

DETERMINAÇÃO DA VARIABILIDADE ALÉLICA DE MARCADORES SSR ENTRE CICLOS DE RECOMBINAÇÃO DAS POPULAÇÕES DE SELEÇÃO RECORRENTE DE ARROZ CNA-IRAT 4 E CNA 12

PINHEIRO¹, Leticia Silveira; **BRONDANI**², Rosana Pereira Vianello; **RANGEL**², Paulo Hideo Nakano; **BRUNES**³, Tuliana Oliveira; **BRONDANI**^{2,4}, Claudio.

Palavras-Chave: *Oryza sativa*, melhoramento, macho-esterilidade, ssr

1. Introdução

A produção do arroz entre 1966 e 1990 duplicou devido ao lançamento de cultivares altamente produtivas, oriundas de cruzamentos que priorizaram genitores produtivos, mas geneticamente próximos. Como resultado, houve um estreitamento da base genética do arroz, apontada como a principal responsável pela estagnação dos patamares de produtividade da cultura. É necessário, portanto, ampliar a base genética de linhagens elite de arroz, genitoras do programa de melhoramento, para garantir o surgimento e seleção de novas combinações alélicas, que resultem em novas cultivares de arroz mais produtivas. Um dos métodos de melhoramento populacional que possibilita, de modo sistemático, a geração e seleção de combinações genéticas favoráveis, é a seleção recorrente. Foi um método proposto inicialmente por HULL (1945), que compreende o inter cruzamento e re-seleção das melhores famílias, geração após geração, melhorando a média populacional e produzindo linhagens melhoradas com base genética ampla. O programa de seleção recorrente em arroz no Brasil iniciou em 1990, com a formação da população CNA-IRAT 4 (RANGEL & NEVES, 1997), obtida a partir do inter cruzamento de 10 genótipos de arroz, dentre eles a cultivar IR-36, portadora do gene da macho-esterilidade, o qual permite a recombinação a campo, sem a necessidade de cruzamentos manuais. Em 2002, a população CNA 12 (RANGEL et al., 2005) foi obtida a partir do inter cruzamento de 15 parentais, sintetizada sem a utilização do gene de macho esterilidade, ficando assim dependentes de cruzamentos manuais dirigidos. O desenvolvimento dessa população teve como objetivo a obtenção de linhagens com resistência estável à brusone. Este trabalho teve como objetivo a caracterização por meio de marcadores moleculares SSR, dos genitores e indivíduos amostrados na etapa de recombinação das populações de seleção recorrente CNA-IRAT4 e CNA12.

2. Metodologia

Foram caracterizados por marcadores SSR os 10 genitores que originaram a população CNA-IRAT 4, e amostrados 192 indivíduos do Ciclo de Recombinação 1 e 192 indivíduos do Ciclo 5. Na população CNA12 foram caracterizados os 16 genitores e amostrados 180 indivíduos do Ciclo 1 e 180 indivíduos do Ciclo 2. Foram utilizados 14 marcadores SSR para a caracterização dos genótipos, escolhidos com base no seu alto conteúdo informativo, bom padrão de resolução em gel de acrilamida, e por representarem os 12 grupos cromossomos do arroz. Esses marcadores foram utilizados para determinação da variabilidade alélica entre ciclos de recombinação nas populações de seleção recorrente CNA-IRAT 4, recombinada

a campo pela presença do gene da macho-esterilidade, e CNA 12, recombinada manualmente. A eletroforese dos produtos de amplificação dos marcadores SSR foi realizada em géis de acrilamida desnaturante 6% coradas com nitrato de prata, segundo metodologia definida por CRESTE et al. (2001). Foram estimados o número de alelos, PIC (Polymorphism Information Content) e alelos privados pelo programa GDA (LEWIS & ZAYKIN, 2001). A distribuição espacial dos genótipos avaliados foi obtida com a análise fatorial de correspondência utilizando o programa Genetix (BELKHIR et al., 2001).

3. Resultados e discussão

A análise de SSRs dos 10 genitores que deram origem à população CNA-IRAT 4 (Tabela 1) identificou em média 5 alelos por loco e PIC médio de 0,69. No Ciclo 1 foram encontrados em média 5,43 alelos por loco e PIC médio de 0,58. No ciclo 5, foram identificados 5,86 alelos por loco e PIC médio de 0,55.

