

CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E MOLECULAR DO BANCO DE GERMOPLASMA DE ARROZ IRRIGADO DA EPAGRI

Juliana Vieira¹, Rubens Marschalek², Rubens Onofre Nodari³, Henri Stuker², Khadine Tatiane Appio⁴, Jaqueline Muniz⁴. ¹Convênio Fundagro/Acapsa/Epagri, ²Epagri - Estação Experimental de Itajaí, C.P.277, CEP 88301-970, Itajaí, SC. ³UFSC - Universidade Federal de Santa Catarina, ⁴Bolsistas do CNPq junto à Epagri no Projeto nº 50.7396/2004-9. E-mail: vieiraj@epagri.sc.gov.br

A variabilidade genética contida nos acessos dos bancos de germoplasma, apresenta valor inestimável ao melhoramento genético de espécies vegetais, por isso, é necessário que a diversidade genética seja conhecida. Para isso pode-se utilizar um método específico ou uma combinação de métodos, sendo esses: morfológico, bioquímico, molecular e citológico.

O banco de germoplasma de arroz irrigado da Epagri na Estação Experimental de Itajaí (EEI) é composto de 254 acessos conservados de forma *ex situ* em câmara fria com 18°C e 25% de umidade relativa.

O objetivo deste trabalho foi caracterizar morfológica e molecularmente 95 acessos do banco de germoplasma de arroz irrigado da Epagri-EEI.

Nos acessos estudados inclui-se 12 cultivares desenvolvidas pela EEI; 10 acessos da subespécie japônica e 85 acessos da sub-espécie indica.

A caracterização morfológica foi realizada em duas safras (2004/05 e 2005/06) visando aferir caracteres quantitativos. Utilizaram-se 43 descritores do IPGRI (Instituto Internacional de Recursos Genéticos de Plantas) dos quais, 29 foram considerados marcadores morfológicos. Os resultados foram submetidos a análise de agrupamento usando método de Ward e a distância euclidiana (Statistica - versão 5.0).

A caracterização molecular foi feita na safra 2005/06. Coletaram-se 150 mg de folhas jovens. A extração do DNA seguiu o protocolo tradicionalmente utilizado em plantas (DOYLE & DOYLE, 1987). A qualidade do DNA extraído foi verificado por eletroforese horizontal em gel com 0,8 % de agarose. A concentração do DNA foi estimada por fluorômetro (VersaFluor – Bio-Rad), e as amostras diluídas para uma concentração padrão (25 ng/μL) e armazenados a 4 °C até o uso.

Foi utilizado a técnica AFLP (polimorfismo de comprimento de fragmentos amplificados) seguindo-se o protocolo de Marschalek (2003), usando-se como enzimas de restrição a *EcoRI* e *MseI*, com quatro combinações de iniciadores (E40xM62, E13xM60, E40xM59, E40xM48) (KEYGENE, 2005).

Os fragmentos amplificados foram revelados em gel de poliacrilamida 6% e a eletroforese foi feita em cuba vertical 38 x 50 cm (Sequi GenGT – Bio Rad) nas condições eletroforéticas de 1640 V, 60 mA, 100 W e 45 °C, durante três horas. Os fragmentos foram revelados com nitrato de prata e, após a secagem dos géis ao ar, estes foram fotodocumentados por scanner. Os resultados foram analisados por análise de agrupamento com índice de Jaccard e pelo algorítmico UPGMA (Médias Aritméticas Não Ponderadas), no programa NTSYS.

A análise por marcadores morfológicos incluiu os acessos em dois grandes grupos (A e B) com grande variabilidade entre eles (>50%), no entanto, pouca diversidade entre os acessos. O grupo A é formado por 44 acessos e o grupo B por 51.

O grupo A é formado por acessos de tipo moderno e divide-se em dois subgrupos A₁ e A₂, sendo que o A₁ é formado por 19 acessos e o A₂ por 25 acessos. Todas as cultivares da Epagri estão inclusas no grupo A, sendo que as de ciclo longo apresentam-se no subgrupo A₁ e as de ciclo médio e curto no subgrupo A₂. Apenas a cultivar Empasc 100 agrupou-se no B, que é formado por acessos de tipo tradicional, com ampla diversidade morfológica. Todos os acessos da subespécie japônica situam-se no grupo B

(com 5 no subgrupo B₁ e 5 no subgrupo B₃). Os acessos do subgrupo B₃ são os mais divergentes morfológicamente.

