

# COMPARAÇÃO ENTRE MEDIDAS DE DISTÂNCIA GENEALÓGICA, MORFOLÓGICA E MOLECULAR EM AVEIA EM EXPERIMENTOS COM E SEM A APLICAÇÃO DE FUNGICIDA <sup>(1)</sup>

EDUARDO ALANO VIEIRA <sup>(2)</sup>; FERNANDO IRAJÁ FÉLIX DE CARVALHO <sup>(3)</sup>; ANTÔNIO COSTA DE OLIVEIRA <sup>(3)</sup>; GIOVANI BENIN <sup>(2)</sup>; PAULO DEJALMA ZIMMER <sup>(3)</sup>; JOSÉ ANTÔNIO GONZALEZ DA SILVA <sup>(2)</sup>; ANDREZA FIGUEIROLA MARTINS <sup>(2)</sup>; IVANDRO BERTAN <sup>(4)</sup>; GIOVANI OLEGÁRIO DA SILVA <sup>(4)</sup>; DOUGLAS ANDRÉ MALLMAN SCHMIDT <sup>(5)</sup>

## RESUMO

A estimativa da divergência genética entre cultivares pode ser útil em um programa de melhoramento para o direcionamento de hibridações e o conhecimento do germoplasma disponível. O objetivo do trabalho foi estimar a dissimilaridade genética entre genótipos de aveia (*Avena sativa*), por meio de marcadores AFLP e do coeficiente de parentesco, e correlacionar essas estimativas entre si e com a estimativa da dissimilaridade genética a partir de caracteres agronômicos em experimentos com e sem a aplicação de fungicida. Onze cultivares de aveia foram utilizadas na estimativa da distância genética a partir de marcadores AFLP. Desses 11 genótipos, nove foram avaliados no campo em experimento com e sem fungicida, para a estimativa da divergência genética a partir de caracteres morfológicos. Para a estimativa dos coeficientes de parentesco foram utilizados oito, dentre nove genótipos coincidentes entre as avaliações dos caracteres agronômicos e molecular, que possuem genealogia conhecida. Posteriormente, efetuou-se a comparação entre as matrizes por meio da estimativa da correlação entre elas. Dentre as medidas de dissimilaridade avaliadas, as distâncias estimadas com base na utilização de dados moleculares e a técnica de coeficiente de parentesco foram as que evidenciaram a maior correlação (0,45), sendo significativa, porém não elevada. A segunda maior correlação observada ocorreu entre as distâncias fenotípicas em experimentos com e sem a aplicação de fungicida (0,44); não se observaram correlações significativas em todas as demais medidas de divergência. Dessa forma, fica evidente a presença de elevada variabilidade genética entre os genótipos estudados e a necessidade da utilização conjunta das três técnicas para a obtenção de uma estimativa mais fiel da divergência genética.

**Palavras-chave:** aveia-branca, divergência genética, AFLP, coeficiente de parentesco, distância fenotípica.

## ABSTRACT

### COMPARISON AMONG PEDIGREE, MORPHOLOGICAL AND MOLECULAR DISTANCE MEASURES IN OATS (*AVENA SATIVA*) IN EXPERIMENTS WITH AND WITHOUT FUNGICIDE

Estimates of genetic dissimilarity between cultivars can be useful in a breeding program for directing crosses and evaluating the available germplasm. The objective of this work was to estimate the genetic dissimilarity between oat genotypes through AFLP markers and inbreeding coefficient and to intercorrelate these estimate with each other and with an estimate based on agronomical traits in

---

(1) Recebido para publicação em 15 de junho e aceito em 8 de novembro de 2004.

(2) Doutorando do Curso de Pós-Graduação em Agronomia (Fitomelhoramento), Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas (FAEM/UFPel).

(3) Departamento de Fitotecnia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas (FAEM/UFPel). Caixa Postal 354, 96010-900 Pelotas (RS). E-mail: carvalho@ufpel.tche.br.

(4) Mestrando do Curso de Pós-Graduação em Agronomia (Fitomelhoramento), Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas (FAEM/UFPel).

(5) Graduando em Agronomia da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas (FAEM/UFPel).

experiments with and without fungicide application. Eleven oat cultivars were used to estimate the molecular genetic distance, from which nine were evaluated in the field to obtain the morphological estimates. For the estimates of inbreeding coefficients, eight genotypes had known pedigree and were considered for the analysis. A comparison of the matrices was obtained through a correlation analysis. Among the dissimilarity measures evaluated, the estimated distances based on molecular data and the inbreeding coefficient, were those evidencing the highest correlation (0.45). The second highest correlation was obtained between the morphological distances in experiments with and without fungicide application (0.44), no other correlation obtained was significant. Then, it is evident the presence of high genetic variability among the studied genotypes and the necessity of all three techniques to be used in a joined manner for obtaining a more precise estimate of genetic dissimilarity.

**Key-words:** white-oat, genetic dissimilarity, AFLP, inbreeding coefficient, phenotypical distances.

## 1. INTRODUÇÃO

Em um programa de melhoramento genético, é de fundamental importância que o melhorista conheça profundamente o germoplasma disponível, em termos de desempenho agrônomico por si só, capacidade de combinação e dissimilaridade genética. A estimativa do desempenho por si só dos genótipos, normalmente, é a medida de mais fácil aferição em programas de melhoramento. Entretanto, o direcionamento de combinações híbridas com base apenas no comportamento médio dos caracteres de importância agrônômica pode ocasionar dificuldade para obter populações segregantes geneticamente variáveis.