Tabela 1: Número de Alelos e valores de PIC por loco para os genitores e cada ciclo de Seleção Recorrente da população CNA IRAT-4. Valores entre parênteses: Número de alelos ausentes nos genitores e presentes nos Ciclos 1 e 5.

SSR	População CNA-IRAT 4					
	PIC (1- Σp^2)			Número de Alelos		
	Genitores	Ciclo 1	Ciclo 5	Genitores	Ciclo 1	Ciclo 5
OG 7	0,51	0,39	0,35	4	2	3
OG 17	0,91	0,65	0,34	8	7 (2)	5 (1)
OG 61	0,86	0,56	0,60	6	4	12 (6)
OG 106	0,80	0,75	0,77	6	7 (1)	6
RM 9	0,78	0,72	0,82	5	7 (2)	7(3)
RM 11	0,63	0,51	0,56	5	5 (2)	7 (4)
RM 38	0,50	0,17	0,24	4	2	6 (2)
RM 207	0,74	0,72	0,76	5	10 (6)	8 (5)
RM 223	0,36	0,40	0,40	3	3	4 (1)
RM 224	0,84	0,79	0,74	6	8 (2)	8 (3)
RM 229	0,74	0,51	0,33	4	5 (2)	2
RM 247	0,72	0,50	0,53	5	4 (1)	3
RM 257	0,72	0,79	0,74	4	6 (3)	7 (4)
4653	0,61	0,65	0,58	3	6 (4)	4 (3)
Total	-----	-----	-----	68	76 (25)	82 (32)
Média	0,69	0,58	0,55	5	5,43	5,86

A análise de SSRs dos 16 genitores que originaram a população CNA 12 (Tabela 2) resultou em 5,9 alelos por loco e PIC médio de 0,68. No Ciclo 1 foram obtidos 5,36 alelos por loco e PIC médio de 0,57. No Ciclo 2, foram obtidos 6,28 alelos por loco e PIC médio de 0,56.

Tabela 2: Número de Alelos e valores de PIC por loco para os genitores e cada ciclo de Seleção Recorrente da população CNA 12. Valores entre parênteses: Número de alelos ausentes nos genitores e presentes nos Ciclos 1 e 2.

SSR	População CNA 12					
	PIC ($1-\Sigma p^2$)					
	Genitores	Ciclo 1	Ciclo 2	Genitores	Ciclo 1	Ciclo 2
OG 7	0,47	0,43	0,41	4	3	4
OG 17	0,80	0,78	0,79	7	7	8 (1)
OG 61	0,74	0,69	0,61	7	10 (4)	12 (5)
OG 106	0,56	0,51	0,55	4	4 (1)	4
RM 9	0,77	0,65	0,63	7	6	6
RM 11	0,64	0,54	0,61	7	5	6 (1)
RM 38	0,70	0,28	0,34	5	4	6 (2)
RM 204	0,75	0,67	0,60	6	6	6
RM 207	0,69	0,60	0,68	5	4	6 (1)
RM 224	0,84	0,78	0,74	7	6	6
RM 248	0,69	0,54	0,44	6	6	8 (2)
RM 257	0,64	0,48	0,58	5	3	5
4653	0,56	0,43	0,36	6	5	6 (1)
4961	0,69	0,55	0,47	6	6	5
Total	-----	-----	-----	82	75 (5)	88 (13)
Média	0,68	0,57	0,56	5,9	5,36	6,28

A redução da variabilidade alélica medida pelo PIC médio é explicada pela seleção dos genótipos que possuem as melhores combinações de alelos para as características agrônomicas avaliadas, que ocorre após cada ciclo de recombinação. A caracterização molecular por SSRs identificou alelos não esperados, ou seja, alelos não provenientes dos genitores, nas duas populações. Na população CNA-IRAT 4 (Tabela 1), 25 dos 76 alelos detectados foram de origem desconhecida (33%) no Ciclo 1, e 32 dos 82 alelos detectados foram de origem desconhecida (39%) no Ciclo 5. Na população CNA 12 (Tabela 2) foram identificados no Ciclo 1, 5 alelos desconhecidos, de um total de 75 alelos (7%), enquanto que no Ciclo 2 foram identificados 13 alelos, de um total de 88 alelos (15%). Estes resultados mostram claramente que a recombinação manual diminuiu a ocorrência de fertilização com pólen oriundo de plantas de arroz cultivadas em áreas adjacentes à população de seleção recorrente, em relação à recombinação por macho-esterilidade. Mesmo na polinização manual, cuidados adicionais devam ser adotados, uma vez que a fertilização indesejável não foi totalmente eliminada. A análise fatorial de correspondência (AFC) apresentou para a população CNA-IRAT 4 os indivíduos do Ciclo 1 formando um grupo distinto dos indivíduos do Ciclo 5 (Figura 1), os quais apresentaram maior dispersão espacial que aqueles do Ciclo 1. Isto foi devido provavelmente a dois fatores: o efeito do surgimento de novas combinações de alelos, que aumenta à medida que avançam os ciclos de seleção recorrente, e à adição de 32 alelos ausentes nos genitores.

