



MAPA GENÉTICO DE UMA POPULAÇÃO SEGREGANTE DE *Brachiaria humidicola* (POACEAE)

LUIZ EDUARDO ZANCANARO DE OLIVEIRA¹; MARCO ANTÔNIO FERREIRA²; VERA TAVARES DE CAMPOS CARNEIRO³; DIVA MARIA DE ALENCAR DUSÍ⁴; ZILNEIDE PEDROSA DE SOUZA AMARAL⁵; MARCIO DE CARVALHO MORETZSHON⁶; GLAUCIA SALLES CORTOPASSI BUSO⁷;

1.UNB, BRASILIA, DF, BRASIL; 2,3,4,5,6,7.EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA, BRASILIA, DF, BRASIL;

marco.ferreira@embrapa.br

Resumo: Este trabalho teve o objetivo de conseguir marcadores genético-moleculares relacionados à apomixia, um modo de reprodução assexuada em que há a formação de sementes, a partir de uma população F1 segregante de *Brachiaria humidicola*. Para isto, foram utilizados primers SSR (Simple Sequence Repeats) advindos de bancos de sequências públicas e de sequências de cDNA de *B. brizantha* apomítica que, testados na referida população, forneceram 60 marcadores moleculares ligados à apomixia. Estes marcadores foram empregados na construção de um mapa genético que poderá explicitar a localização do(s) gene(s) que controla(m) a característica nesta gramínea, sendo que já foram obtidos quatro grupos de ligação estatisticamente significativos até o momento. A distância média entre os marcadores obtidos foi de 30,9 cM (centiMorgan). A compreensão dos processos que envolvem esta forma de reprodução pode ter utilidade na fixação de características agronômicas de interesse, sendo, portanto de extrema utilidade na agricultura.

Palavras-chave: apomixia, SSR, marcadores moleculares

Introdução

O gênero *Brachiaria* é de grande importância econômica no Brasil por ser bastante utilizado como planta forrageira. A espécie *B. humidicola* é importante por possuir alta tolerância ao encharcamento, ser resistente à cigarrinha das pastagens e proporcionar boa cobertura do solo, pelo rápido crescimento dos estolões. Não exige solos de alta fertilidade, e a produção de forragem situa-se entre 8,0 e 15 ton de matéria seca por ha.ano. As plantas poliploides deste gênero se reproduzem por apomixia apospórica facultativa, em que células somáticas do óvulo dão origem, por divisões mitóticas, a um saco embrionário não reduzido (DALL'AGNOL & SCHIFINO-WITTMANN, 2005). Acredita-se que a aposporia neste gênero seja dominante em relação à sexualidade, e que seja controlada por um fator mendeliano simples. Entretanto, como há diferenças na ploidia entre plantas sexuais (diploides) e apomíticas (poliploides), o melhoramento tradicional de plantas não pode ser empregado, o que poderia ser contornado com a identificação da apomixia por marcadores moleculares e mapeamento genético. Estes marcadores podem ser obtidos a partir de uma população segregante



oriunda do cruzamento de genitores de características contrastantes (CARNEIRO & VIEIRA, 2002). Como em *B. humidicola* há a ocorrência de indivíduos tetraploides sexuais e apomíticos, estes podem ser cruzados e a população segregante, estudada. A segregação ocorre na proporção 1:1 para o modo de reprodução (apomítico/sexual). A frequência de recombinantes indicará a distância entre dois locos (marcadores) ao longo de determinado cromossomo, possibilitando seu mapeamento. Marcadores do tipo microssatélites (SSR), utilizados neste trabalho, são codominantes, multialélicos, apresentam alta reprodutibilidade e alto grau de polimorfismo detectado. Oitenta e quatro primers SSR, originados de bancos de sequências públicas e de sequências de cDNA de *B. brizantha* apomítica foram obtidos por LIRA et al. (2010). O objetivo deste trabalho foi estudar a localização destes marcadores em grupos de ligação para possibilitar o mapeamento de apomixia na população de *Brachiaria* estudada.

