

DIVERSIDADE GENÉTICA DOS ACESSOS MELHORADOS DA COLEÇÃO NUCLEAR DE ARROZ DA EMBRAPA

Tereza Cristina de Oliveira Borba, Claudio Brondani, Rosana Brondani, Paulo Hideo Nakano Rangel. Embrapa Arroz e Feijão, Rodovia GO-462, km 12 Zona Rural C.P. 179 75375-000 Santo Antônio de Goiás-GO, oliveiraborba@yahoo.com.br.

A coleção nuclear de arroz da Embrapa (CNAE) é constituída por 550 acessos, estratificados em três grupos: variedades tradicionais, acessos provenientes de programas de melhoramento do exterior e acessos provenientes de programas de melhoramento brasileiros. A CNAE representa a variabilidade genética do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Arroz e Feijão, que possui mais de 10.000 acessos de arroz. Este trabalho teve como principais objetivos a caracterização molecular dos 242 acessos componentes dos grupos de acessos melhorados no Brasil e exterior, a determinação da estrutura populacional da CNAE, a obtenção de uma mini coleção nuclear e a construção de um painel de marcadores fluorescentes em sistema multiplex.

O material vegetal avaliado foi composto por 94 acessos do grupo de genótipos melhorados Brasileiros e 148 acessos do grupo de genótipos melhorados no exterior, perfazendo um total de 242 genótipos. Além disto, cada grupo continha acessos dos tipos de cultivo irrigado e terras altas. As extrações de DNA genômico foram realizadas segundo protocolo descrito por Brondani et al. (2002) e cada acesso foi representado por um *bulk* de quatro plantas. A caracterização molecular foi realizada com 86 marcadores SSR fluorescentes, disponíveis na literatura e em bancos de dados eletrônicos. Estes marcadores foram avaliados em painéis multiplexes em seqüenciador automático de DNA, modelo ABI 3100. A escolha destes marcadores foi realizada em função da qualidade dos produtos amplificados, de sua localização no genoma e de seus valores de PIC (*Polymorphism Information Content*). As análises realizadas utilizaram os seguintes softwares GDA (*Genetic Data Analysis*, Lewis & Zaykin, 2002), FSTAT (Goudet, 2001), Identity (Wagner & Sefc, 1999), Structure (Pritchard et al., 2000), Genetix (Belkhir et al., 2004) e NTSYS (Rohlf, 1989).

Os oitenta e seis marcadores SSR fluorescentes, divididos em 35 painéis, identificaram 1.066 alelos, com uma média de 12,4 alelos por loco e PIC médio de 0,75. Estes valores foram superiores aos encontrados na literatura, quando comparados aos obtidos pela análise de acessos do *pool* gênico cultivado do arroz. O conjunto de 86 marcadores SSR não identificou acessos geneticamente idênticos. Os acessos foram avaliados em *bulk* de DNA de quatro plantas, o que possibilitou a detecção de heterogeneidade para, pelo menos, um marcador em 67% dos acessos, e indica que mesmo analisando linhagens e cultivares com mais de 10 gerações de auto-fecundação, a caracterização molecular não deve ser baseada em apenas um indivíduo por acesso. A análise de estrutura de população identificou dois padrões de subdivisão: o primeiro, formado por dois subgrupos, de acordo com o sistema de cultivo (irrigado ou terras altas), e o segundo, formado por quatro subgrupos, de acordo com o tipo de cultivo e com a origem dos acessos (Brasil ou exterior). Entre os quatro subgrupos, o que apresentou maior variabilidade genética foi o melhorado no exterior com tipo de cultivo irrigado, apresentando os maiores valores de distância genética média, número médio de alelos e número de alelos privados (Tabela 1). O subgrupo melhorado no Brasil com tipo de cultivo de terras altas apresentou a menor variabilidade genética. Para acrescentar variabilidade genética nos acessos dos subgrupos irrigado e terras altas brasileiro, deverão ser priorizados cruzamentos com acessos dos subgrupos irrigado e terras altas do exterior, respectivamente. A mini coleção nuclear foi estabelecida com os 24 acessos com maiores valores de distância genética média (coeficiente de distância de Rogers modificado por Wright, 1978), e poderá ser utilizada como controle em experimentos de campo e estudos de caracterização molecular (Figura 1). A escolha de marcadores SSR fluorescentes para

comporem um painel foi baseada na maior informatividade, capacidade de detecção de alelos privados e na faixa de tamanho dos alelos amplificados de cada marcador utilizado na caracterização dos 242 acessos da CNAE. O painel, composto por 24 marcadores SSR arranjados em quatro multiplexes contendo seis locos SSR cada, distinguiu todos os 242 acessos, apresentou média de 15,4 alelos por loco e PIC médio de 0,80. Este painel está sendo utilizado rotineiramente na caracterização de germoplasma de arroz e na formação de um banco de dados de frequências alélicas no Laboratório de Biotecnologia da Embrapa Arroz e Feijão. O uso das informações provenientes de análises moleculares é fundamental na determinação da relação entre acessos de coleções nucleares, possibilitando a obtenção de importantes parâmetros genéticos, orientando a utilização destes acessos por geneticistas e melhoristas e também a adição de novos acessos à coleção de forma a incrementar a variabilidade genética desta.

