

Variabilidade genética e homozigose em uma população F4 de mamoneira por meio de marcadores microssatélites

Genetic variability and homozygosity in a F4 castor bean population by microsatellite markers

Edna Lobo Machado*, Simone Alves Silva, Luciel dos Santos Fernandes, Helison Santos Brasileiro

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas - Cruz das Almas (BA), Brasil.

RESUMO: Os objetivos deste trabalho foram identificar a variabilidade genética e estimar o nível de homozigose em uma população F4 de mamoneira usando marcadores microssatélites (SSR). Para tanto, foi realizada a genotipagem da população por meio de 53 pares de iniciadores SSR, e as frequências alélicas, número de alelos por loco, heterozigosidade esperada (H_e), heterozigosidade observada (H_o) e conteúdo informativo de polimorfismo (PIC) foram estimados. Uma matriz de dissimilaridade genética foi gerada pelo índice de Nei e Li, e a análise de agrupamento hierárquico foi realizada por meio do método *Unweighted Pair-Group Method Averages* (UPGMA). Foi detectado polimorfismo em um total de oito loci (15,09%) dos 53 avaliados, com presença de dois alelos por loco. As frequências alélicas variaram entre 0,71 e 0,53, e o PIC, entre 0,32 e 0,37. A heterozigosidade média observada H_o (0,30) foi menor que a heterozigosidade esperada H_e (0,47). Houve formação de cinco grupos dissimilares, mostrando que há variabilidade genética entre os genótipos avaliados. A maior dissimilaridade genética foi de 0,708 e a menor, de 0,00. As porcentagens de homozigose entre os genótipos variaram de 25 a 75%. Esses resultados mostram que a autofecundação controlada em mamoneira eleva o nível de homozigose, importante para o programa de melhoramento genético.

Palavras-chave: *Ricinus communis* L., melhoramento genético, seleção.

ABSTRACT: The objectives of this study were to identify the genetic variability and estimate the level of homozygosity in a castor bean F4 population using microsatellite markers (SSR). To this end, it was performed the genotyping of the population through 53 pairs of SSR primers. Allele frequencies were estimated by number of alleles per locus, expected heterozygosity (H_e), observed heterozygosity (H_o) and polymorphic information content (PIC). An array of genetic dissimilarity was generated by Nei and Li index, and hierarchical cluster analysis was performed using the *Unweighted Pair-Group Method Averages* (UPGMA) method. Polymorphism was detected in a total of eight loci (15.09%) of the 53 evaluated, with the presence of two alleles per locus. Allele frequencies varied between 0.71 and 0.53, and the PIC, between 0.32 and 0.37. The average observed heterozygosity H_o (0.30) was lower than the expected heterozygosity H_e (0.47). Five dissimilar groups were formed, showing that there is genetic variability among the evaluated genotypes. The highest genetic dissimilarity was 0.708 and the lowest, 0.00. The percentages of homozygous genotypes varied from 25 to 75%. These results show that controlled selfing in castor bean raises the level of homozygosity, important for the breeding program.

Key words: *Ricinus communis* L., breeding, selection.

*Autor correspondente: ednalobo@ufrb.edu.br

Recebido: 8 Nov. 2015 – Aceito: 29 Dez. 2015

INTRODUÇÃO

O melhoramento genético de plantas é um processo demorado, levando, em média, 12 anos para espécies anuais e 30 anos para espécies perenes (Bespalhok et al. 1999). Por isso, o melhorista deve tentar prever necessidades futuras. Um desses desafios é a procura por fontes de energia renovável. Diante do exposto, vários programas de melhoramento têm trabalhado com espécies que possam ser utilizadas para produção de combustíveis alternativos, como é o caso do etanol (cana-de-açúcar) ou do biodiesel (mamona, girassol e canola) (Bespalhok et al. 1999). A mamoneira é uma oleaginosa de grande importância social e econômica para o Brasil, especialmente para a Região Nordeste, onde a cultura gera emprego e renda para o pequeno e médio agricultor (Freitas et al. 2010).

Ricinus communis L. é uma espécie monotípica, pertencente à família Euforbeaceae e considerada uma espécie autógama (Távora 1982) em função do seu sistema reprodutivo. No entanto, apresenta alta taxa de alogamia, enquadrando-se melhor na classificação de plantas mistas ou intermediárias. Para Vencovsky et al. (2001), uma população mista possui taxa de cruzamento entre 5 e 95%; esses valores representam médias referentes à população, não ao indivíduo. Assim, a facilidade na obtenção de cruzamentos e autofecundações controladas na mamoneira a torna uma planta interessante para programas de melhoramento genético.

