



Diversidade genética entre linhagens de milho-pipoca tropical utilizando marcadores SSR

GEÍSA PINHEIRO PAES¹; CIRO MAIA²; ÉDER CRISTIAN MALTA DE LANES³; MAGNO S. F. VALENTE⁴; EVELINE TEIXEIRA CAIXETA⁵; JOSÉ MARCELO SORIANO VIANA⁶;
1,2,3,4,6.UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA, VIÇOSA, MG, BRASIL; 5.EMBRAPA CAFÉ, VIÇOSA, MG, BRASIL;
edercml@gmail.com

Resumo: O objetivo deste trabalho foi avaliar a diversidade genética de dois conjuntos de linhagens derivadas de duas populações de milho-pipoca tropical. Foram genotipadas 48 linhagens, sendo 25 de Viçosa e 23 de Beija-Flor, utilizando 90 locos polimórficos SSR. Foram identificados 342 alelos nos 90 loci avaliados. O número de alelos por locus variou de 2 a 9, com média de 3,8. Os valores do PIC obtidos dos marcadores SSR variou de 0,046 (bnlg2180) a 0,806 (bnlg2248), com média de 0,433. A população Beija-Flor apresentou índices de diversidade genética maiores que Viçosa. Beija-Flor apresentou 46% dos loci avaliados no conjunto de linhagens com PIC acima de 0,5, resultado maior que na população Viçosa que foi de 27%. O índice de diversidade genética foi de 0,412 para Viçosa e 0,485 para Beija-Flor. O método de agrupamento UPGMA utilizando o índice de similaridade de Lynch formou dois grupos distintos com alguns indivíduos pertencentes a grupos diferentes. Em síntese, podemos concluir que o conjunto de linhagens Viçosa e Beija-Flor são molecularmente distintos, apesar de alguns indivíduos pertencerem a grupos diferentes. Os marcadores utilizados foram eficientes na discriminação dos grupos.

Palavras-chave: germoplasma, microssatélites, *Zea mays* L.

Introdução

Estudos de diversidade genética são ainda frequentes no melhoramento vegetal, realizados com diferentes espécies de importância econômica, com objetivos diversos, como identificação de grupos heteróticos (Zheng *et al.* 2008) compreensão do relacionamento genético entre populações adaptadas e exóticas (Xia *et al.* 2005, Menkir *et al.* 2007), associação entre distância genética e heterose e capacidade específica de combinação. Santacruz-Varela *et al.* (2004) estudaram o relacionamento genético entre populações de milho-pipoca dos EUA, mexicanas e da América do Sul, visando compreender sua evolução, concluíram tratar-se de três raças, oferecendo caracteres morfológicos, isoenzimáticos e de polimorfismo de DNA para sua discriminação. Estudos moleculares também são utilizados para avaliar a estrutura das populações em regiões geográficas distintas, como o trabalho de



Bracco *et al.* (2009) realizaram um estudo amplo de diversidade genética, envolvendo seis populações locais de milho-pipoca, oriundas de duas regiões distintas da Argentina. Diante disso o objetivo deste trabalho foi avaliar a diversidade genética de dois conjuntos de linhagens derivadas de duas populações de polinização aberta de milho-pipoca tropical.

Material e Métodos

Neste trabalho foram utilizadas 48 linhagens de milho-pipoca, pertencentes ao Programa Milho-Pipoca UFV, do Departamento de Biologia Geral, originadas de duas populações de milho-pipoca, Viçosa (1-25) e Beija-Flor (26-48). A extração foi feita utilizando o kit de extração da Promega (Wizard® Genomic DNA Purification Kit). As linhagens foram genotipadas com 90 marcadores SSR selecionados no banco de dados do MaizeGDB. A diversidade genética foi avaliada pelos seguintes índices, número total de alelos em todos os loci SSR, número médio de alelos por locus, alelos privados, heterozigosidade esperada, também denominada de diversidade genética (H_e), utilizando o software GeneA1Ex 6 (Genetic Analysis in Excel). O conteúdo de informação polimórfica (PIC) foi estimado pelo software PowerMarker, Version 2.7. O Índice de Similaridade Genética de Lynch (1990) e o método de agrupamento UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) foram utilizados para a formação dos grupos pelo software NTSYSpc 2.21m (Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System).