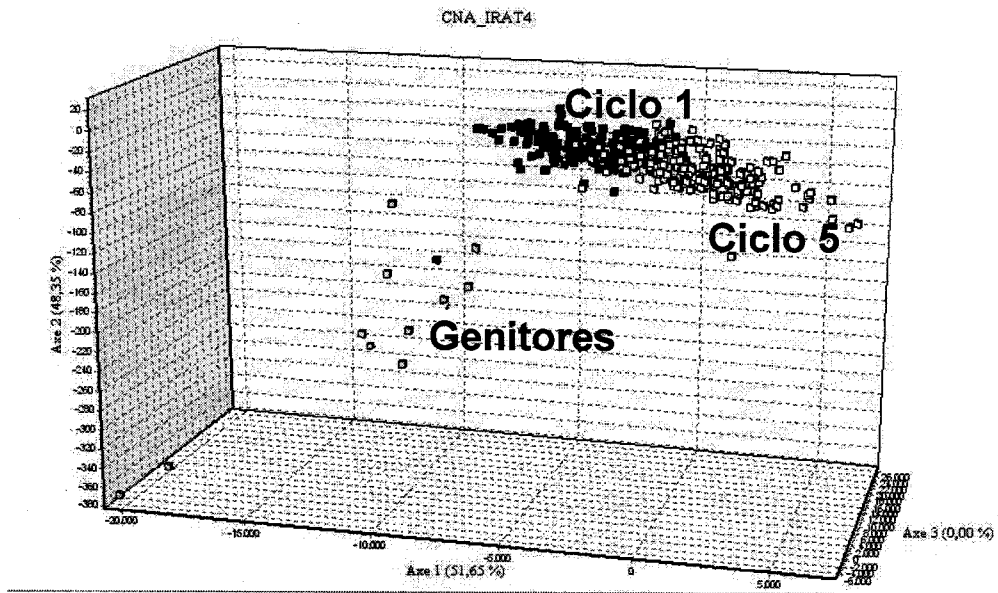


Figura 1: Distribuição espacial da variabilidade genética dos genitores (amarelo) e indivíduos dos Ciclos 1 (azul) e 5 (branco) da população de Seleção Recorrente CNA-IRAT 4.

Na AFC da CNA12 (Figura 2) os dois ciclos de recombinação mostraram-se distintos espacialmente, embora de modo menos pronunciado que na CNA-IRAT 4, provavelmente ocasionado tanto pelo menor número de recombinações, quanto pelo menor número de alelos provenientes de plantas não integrantes da população de seleção recorrente.

