

Diversidade Genética de Híbridos de Milho da Embrapa no Cenário Nacional

Marcos de Oliveira Pinto⁽¹⁾, Isabel Regina Prazeres de Souza⁽²⁾, Samanta Gabriela Medeiros Carvalho⁽³⁾, Isabella Aparecida Maia Gonçalves⁽³⁾, Lauro José Moreira Guimarães⁽²⁾; Paulo Evaristo de Oliveira Guimarães⁽²⁾; Sidney Netto Parentoni⁽²⁾

⁽¹⁾ Analista de Pesquisa e Desenvolvimento; Embrapa Milho e Sorgo; Sete Lagoas-MG; marcos.deoliveira@embrapa.br; ⁽²⁾ Pesquisador; Embrapa Milho e Sorgo; Sete Lagoas-MG; ⁽³⁾ Bolsista do CNPq – PIBIC. Centro Universitário de Sete Lagoas, MG.

RESUMO: O emprego de marcadores moleculares microssatélites (SSR) para estudos de diversidade genética entre híbridos de milho constitui uma poderosa ferramenta uma vez que este tipo de marcador apresenta elevado conteúdo informativo, mesmo em comparações de germoplasma com estreita base genética. Este trabalho teve como objetivo avaliar a diversidade genética entre 12 híbridos de milho da Embrapa frente ao cenário nacional de sementes. No total foram avaliados 48 híbridos de milho comerciais. O DNA genômico de cada híbrido foi extraído de um bulk de 8 plantas. Foram utilizados 28 marcadores microssatélites, distribuídos ao longo do genoma. O índice de dissimilaridade genética foi estimado a partir do complemento do coeficiente de Dice. As análises de agrupamento foram realizadas utilizando-se o método hierárquico UPGMA e a projeção das distâncias no espaço. O valor de PIC médio foi 0,67, variando de 0,25, para o loco umc1139, a 0,88, para o loco bnlg1006. O valor de similaridade genética variou de 0,07 a 0,88 mostrando uma ampla variabilidade genética entre os híbridos comerciais brasileiros. A análise da diversidade genética entre os híbridos comerciais avaliados evidenciou que os 12 híbridos da Embrapa foram distribuídos em três grupos distintos dos demais, demonstrando que a Embrapa contribui para ampliação da diversidade genética na cultura do Milho no Brasil.

Termos de indexação: *Zea mays* L.; marcador molecular, microssatélite.

INTRODUÇÃO

Os microssatélites (SSR) estão entre os principais marcadores moleculares utilizados na caracterização de linhagens de milho em programas de melhoramento e de acessos em vários países, como Índia (Sharma et al., 2010), Canadá (Reid et al., 2011) e Brasil (Elói et al., 2012).

Estudos de diversidade genética entre híbridos de milho, apesar de pouco utilizados, são importantes por permitir a visualização da variabilidade genética oferecida pelo mercado de sementes ao produtor. A existência de variabilidade genética é importante a

toda empresa, pública ou privada, na formalização de parcerias como forma de ampliar a base genética para desenvolvimento de híbridos.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a diversidade genética de 12 híbridos do Programa de Melhoramento de milho da Embrapa Milho e Sorgo em relação a um conjunto de híbridos comerciais, de outras empresas, no cenário nacional de sementes.

MATERIAL E MÉTODOS

Material genético

Foram utilizados 48 híbridos de milho, sendo 12 desenvolvidos pelo Programa de Melhoramento da Embrapa Milho e Sorgo e 36 híbridos comerciais provenientes de 10 empresas do cenário nacional. Os híbridos foram nomeados de forma alfanumérica, em que cada empresa é representada por uma mesma letra, sendo que os híbridos da Embrapa foram identificados com a letra A.

Extração de DNA, amplificação dos SSR e eletroforese

Para a extração do DNA genômico foi feito um bulk de oito discos foliares de plantas individuais de cada híbrido. A extração foi realizada em placas utilizando o aparelho GenoGrinder 2000, segundo Lana et al. (2010).