A avaliação da capacidade de combinação dos genitores (cruzamentos dialélicos), dependendo da espécie estudada, pode ser alternativa inviável. Em espécies autógamas, tal como a aveia, a limitação em realizar experimentos dialélicos decorre da dificuldade de efetuar hibridações e da necessidade de avaliar grande número de genitores. Dessa forma, a estimativa da dissimilaridade genética cresce em importância, pois quando combinada com o conhecimento do comportamento por si só dos genitores pode ser uma alternativa a realização de cruzamentos dialélicos, na indicação de constituições genéticas com alta capacidade de combinação. Tal expectativa decorre do fato de que a heterose e a capacidade específica de combinação entre dois genitores dependem da existência de dominância no controle do caráter e da divergência genética entre os genótipos (FALCONER e MACKAY, 1996).

Dentre as ferramentas utilizadas na estimativa da dissimilaridade genética entre um conjunto de genótipos, destacam-se a utilização de caracteres agrônômicos (fenotípicos), dados moleculares e coeficiente de parentesco.

A utilização de marcadores moleculares na quantificação da divergência genética vem crescendo nos últimos anos, uma vez que se constituem em

excelente ferramenta para a obtenção de informações genéticas contidas no genoma de um organismo. Dentre as técnicas de marcadores moleculares, a de AFLP se destaca pelo número de marcadores analisados em um único gel (capacidade multiplex), grande poder de detecção de variabilidade genética e maior robustez do ensaio (Vos et al., 1995). Em relação aos caracteres fenotípicos, os marcadores moleculares apresentam a vantagem de não sofrerem influência do ambiente, porém apresentam a desvantagem de acessarem o genoma como um todo, não somente as regiões responsáveis pela manifestação dos caracteres de interesse.

A adoção do coeficiente de parentesco como uma medida de dissimilaridade talvez seja a alternativa mais fácil e barata para estimar a dissimilaridade genética entre um grupo de genótipos, desde que existam informações referentes a sua genealogia. O coeficiente de parentesco entre dois genótipos é a probabilidade de que um alelo tomado ao acaso de um loco tomado ao acaso em um determinado genótipo, seja idêntico por descendência a um alelo tomado ao acaso do mesmo loco em outro genótipo. No entanto, o grande entrave para a utilização dessa técnica, em grande escala, é o escasso conhecimento existente a respeito da genealogia das constituições genéticas (SHUT e STAN, 1997; PINZÓN-ALMANZA, 2003), em especial, da aveia.

Caracteres fenotípicos, em associação com as técnicas multivariadas, vêm sendo empregados na quantificação da dissimilaridade genética de cultivares brasileiras de aveia (KUREK, et al., 2002; BENIN et al., 2003a,b; MARCHIORO, et al., 2003). Nota-se que o efeito de ambiente é altamente dependente do caráter e do organismo estudado e afeta de forma intensa a precisão de parâmetros genéticos quantitativos, sendo a principal fonte de erro que reduz a precisão das estimativas de parâmetros genéticos quantitativos. Em relação às distâncias genéticas, observou-se que: a) o fator fungicida exerce forte influência nas estimativas de distância genética entre cultivares de aveia

(MARCHIORO et al., 2003); b) os ambientes favoráveis ao desenvolvimento da aveia distanciam mais os genótipos em relação aos ambientes desfavoráveis, nas condições com ou sem a aplicação de fungicida (BENIN et al., 2003a). Entretanto, estudos para avaliar a utilização simultânea de marcadores AFLP, coeficiente de parentesco e dados agromorfológicos para o estabelecimento do grau de relacionamento entre genótipos, bem como o grau de associação entre esses métodos, ainda não foram desenvolvidos, em volume suficiente, para esse mesmo grupo de genótipos.

Desse modo, o objetivo do presente trabalho foi estimar a dissimilaridade genética entre genótipos brasileiros de aveia (*Avena sativa*), por meio do emprego de marcadores AFLP e do coeficiente de parentesco, e correlacionar essas estimativas entre si e com a estimativa da dissimilaridade genética com base em caracteres agrônômicos em experimentos com e sem a aplicação de fungicida.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

As 11 cultivares de aveia utilizadas no presente trabalho, bem como suas respectivas genealogias, constam na Tabela 1. As genealogias descritas seguem o seguinte critério para a simbologia dos cruzamentos: foram utilizados os sinais /, //, /3/, ..., /X/ indicando a ordem em que os cruzamentos foram realizados; os retrocruzamentos estão simbolizados com um asterisco (\*) e o número indica a dose do genitor recorrente. /: indica o primeiro cruzamento realizado; //: o segundo e ... /x/: o x-ésimo cruzamento efetuado. Esse método é semelhante ao proposto por PURDY et al. (1968).

O DNA utilizado nas análises de AFLP foi extraído de acordo com o protocolo descrito por SAGHAI-MAROOF et al. (1984). A análise de marcadores AFLP foi realizada de acordo com o protocolo fornecido pelo fabricante (AFLP Analysis System I, Gibco/BRL). Foram empregadas sete combinações de iniciadores (C1: E-ACG/M-CAC; C2: E-ACA/M-CTA; C3: E-ACG/M-CTA; C4: E-ACA/M-CAC; C5: E-AGC/M-CTC; C6: E-ACC/M-CAG; C7: E-ACC/M-CAA, em que C*i*: i-ésima combinação de iniciadores; E: *EcoRI* e M: *MseI*). Para visualizar os fragmentos amplificados e separados eletroforéticamente em gel desnaturante de poli(acrilamida (6%), foi utilizado o protocolo de coloração à base de nitrato de prata, descrito por CRESTE et al. (2001).

