

ANALISE DA COLEÇÃO ATIVA DE GERMOPLASMA DE ARROZ (*Oryza sativa* L.) DA EMBRAPA CLIMA TEMPERADO BASEADA NA TÉCNICA DE MARCADORES MOLECULARES AFLP

Juliana Severo Castelo Branco¹; Adriana Pires Soares Bresolin¹; Ariano de Magalhães Junior²; Naciele Marini¹; Maurício Marini Kopp¹; Luciano Carlos Maia; Emília Malone¹; Claudete Mistura¹; Renata Juliana Ahlert¹; Fernando Irajá Félix de Carvalho¹; Antonio Costa de Oliveira¹, ¹Centro de Genômica e Fitomelhoramento FAEM/ UFPel, Caixa Postal 354, Cep: 96.001-970 EMBRAPA – Clima Temperado Estação Experimental de Terras Baixas jcbrancov@hotmail.com

O desenvolvimento de novas variedades que satisfaçam as exigências de maior potencial genético para produtividade e qualidade são os principais objetivos dos programas de melhoramento. Desta forma, o sucesso de tal programa depende de um método dinâmico e eficiente para atingir o desejado. Portanto o melhoramento genético de plantas requer três etapas fundamentais para a obtenção de genótipos desejados: presença da variabilidade genética, eficiência na seleção dos genótipos mais promissores e ajuste das melhores constituições genéticas ao ambiente de cultivo (CARVALHO et al. 2003). Dentre os três eixos principais que norteiam o melhoramento vegetal, a presença da variabilidade genética é essencial, pois, é a partir dela que plantas com combinações superiores podem ser obtidas. A identificação dessa variabilidade tem sido objeto de muitos estudos, visto que ao avaliar a expressão de um determinado caráter, muitas vezes a expressão deste vem mascarada pelo efeito do ambiente ou ainda por interações alélicas ou gênicas que tornam o trabalho de seleção do melhorista mais complicado, exigindo em muitos casos investigações que são repetidas por vários anos e locais diferentes no intuito de controlar a ação do ambiente. Modernamente admite-se que o uso de marcadores moleculares, que independem do ambiente na identificação dessa variabilidade genética e diminuir o tempo gasto na identificação dos genótipos portadores dessa variabilidade. A análise da distância genética é uma ferramenta auxiliar de grande importância em programas de melhoramento e um importante elo entre a conservação e a utilização dos recursos genéticos disponíveis. Esta estimativa informa a respeito da organização do germoplasma, aumenta a eficiência da amostragem de genótipos, auxilia na definição de cruzamentos artificiais, na incorporação de genes de germoplasma exótico e até na recomendação de cultivares para determinada região, quando o objetivo é aumentar a base genética dos cultivares. A escolha correta dos genitores empregados no desenvolvimento da população base de um programa de melhoramento pode prever o resultado final da seleção artificial e proporcionar uma melhor alocação dos recursos financeiros despendidos ao longo de todo o processo de ajuste das constituições genéticas a um determinado ambiente (NIENHUIS et al., 1993; BOHN et al., 1999). A seleção de genitores dissimilares gera a perspectiva da obtenção de uma população segregante com ampla variabilidade genética e elevada frequência de segregação transgressiva, uma vez que a heterose e a capacidade específica de combinação entre dois genitores dependem da existência de dominância no controle do caráter e da presença de diferenças genéticas entre os genótipos (FALCONER & MACKAY, 1996). Entretanto, para que tal expectativa seja confirmada, é necessário que os genitores associem média elevada e variabilidade para os caracteres que estão sendo melhorados. Confirmada a expectativa da presença de dissimilaridade, é esperado que indivíduos com médias superiores para o caráter de interesse apresentem genes distintos, sendo possível, através da hibridação artificial, combinar esses genes em uma nova constituição genética, superior a ambos os genitores.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a distância genética (similaridade) dos genótipos pertencente a coleção de base do programa de melhoramento genético da EMBRAPA – Clima Temperado Estação Experimental de Terras Baixas - assumindo como hipótese, a semelhança entre alguns genótipos. O trabalho foi realizado no Laboratório de

Genômica do Centro de Genômica e Fitomelhoramento (CGF) da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, localizado no município do Capão do Leão/RS. Os genótipos utilizados pertencem à coleção do programa de melhoramento de arroz da Embrapa (Tabela 1). O DNA foi extraído a partir de amostras foliares de cada genótipo, por meio do método de extração CTAB. A reação de amplificação AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) (Zabeau, 1993) foi realizada de acordo com protocolo fornecido pelo fabricante (AFLP Analysis System I, Gibco/BRL). Para este estudo foram empregadas cinco combinações de primers: (C1: E-AAG/M-CTT; C2: E-ACT/M-CAA; C3: E-AGG/M-CAC; C4: E-ACA/M-CAT; C5: E-AGG/M-CAT). As reações de digestão, ligação de adaptadores, pré-amplificação e amplificação seletiva foram realizadas em termociclador PT100, conforme recomendado pelo fabricante (AFLP Analysis System I, Gibco/BRL). Para visualizar os fragmentos amplificados e separados eletroforicamente em gel desnaturante de poliacrilamida (6%), foi utilizado o protocolo de coloração, a base de nitrato de prata, descrito por CRESTE et al. (1999). Os dados de presença/ausência de bandas obtidos na análise de AFLP entre os genótipos foram utilizados para a estimativa 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, foi utilizado o coeficiente de similaridade Dice e com base na matriz de similaridade gerada, foi construído um dendrograma pelo método de agrupamento da distância média (UPGMA), por meio do programa computacional NTSYS pc 2.1 (ROHLF, 2000). Para a verificação do ajuste entre a matriz de similaridade e o respectivo dendrograma, foi estimado o coeficiente de correlação cofenética (r).