A genotipagem foi realizada empregando 28 iniciadores SSR marcados com fluorocromos e amplamente distribuídos ao longo do genoma. As reações de amplificação foram realizadas utilizando 50 ng de DNA, 0,2 µM de cada iniciador e kit Taq DNA polimerase (Invitrogen®), conforme recomendações do fabricante. As reações de PCR foram realizadas em *touchdown*: desnaturaçãoinicial a 94 °C por 2 min; 7 ciclos de 94 °C por 20 s, 60°C (com redução de 1°C por ciclo até 53°C) por 1 min e 72 °C por 1 min, 35 ciclos de 94 °C por 20 s, 53°C por 1 min e 72 °C por 1 min; extensão final de 72 °C por 5 min. Os fragmentos gerados foram analisados nos sequenciadores automáticos de DNA ABI Prism 3.100 (Applied Biosystems®) e Mega Bace 1.000 (Amersham Biosciences®).

Análises de dados moleculares

O índice de dissimilaridade genética foi estimado a partir do complemento do coeficiente de Dice (Sorenso ou Nei e Li). O dendrograma foi obtido a partir da matriz de dissimilaridade pelo método de agrupamento UPGMA. Adicionalmente, com base na matriz de dissimilaridade, realizou-se a projeção das distâncias no espaço. As análises dos dados

moleculares foram realizadas empregando-se o programa Genes (CRUZ, 2006).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir dos 28 locos SSR foi possível obter a amplificação de 158 alelos, sendo que o número de alelos amplificados variou de 2 (phi109642 e umc1139) a 12 (bnlg1006, bnlg161 e umc1019), tendo como média 5,64 (Tabela 1). O PIC (Conteúdo de Informação Polimórfica) médio foi 0,67, variando de 0,22, para o loco umc1139, a 0,88, para o loco bnlg1006 (Tabela 1).

As medidas de dissimilaridades obtidas ficaram entre 0,07 e 0,88, indicando uma ampla variação no coeficiente e alta diversidade entre os híbridos avaliados. Entre os híbridos da Embrapa verifica-se que o índice assume valores próximos a zero, pois estes são derivados de cruzamentos entre linhagens representantes de grupos heteróticos bem definidos, havendo parentesco entre linhagens dentro de cada grupo heterótico, como também ocorre para outros programas de melhoramento. No entanto, entre os híbridos da Embrapa e os híbridos comerciais de empresas privadas do cenário nacional é verificada uma maior amplitude nas medidas de similaridade, sendo predomínio de valores menores que 0,5 (Figura 1).

As projeções das distâncias no espaço com base na matriz de dissimilaridades genética evidencia a dispersão da variabilidade genética dos híbridos comercializados no Brasil (Figura 2). É observada uma tendência de formação de agrupamentos entre os híbridos da Embrapa. No entanto, verifica-se que alguns híbridos, como o A6, apresentam-se destacados frente aos demais avaliados.

Visando classificar os acessos de milho em grupos mais homogêneos foi construído um dendrograma pela análise de agrupamento pelo método hierárquico UPGMA (Figura 3). A partir desse dendrograma é possível verificar que os híbridos da Embrapa ficam dispersos em três *clusters*.

Dessa forma, demonstra-se que a Embrapa contribui para ampliação da diversidade genética na cultura do milho no Brasil. A grande variabilidade genética apresentada pelos híbridos no mercado nacional de sementes é de extrema importância, pois ao contrário, a existência de uniformidade genética implica risco devido à vulnerabilidade a estresses.

Tabela 1: Número de alelos amplificados e conteúdo de informação polimórfica (PIC) dos 28 locos SSR amplificados.