Os dados de presença/ausência de bandas obtidos na análise de AFLP das 11 cultivares analisadas permitiram o cálculo da similaridade genética entre todos os pares de genótipos, com o auxílio do programa computacional NTSYS pc 2.1 (ROHLF, 2000). Para o cálculo da similaridade genética ( $S_{ij}$ ), foi utilizado o coeficiente de Dice (DICE, 1945), conforme a equação:

$$S_{ij} = \frac{2N_{ij}}{N_i + N_j}$$

Em que:  $N_{ij}$  = número de bandas presentes em ambos os genótipos  $i$  e  $j$ ;  $N_i$  = o número de bandas presentes no genótipo  $i$ , e  $N_j$  = o número de bandas presentes no genótipo  $j$ . A similaridade genética foi transformada em dissimilaridade genética segundo a equação:  $D_{ij} = 1 - S_{ij}$ , em que:  $D_{ij}$  = distância genética entre cada par de  $i$  e  $j$  genitores;  $S_{ij}$  = similaridade genética entre cada par de  $i$  e  $j$  genitores.

**Tabela 1.** Genótipos de aveia avaliados com as respectivas genealogias. FAEM/UFPEL, Pelotas, 2004

Genótipo	Genealogia*
UPF 7	TCFP / X2503-1
UPF 14	X1205 / X2286-2
UPF 16	Coronado / X1799-2 // Sel 11 Passo Fundo /3/ X3530-40
UPF 17	Coronado / X1799-2 // Sel 11 Passo Fundo /3/ X3530-40
UPF 18	UPF 85S0238 / UPF 12
UFRGS 7	X1205 / FLA 1086
UFRGS 14	Pendek / ME 1563 // 2* Cor /3/ 3* Ctz /4/ 895165
UFRGS 17	Pendek / ME 1563 // 2* Cor /3/ 3* Ctz /4/ 76-29 / 76-23 // 75-28 /3/ CI833
UFRGS 18	Pendek / ME 1563 // 2* Cor /3/ 3* Ctz /4/ Cocker 81C42
URPEL 15	Desconhecida
OR 2	Desconhecida

\* - simbologia semelhante à proposta por PURDY et al. (1968).

Com base na matriz de dissimilaridade gerada, foi elaborado um dendrograma pelo método de agrupamento UPGMA. Para verificar o ajuste entre a matriz de dissimilaridade e o dendrograma obtido, calculou-se o coeficiente de correlação cofenética ( $r$ ), segundo SOKAL e ROHLF (1962). Como a estabilidade estatística das estimativas de similaridade genética pode ser influenciada pela amostragem (EFRON e TIBSHIRANI, 1993), a estabilidade dos agrupamentos foi computada pela análise de *Bootstrap* com 1.000 replicações utilizando o programa computacional Winboot (YAP e NELSON, 1996); para esse cálculo foi utilizada a matriz de similaridade.

O complemento da matriz de similaridade estimada ( $Dg = 1 - Sg$ ) também foi submetida à análise de escala multidimensional (MDS), para projeção das distâncias em um plano bidimensional. A eficiência da projeção das distâncias no plano bidimensional foi estimada com base na correlação entre as distâncias originais ( $D_{ij}$ ) e as representadas nos gráficos ( $Doij$ ). Estimou-se, também, o nível de estresse ( $S$ ), que mede o ajuste entre as distâncias na configuração bidimensional ( $Doij$ ) e a distância original ( $D_{ij}$ ), conforme a equação:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i < j} \sum_{k < l} (Doij - Dgij)^2}{\sum_{i < j} \sum_{k < l} D^2_{oij}}}$$

Essas análises foram realizadas com o auxílio do programa computacional NTSYS pc 2.1 (ROHLF, 2000).

A distância fenotípica utilizada foi a de Mahalanobis ( $D^2$ ), estimada por MARCHIORO et al. (2003), obtida de médias padronizadas dos caracteres: rendimento de grãos desaristados (RGD), massa de mil grãos (MMG), peso do hectolitro (PH), estatura de planta (EP) e dias da emergência à floração (DEF), em experimentos desenvolvidos em blocos casualizados nas condições de aplicação de fungicida e de ausência de aplicação. MARCHIORO et al. (2003) avaliaram 18 cultivares de aveia, das quais, nove coincidiram com as 11 caracterizadas molecularmente no presente estudo. Dessa forma, somente foram empregadas as distâncias fenotípicas entre essas nove cultivares (coincidentes) nas análises efetuadas no presente trabalho.

Para a estimativa dos coeficientes de parentesco ( $f$ ), foram utilizadas as genealogias apresentadas na Tabela 1. Nessa etapa, foram estimados os coeficientes de parentesco entre oito genótipos dentre os nove coincidentes entre as avaliações a campo (fenotípica) e molecular (AFLP), uma vez que dentre os nove genótipos coincidentes (fenotípica-AFLP) um não possui genealogia

conhecida. Desse modo, foram estimados os coeficientes de parentesco (Malécot) entre oito cultivares combinados dois a dois, totalizando  $(8 \times 7)/2 = 28$  cálculos. Os coeficientes de parentesco foram obtidos com o uso do programa RXY.EXE: Sistema para cálculo de parentesco de Malécot (FERREIRA e ZAMBALDE, 1997).