A condição fundamental para execução de um programa de melhoramento é a existência de variabilidade genética. Na busca por variabilidade, são feitos cruzamentos que maximizam a diversidade genética da população e, uma vez alcançada essa variabilidade em uma população segregante, faz-se necessária, também, a identificação de genótipos homocigotos superiores, obtidos por meio de autofecundação em populações avançadas. A autofecundação é o processo que leva ao grau mais intenso de endogamia (Maia et al. 2008). Nessas populações, é mais fácil prever o comportamento das progênes, uma vez que não ocorrerá segregação dos alelos em homocigose. Dessa forma, a identificação de variabilidade e do nível de homocigose alcançada nos pares de alelos em genótipos oriundos de uma população F4 dará um indicativo de quantos loci em heterocigose estão presentes na população em estudo e de quantas gerações de autofecundação serão necessárias avançar para alcançar a homocigose esperada.

A detecção de variabilidade genética e do nível de homocigose em uma população avançada, como uma F4 de

mamoneira, pode ser feita usando marcadores moleculares. Os marcadores microssatélites (SSR) são informativos em razão de sua codominância, seu alto grau de polimorfismo, reprodutibilidade e facilidade de interpretação (Borém e Miranda 2009). É importante resaltar que estudos de variabilidade genética e grau de homocigose usando marcadores SSR em uma população avançada em mamoneira ainda são inéditos. Diante do exposto, os objetivos deste trabalho foram identificar a variabilidade genética e estimar o nível de homocigose de uma população F4 de mamoneira usando marcadores SSR a fim de monitorar o melhoramento genético da espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi utilizada uma população F4 composta por 32 indivíduos. A população F4 foi obtida do cruzamento entre as cultivares BRS Nordestina e Sipeal 28 seguida de autofecundações. Essas cultivares foram selecionadas por serem divergentes e indicadas para a Região Nordeste (Bahia et al. 2008).

As sementes dos genótipos foram colocadas para germinar em bacias plásticas, em areia lavada. Após 15 dias, folhas saudáveis foram coletadas para extração de DNA segundo o protocolo descrito por Doyle e Doyle (1990). A quantidade e a qualidade de DNA foram avaliadas por análise comparativa com concentrações conhecidas de DNA lambda (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA) em gel de agarose a 0,8%, corado com brometo de etídeo ($0,5 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$). As amostras foram diluídas em tampão Tris-EDTA para ajuste de sua concentração ($5 \text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$).

Um total de 53 pares de iniciadores SSR foi utilizado para a genotipagem da população F4 e dos parentais. Cada reação de amplificação foi preparada em volume final de $25 \mu\text{L}$, que continha: $2,5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ de tampão 10X ($50 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ de Tris-HCl, $20 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ de KCl), $0,1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ de dNTPs mix, $1,2 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ de MgCl_2 , $0,4 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ de cada iniciador (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA), $0,2 \text{ U}$ de Taq DNA polimerase (Life Technologies do Brasil Ltda., São Paulo, SP), 25 ng de DNA genômico e água ultra-pura q.s.p.

As amplificações foram conduzidas em termociclador Biocycler MJ96+/MJ96G (Applied Biosystems do Brasil Ltda., São Paulo, SP) com temperatura de desnaturação inicial de $94 \text{ }^\circ\text{C}$ por 1 min, seguidas de 35 ciclos de amplificação [$94 \text{ }^\circ\text{C}$ por 1 min, temperatura de anelamento variando entre 62 e $66 \text{ }^\circ\text{C}$, a depender do par de iniciadores (Tabela 1), por 1 min e $72 \text{ }^\circ\text{C}$ por 1 min] e extensão final de $72 \text{ }^\circ\text{C}$ por 10 min

→

(Bajay et al. 2011). Os produtos amplificados foram submetidos a eletroforese em gel desnaturante de poli(acrilamida a 7%, conforme protocolo proposto por Litt et al. (1993). O gel foi corado com nitrato de prata (Creste et al. 2001) e, após seco, foi digitalizado com scanner (HP ScanJet N8460, Hewlett-Packard Company, Palo Alto, CA, EUA). A amplitude dos fragmentos foi estimada por comparação destes com um padrão de peso molecular de 50 pb (Invitrogen, São Paulo, SP), e os loci foram caracterizados como polimórficos ou monomórficos, em razão da existência de alelos distintos entre os genótipos avaliados.