SSR	*Bin	Nº de alelos amplificados	PIC
umc1071	1.01	4	0,68
umc2025	1.05	3	0,53
phi308707	1.10	3	0,65
bnlg1338	2.01	9	0,86
bnlg125	2.02-2.03	10	0,86
phi109642	2.03-2.04	2	0,32
umc1746	3.00-3.01	5	0,74
phi053	3.05	6	0,74
umc1690	3.07	3	0,60
umc2008	3.09	6	0,73
umc1008	4.01	8	0,78
bnlg589	4.10	4	0,71
bnlg1006	5.00	12	0,88
umc1221	5.04	7	0,78
bnlg161	5.05-6.00	12	0,87
umc1019	5.06	12	0,86
mmc0241	6.05	4	0,69
umc1653	6.07-6.08	9	0,82
umc1066	7.01	5	0,70
phi116	7.06	6	0,76
umc1139	8.01	2	0,25
umc1771	9.04	3	0,51
umc1366	9.06	3	0,62
umc2018	10.01-10.02	3	0,33
phi063	10.02	4	0,63
phi084	10.03-10.04	3	0,57
umc1506	10.05	5	0,76
umc1084	10.07	5	0,63

*Bin – Posição do marcador ao longo dos cromossomos.

CONCLUSÕES

A análise da diversidade genética entre os híbridos de milho comerciais avaliados evidenciou que os híbridos da Embrapa agrupam-se como material divergente frente aos híbridos comerciais de 10 empresas privadas do cenário nacional.

AGRADECIMENTOS

À Embrapa Milho e Sorgo e à FAPEMIG pelo suporte financeiro. Ao Célio Ramos das Neves pela ajuda na condução dos experimentos.

REFERÊNCIAS

CRUZ, C. D. **Programa genes: estatística experimental e matrizes**. Viçosa, MG: Editora UFV, 2006. 285 p.

ELOI, I. B. O.; MANGOLIN, C. A.; SCAPIM, C. A., GONÇALVES, C. S.; MACHADO, M. F. P. S. Selection of high heterozygosity popcorn varieties in Brazil based on SSR markers. **Genetics and Molecular Research**, v. 11, p. 1851-1860, 2012.

LANA, U. G. de P.; GOMES, P. C.; TINOCO, C. F. da S.; OLIVEIRA, B. C. F. S.; GUIMARAES, C. T.; MAGALHAES, J. V. de; OLIVEIRA, B. C. F. S. **Procedimento da Embrapa Milho e Sorgo para extração de DNA de tecido vegetal em larga escala**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2010. 19 p. (Embrapa Milho e Sorgo. Documentos, 104).

REID, L. M.; XIANG, K.; ZHU, X.; BAUM, B. R.; MOLNAR, S. J. Genetic diversity analysis of 119 Canadian maize inbred lines based on pedigree and simple sequence repeat markers, **Canadian Journal of Plant Science**, v. 91, p. 651-661, 2011.

SHARMA, L.; PRASANNA, B. M.; RAMESH, B. Phenotypic and microsatellite-based diversity and population genetic structure of maize landraces in India, especially from the North East Himalayan region, **Genetica**, v. 138, p. 619-631, 2010.