Para a estimativa da correlação (associação) entre as matrizes de dissimilaridade genética obtidas de dados moleculares ( $MD_{AFLP}$ ), coeficientes de parentesco ( $Mf$ ) e dados fenotípicos ( $MD^2_{CF}$ ) com e sem a aplicação de fungicida ( $MD^2_{SF}$ ), foi empregado o teste de comparação de matrizes de Mantel, com 1.000 permutações (MANTEL, 1967), utilizando o programa computacional NTSYS pc 2.1 (ROHLF, 2000).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As sete combinações de iniciadores utilizadas geraram o total de 213 bandas, das quais 164 (77%) foram polimórficas entre os onze genótipos estudados. Em ordem, nas combinações C3, C4 e C1, observou-se o maior número de marcadores polimórficos com 53, 31 e 26 respectivamente. Nas combinações C6, C2, C5 e C7 verificaram 17, 16, 16 e 5 bandas polimórficas respectivamente. Dez, nove, seis, seis e cinco bandas monomórficas foram observadas para as combinações C6, C3, C4, C5 e C1 respectivamente. O baixo número de bandas monomórficas evidencia o grande potencial da técnica de AFLP em detectar a variabilidade genética presente nessas cultivares de aveia. Após a análise de 96 cultivares canadenses de aveia, com 10 combinações de iniciadores de AFLP, FU et al. (2004) obtiveram um nível de polimorfismo de 42,8%, valor inferior ao detectado no presente trabalho (77%), sugerindo que as cultivares brasileiras de aveia apresentam uma variabilidade genética superior à das canadenses. Provavelmente, o maior polimorfismo apresentado pelas cultivares brasileiras tenha por base o fato de a aveia ser cultivada no Brasil em ampla área (desde Minas Gerais até o sul do Rio Grande do Sul), o que exige a apresentação de cultivares com ampla adaptação e, conseqüentemente, com base genética mais ampla.

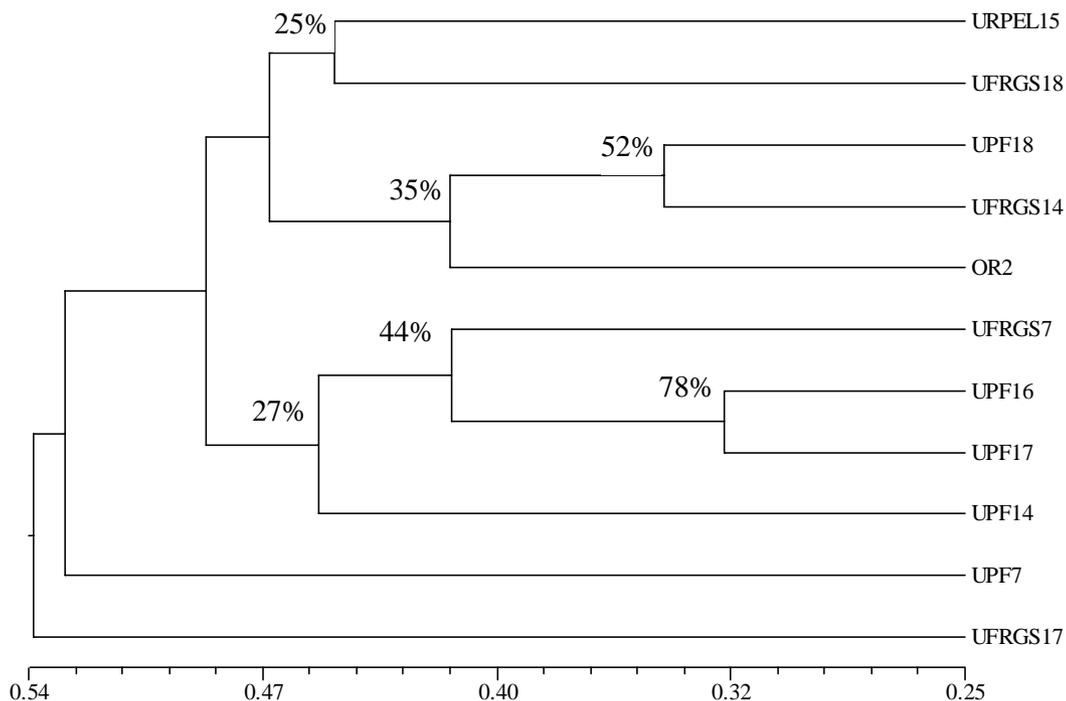
Entre as técnicas de representações gráficas empregadas, na análise em escala multidimensional (MDS), observou-se o melhor ajuste com a matriz original de distâncias ( $r = 0,83$ ), e no dendrograma, o coeficiente de correlação cofenético ( $r = 0,74$ ; Figuras 1 e 2). Entretanto, mesmo tendo sido a MDS a técnica de maior aceitabilidade, é necessário ressaltar que o nível de estresse ( $S$ ) provocado pelo agrupamento foi elevado 17%, valor que está acima do grau máximo

de aceitabilidade pela técnica que é de 10% (KRUSKAL, 1964). Mesmo que tenha evidenciado ajuste menor em relação às distâncias apresentadas na matriz original de distâncias, a apresentação do dendrograma é importante, uma vez que esta permite uma exposição de forma simplificada dos valores de *bootstrapping*. Já a MDS é importante por possibilitar a visualização das distâncias entre todos os pares de genótipos. Dessa maneira, fica evidente a importância da utilização de ambas as formas de representação gráfica das distâncias.