As estimativas das frequências alélicas, número de alelos por loco, maior frequência alélica (MFA), heterozigiosidade esperada (H_e), heterozigiosidade observada (H_o) e conteúdo informativo de polimorfismo (PIC, do inglês *polymorphic information content*) foram obtidos com o auxílio do programa PowerMarker versão 3.25 (Liu e Muse 2005). A matriz de dissimilaridade genética foi gerada usando-se o índice de Nei e Li (1973).

A análise de agrupamento hierárquico foi realizada por meio do método *Unweighted Pair-Group Method Averages* (UPGMA) (Sneath e Sokal 1973). O dendrograma foi construído usando-se o software MEGA 5 (Tamura et al. 2011).

Para estimar o nível de homozigose dos genótipos avaliados, procedeu-se ao seguinte cálculo segundo Mendes et al. (2006):

$$P = [(2^m - 1)/2^m]^n$$

onde: P é a proporção de genótipos completamente homozigotos; m representa o número de gerações; n é o número de alelos.

O teste do qui-quadrado (χ^2) a 5% foi realizado para verificar os desvios entre os valores esperados e observados com o auxílio do programa Genes (Cruz e Carneiro 2003).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na população estudada, detectou-se polimorfismo em um total de oito loci (15,09%) dos 53 avaliados. Os loci SSR polimórficos e as sequências dos iniciadores estão classificados na Tabela 1. A Figura 1 mostra o polimorfismo do locus Rco23 nos 32 genótipos avaliados. Uma menor porcentagem de polimorfismo (9,72%) foi observada por Pranavi et al. (2011) em nove híbridos comerciais de mamona usando 92 marcadores EST-SSR. Entretanto, um polimorfismo maior (31,13%) foi detectado em 24 amostras de mamona coletadas em diferentes países (Qiu et al. 2010). Esses autores analisaram 379 loci EST-SSR.

Para cada locus SSR, foram identificados dois alelos (Tabela 1) — resultado esperado, pois, em uma população

→

Tabela 1. Loci, sequência de iniciadores SSR, motivo (repetição microssatélite), amplitude dos fragmentos, maior frequência alélica, número de alelos por loco, heterozigiosidade esperada, heterozigiosidade observada e conteúdo informativo de polimorfismo em oito loci polimórficos identificados em uma população F4 de *Ricinus communis* L., Cruz das Almas (BA), 2015.

Loco	Sequência 5'-3'	Motivo	T°	Amplitude do fragmento	MFA	NA	He	Ho	PIC
Rco2	F:CTAGCTTTGGGGCACAGTC R:GGAAAATAGGTGCGTATGAAAC	(AC) ₁₂	62	210-232	0,53	2	0,49	0,21	0,37
Rco11	F: GCGTGGACTAACTTCAAGCA R: CCCCATTAGCATCGAGAAAG	(TC) ₁₀ (GT) ₆	60	240-250	0,71	2	0,40	0	0,32
Rco23	F: CATGGATGTAGAGGGTCGAT R: CAGCCAAGCCAAAGATTTTC	(GA) ₁₅ (AG) ₈	62	300-320	0,53	2	0,49	0,11	0,37
Rco29	F: GAGAAAAGAAAGGGAGAAGG R: GCCAAAAGCACACTTAATTTGA	(GA) ₇	60	250-260	0,55	2	0,49	0	0,37
RcoM2	F:GATGTGAGCCCATTATGCTG R:TCAGAAATACCTCTAGGCGACA	(CT) ₁₄	64	185-192	0,55	2	0,49	0,46	0,37
RcoM11	F: AGGGGGATAAGCGTGATATG R: CCGTTATGAAAAGGAAAGCA	(CAA) ₆	63	252-268	0,53	2	0,49	0,8	0,37
RcoM27	F: CATGTTGTTTTTGGCAGCTC R: CGTTCACACTCATCAATCCA	(AG) ₂₀	63	287-294	0,57	2	0,48	0,84	0,36
RcoM28	F: CATGTTGTTTTTGGCAGCTC R: CGTTCACACTCATCAATCCA	(GAA) ₆ (AGA) ₅ (AAG) ₆	63	215-234	0,71	2	0,40	0,04	0,32
Média					0,59	2	0,47	0,30	0,36