Com a análise e interpretação dos dados de um total de 176 bandas avaliadas, as 176 (100%) foram polimórficas. As cinco combinações de *primers* utilizadas produziram uma média de 35 bandas, sendo o maior número de bandas verificado para a combinação de *primers* C1: E-AAG/M-CTT que produziu um total de 66 bandas e o menor número para a combinação de *primers* C3: E-AGG/M-CAC com apenas 19 bandas. O dendrograma obtido com as 176 bandas polimórficas geradas utilizando a técnica apresentou uma similaridade média de 31%. O emprego da similaridade média como critério para a separação, propiciou a visualização de 9 grupos distintos (Figura 1), onde: I) BR IRGA 413; II) BRS Firmeza; III) BRS Ligeirinho; IV) Reetz; V) Japonês; VI) Arroz do seco; VII) demais constituições genéticas VII, VIII) Forroupilha, Farroupilha e BRS Bojuru e IX) IAS 12-9 Formosa e BRS Atalanta. O grupo VII pode ser subdividido em dois subgrupos (a e b), dentre os quais foi possível visualizar os acessos mais similares: BR IRGA 410 e BRS IRGA 413. As maiores distâncias foram obtidas, comparando-se o acesso Moti com os demais e o segundo maior distanciamento genético foi entre BRS Firmeza e as outras constituições. Isto indica que estes acessos são candidatos potenciais como fonte de variabilidade no programa de hibridização desta espécie, visando o melhoramento genético. Constatou-se neste trabalho, que não foi possível estruturar os genótipos, em função da sua origem e das análises fenotípicas, já que alguns genótipos semelhantes morfológicamente apresentaram distanciamento genético considerável, como é o caso dos acessos Bojuru e IAS-12-9 Formosa. Isto pode ocorrer devido a detecção de regiões hipervariáveis no genoma e/ou devido aos primers não estarem associados com características de interesse agrônomo analisadas fenotipicamente. Para tanto foi concluído que os marcadores AFLP mostraram-se eficientes para detectar polimorfismo nesta espécie e podem ser utilizados como mais uma ferramenta na obtenção de informações úteis para o manejo de coleções de germoplasma e o direcionamento de programas de melhoramento genético. Observou-se grande divergência em alguns materiais oriundos da mesma origem e características fenotípicas, concluindo-se que pode haver pouca relação entre a origem e características fenotípicas com o padrão da distribuição da variabilidade genética obtida.

Tabela 1. Identificação dos acessos analisados. FAEM/UFPEL, Pelotas, 2007.

N° da amostra	Identificação	N° da amostra	Identificação
1	IAS 12-9 Formosa	22	Forroupilha
2	BRS Atalanta	23	Formosa
3	BRS Firmesa	24	Arroz de seco
4	BRS Bojuru	25	Cachinho
5	BRS Pelota	26	Reetz
6	BRS Taim	27	Japones
7	BR IRGA 409	28	Cana roxa
8	BR IRGA 410	29	Meio chumbinho
9	BR IRGA 411	30	Arroz agulhinha (01)
10	BR IRGA 412	31	Arroz sequeiro (03)
11	BR IRGA 413	32	Arroz sequeiro (04)
12	BR IRGA 414	33	Arroz japonese (11)
13	BRS Chuí	34	Arroz sequeiro (13)
14	BRS Ligeirinho	35	Arroz chumbinho (15)
15	BRS Agrisul	36	Arroz da terra
16	1001 (Querência)	37	Gigante
17	Arrank	38	BRS Primavera
18	Ligeirão	39	BRS Liderança
19	Moti	40	BRS Talento
20	Itaqui	41	BRS Vencedora
21	Farroupilha	42	Bonança

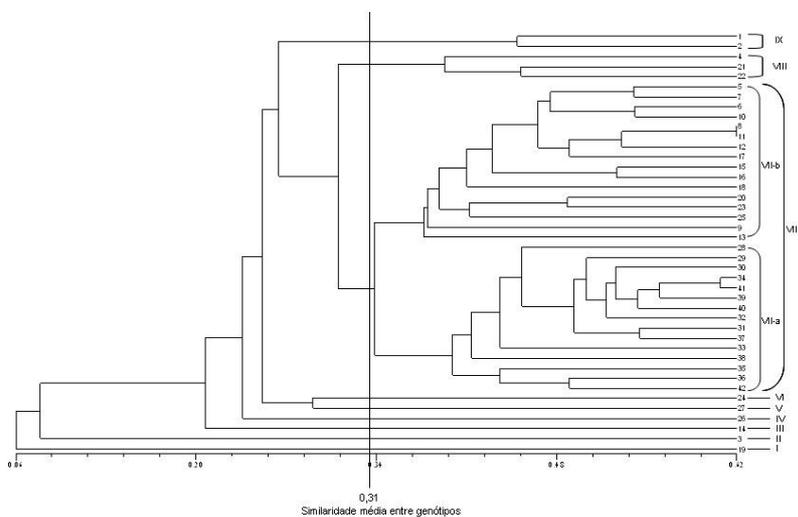


FIGURA 1. Dendrograma de 42 acessos de arroz obtido a partir da análise de AFLP utilizando o índice de similaridade de Dice (1945) e o método de agrupamento UPGMA. O valor do coeficiente de correlação cofenética (r) é de 0,86. FAEM/UFPEL, Pelotas, 2007.