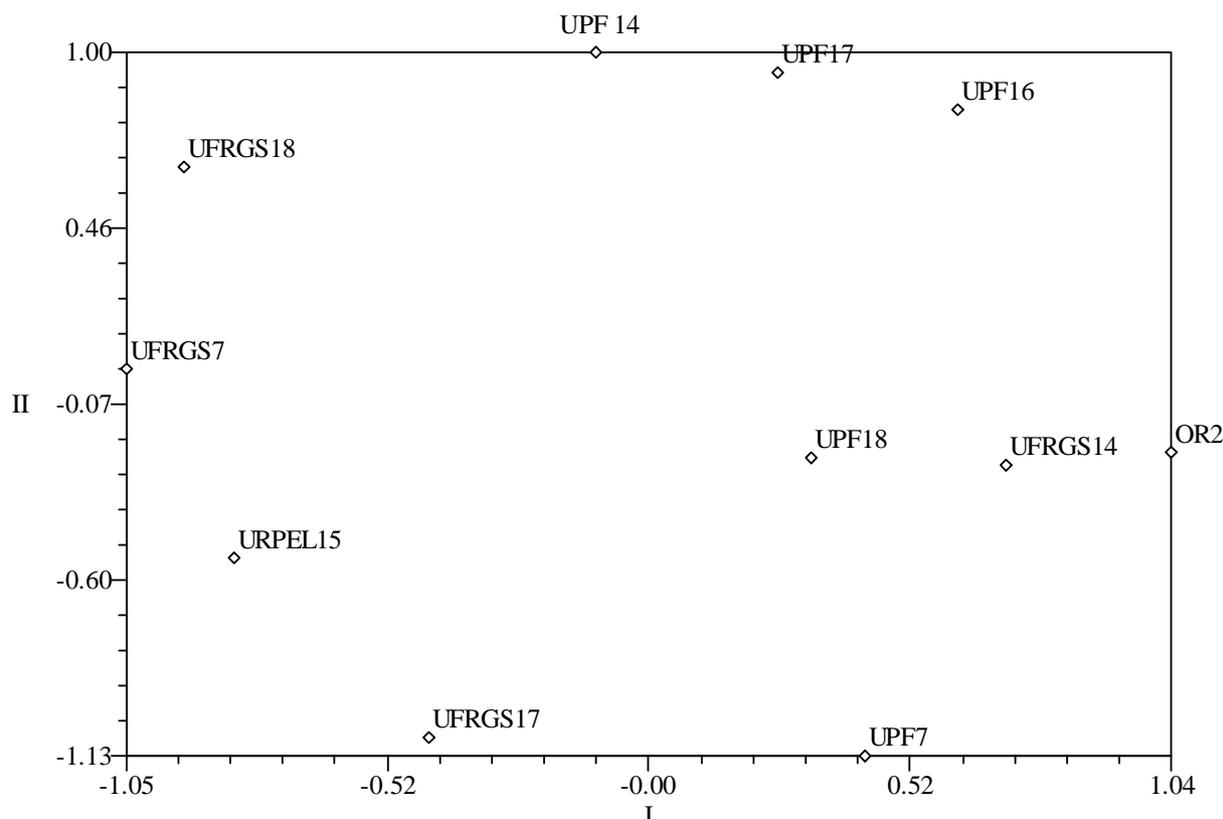
Dentre os 11 genótipos caracterizados molecularmente, observaram-se em UPF 16 e UPF 17 menor dissimilaridade e também o maior coeficiente de parentesco ( $f = 0,5$ ), constituindo-se o grupo mais consistente entre todos os grupos formados, uma vez que agruparam juntos em 78% dos ciclos de *bootstrapping* realizados (Figuras 1 e 2 e Tabela 2). Esse resultado está de acordo com o esperado, uma vez que tais cultivares são oriundas de um mesmo cruzamento (irmãos germanos; Tabela 1). Entretanto, quando a distância genética entre as cultivares UPF 16 e UPF 17 foi estimada com base em caracteres fenotípicos, associados a técnicas multivariadas, MARCHIORO et al.

(2003) não detectaram diferença entre eles quando o experimento foi realizado sem a aplicação de fungicida; com a aplicação de fungicida, os genótipos expressaram elevada dissimilaridade.

Avaliando genótipos de aveia em experimentos com e sem a aplicação de fungicida em ambientes estratificados (favoráveis e desfavoráveis), BENIN et al. (2003a) observaram que as cultivares UPF 16 e UPF 17 agruparam juntas apenas na condição de ambiente desfavorável com a aplicação de fungicida. Dentre os quatro agrupamentos estabelecidos por esses autores, observou-se genealogia similar nos genótipos OR 3 e OR 4, quando agruparam juntos na condição de ambientes favoráveis e desfavoráveis com a aplicação de fungicida e na condição de ambiente desfavorável sem a aplicação de fungicida. Os resultados reportados acima evidenciam que o ambiente exerce forte influência sobre o desempenho das constituições genéticas (para os caracteres fenotípicos) nos diferentes ambientes, anos de realização dos experimentos e tratos culturais (com e sem a aplicação de fungicida), o que contribuiu para a geração de resultados extremamente variáveis devido à grande interação entre genótipo e ambiente.



**Figura 1.** Dendrograma de 11 genótipos de aveia obtido com a análise de AFLP, utilizando o índice de similaridade de DICE (1945) e o método de agrupamento UPGMA. Os valores encontrados nos grupos indicam o valor percentual de vezes que os genótipos agruparam juntos em 1.000 ciclos de análise de *bootstrapping* utilizando o programa Winboot. O valor do coeficiente de correlação cofenética ( $r$ ) é de 0,74. FAEM/UFPEL, Pelotas, 2004.



**Figura 2.** Projeção em espaço bidimensional da escala multidimensional (MDS) de 11 genótipos de aveia, obtido com base em marcadores AFLP, utilizando o complemento do índice de similaridade de DICE (1945). O valor da correlação entre as distâncias representadas no gráfico bidimensional e as distâncias originais ( $r$ ) é de 0,83 e o coeficiente de estresse ( $S$ ) = 0,17. FAEM/UFPEL, Pelotas, 2004.