T° = Temperatura ótima de anelamento dos iniciadores; MFA = Maior frequência alélica; NA = Número de alelos por loco; H_e = Heterozigiosidade esperada; H_o = Heterozigiosidade observada; PIC = Conteúdo informativo de polimorfismo.

segregante oriunda do cruzamento entre dois parentais diploides, podem-se encontrar, no máximo, quatro alelos. Essa população foi obtida do cruzamento entre duas cultivares. Em geral, cultivares comerciais apresentam alto grau de homozigose decorrente do processo de seleção para o melhoramento.

Bajay et al. (2009, 2011) identificaram em 12 e 11 loci SSR polimórficos, para 38 e 76 genótipos de mamoneira, respectivamente, de dois a cinco alelos por locus. O maior número de alelos encontrado pelos autores pode ser explicado por não se tratar de uma população de autofecundação, a exemplo da população F4 de mamoneira analisada no presente estudo.

A maior amplitude alélica foi identificada para o locus Rco23 (300 – 320 pb) e a menor, para o RcoM2 (185 – 192 pb). Os loci Rco11 e RcoM28 apresentaram a maior frequência alélica (0,71), enquanto que os loci Rco2, Rco23 e RcoM11 obtiveram a menor (0,53) (Tabela 1).

Para os loci avaliados, o PIC variou de 0,32 (loci Rco11 e RcoM28) a 0,37 (Tabela 1). O maior valor de PIC (0,37) foi detectado para a maioria dos loci: Rco2, Rco23, Rco29, RcoM2 e RcoM11 (Tabela 1). Bajay et al. (2009) encontraram valor de PIC para marcadores SSR em mamoneira variando entre 0,1703 e 0,6597. Essa maior variação no valor do PIC é explicada pelo maior número de genótipos avaliados.

A média do PIC foi de 0,36. Em geral, os loci foram considerados moderadamente informativos (Tabela 1). Segundo Botstein et al. (1980), os valores de PIC são agrupados em três níveis: altamente informativo ($PIC > 0,5$); moderadamente informativo ($0,25 < PIC < 0,5$) e pouco informativo ($PIC < 0,25$). O PIC estima o poder discriminatório do locus, levando-se em conta não apenas o número de alelos identificados, mas também as frequências relativas desses alelos.

A heterozigosidade média observada H_o (0,30) foi menor que a heterozigosidade esperada H_e (0,47). O resultado está de acordo com o esperado para uma população segregante F4 que caracteristicamente apresenta um maior nível de homozigose com fixação de alelos. Baixos valores de H_o (0,416 e 0,0922) também foram encontrados por Bajay et al. (2009, 2011), respectivamente.

A partir do dendograma, é possível observar a formação de cinco grupos (Figura 2), mostrando a presença de variabilidade genética entre os genótipos avaliados, característica importante dentro de um programa de melhoramento genético, possibilitando a seleção. O grupo I foi composto por um único genótipo (29) e o grupo V, por apenas três (16, 1 e 3). O grupo II foi composto pelos genótipos 7, 5, 2, 25, 12 e 28; o grupo III foi composto pelos genótipos 30, 6, 31, 11, 18, 19, 32, 8, 13, 20, 21, 26 e 27, e o grupo IV, pelos genótipos 17, 23, 10, 15, 4, 24, 14 e 22.

A maior dissimilaridade genética (0,708) ocorreu entre os genótipos 11 × 25 e 11 × 3 e a menor (0,00), entre 1 × 16, 10 × 15, 11 × 18, 12 × 2, 12 × 29, 14 × 22, 16 × 2, 2 × 25, 2 × 29, 2 × 3, 2 × 5, 2 × 7, 2 × 9, 20 × 21, 22 × 26, 26 × 27 e 30 × 31 (Tabela 2). Esses resultados mostram que a hibridização controlada entre as cultivares BRS Nordestina e Sipeal 28 gerou variabilidade genética entre as progênies, o que favorece os programas de melhoramento genético da mamoneira.