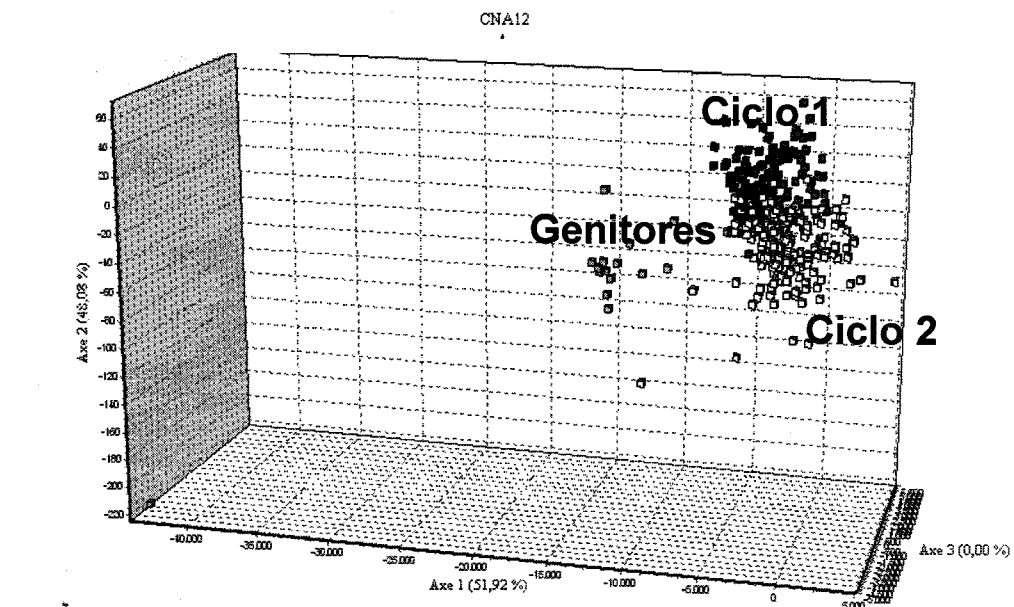


Figura 2: Distribuição espacial da variabilidade genética dos genitores (amarelo) e indivíduos dos Ciclos 1 (azul) e 2 (branco) da população de Seleção Recorrente CNA 12.

4. Conclusões

Apesar de ser mais econômica, a recombinação utilizando a macho-esterilidade pode resultar em perda significativa na eficiência da recombinação efetiva dos genes presentes nos genitores. Por este motivo, os melhoristas devem optar por um melhor isolamento da população durante a etapa de recombinação, ou optar pelo método de recombinação manual, que apesar de ser mais oneroso, permitiu um controle melhor da fertilização.

5. Referências bibliográficas

1. BELKHIR, K.; BORSA, P.; CHIKHI, L.; RAUFASTE, N.; BONHOMME, F. **Genetix**. Univeristé de Montpellier Version 4.05.2. 2001. Disponível em: <http://www.universitymontp2.fr/~genetix/genetix/genetix.htm>. Acesso em: 10 de Julho de 2006.
2. CRESTE, S.; TULMANN, A. N.; FIGUEIRA, A. Detection of single sequence repeat polymorphisms in denaturing polyacrylamide sequencing gels by silver staining. **Plant Molecular Biology Reporter**. v. 19, p. 229-306, 2001.
3. HULL, F.H. Recurrent selection and specific combining ability in corn. **Journal American Society of Agronomy**, v.37, p.137-145, 1945.
4. LEWIS, P. O., AND ZAYKIN, D. 2001. **Genetic Data Analysis: Computer program for the analysis of allelic data. Version 1.0 (d16c)**. Disponível em: <http://lewis.eeb.uconn.edu/lewishome/software.html>. Acesso em: 07 de Julho de 2006.
5. RANGEL, P. H. N.; NEVES, P. C. F. Selecion recorrente aplicada al arroz de riego en Brasil. In: GUIMARÃES, E. P. (ed). **Selección Recurrente en Arroz**. Cali: CIAT. (Publicación CIAT, nº 267). p. 79-97, 1997.
6. RANGEL, P. H. N.; CORDEIRO, A. C. C.; LOPES, S. I. G.; MORAIS, O. P. M.; BRONDANI, C.; BRONDANI, R. P. V.; YOKOYAMA, S.; SCHIOCCHET, M.; BACHA, R.; ISHIY, T. Advances in Population Improvement of Irrigated Rice in Brazil. In: Guimarães, E. P. (ed). **Population Improvement: A Way of Exploiting the Rice Genetic Resources of Latin America**. Rome: FAO. P 145-186, 2005.

FONTE DE FINANCIAMENTO: Embrapa – Macroprograma 2 e CNPQ (bolsa de pesquisa de mestrado)

¹ Estudante de Mestrado na UFG em Agronomia, Embrapa Arroz e Feijão, Caixa Postal 179, CEP 75375-000, Sto. Antônio de Goiás, GO. Fone (62) 35332128. let@cnpaf.embrapa.br.

² Pesquisadores da Embrapa Arroz e Feijão, Sto. Antônio de Goiás-GO.

³ Estudante de Biologia da UCG, Goiânia-GO.

⁴ Orientador. E.A da UFG. cbrondani@cnpaf.embrapa.br