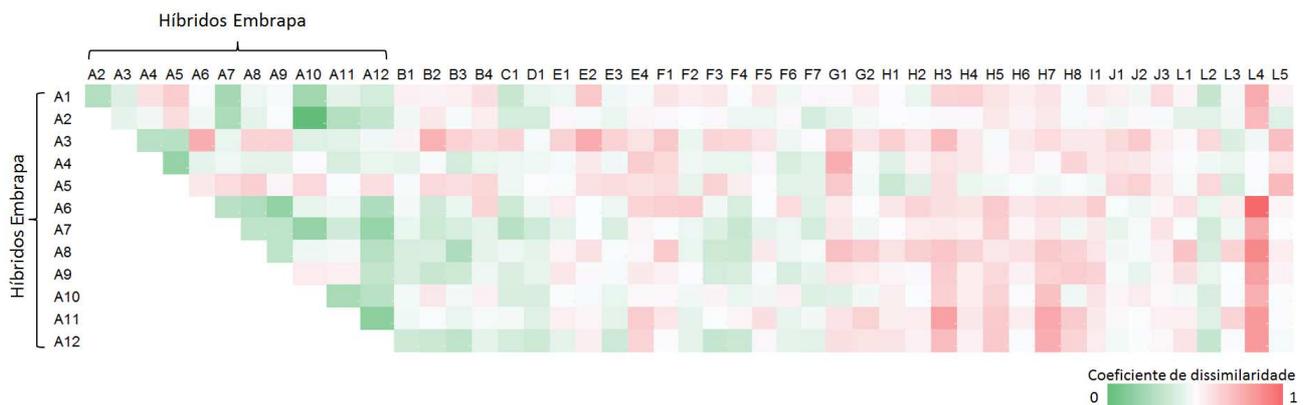


Figura 1: Representação esquemática da matriz de dissimilaridade dos híbridos da Embrapa (acessos de A1 a A12) frente aos híbridos comerciais das empresas privadas do cenário nacional. (Também padronizar a fonte)

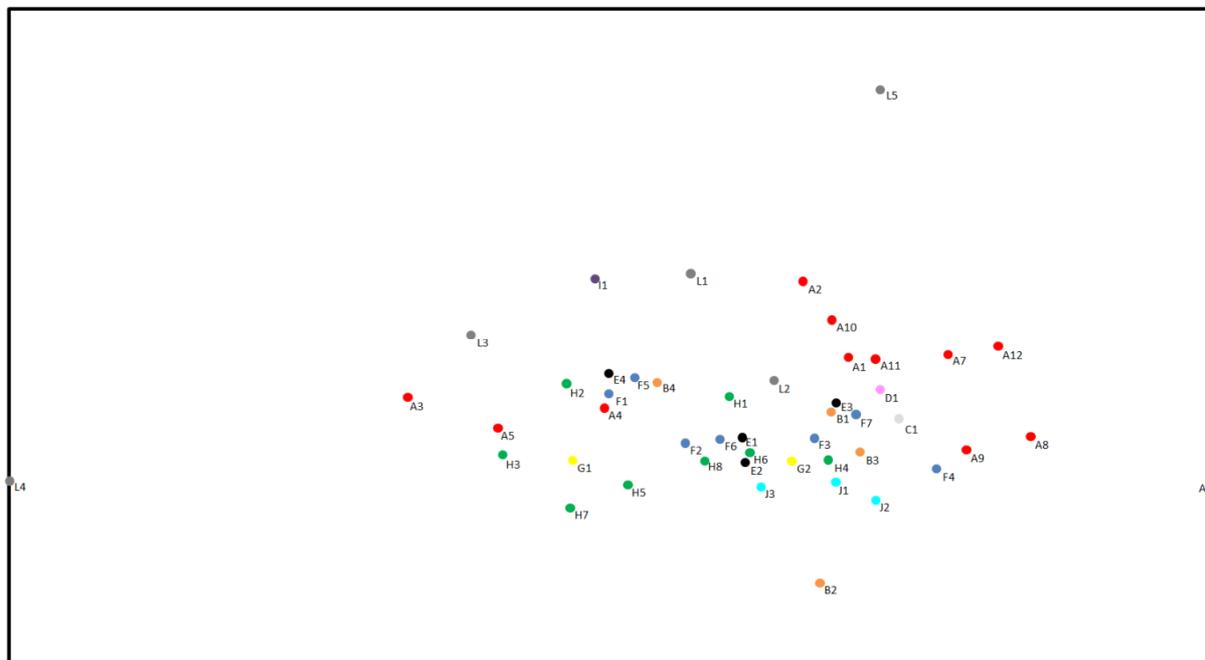


Figura 2: Projeções das distâncias no espaço com base na matriz de dissimilaridade genética entre os híbridos comerciais de milho no cenário nacional. Os genótipos da Embrapa estão destacados em vermelho, acessos A1 a A12.