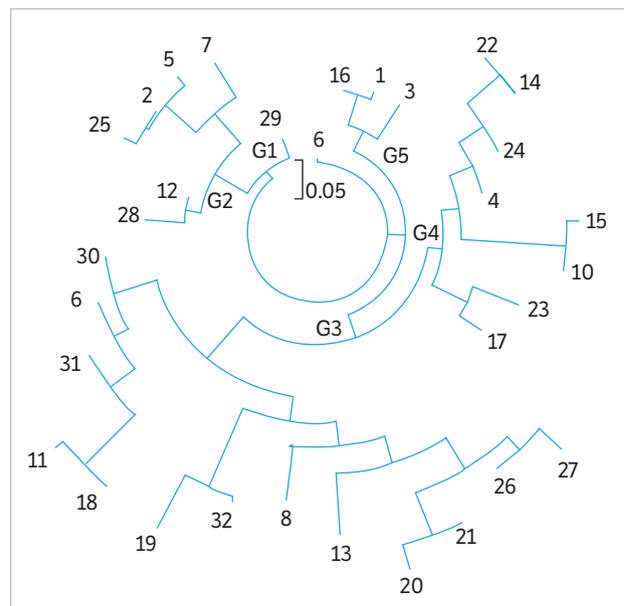


Figura 2. Relações genéticas entre os 32 genótipos de mamoneira baseadas em marcadores SSR gerados pelo método de agrupamento UPGMA.

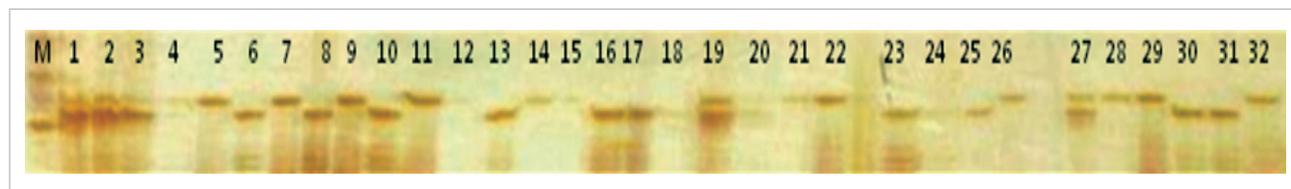


Figura 1. Polimorfismo do loco Rco23 na população F4 de mamoneira detectado por eletroforese em gel de poliacrilamida a 7% corado com nitrato de prata. Marcador de peso molecular 50 pb; 1 – 32 progênies.

Tabela 2. Matriz de dissimilaridade genética entre 32 genótipos de uma população F4 de mamoneira obtida a partir do coeficiente de dissimilaridade de Nei e Li (1973).

