MARCADORES MOLECULARES APLICADOS AO MELHORAMENTO DE PLANTAS

Edilson Paiva¹ e Claudia Teixeira Guimarães¹

Palavras-chave: melhoramento assistido, SSR, AFLP, RFLP

INTRODUÇÃO

A genética quantitativa e os métodos estatísticos constituem as bases do melhoramento genético, cuja contribuição para o patamar de produtividade das culturas comerciais é inquestionável, e certamente continuará sendo a sustentação de qualquer programa que objetive a obtenção de ganhos genéticos. No entanto, o avanço alcançado pelas técnicas de biologia molecular aliado às informações advindas dos projetos de seqüenciamento de genomas e de prospecção gênica apresentam grande potencial para revolucionar o melhoramento genético de plantas permitindo ao melhorista selecionar combinações alélicas superiores de uma maneira mais eficaz, rápida e a direcionada. Apesar do constante aperfeiçoamento e automatização das técnicas moleculares, o principal fator que limita sua ampla utilização para auxiliar os programas de melhoramento de forma sistemática continua sendo o custo elevado de reagentes, equipamentos e manutenção de laboratórios de alta tecnologia.

Os benefícios e vantagens do melhoramento assistido por marcadores moleculares têm sido relatados e demonstrados por vários autores, uma vez aplicados de forma consciente e com objetivos bem definidos. Dessa forma, os custos proibitivos da sua ampla aplicação necessitam de mudanças de paradigma visando a busca de fontes alternativas de recursos e a otimização daqueles já disponibilizados. Uma alternativa interessante pode ser espelhada no sucesso dos projetos de seqüenciamento genômico liderados pela Rede Onsa (Fapesp) e seguido pela Rede Genoma Nacional (CNPq), cuja repercussão impressionou a comunidade científica internacional. De maneira semelhante, a formação de redes de laboratórios de genotipagem em larga escala, utilizando protocolos padronizados para a geração e a análise dos dados, pode também culminar em vantagens comparativas para a implementação sistematizada das técnicas de marcadores moleculares nos programas de melhoramento genético.

¹ Pesquisador Embrapa Milho e Sorgo, Caixa Postal 151, Sete Lagoas, MG 35701-970 e-mail: edilson@cnps.embrapa.br

MARCADORES MOLECULARES

Os marcadores de DNA clássicos, baseados nas técnicas de hibridização ou na amplificação de fragmentos por PCR, revolucionaram a genética e a biologia molecular desde a construção do primeiro mapa genético humano utilizando o RFLP (Botstein et al., 1980). A partir do advento da técnica de PCR, vários marcadores foram desenvolvidos como o RAPD (Williams et al., 1990; Welsh e McClelland, 1990), o AFLP (Vos et al., 1995) e os microssatélites ou SSR (Seqüências Simples Repetidas), além de uma gama de estratégias visando a conversão dos mesmos em produtos de amplificação por meio de *primers* específicos (Paran e Michelmore, 1993; Meksem et al., 2001).

Com o acúmulo de informações de seqüências gênicas e genômicas, uma nova geração de marcadores tem sido explorada: os SNPs (Polimorfismos de Nucleotídeos Únicos) e pequenas inserções ou deleções, variando de 1 a 3 nucleotídeos, conhecidas como *indels*. Pelo fato de serem altamente abundantes no genoma de qualquer organismo e apresentarem uma lenta taxa de mutação dentro de gerações, esses marcadores prometem uma grande aplicação em processos de genotipagem em larga escala (Useche et al., 2001).

APLICAÇÕES NO MELHORAMENTO GENÉTICO

Os marcadores moleculares contribuíram de forma significativa para o atual nível de conhecimentos sobre a estrutura genética e gênica de várias espécies cultivadas e silvestres. Mapas genéticos saturados aliados às metodologias de mapeamento de genes e QTLs (*Quantitative Trait Loc*) de interesse têm favorecido a identificação, caracterização e manipulação da variabilidade genética. Além de estudos de diversidade genética, os marcadores moleculares têm sido utilizados em programas de retrocruzamento tanto para monitorar a introgressão dos genes de interesse quanto para identificar indivíduos com maior recuperação do genótipo recorrente e com melhor conversão na região próxima ao gene introduzido (Duarte et al., 2003). A caracterização molecular de variedades, linhagens ou híbridos tem sido de grande importância para o processo de proteção de cultivares, cuja informação pode ser diretamente aplicada no programa de conversão de linhagens, seleção de progenitores e avaliação da pureza genética de sementes e linhagens (Padilha, 2002).

Aspectos práticos sobre a utilização de marcadores moleculares no melhoramento do milho serão abordados em maiores detalhes durante a apresentação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BOTSTEIN, D.; WHITE, R.L.; SKOLNICK, M.; DAVIS, R.W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. **American Journal of Human Genetics**, v. 32, p.314-331, 1980.
- DUARTE, J.M; GUIMARÃES, C.T.; LANA, U.G.P.; PACHECO, C.A.P.; GUIMARÃES, P.E.; PAIVA, E. Retrocruzamento assistido por marcadores moleculares para conversão de linhagem de milho normal em QPM. In: 2o. Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas, Porto Seguro, BA. 2003.
- MEKSEM, K.; RUBEN, E.; HYTEN, D.; TRIWITAYAKORN, K.; LIGHTFOOT, D.A. Conversion of AFLP bands into high-throughput DNA markers. **Molecular and Genetic Genomics**, v. 265, p.207-214, 2001.
- PADILHA, L. Marcadores moleculares semi-automatizados na caracterização e determinação da diversidade genética entre linhagens de milho tropical. Tese de Doutorado. UFPA, Belém. 2002.
- PARAN, I.; MICHELMORE, R.W. Development of reliable PCR-based markers linked to downy mildew resistance genes in lettuce. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 85, p. 985-993, 1993.
- USECHE, F.J.; GAO, G.; HARAFEY, M.; RAFALSKI, A. High-throughput identification, database storage and analysis of SNPs in EST sequences. **Genome Informatics**, v. 12, p. 194-203, 2001.
- VOS, P.; HOGERS, R.; BLEEKER, M.; REIJANS, M.; LEE, T.; HORNES, M.; FRIJTERS, A.; POT, J.; PELEMAN, J.; KUIPER, M.; ZABEAU, M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. **Nucleic Acids Research**, v. 23, p.4407-4414, 1995.
- WELSH, J. e McCLELLAND, M. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. **Nucleic Acids Research**, v. 18, p. 7213-7218, 1990.
- WILLIAMS, J.G.K.; KUBELICK, A.R.; LIVAK, K.J.; RAFALSKI, J.A.; TINGEY, S.V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, v. 18, p.6531-6535, 1990.