Resultados e Discussão

Os 90 loci polimórficos de SSR utilizados para a genotipagem das linhagens produziu um total de 342 alelos. O número de alelos por locus variou de 2 a 9, com média de 3,8. Os valores do PIC obtidos dos marcadores SSR variou de 0,046 (bnlg2180) a 0,806 (bnlg2248), com média de 0,433. Verificou-se que 40% dos marcadores apresentaram um valor do PIC maior que 0,5. O PIC de Beija-flor foi o dobro do observado em Viçosa (Tabela 1). Bracco *et al.* (2009) encontraram em 131 indivíduos de milho-pipoca, genotipados com 9 loci SSR, um total de 65 alelos, variando de 3-12 alelos por locus. Em outro estudo Xia *et al.* (2005) encontraram uma média de 7,4 alelos por locus SSR, avaliando 155 linhagens de milho tropical. Considerando o conjunto de linhagens em cada população, o número total de alelos em cada população foi de 269 alelos em Viçosa e 311 em Beija-Flor. A presença de alelos específicos em cada população, denominado de alelos privados, foi maior



em Beija-Flor (0,81) que na população Viçosa (0,34). Beija-Flor apresentou 46% dos loci avaliados no conjunto de linhagens com PIC acima de 0,5, resultado maior que na população Viçosa que foi de 27%. A heterozigosidade esperada, também denominada de índice de diversidade genética (H_e) foi de 0,412 para Viçosa e 0,485 para Beija-Flor. Esse resultado foi intermediário ao encontrado por Bracco *et al.* (2009), avaliando milho-pipoca, encontrou uma variação de 0,221 a 0,656 entre as populações mais divergentes.

Tabela 1 - Parâmetros Alélicos entre os Conjuntos de Linhagens de Viçosa e Beija-flor

Populações	Índices de Diversidade					
	Na	Na Freq $\geq 5\%$	Ne	No	He	PIC
Viçosa	2.989	2.478	1.99	0.344	0.412	0.402
Beija-flor	3.456	3.078	2.257	0.811	0.485	0.808

Na = Número de alelos diferentes; Na (Freq $\geq 5\%$) = No. de alelos diferentes com frequência $\geq 5\%$; Ne = No. efetivo de alelos = $1 / (\sum \pi^2)$; No = Alelos Privados (Alelos Únicos em uma população); He = Heterozigosidade esperada = $1 - \sum \pi^2$; PIC = conteúdo de informação polimórfica.

O índice de similaridade genética de Lynch (1990) variou de 0,48 a 0,84. A relação entre as 48 linhagens foi investigada utilizando o método agrupamento UPGMA (Figura 1).