Genótipos	1	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	2	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	3	30	31	32	4	5	6	7	8	9					
1	0,000																																				
10	0,125	0,000																																			
11	0,500	0,500	0,000																																		
12	0,250	0,125	0,417	0,000																																	
13	0,286	0,500	0,500	0,417	0,000																																
14	0,125	0,250	0,250	0,450	0,375	0,000																															
15	0,292	0,000	0,250	0,450	0,375	0,250	0,000																														
16	0,000	0,250	0,250	0,125	0,167	0,083	0,500	0,000																													
17	0,250	0,125	0,550	0,150	0,350	0,375	0,250	0,500	0,000																												
18	0,550	0,500	0,000	0,300	0,400	0,313	0,313	0,250	0,625	0,000																											
19	0,583	0,625	0,417	0,250	0,250	0,650	0,550	0,500	0,250	0,300	0,000																										
2	0,083	0,125	0,750	0,000	0,417	0,500	0,625	0,000	0,083	0,625	0,333	0,000																									
20	0,464	0,625	0,458	0,375	0,250	0,417	0,250	0,667	0,300	0,350	0,208	0,333	0,000																								
21	0,400	0,625	0,350	0,450	0,150	0,125	0,125	0,500	0,313	0,350	0,250	0,500	0,000	0,000																							
22	0,125	0,250	0,250	0,450	0,375	0,000	0,250	0,083	0,375	0,313	0,650	0,500	0,357	0,100	0,000																						
23	0,250	0,125	0,375	0,208	0,464	0,333	0,417	0,083	0,100	0,450	0,375	0,333	0,688	0,583	0,429	0,000																					
24	0,071	0,125	0,417	0,333	0,357	0,042	0,208	0,083	0,150	0,500	0,583	0,333	0,464	0,250	0,042	0,179	0,000																				
25	0,250	0,125	0,708	0,208	0,321	0,500	0,250	0,417	0,100	0,650	0,375	0,000	0,214	0,300	0,500	0,429	0,321	0,000																			
26	0,313	0,625	0,313	0,500	0,063	0,000	0,083	0,125	0,417	0,313	0,313	0,500	0,063	0,063	0,000	0,500	0,250	0,000																			
27	0,357	0,625	0,417	0,417	0,214	0,375	0,125	0,417	0,250	0,450	0,250	0,417	0,107	0,100	0,375	0,464	0,357	0,179	0,000	0,000																	
28	0,250	0,125	0,375	0,042	0,464	0,333	0,583	0,083	0,300	0,250	0,375	0,000	0,563	0,583	0,429	0,250	0,321	0,429	0,500	0,607	0,000																
29	0,214	0,125	0,417	0,000	0,357	0,375	0,542	0,083	0,150	0,300	0,250	0,000	0,406	0,375	0,321	0,281	0,286	0,321	0,500	0,500	0,156	0,000															
3	0,107	0,125	0,708	0,208	0,179	0,333	0,417	0,083	0,100	0,650	0,375	0,000	0,357	0,300	0,333	0,286	0,179	0,143	0,250	0,321	0,286	0,179	0,000														
30	0,250	0,250	0,100	0,200	0,417	0,208	0,375	0,083	0,188	0,125	0,300	0,500	0,464	0,250	0,179	0,179	0,167	0,542	0,333	0,417	0,321	0,143	0,375	0,000													
31	0,357	0,625	0,083	0,333	0,357	0,208	0,375	0,083	0,350	0,100	0,250	0,667	0,406	0,208	0,179	0,281	0,286	0,607	0,250	0,357	0,406	0,250	0,464	0,000	0,000												
32	0,357	0,625	0,250	0,167	0,214	0,375	0,542	0,083	0,350	0,100	0,083	0,333	0,406	0,375	0,464	0,281	0,429	0,464	0,250	0,357	0,156	0,250	0,321	0,286	0,250	0,000											
4	0,107	0,125	0,292	0,208	0,393	0,083	0,250	0,083	0,150	0,350	0,458	0,333	0,438	0,250	0,071	0,188	0,036	0,357	0,313	0,393	0,313	0,156	0,214	0,036	0,156	0,406	0,000										
5	0,286	0,125	0,583	0,083	0,357	0,542	0,292	0,417	0,100	0,500	0,250	0,000	0,344	0,458	0,607	0,281	0,357	0,036	0,313	0,214	0,281	0,313	0,179	0,500	0,563	0,313	0,406	0,000									
6	0,250	0,625	0,125	0,375	0,250	0,083	0,250	0,083	0,350	0,150	0,292	0,667	0,313	0,083	0,071	0,313	0,179	0,500	0,063	0,250	0,438	0,281	0,357	0,036	0,031	0,281	0,125	0,531	0,000								
7	0,286	0,125	0,417	0,083	0,500	0,375	0,292	0,417	0,300	0,300	0,417	0,000	0,250	0,350	0,375	0,464	0,357	0,179	0,313	0,357	0,179	0,214	0,321	0,417	0,500	0,357	0,321	0,143	0,464	0,000							
8	0,321	0,625	0,250	0,417	0,250	0,250	0,167	0,167	0,300	0,300	0,250	0,667	0,250	0,125	0,214	0,313	0,250	0,357	0,063	0,107	0,563	0,344	0,357	0,107	0,094	0,344	0,188	0,406	0,063	0,464	0,000						
9	0,107	0,125	0,458	0,042	0,250	0,250	0,417	0,083	0,150	0,350	0,292	0,000	0,313	0,250	0,214	0,313	0,179	0,214	0,313	0,393	0,188	0,031	0,071	0,179	0,281	0,281	0,125	0,250	0,179	0,313	0,000						

A análise de homozigose dos 32 genótipos está apresentada na Tabela 3. A porcentagem de homozigose entre os genótipos variou de 25 a 75%, com destaque para os genótipos 13, 20, 23 e 28, que apresentaram os maiores valores (75%), enquanto que os genótipos 2, 10, 16 e 26 apresentaram os valores mais baixos (25%). Também na análise da homozigose ocorreu a formação de cinco grupos (Tabela 3).

