, 2005) e, no Rio Grande do Sul, apesar do pinhão manso existir de forma espontânea e semelhantemente às demais regiões, os estudos são recentes (CASAGRANDE JR. et al., 2007).

Um aspecto importante no estudo de novas espécies, caso do pinhão manso, é a caracterização molecular, utilizada como importante ferramenta para auxiliar os programas de melhoramento.

Os marcadores moleculares representam ferramentas importantes em diversos estudos, permitindo avaliar, em curto prazo, elevado número de genótipos. Além disso, não sofrem influência ambiental, como ocorre nos marcadores morfológicos que apresentam relativas limitações, especialmente em cultivares proximamente relacionadas. Estes marcadores, utilizados na caracterização e avaliação de germoplasma e na identificação de genes de importância agrônômica, têm permitido obter avanços consideráveis nos programas de melhoramento genético de diferentes culturas (PALMIERI & MAIA, 2007).

Vários trabalhos têm utilizado marcadores Microsatélites ou SSRs (*simple sequence repeats*) para a caracterização de genótipos, já que estes são marcadores co-dominantes, multialélicos, altamente informativos, e de ampla utilização na maior parte das culturas (MORGANTE & OLIVIERI, 1993). O uso desta classe de marcadores é bastante promissor, pois os locos são os que apresentam maior frequência de mutações em todos os genomas e em todas as espécies animais e vegetais.

Neste sentido, o presente trabalho teve como objetivo caracterizar acessos de pinhão manso pertencente ao banco de germoplasma vegetal da Embrapa Clima Temperado.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido na Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS. Foram analisados 14 genótipos de pinhão manso de diferentes origens~(tabela 1). A extração do DNA foi realizada a partir de plantas conduzidas a campo, segundo o protocolo descrito por Dart (2008).

Foram utilizados 4 pares de *primers* (tabela-2), e as reações de amplificação foram desenvolvidas numa reação de 10 µl contendo 5 µl de GoTaq Green Master Mix, 50 ng de DNA e 1,4 µl de *primer Forward* e *primer Reverse* na concentração de 10 µM. O programa de amplificação foi executado como segue: 1ª etapa - ciclo inicial de desnaturação a 94 °C por 5 minutos; 2ª e etapa - ciclo de desnaturação a 94 °C por 1 minuto; 3ª etapa - anelamento a 52 °C por 2 minutos; 4ª etapa - extensão a 72 °C por 2 minutos. O processo foi repetido por 30 vezes a partir da 2ª etapa, finalizando com um ciclo de extensão a 72 °C por 5 minutos. O produto da amplificação foi separado em gel de agarose 3,5% e visualizado por meio de coloração com brometo de etídio.

Tabela 1- Genótipos de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.) utilizado no estudo, Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, 2009.

Amostra	Descrição
803	CPATSA-JC 1501
808	CPATSA-JC 1701
811	CPATSA-JC2201
815	EPAMIG-BA 6
806	CPATSA-JC1602
809	CPATSA-JC 1702
816	EPAMIG BA 10
818	EPAMIG-JN
821	CPACT 32
823	CPACT 34
820	CPACT 31
810	CPATSA-JC 1703
807	CPATSA-JC1603
813	EPAMIG-PA 5

Tabela 2- *Primers* para locos SSR do genoma de pinhão manso (*Jatropha curcas* L.), Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, 2009.

Primer	Forward	Reverse
JC13	TTGACTTTTTCTGAGTTCTG	ACAAAAACACACACATTCAA
JCPS06	CCAGAAGTAGAATTATAAATTA	AGCGGCTCTGACATTATGTAC
JC07	GATCCTCTGTGAGTGTTGCC	CCCAAGTTATCTCCAATCC
JC01	TCGGTATAGTTCATGCACAG	CCCATCTGATAACCTGGCTAC

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No dendrograma (Figura 1), verifica-se que a similaridade média foi de 0,72. O emprego da similaridade média como critério para a separação dos grupos, propiciou a visualização de três grupos distintos, onde: grupo I formado pela maioria dos acessos apresentou a formação de dois subgrupos 1-A, 1-B. O grupo II com genótipo 807 e grupo III com genótipo 813.

Na figura 1 observar-se que o subgrupo 1-A agrupou genótipos oriundos da Embrapa Semi-Árido e um genótipo do EPAMIG coletado no estado da Bahia e, o subgrupo 1-B agrupou todos os genótipos CFACT, oriundos da região de Rio Pardo-RS, representando grande similaridade genética entre os mesmos. Isto pode indicar homozigose presente para os indivíduos desta população dentro deste subgrupo, ao contrario dos grupos II e III que ficaram separados dos demais acessos, pois apresentam alta dissimilaridade genética dos demais genótipos presente neste trabalho. Esta separação de grupos indica a existência de variabilidade genética entre populações.

