



DUPLICATAS EM ACESSO DO BANCO ATIVO DE GERMOPLASMA DE TRIGO

ADELIANO CARGNIN¹; MARCOS VENICIUS FABRIS²; JORGE FERNANDO PEREIRA³; LUCIANO CONSOLI⁴;
1,3,4.EMBRAPA TRIGO, PASSO FUNDO, RS, BRASIL; 2.UPF, PASSO FUNDO, RS, BRASIL;
adeliano@cnpt.embrapa.br

Resumo: O trabalho teve por objetivo estimar a existência de variabilidade genética entre duplicatas do acesso de trigo cultivar Frontana conservado em Banco Ativo de Germoplasma da EmbrapaTrigo, Passo Fundo, RS. O estudo foi realizado a partir de amostras de sementes de 12 duplicatas do acesso. A estimativa da existência de variabilidade genética entre as amostras das 12 duplicatas do acesso foi realizada por meio de marcadores moleculares. Baseado nos dados moleculares, com exceção da duplicata 23-33-42, as amostras podem ser consideradas duplicatas do acesso original da cultivar Frontana. No entanto, a não conservação de uma amostra representando todas as duplicatas da cultivar Frontana pode resultar na perda de até 20% dos alelos presentes nos locos analisados.

Introdução

O Banco Ativo de Germoplasma de Trigo (BAG-Trigo) foi instalado na Embrapa Trigo no ano de 1978, haja vista a importância dos recursos genéticos para o desenvolvimento da pesquisa em trigo. Atualmente, mais de 15.000 acessos de trigo são conservados a médio e longo prazo e servem como apoio aos projetos de pesquisa, em especial, aos programas de melhoramento genético. No entanto, com o elevado número de acessos conservados, a não atualização e forma de armazenamento das informações dos dados de passaporte, dados de intercâmbio e movimentação dos acessos em anos passados dificultam o gerenciamento e controle dos acessos existentes no BAG. Estes fatos têm provocado à inclusão de elevado número de duplicatas de alguns acessos. Portanto, se torna de fundamental importância detectar possíveis duplicatas de acessos permitindo melhor gerenciamento da variabilidade genética presente no BAG. Dessa forma, o trabalho teve por objetivo estimar a existência de variabilidade genética entre duplicatas de um mesmo acesso de trigo conservado no Banco Ativo de Germoplasma de Trigo da Embrapa.

Material e Métodos

O trabalho foi realizado na Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS. O estudo foi realizado a partir de sementes de amostras de 12 duplicatas do acesso de trigo cultivar Frontana conservadas no Banco Ativo de Germoplasma de Trigo da Embrapa.



A estimativa da existência de variabilidade genética das amostras das 12 duplicatas do acesso foi realizada por marcadores moleculares. Quarenta plantas foram amostras por acesso para a extração de DNA. O DNA foi extraído pelo método do CTAB, quantificado em gel de agarose e utilizados em reações de PCR com 18 marcadores microsátélites em diferentes misturas de reação e diferentes programas de termociclagem. Os marcadores selecionados são loco específico, assim, considerando a natureza autógama do trigo, espera-se apenas um alelo por loco. Os fragmentos amplificados foram separados por eletroforese capilar na plataforma ABI 3130 e analisados no programa GeneMapper. Os fragmentos foram utilizados para construir um dendrograma utilizando o programa DARwin 5.

Resultados e Discussão

A amplificação com os 18 marcadores SSR resultou na obtenção de 33 alelos. A duplicata 23-33-42 apresentou dez alelos específicos em nove dos 18 locos analisados, sendo a mais distante entre todas (Figura 1). Como a cultivar Frontana é fruto de um cruzamento simples, a observação de mais de dois alelos nos locos observados pode ser usada como indicativo da ocorrência de introgressões na duplicata 23-33-42 durante seu histórico de regeneração/multiplicação. Eliminando essa duplicata, o número de alelos observados passa para 24 nos locos observados. Outros dois grupos foram encontrados nas análises de agrupamento, porém, as diferenças entre as amostras destes grupos não são significantes. Cinco duplicatas (Holanda, Cenargen, Reseleção, 1974-37, CI 012470) apresentaram exatamente os mesmos alelos nos 18 locos analisados sendo que a PI 202790 se diferenciou destes em apenas um loco. Nesse grupo foram observados 19 alelos. As duplicatas Coleção, 683019, Original, 1971-37, e Cimmyt são um pouco mais divergentes sendo que, no total, apresentaram 22 alelos nos 18 locos. Os dois grupos foram separados por diferentes alelos encontrados em seis locos. A formação de diferentes agrupamentos é esperada uma vez que cultivares antigas podem apresentar variabilidade genética intragenotípica oriunda de heterozigose residual. Muitas dessas cultivares antigas foram derivadas de uma única planta selecionada entre as gerações F₄ e F₆. Nestas gerações, a heterozigose presente na descendência está entre 3,1% a 12,5%, resultando na fixação de diferentes alelos ao longo dos ciclos de multiplicação em cada uma das duplicatas. Esse processo irá resultar em uma cultivar que consiste de genótipos mistos, mas relacionados, denominada de multilinhas. A presença de mais de um alelo em estudo com quatro locos foi relatado por Raman et al. (2008) na mesma cultivar Frontana. No entanto, na presente análise, não é a ocorrência de multilinhas que explica a formação dos agrupamentos, mas sim a fixação específica de alelos em 4 dos



