



OBTENÇÃO DE MARCADORES SSR ASSOCIADOS À ATIVIDADE DAS (1-3, 1-4)-B-GLUCANASES NA CEVADA (*Hordeum vulgare* ssp. *vulgare*)



Janaína E. G. Kraemer¹; Suzana S. Cavalli¹; Euclydes Minella²; Eduardo Caierão²; Noemir Antoniazzi³; José Fernandes Barbosa-Neto⁴

¹ PPG Diagnóstico Genético Molecular, ULBRA, Canoas, RS

² Embrapa-Trigo, Passo Fundo, RS

³ Cooperativa Agrária Mista Entre Rios Ltda, Guarapuava, PR

⁴ Depto. de Plantas de Lavoura, Faculdade de Agronomia, UFRGS, Porto Alegre, RS

INTRODUÇÃO

Na germinação da cevada, a ruptura das paredes celulares do endosperma amiláceo, ou seja, a degradação dos β -glucanos é feita pelas enzimas (1-3, 1-4)- β -glucanases (EC.3.2.1.73). A atividade dessas enzimas reflete diretamente na modificação enzimática do endosperma e na concentração residual dos β -glucanos, sendo estes fatores diretamente relacionados com a qualidade do malte.

O mapeamento de QTLs em "backgrounds" genéticos nacionais podem revelar diferentes locos que afetam estas características, gerando oportunidades adicionais para a seleção assistida por marcadores em programas nacionais de melhoramento.

OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivos:

- mapear regiões cromossômicas associadas à atividade das (1-3, 1-4)- β -glucanases no malte seco e verde, utilizando-se populações duplo-haplóides de cevada, produzidas a partir do cruzamento de variedades brasileiras de cevada;
- obter marcadores SSR associados a estas regiões, visando a utilização dos mesmos em programas de melhoramento.

MATERIAL

Foram analisadas 153 linhas duplo-haplóides de cevada (DH) segregantes quanto à atividade das glucanases no malte seco e verde e foram obtidas a partir da cultura de anteras de plantas F₁ do cruzamento entre Embrapa 127 (alta atividade enzimática) e CEV 96025 (baixa atividade enzimática) para o malte seco e entre MN 698 (alta atividade enzimática) e CEV 97047 (baixa atividade enzimática) para o malte verde.

As linhas DHs e os parentais foram semeados e colhidos em 2002, em três locais distintos Passo Fundo (RS), Víctor Graeff (RS) e Guarapuava (PR) com repetição nos dois primeiros locais.

MÉTODOS

Atividade enzimática

Aproximadamente 25g de sementes de cada linha DH foram micromalteadas e a atividade enzimática medida utilizando-se o kit "Azo Barley Glucan" (Megazyme Ltd., Irlanda) por espectrofotometria.

Genotipagem

Para a seleção dos marcadores microssatélites (SSR) polimórficos entre os pais foram analisados 51 pares de "primers" de microssatélites (SSR). Destes, 17 pares de "primers" mostraram polimorfismo entre os pais no malte seco e 16 pares no malte verde. Os mesmos foram analisados na população segregante.

Após a confecção das PCRs, os padrões microssatélites foram verificados em gel de poliacrilamida 6%, corados com nitrato de prata.

Análises Estatísticas

Para a detecção das regiões cromossômicas associadas à atividade destas enzimas foram inicialmente realizadas a análise da variância do caráter e posteriormente a análise de regressão linear simples.

RESULTADOS

Na população analisada no malte verde a análise de variância mostrou efeitos significativos somente para repetição o que inviabilizou análises futuras para a verificação do efeito de outros fatores para a atividade destas enzimas.

Para a população do malte seco a análise de variância mostrou efeitos significativos para local, genótipo (DH) e interação genótipo X ambiente. Na análise de regressão linear simples foram detectados cinco marcadores SSR associados a regiões cromossômicas envolvidas com a atividade destas enzimas no malte seco, sendo que o marcador mais significativo estatisticamente está no cromossomo 2.

Tabela 1: Regiões cromossômicas associadas à alta atividade das (1-3, 1-4)- β -glucanases no malte seco. São mostrados dados sobre cromossomo (Cr), marcador molecular, local, valor de P, coeficiente de determinação (R²), efeitos aditivos (a) e o pai contribuinte (PC) para a alta atividade enzimática no malte seco.

Cr	Marcador	Local	Valor P	R ²	a	PC
4	HVM40	GUA	0,0388*	0,18	23,27	P ₂
		PF	0,6336	0,00		
		VG	0,7177	0,00		
2	HVM54	GUA	0,8102	0,00	14,76	P ₂
		PF	0,3494	0,00		
		VG	0,0361*	0,04		
2	HVM36	GUA	0,3515	0,00	18,58	P ₁
		PF	0,2720	0,00		
		VG	0,0083*	0,08		
4	HVM77	GUA	0,0310*	0,16	23,14	P ₂
		PF	0,7517	0,00		
		VG	0,2409	0,01		
1	Bmac 0032	GUA	0,8846	0,00	67,70	P ₂
		PF	0,0383*	0,05		
		VG	0,4500	0,00		

CONCLUSÃO

Como a associação do marcador HVM-36 no cromossomo 2 foi significativa em somente um dos locais estudados, sugerindo que este marcador apresente baixo potencial para a seleção assistida em programas de melhoramento genético, novas análises estão sendo realizadas com um maior número de linhas DHs e diferentes tipos de marcadores moleculares, para obtenção de marcadores úteis para uso no melhoramento genético do germoplasma nacional de cevada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- HAN, F.; ULLRICH, S.E.; CHIRAT, S.; MENTEUR, S.; JESTIN, L.; SARRAFI, A.; HAYES, P.M.; JONES, B.L.; BLAKE, T.K.; WESENBERG, D.M.; KLEINHOFS, A.; KILIAN, A. Mapping of B-glucan content and B-glucanase activity loci in barley grain and malt. **Theor. Appl. Genet.**, v.91, p. 921-927, 1995.
- HAYES, P.M.; LIU, B.H.; KNAPP, S.J.; CHEN, F.Q.; JONES, B.L.; BLAKE, T.K.; FRANCKOWIAK J.D.; RASMUSSEN, D.; SORRELLS, M.; ULLRICH, S.E.; WESENBERG, D.M.; KLEINHOFS, A. Quantitative trait locus effects and environmental interaction in a sample of North American barley germplasm. **Theor. Appl. Genet.**, v.87, p. 392-401, 1993.

Órgãos Financiadores

- ULBRA
- AmBev
- CNPq