As cultivares UFRGS 14 e UFRGS 17, que são meio irmãos (Tabela 1), não agruparam juntas segundo a dissimilaridade estimada a partir de marcadores AFLP (Figuras 1 e 2); os genótipos UPF 18 e UFRGS 14, que não são aparentados (segundo a genealogia), formaram o segundo grupo menos dissimilar e apresentaram o segundo maior valor de *bootstrapping* (52%) dentre as cultivares estudadas. Esse fato evidencia que nem sempre os dados da genealogia estão correlacionados com os resultados de dissimilaridade estimados com base em marcadores moleculares.

Dentre as medidas de dissimilaridade genética avaliadas, as distâncias estimadas a partir da utilização de dados moleculares ( $D_{AFLP}$ ) e a técnica de coeficiente de parentesco ( $f$ ), foram as que evidenciaram a maior correlação ( $r = -0,45$ ; Tabela 2). O sinal negativo dessa associação se deve ao fato de o coeficiente de parentesco estimar a similaridade entre as cultivares. Tal correlação é significativa porém não elevada e está de acordo com resultados reportados para a cultura do trigo (BARBOSA-NETO et al., 1996; BOHN, et al., 1999) e em cevada (SHUT et al., 1997). Essa correlação mediana pode ter por base a

não-accurácia nas estimativas do  $f$  e o reduzido número de genótipos utilizados no presente trabalho. Uma vez que a acurácia da estimativa do  $f$  depende principalmente de um conhecimento profundo da genealogia dos genótipos, o que não é disponível para a cultura da aveia, as estimativas dos coeficientes de parentescos ficam subestimadas.

A segunda maior correlação observada ocorreu entre as distâncias fenotípicas em experimentos com e sem a aplicação de fungicida  $D_{CF}^2$  X  $D_{SF}^2$ ,  $r = 0,44$  (Tabela 3). Tal resultado não era esperado, pois sabe-se que a aplicação de fungicida tende a diminuir as discrepâncias entre os genótipos de aveia, em função de diminuir o efeito danoso causado ao desempenho das cultivares pela ferrugem da folha da aveia (BENIN et al., 2003a). Esse fato sugere que, provavelmente, devido à baixa incidência da ferrugem da folha da aveia no ano de realização do experimento, os anos de obtenção dos dados não tenham sido favoráveis a uma resposta diferenciada das plantas na ausência de fungicida. Nenhuma das demais medidas de dissimilaridade empregadas apresentaram correlações significativas (Tabela 3).

**Tabela 2.** Estimativa da distância genética baseada em AFLP ( $D_{AFLP}$ ), em dados fenotípicos com a aplicação de fungicida ( $D_{CF}^2$ ), em dados fenotípicos sem a aplicação de fungicida ( $D_{SF}^2$ ), e no coeficiente de parentesco (f) entre os nove genótipos de aveia coincidentes entre as avaliações fenotípicas e moleculares (FAEM/UFPEL, Pelotas, 2004)

Cultivar		$D_{AFLP}$	$D_{CF}^2$ *	$D_{SF}^2$ *	f
i	j				
UFRGS7	UFRGS17	0,59	9,14	46,20	0
	UPF18	0,45	21,36	78,69	0
	UPF7	0,58	9,06	56,03	0
	UPF16	0,41	6,29	52,18	0
	UPF17	0,41	14,56	52,18	0
	UFRGS14	0,51	11,09	56,04	0
	UFRGS18	0,59	11,17	41,14	0
	OR2	0,43	14,83	15,49	x
UFRGS17	UPF18	0,51	6,51	6,73	0
	UPF7	0,57	6,94	12,27	0
	UPF16	0,53	9,93	80,76	0
	UPF17	0,59	20,45	80,76	0
	UFRGS14	0,49	8,41	30,11	0,25
	UFRGS18	0,50	17,63	58,69	0,25
		OR2	0,51	19,20	37,81
UPF18	UPF7	0,56	14,47	8,97	0
	UPF16	0,50	22,21	109,95	0
	UPF17	0,46	30,90	109,95	0
	UFRGS14	0,34	21,71	42,57	0
	UFRGS18	0,45	29,05	69,96	0
		OR2	0,45	26,47	66,10
UPF7	UPF16	0,45	9,29	91,14	0
	UPF17	0,53	20,27	91,14	0
	UFRGS14	0,51	14,53	29,71	0
	UFRGS18	0,50	6,74	44,36	0
		OR2	0,51	6,40	49,02
UPF16	UPF17	0,32	13,43	0	0,50
	UFRGS14	0,45	3,98	36,87	0
	UFRGS18	0,48	4,16	24,89	0
		OR2	0,44	7,42	99,43
UPF17	UFRGS14	0,49	8,12	36,87	0
	UFRGS18	0,54	15,34	24,89	0
		OR2	0,46	26,13	99,43
UFRGS14	UFRGS18	0,40	11,76	38,57	0,25
		OR2	0,36	18,70	71,57
UFRGS18	OR2	0,54	1,91	74,84	x

\* Resultados obtidos por MARCHIORO et al. (2003).

**Tabela 3.** Correlações entre as estimativas da distância genética baseada em AFLP ( $D_{AFLP}$ ), em dados fenotípicos com a aplicação de fungicida ( $D_{CF}^2$ ), em dados fenotípicos sem a aplicação de fungicida ( $D_{SF}^2$ ), e no coeficiente de parentesco (f) entre genótipos de aveia (FAEM/UFPEL, Pelotas, 2004)

	$D_{AFLP}$	$D_{CF}^2$ *	$D_{SF}^2$ *	f
$D_{AFLP}$	1	-0,13	0,04	-0,45 <sup>®</sup>
$D_{CF}^2$ *	-	1	0,44 <sup>®</sup>	-0,15
$D_{SF}^2$ *	-	-	1	0,06
f	-	-	-	1

\* Resultados obtidos por MARCHIORO et al. (2003);

® Correlação significativa a 1% de probabilidade de erro.