De acordo com Allard (1971) e Borém e Miranda (2009), a proporção de plantas homozigotas está em função do número de pares de alelos e do número de gerações de autofecundação. Em cinco gerações de autofecundações, em cinco genes independentes, 85% dos genótipos da população estarão em homozigose em todos os cinco loci. Entretanto, para a população F4 de mamoneira, considerando-se três gerações de autofecundações, em que a proporção de homozigotos aumenta, enquanto que a de heterozigotos diminui, com oito loci envolvidos, o esperado é de 34% dos genótipos em completa homozigose. Dessa forma, o valor médio obtido para o nível de homozigose dos genótipos foi elevado (52,7%), com rápida fixação dos alelos homozigotos e possível ganho genético na seleção, considerando-se mais uma geração de autofecundação.

A detecção de alelos heterozigotos com marcadores moleculares é mais sensível que a avaliação da constituição genética por dados fenotípicos. Sendo assim, caso se considere a proporção de cinco loci independentes, após três gerações de autofecundações, seriam esperados 51% dos genótipos da população em homozigose em todos os oito loci (Allard 1971; Borém e Miranda 2009), o que corrobora o valor de homozigose obtido neste trabalho.

O teste do χ^2 para análise dos desvios entre os valores esperados e observados do nível de homozigose entre os genótipos encontra-se na Tabela 4. Nesse caso, os valores calculados do χ^2 a 5% de probabilidade para os iniciadores RcoM27 (18,892) e RcoM11 (15,621) apresentaram diferença significativa. As probabilidades associadas a esses valores são 7,90 e 4,05%, respectivamente. Isso indica que algum outro fator que não o acaso é o responsável pelos desvios entre os valores observados e esperados.

O valor calculado para os outros iniciadores não diferiram significativamente no teste do χ^2 a 5% de probabilidade. As maiores probabilidades encontradas foram as dos iniciadores Rco23 (99,75%) e RcoM28 (91,66%), indicando uma alta probabilidade de que a diferença entre os valores observados e esperados seja devida ao acaso.

A análise dos genótipos da população F4 de mamoneira, usando-se marcadores microssatélites, mostrou que a maior parte dos alelos encontra-se em homozigose, sugerindo uma forte endogamia, o que pode ser resultado de processos

Tabela 3. Porcentagem de homozigose dos genótipos da população F4 de mamoneira a partir de marcadores microssatélites.

Genótipos	Homozigose (%)	Genótipos	Homozigose (%)
2	25,0	24	50,0
10	25,0	27	50,0
16	25,0	30	50,0
26	25,0	3	62,5
12	37,5	5	62,5
17	37,5	11	62,5
1	50,0	19	62,5
4	50,0	22	62,5
6	50,0	25	62,5
7	50,0	29	62,5
8	50,0	31	62,5
9	50,0	32	62,5
14	50,0	13	75,0
15	50,0	20	75,0
18	50,0	23	75,0
22	50,0	28	75,0
Média			52,7

Tabela 4. Teste do χ^2 para os loci SSR na população F4 de mamoneira proveniente do cruzamento entre as cultivares BRS Nordestina e Sipeal 28.

Loco	χ^2	Probabilidade (%)	GI
RcoM27	18,892*	7,90	2
RcoM11	15,621*	4,05	2
RcoM2	3,683	15,85	2
Rco29	0,482	78,58	2
Rco11	0,321	85,20	2
Rco2	0,255	88,02	2
RcoM28	0,174	91,66	2
Rco23	0,005	99,75	2

*Diferiram significativamente. GI = Graus de liberdade.

de autofecundação. Esses estudos evidenciam a eficiência na condução da população por meio de autofecundação para alcançar alto nível de homozigose, importante para o melhoramento genético da mamoneira.

CONCLUSÃO

A homozigose na população F4 encontra-se elevada, com boa fixação dos alelos homozigotos ao longo das gerações de autofecundação, com possibilidade de se

→

obter na próxima geração de autofecundação genotípica bom grau de estabilidade e com nível de homozigose

mais elevado para obtenção de ganhos genéticos com a seleção.