Na caracterização molecular identificou-se 117 marcadores, destes, 98 foram polimórficos (84%), com uma média de 21 marcadores polimórficos por iniciador.

No dendrograma, observa-se a formação de três grandes grupos (A', B' e C') com grande similaridade entre eles (72%) e considerável diversidade entre os acessos dentro dos grupos (Figura 2). O acesso 25 (RCN-B-93-176) é o mais divergente, formando o grupo A. O grupo B subdivide-se em dois subgrupos, B₁' e B₂'. O primeiro é formado por 16 acessos e o segundo subdivide-se novamente em B₂'.1 e B₂'.2. O B₂'.1 é formado por sete acessos e o B₂'.2 por 55 acessos, sendo que oito são da subespécie japonesa. O grupo C' é formado por dois subgrupos C₁' e C₂', com três acessos no primeiro subgrupo e 13 no segundo. O subgrupo C₂' abrange todas as cultivares da Epagri com exceção da cultivar Epagri 106 (acesso seis) que se classifica no subgrupo C₁'.

A diferença entre os grupos foi maior na caracterização morfológica e a variabilidade genética entre os acessos foi maior na caracterização molecular.

O estudo da diversidade genética em arroz irrigado através de marcadores morfológicos e moleculares constitui-se em importante ferramenta ao melhoramento genético.

Conclui-se que os 95 acessos de arroz irrigado da Epagri-EEI possuem ampla diversidade genética entre eles e que, nos dois tipos de caracterização, evidencia-se o estreitamento da base genética nas cultivares da Epagri, que condiz com estreitamento similar já descrito em outros programas de melhoramento de arroz no Brasil (RANGEL et al., 1996).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, v. 19, p. 11-15, 1987.

KEYGENE. Disponível em: <<http://wheat.pw.usda.gov/ggpages/keygeneAFLPs.html>>. Acesso em: 10 ago. 2005.

MARSCHALEK, R. **Marker assisted selection for the development of intervarietal substitution lines in rapeseed (*Brassica napus* L.) and the estimation of QTL effects for glucosinolate content.** Gottingen: Cuvillier verlag, Alemanha, 2003, 122 p.

RANGEL, P.H.N.; GUIMARÃES, E.P.; NEVES, P.C.F. Base genética das cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.) irrigado do Brasil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 31, n.5, p. 349-347. 1996.

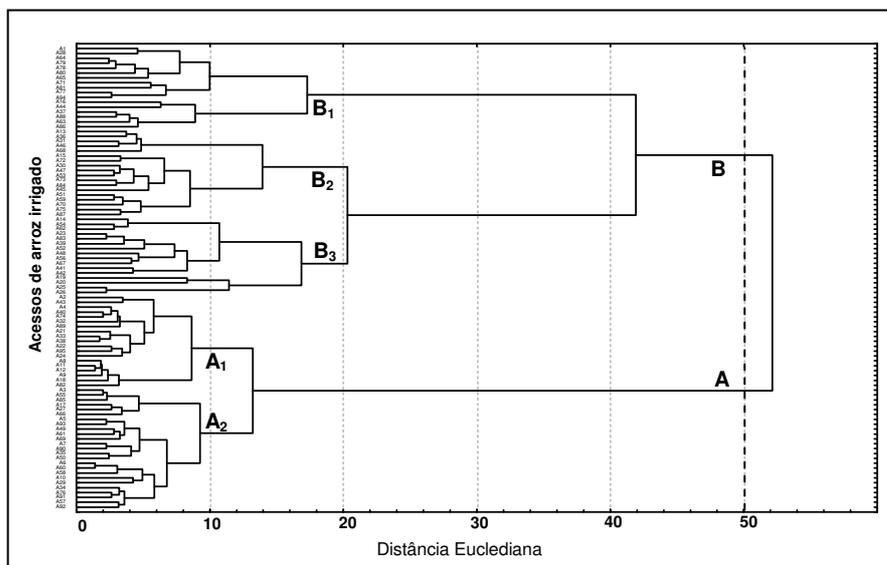


Figura 1. Dendrograma de distância genética entre os acessos do banco de germoplasma de arroz irrigado da Epagri, obtido através da análise de agrupamento empregando-se descritores morfológicos (Itajaí-SC, Epagri-EEI, 2007).