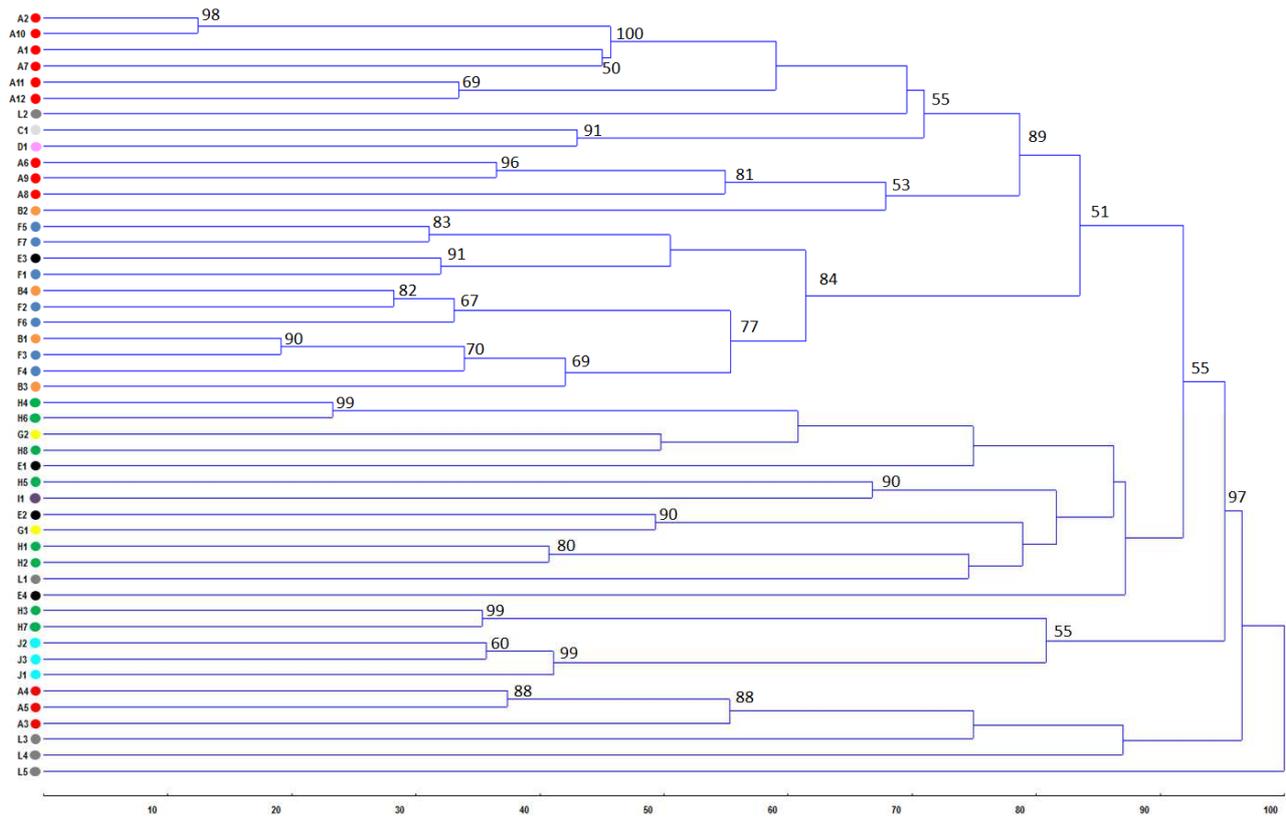


Figura 3: Dendrograma obtido pelo método UPGMA a partir da matriz de dissimilaridade entre os híbridos de milho do cenário nacional. Os genótipos da Embrapa estão destacados em vermelho, acessos A1 a A12. Os valores a cima de cada ramo representam o *bootstrap*.



XXX CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO

"Eficiência nas cadeias produtivas e o abastecimento global"