Tabela 1. Parâmetros de diversidade genética entre acessos de diferentes grupos da CNAE.

Sub divisões	Número de acessos	Número médio de alelos/loco	RW [#]	Diversidade Gênica
Subgrupos				
ES*	76	7.0	0.73	0.64
EI*	72	11.7	0.80	0.75
BS*	57	7.0	0.72	0.59
BI*	37	9.7	0.77	0.68
Origem dos acessos				
Acessos Estrangeiros	148	13.3	0.79	0.74
Acessos Brasileiros	94	8.9	0.73	0.68
Sistema de Cultivo				
Acessos Terras altas	133	10.9	0.74	0.64
Acessos Irrigado	109	12.3	0.80	0.74

* Acessos estrangeiros com tipo de cultivo sequeiro ou terras altas (ES), acessos estrangeiros com tipo de cultivo irrigado (EI), acessos brasileiros com tipo de cultivo sequeiro ou terras altas (BS) acessos brasileiros com tipo de cultivo irrigado (BI).

[#] RW identifica a distância genética média de Rogers modificada por Wright (1978).

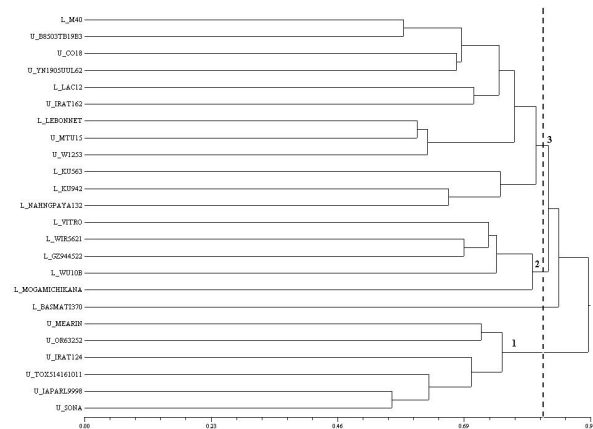


Figura 1. Dendrograma com os acessos da mini coleção nuclear selecionados à partir da distância genética média obtida da avaliação por 86 marcadores SSR. A linha tracejada representa a distância genética média de RW (Rogers modificado por Wright, 1978) entre os 24 acessos selecionados (0,84) e o valor limite para a identificação dos grupos de similaridade identificados pelos números 1, 2 e 3. As letras U e L junto aos nomes dos acessos representam, respectivamente, os acessos com tipo de cultivo de terras altas e tipo de cultivo irrigado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

BELKHIR, K.; BORSA, P.; CHIKHI, L.; RAUFASTE, N.; BONHOMME, F. **Genetix Version 4.05.2**. Université de Montpellier. 2001. Disponível em: <<http://www.univ-montp2.fr/~genetix/genetix/genetix.htm>>. Acesso em :5 mai 2004.

BRONDANI, C.; RANGEL, P. H. N.; BRONDANI, R. P. V.; FERREIRA, M. E. QTL mapping and introgression of yield related traits from *Oryza glumaepatula* to cultivated rice (*Oryza sativa*) using microsatellite markers. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 104, n. 6/7, p. 1192-1203, 2002.

GOUDET, J. **FSTAT**. Version 2.9.3.2. Disponível em: <<http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>>. Acesso em 05 fev. 2002.

LEWIS, P. O.; ZAYKIN, D. **Genetic Data Analysis**: Computer program for the analysis of allelic data. Version 1.0. Disponível em: <<http://lewis.eeb.uconn.edu/lewishome/software.html>>. Acesso em: 21 nov. 2001.

PRITCHARD, J. K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, v. 155, n. 2, p. 945-959, 2000.

ROHLF, F. J. **NTSYSpc**. Version 2.02g. 1989.

WAGNER, H. W.; SEFC, K. M. **IDENTITY 1.0**. Center for Applied Genetics, University of Agricultural Sciences Vienna, 1999.

WRIGHT, S. **Evolution and the genetics of populations**. Variability within and among natural populations. Chicago, U. Chicago Press, 1978. v.4.

Agradecimentos: Ao CNPq e a Embrapa Arroz e Feijão.