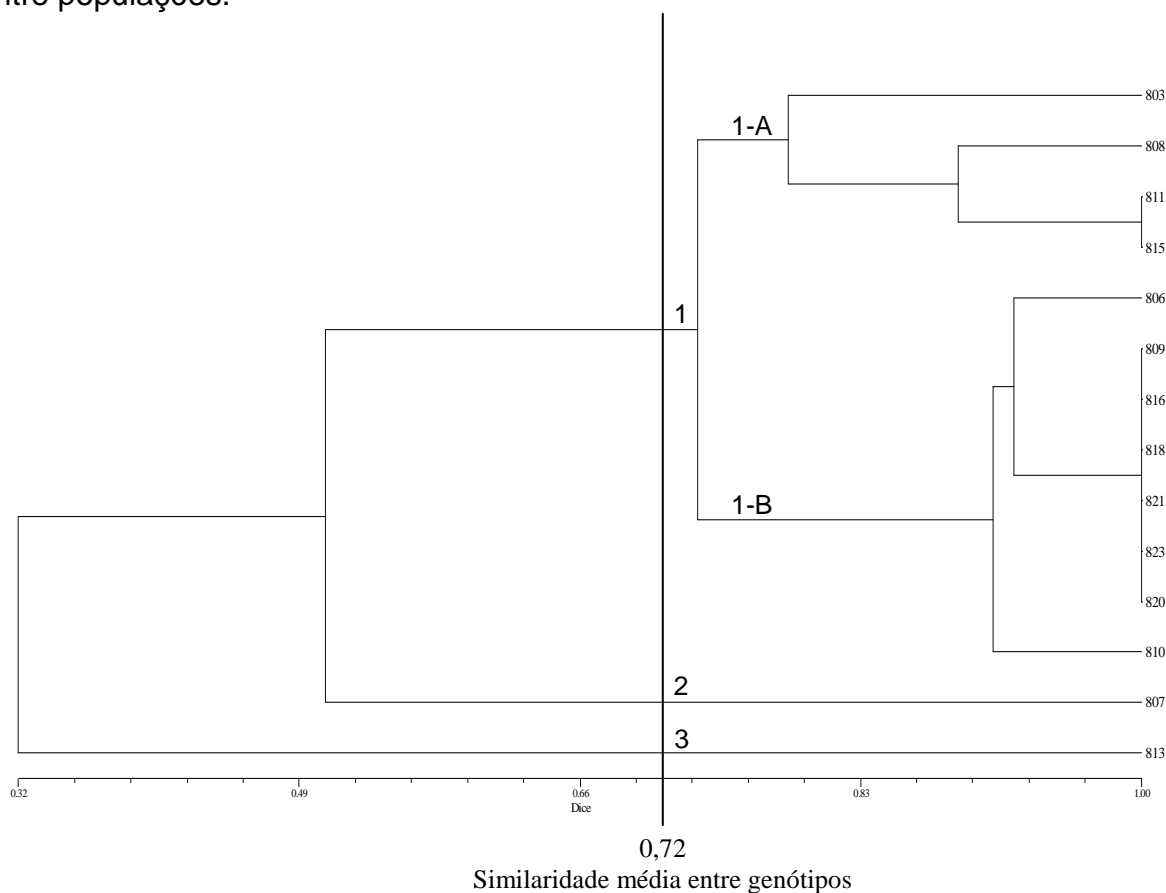


Figura1. Dendrograma de 14 genótipos de pinhão manso obtido a partir da análise molecular de microssatélites utilizando o índice de similaridade de Dice (1945) e o método de agrupamento UPGMA. O valor do coeficiente de correlação cofenética (r) é de 0,92. Embrapa Clima Temperado, Pelotas-RS, 2009.

4. CONCLUSÕES

Há variabilidade genética entre genótipos, assim como um alto nível de similaridade genética para os genótipos oriundos do Rio Grande do Sul.

5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Fapergs, CNPq e MDA pelos auxílios financeiros recebidos e bolsas de graduação e de pós-graduação, permitindo a viabilização e realização do trabalho.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRASIL. Ministério da Indústria e do Comércio. Secretária de Tecnologia Industrial. Produção de combustíveis líquidos a partir de óleos vegetais. Brasília: STI/CIT, 1985. 364p. (STI/CIT. Documentos, 16).
- CASAGRANDE JÚNIOR, J. G.; SILVA, S. D. dos A. e; AIRES, R. F.; EMYGDIO, B.; Desenvolvimento de mudas de pinhão-manso em condições controladas. In: SIMPÓSIO ESTADUAL DE AGROENERGIA. 2007, Pelotas. Anais... Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2007. 1 CDROM.
- DART. *Diversity Arrays Technology Pty. Ltd.*. Disponível em: http://www.diversityarrays.com/pub/DArT_DNA_isolation.pdf>. Acesso em: 19 ago. 2008.
- DICE, L.R. Measures of the amount of ecological association between species. **Ecology**, Washington, v.26, n.3, p.297-307, 1945.
- PALMIERI, D.A. ; MAIA, L.C. . Marcadores microssatélites para estudos genéticos em mamona (*Ricinus communis* L.) e pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.). In: Congresso Internacional de Agroenergia e Biocombustíveis, 2007, Teresina, PI. Anais do ... , 2007. p. 138-138.
- MORGANTE, M.; OLIVIERI, A.M. PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics. **The Plant Journal**. jan. 1993, v.3, n.1, p.175-182.
- SATURNINO, H.M.; PACHECO, D.D.; KAKIDA, J.; TOMINAGA, N.; GONÇALVES, N.P. Cultura do pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.). Informe Agropecuário, Belo Horizonte, MG. v. 26, n. 229; p. 44-78, 2005.