Algumas considerações, também, podem ser feitas em relação à ausência de associação entre os coeficientes de parentesco e as distâncias fenotípicas. Uma delas é que, mesmo sendo oriundas de um mesmo cruzamento, ou seja, irmãos germanos, duas cultivares podem apresentar caracteres fenotípicos muito divergentes, principalmente se os genitores utilizados no cruzamento forem bastante dissimilares para os caracteres que sofrem seleção artificial (que são os normalmente avaliados para a estimativa da dissimilaridade genética). Eventualmente essa diferença pode ser superior até a de outras linhagens cujo coeficiente de parentesco é nulo (REIS et al., 1999). Além disso, outra razão para essa ausência de correlação pode ser o baixo número de caracteres avaliados, o que não permitiu a ampla cobertura do genoma, aliado ao conhecimento reduzido com relação à genealogia das cultivares estudadas.

Em relação à baixa associação detectada entre as distâncias estimadas em dados moleculares e fenotípicos, os resultados obtidos concordam com aqueles encontrados em aveia por MOSER e LEE (1994), que observaram correlação de -0,05 entre a distância estimada a partir de marcadores AFLP e a fenotípica. SOUZA e SORRELLS (1991) sugeriram que essa baixa correlação poderia ter por base a parcial e insuficiente representação do genoma quando são utilizados dados morfológicos. Essa baixa correlação também pode ser explicada pela inexistência de associação entre os locos que controlam os caracteres morfológicos estudados e as bandas avaliadas, uma vez que a correlação será tão maior quanto maior for esta associação.

Em um estudo com feijoeiros, DUARTE et al. (1999) reportaram uma correlação de 0,89 entre as distâncias genéticas obtidas de caracteres fenotípicos e de RAPD, mostrando que nesse caso específico existia forte associação multiloco entre os marcadores moleculares e os caracteres agrônômicos estudados.

Outro fator que dificulta a existência de associação entre a dissimilaridade genética e a morfológica é o fato de grande parte da variação detectada pelos marcadores moleculares ser do tipo não adaptativa, e portanto, não sujeita à seleção, ao contrário dos caracteres fenotípicos que são sujeitos tanto à seleção natural quanto artificial, além da grande influência que o ambiente exerce na manifestação destes caracteres. Por meio de estudos anteriores, comparando a distância genética estimada com base em caracteres fenotípicos, com a de marcadores moleculares, foram observadas que pequenas distâncias estimadas de marcadores moleculares estavam sistematicamente associadas com as pequenas distâncias fenotípicas; por outro lado, grandes distâncias moleculares estavam associadas tanto com grandes como pequenas distâncias fenotípicas (DILLMANN et al., 1997; LEFEBVRE et al., 2001). Este cenário não se confirmou para os genótipos da aveia estudados neste trabalho (Tabela 2).

Esses resultados sugerem que para obter uma estimativa mais segura da divergência genética entre cultivares de aveia, é necessário que sejam considerados conjuntamente os três coeficientes de dissimilaridade avaliados no presente trabalho.

#### 4. CONCLUSÕES

1. Existe elevada dissimilaridade genética entre os genótipos estudados.
2. Dentre as medidas de dissimilaridade avaliadas, as distâncias estimadas com base na utilização de dados moleculares e a técnica de coeficiente de parentesco foram as que evidenciaram a maior correlação, porém não foi elevada;
3. A segunda maior correlação ocorreu entre as distâncias fenotípicas em experimentos com e sem a aplicação de fungicida;

4. Para obter a estimativa mais segura da divergência genética entre as cultivares, devem ser empregadas as três técnicas conjuntamente.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a FAPERGS, CNPq e CAPES pelos auxílios recebidos e bolsas de pós-graduação e produtividade em pesquisa.