REFERÊNCIAS

- Allard, R. W. (1971). Princípios do melhoramento genético das plantas. São Paulo: Edgard Blüchner.
- Bahia, H. F., Silva, S. A., Fernandez, L. G., Ledo, C. A. S. e Moreira, R. F. C. (2008). Divergência genética entre cinco cultivares de mamoneira. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 43, 357-362. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-204X2008000300010>.
- Bajay, M. M., Zucchi, M. I., Kiihl, T. A. M., Batista, C. E. A., Monteiro, M. e Pinheiro, J. B. (2011). Development of a novel set of microsatellite markers for castor bean, *Ricinus communis* (Euphorbiaceae). American Journal of Botany, 98, e87-e89. <http://dx.doi.org/10.3732/ajb.1000395>.
- Bajay, M. M., Pinheiro, J. P., Batista, C. E. A., Nóbrega, M. B. M. e Zucchi, M. I. (2009). Development and characterization of microsatellite markers for castor (*Ricinus communis* L.), an important oleaginous species for biodiesel production. Conservation Genetics Resources, 1, 237-239. <http://dx.doi.org/10.1007/s12686-009-9058-z>.
- Bespalhok, F. J. C., Guerra, E. P. e Oliveira, R. (1999) Introdução ao melhoramento de plantas. In F. J. C. Bespilhok, E. P. Guerra e R. Oliveira. Melhoramento de plantas (p. 1-9). Curitiba: Editora da UFP.
- Borém, A. e Miranda, G. V. (2009). Melhoramento de Palntas. Viçosa: Editora da UFV.
- Botstein, D., White, R. L., Skolnick, M. e Davis, R. W. (1980). Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. The American Journal of Human Genetics, 32, 314-331.
- Creste S., Tulmann, Neto A. e Figueira, A. (2001). Detection of single sequence repeat polymorphisms in denaturing polyacrylamide sequencing gels by silver staining. Plant Molecular Biology Reporter, 19, 299-306. <http://dx.doi.org/10.1007/BF02772828>.
- Cruz, C. D. e Carneiro, P. C. S. (2003). Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético. Viçosa: Editora da UFV.
- Doyle, J. J. e Doyle, J. L. (1990). Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus, 12, 13-15.
- Freitas, J. B., Pereira, A. W. R. e Menezes, E. R. (2010). Cultivo da mamona para biodiesel no Nordeste do Brasil é viável ou não? In Anais do VII SEGeT – Simpósio de Excelência em Gestão e Tecnologia. Resende, Brasil.
- Litt M., Hauge X. e Sharma V. (1993). Shadow bands seen when typing polymorphic dinucleotide repeats: some causes and cures. BioTechniques, 15, 280-284.
- Liu, K. e Muse, S. V. (2005). PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis. Bioinformatics, 21, 2128-2129. <http://dx.doi.org/10.1093/bioinformatics/bti282>.
- Maia, M. C., Assis, G. M. L. e Rocha, M. M. (2008). O fenômeno da endogamia em plantas. Rio Branco: Agrosoft Brasil.
- Mendes, A. N. G., Bueno, L. C. S. e Carvalho, S. P. (2006). Melhoramento genético de plantas — princípios e procedimentos. 2. ed. Lavras: Editora UFLA.
- Nei, M. e Li, W. H. (1973). Linkage disequilibrium in subdivided populations. Genetics, 75, 213-219.
- Pranavi, B., Sitaram, G., Yamini, K. N. e Dinesh, K. V. (2011). Development of EST-SSR markers in castor bean (*Ricinus communis* L.) and their utilization for genetic purity testing of hybrids. Genome, 54, 684-691. <http://dx.doi.org/10.1139/G11-033>.
- Qiu, L., Yang, C., Tian, B., Yang J. e Liu A. (2010). Exploiting EST databases for the development and characterization of EST-SSR markers in castor bean (*Ricinus communis* L.). BMC Plant Biology, 10, 278. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2229-10-278>.
- Sneath, P. H. A. e Sokal, R. R. (1973). Numerical taxonomy — the principles and practice of numerical classification. San Francisco: W. H. Freeman.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M. e Kumar, S. (2011). MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. Molecular Biology and Evolution, 28, 2731-2739. <http://dx.doi.org/10.1093/molbev/msr121>.
- Távora, F. J. A. (1982). A cultura da mamona. Fortaleza: EPACE.
- Vencovsky, R., Pereira, M.B., Crisóstomo, J.R. e Ferreira, M.A.J. (2001). Genética e melhoramento de populações mistas. In L.L. Nass, A. C. C. Valois, I. S. Melo e Valadaresinglis, M.C. Recursos genéticos e melhoramento de plantas (p. 231-281). Rondonópolis: Fundação MT.