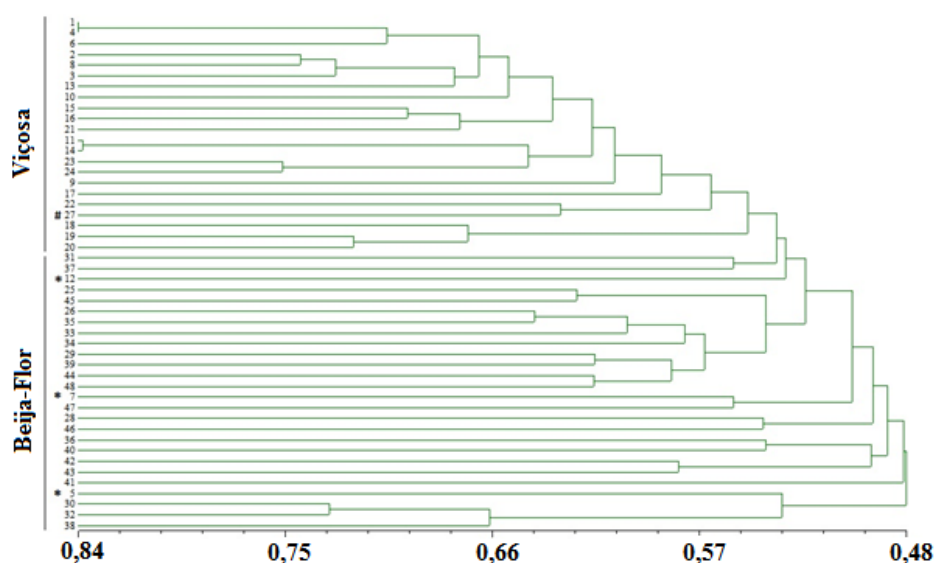


Figura 1 – Dendrograma das 48 linhagens, pelo método de agrupamento UPGMA utilizando o Índice de Similaridade de Lynch (1990).



A análise de agrupamento definiu dois grupos distintos com poucos indivíduos de grupos diferentes. Na população Viçosa observou-se que 21 das 25 linhagens foram definidas em um grupo, contendo apenas uma linhagem de Beija-Flor. No grupo formado pelas linhagens de Beija-Flor apenas três linhagens foram de Viçosa e uma não foi alocada no grupo. Os indivíduos alocados em grupos diferentes sugerem que as duas populações originais possuíam pais em comuns. A formação dos dois grupos de linhagens (Viçosa e Beija-Flor) sugere que elas podem ser usadas como progenitoras em cruzamentos intragrupos. Os marcadores SSR utilizados foram eficientes na separação dos grupos de linhagens originados das diferentes populações. Essa observação também foi semelhante em outros trabalhos (Bracco *et al.* 2009, Zheng *et al.* 2008).

Conclusões

Em síntese, o conjunto de linhagens Viçosa e Beija-Flor são molecularmente distintos, apesar de alguns indivíduos pertencerem a grupos diferentes. Os marcadores utilizados foram eficientes na discriminação dos grupos. A partir dos resultados obtidos, poderão ser formados grupos distintos para a obtenção de novas combinações híbridas, a fim de explorar mais intensamente a heterose.

Agradecimentos

Agradecemos à Fundação de Amparo à Pesquisa do estado de Minas Gerais (FAPEMIG), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Referências Bibliográficas

- BRACCO, M. LIA, V.V., GOTTLIEB, A.M., HERNÁNDEZ, J.C., POGGIO, L. Genetic diversity in maize landraces from indigenous settlements of Northeastern Argentina. **Genetica**, 135: 39-49, 2009.
- LYNCH, M.L. The Similarity Index and DNA Fingerprinting. **Mol Biol Evol**, 7: 478-484, 1990.
- MENKIR A., INGELBRECHT, I., THE, C. Testcross performance and diversity analysis of white maize lines derived from backcrosses containing exotic germplasm. **Euphytica**, 155: 417-428, 2007.



SANTACRUZ-VARELA, A., WIDRLECHNER, M.P., ZIEGLER, K.E., SALVADOR, R.J., MILLARD, M.J., BRETTING, P.K. Phylogenetic Relationships among North American Popcorns and Their Evolutionary Links to Mexican and South American Popcorns. **Crop Science**, 44: 1456-1467, 2004.

XIA, X.C., REIF, J.C., HOISINGTON, D.A., MELCHINGER, A.E., FRISCH, M., WARBURTON, M.L. Genetic Diversity among CIMMYT Maize Inbred Lines Investigated with SSR Markers: I. Lowland Tropical Maize. **Crop Science**, 44: 2230-2237, 2005.

ZHENG, D., VAN, K., LEE, S. Molecular diversity and relationships among elite maize inbreds from US and CIMMYT populations and current heterotic groups in China. **Hereditas**, 145: 182-193, 2008.