18 locos analisados. A ocorrência de multilinhas foi detectada apenas em três duplicatas (PI 202790, Original e Cimmyt) com os marcadores BARC71, WMS261 e WMS155, resultando na presença de 19 alelos para as duas primeiras duplicatas e 22 alelos para a duplicata Cimmyt. A seleção de alelos pode ser explicada pelo tamanho da parcela (número de plantas) usado no processo sucessivo de regeneração/multiplicação. No caso de multilinhas, para a manutenção da riqueza alélica de um acesso um número mínimo de plantas deve ser estabelecido para a manutenção das multilinhas. A escolha ao acaso de uma duplicata, nesse caso, pode representar a perda de 20% dos alelos identificados no conjunto de materiais analisados, resultando numa redução significativa da riqueza alélica presente no material. Somente uma análise detalhada das características fenotípicas destes acessos pode revelar se há manutenção das características reconhecidamente intrínsecas ao Frontana. Nesses casos, outra solução seria manter uma cópia representando todas as duplicatas da mesma cultivar estocadas no BAG, maximizando a manutenção da riqueza alélica inicial do material.

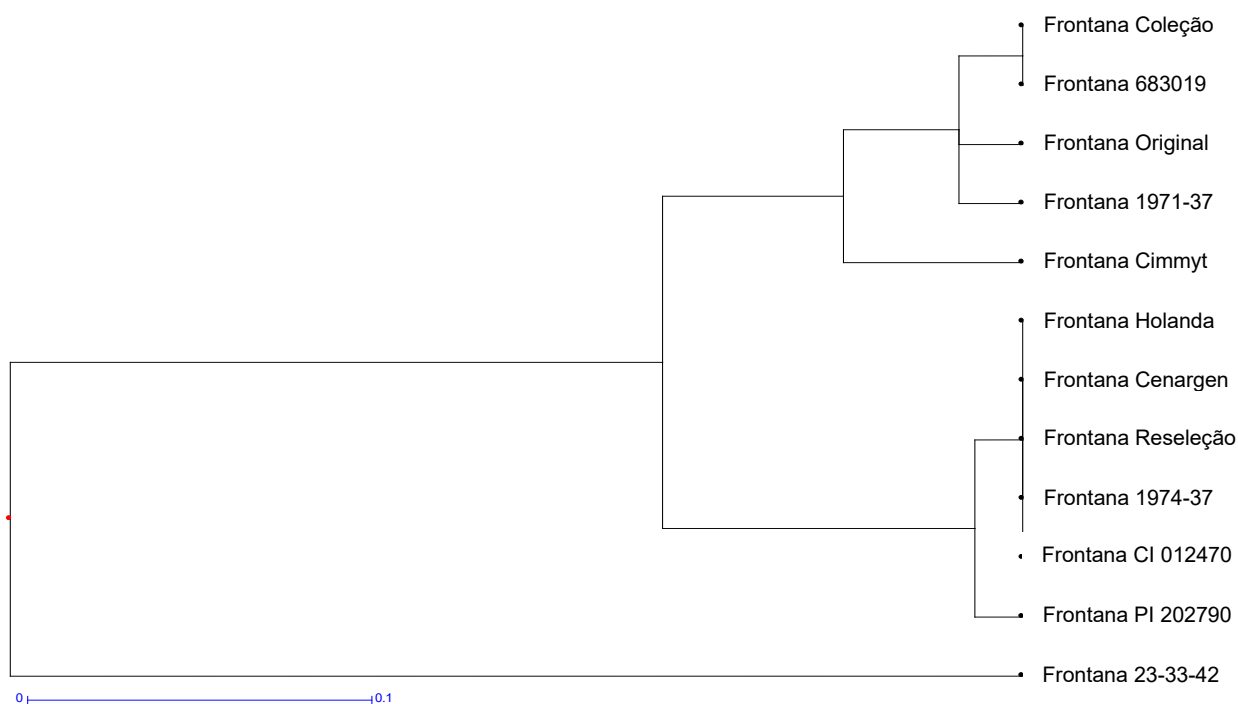


Figura 1: Dendrograma de similaridade genética entre 12 duplicatas do acesso de trigo cultivar Frontana conservados no Banco Ativo de Germoplasma de Trigo da Embrapa.

Conclusão

Baseado nos dados moleculares, com exceção da duplicata 23-33-42, as amostras podem ser consideradas duplicatas do acesso original da cultivar Frontana. No entanto, a não conservação de uma



amostra representando todas as duplicatas da cultivar Frontana pode resultar na perda de até 20% dos alelos presentes nos locos analisados.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq pela bolsa concedida.

Referências Bibliográficas

RAMAN, H.; RYAN, P. R.; RAMAN, R.; STODART, B. J.; ZHANG, K.; MARTIN, P.; WOOD, R.; SASAKI, T.; YAMAMOTO, Y.; MACKAY, M.; HEBB, D. M.; DELHAIZE, E. Analysis of *taalm1* traces the transmission of aluminum resistance in cultivated common wheat (*Triticum aestivum* L.). **Theor. Appl. Genet.** v. 116, p. 343–354, 2008.