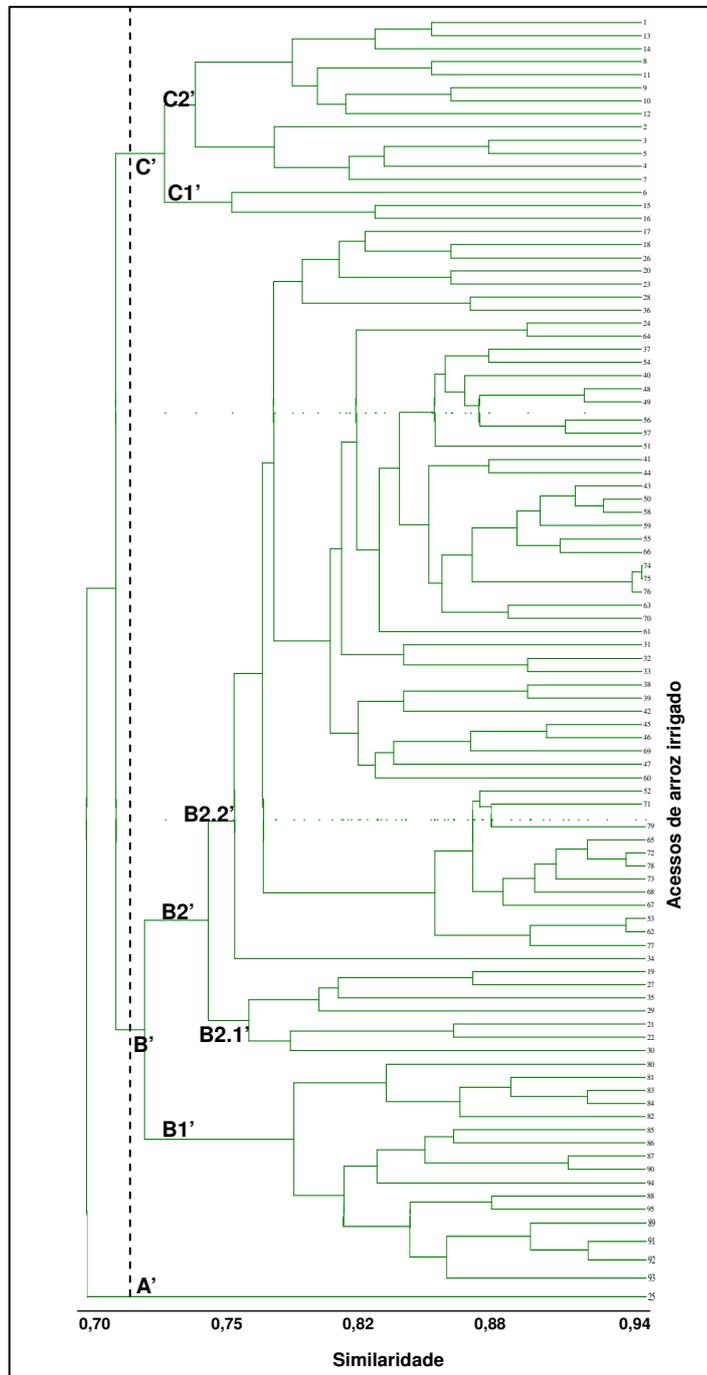


Figura 2. Dendrograma de similaridade para os acessos do banco de germoplasma de arroz irrigado da Epagri, obtido através da análise de agrupamento empregando-se marcadores moleculares (Itajaí-SC, Epagri-EEL, 2007).