## REFERÊNCIAS

- BARBOSA-NETO, J.F.; SORRELLS, M.E.; CISAR, G. Prediction of heterosis in wheat using coefficient of parentage and RFLP-based estimates of genetic relationship. **Genome**, Montreal, v.39, n.6, p.1142-1149, 1996.
- BENIN, G.; CARVALHO, F.I.F.; OLIVEIRA, A.C.; ASSMANN, I.C.; FLOSS, E.L.; LORENCETTI, C.; M, V.S.; SILVA, J.G. Implicações do ambiente sobre o rendimento de grãos em aveia e suas influências sobre estimativas de parâmetros genéticos. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.9, n.3, p.207-214, 2003a.
- BENIN, G.; CARVALHO, F.I.F.; OLIVEIRA, A.C.; MARCHIORO, V.S.; LORENCETTI, C.; KUREK, A.J.; SILVA, J.A.G.; CRUZ, P.J.; HARTWIG, I.; SCHMIDT, D.A.M. Comparações entre medidas de dissimilaridade e estatísticas multivariadas como critérios no direcionamento de hibridações em aveia. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.33, n.4, p.657-662, 2003b.
- BOHN, M.; FRIEDRICH, H.; MELCHINGER, A.E. Genetic similarities among Winter wheat cultivars determined on basis of RFLPs, AFLPs, SSRs and their use for predicting variance. **Crop Science**, Madison, v.39, n.1, p.228-237, 1999.
- CRESTE, S.; TULMANN-NETO, A.; FIGUEIRA, A. Detection of single sequence repeat polymorphism in denaturing polyacrylamide sequencing gels by silver staining. **Plant Molecular Biology Reporter**, Athens, n.4 v.19, p.1-8, 2001.
- DICE, L.R. Measures of the amount of ecological association between species. **Ecology**, Washington, v.26, n.3, p.297-307, 1945.
- DILLMANN, C.; BAR-HEN, A.; GUÉRIN, D.; CHARCOSSET, A.; MURIGNEUX, A. comparison of RFLP and morphological distances between maize *Zea mays* L. inbred lines. Consequences for germplasm protection purposes. **Theoretical and Applied Genetics**, New York v.95, n.1-2, p.92-102, 1997.
- DUARTE, J.M.; SANTOS, J.B. dos.; MELO, L.C. Genetic divergence among common bean cultivars from different races based on RAPD markers. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto v.22, n.2, p.419-426, 1999.
- EFRON, B.; TIBSHIRANI, R.J. **An introduction to the bootstrap**. New York: Chapman and Hall, 1993. 436p.
- FALCONER, D.S.; MACKAY, T.F. **Introduction to quantitative genetics**. 4.ed. Londres: Longman, 1996. 464p.
- FERREIRA, D.F.; ZAMBALDE, A.L. Simplificação das análises de algumas técnicas especiais da experimentação agropecuária no Mapgen e Softwares correlatos. In: Congresso da SBI-Agro WORKSHOP SUPPLY CHAIN MANAGEMENT IN AGRIBUSINESS, 1., 1997, Belo Horizonte. **Anais...** Belo Horizonte: AGROSAFT/ CTOSOFT/ SBI-AGRO, 1997, p.215-291.
- FU, Y.B.; KIBITE, S.; RICHARDS, K.W. Amplified fragment length polymorphism analysis of 96 Canadian oat cultivars released between 1886 and 2001. **Canadian Journal of Plant Science**, Ontario, v.84, n.1, p.23-30, 2004.
- KRUSCAL, J.B. Multidimensional-scaling by optimizing goodness of fit to a non-metric hypothesis. **Psychometrica**, Williamsburg, v.29, n.1, p.1-27, 1964.
- KUREK, A.J.; CARVALHO, F.I.F.; CRUZ, P.J.; LORENCETTI, C.; CARGNIN, A.; SIMIONI, D. Variabilidade em genótipos fixos de aveia branca estimada através de caracteres morfológicos. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.8, n.1, p.13-17, 2002.
- LEFEBVRE, V.; GOFFINET, B.; CHAUVET, J.C.; CAROMEL, B.; SIGNORET, P.; BRAND, R.; PALLOIX, A. Evaluation of genetic distances between pepper inbred lines for cultivar protection purposes: comparison of AFLP, RAPD, and phenotypic data. **Theoretical and Applied Genetics**, New York v.102, n.5, p.741-750, 2001.
- MANTEL, N. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. **Cancer Research**, Chestnut, v.27, n.2, p.209-220, 1967.
- MARCHIORO, V.S.; CARVALHO, F.I.F.; OLIVEIRA, A.C.; CRUZ, P.J.; LORENCETTI, C.; BENIN, G.; SILVA, J.A.G.; SCHMIDT, D.A.M. Dissimilaridade genética entre genótipos de aveia. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.27, n.2, p.285-294, 2003.
- MOSER, H.; LEE, M. RFLP variation of genealogical distance, multivariate distance, heterosis and genetic variation in oats. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v.87, n.8, p.947-956, 1994.
- PINZÓN-ALMANZA, M.I.; KHAIRALLAH, M.; FOX, P.N.; WARBURTON, M.L. Comparison of molecular markers and coefficients of parentage for the analysis of genetic diversity among spring bread wheat accessions. **Euphytica**, Dordrecht, v.130, n.1, p.77-86, 2003.
- PURDY, L.H.; LOEGERING, W.Q.; KONZAK, C.F.; PETERSON, C.J.; ALLAN, R.E. A proposed standard method for illustrating pedigrees of small grains varieties. **Crop Science**, Madison, v.4, n.8, p.405-406, 1968.
- REIS, W.P.; VELLO, N.A.; FERREIRA, D.F.; RAMALHO, M.A.P. Associação entre coeficiente de parentesco e técnicas multivariadas como medidas de dissimilaridade genética de cultivares de trigo. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.23, n.2, p.258-269, 1999.

- ROHLF, F. J. **NTSYS-pc**: numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 2.1. New York: Exeter Software , 2000.
- SAGHAI-MAROOF, M.A.; SOLIMAN, K.M.; JORGENSEN, R.A.; ALLARD, R.W. Ribosomal DNA spacer length polymorphism in barley: Mendelian inheritance, chromosome location and population dynamics. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the U.S.A**, Washington, v.89, n.2, p.1477-1481, 1984.
- SHUT, J.W.; STAM, P. association between relationship measures based on AFLP markers, pedigree data and morphological traits in barley. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v.95, n.7, p.1161-1168, 1997.
- SOKAL, R.R.; ROHLF, F.J. The comparison of dendrograms by objective methods. **Taxon**, Berlin, v.11, n.1, p.30-40, 1962.
- SOUZA, E.; SORRELLS, M.E. Relationships among 70 North American oat germplasms. II. Cluster analysis using qualitative characters. **Crop Science**, Madisson, v.31, n.3, p.605-612, 1991.
- VOS, P.; HOGERS, R.; BLEEKER, M.; REIJANS, M.; VAN DE LEE, T.; HORNES, M.; FRITJERS, A.; POT, J.; PELEMAN, J.; KUIPER, M.; ZABEAU, M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. **Nucleic Acids Research**, Oxford, n.21, v.23, p.4407-4414, 1995.
- YAP, I.V.; NELSON, R.J. **Winboot**: a program for performing bootstrap analysis of binary data to determine the confidence limits of UPGMA-based dendrograms. Manila: IRRI, 1996. 22p.