Material e métodos

Um cruzamento, feito na Embrapa Gado de Corte, entre dois acessos de *B. humidicola*, BH016 (genitor masculino, apomítico) e BH031 (genitor feminino, sexual) originou 124 indivíduos segregantes, que tiveram seu DNA extraído e diluído para a concentração de 3 ng/μL. Oitenta e quatro primers SSR, originados de bancos de sequências públicas e de sequências de cDNA de *B. brizantha* apomítica (LIRA et al, 2010), foram otimizados utilizando-se dois indivíduos aleatórios da população e temperatura de anelamento variando entre 48 e 58°C. Destes, quarenta e nove foram selecionados e testados nos 124 indivíduos da população segregante, juntamente com os genitores e mais dois híbridos, um sexual e um apomítico. O resultado da reação em cadeia da polimerase (PCR) foi analisado em gel de agarose à concentração de 3,5% corado com brometo de etídio e submetido a uma corrente eletroforética para separação dos fragmentos amplificados. Utilizando-se o programa de mapeamento Mapmaker Macintosh versão 2.0 (LANDER et al., 1987), foi analisada a segregação dos marcadores obtidos. Foi utilizado LOD mínimo de 3.0, fração máxima de recombinação de 0.4 e função de mapeamento de Kosambi.

Resultados e discussão

Sessenta marcadores SSR polimórficos foram obtidos a partir da análise dos resultados revelados em gel de agarose. Apesar de terem sido utilizados marcadores microssatélites, codominantes, estes foram analisados como se fossem dominantes, devido à poliploidia da espécie. Por meio da utilização do programa Mapmaker, os marcadores foram distribuídos em quatro grupos de ligação estatisticamente significativos (Fig. 1), ou seja, com três ou mais marcadores cada. Considerando todos

os grupos, a distância média entre os marcadores obtidos foi de 30,9 cM. Houve uma maior concentração deles em um grupo específico (B2), provavelmente, devido ao fato de terem sido utilizados primers já desenvolvidos com a finalidade de se mapear a região-apo em *Brachiaria*.

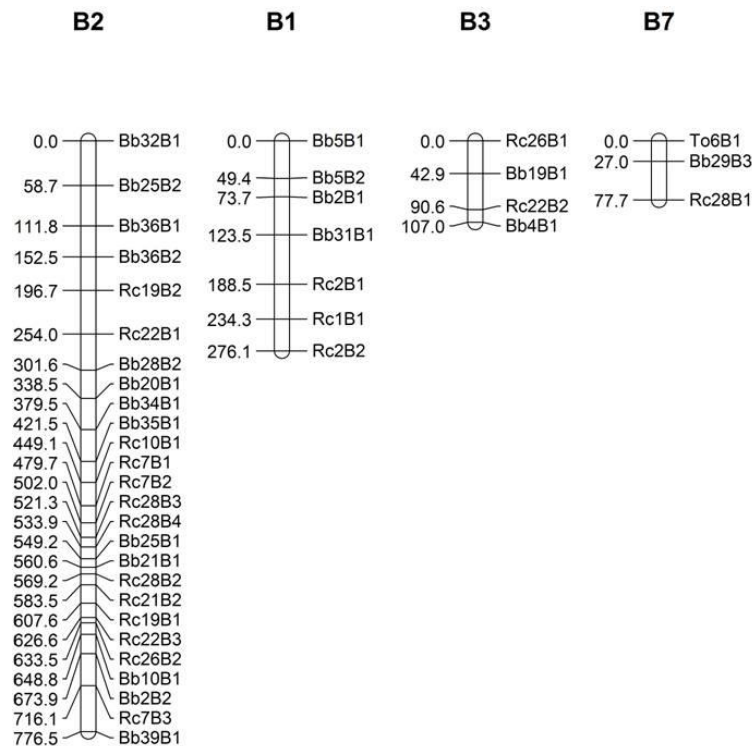


Figura 1: Grupos formados utilizando-se 126 indivíduos segregantes de *B. humidicola* e 60 marcadores SSR. O programa MapMaker 2.0 foi utilizado com LOD mínimo de 3.0, fração máxima de recombinação de 0.4 e função de mapeamento de Kosambi (B2, B1, B3, B7 são os números dos grupos de ligação).

Conclusões

A utilização de primers SSR previamente desenvolvidos para apomixia em *B. brizantha* permitiu a obtenção de sessenta marcadores moleculares em cento e trinta acessos de *B. humidicola*, suficientes para a formação de quatro grupos de ligação. Mais marcadores moleculares serão obtidos, a partir de primers ISSR de milho (*Zea mays*), para que se possa aumentar o número de grupos formados, permitindo o mapeamento da região-apo em *B. humidicola*.

Referências bibliográficas

CARNEIRO, M.S & VIEIRA, M.L.C. **Mapas genéticos em plantas**. Bragantia, Campinas, v. 61, n. 2, 89-100, 2002.



DALL'AGNOL, M & SCHIFINO-WITTMANN, M. T. **Apomixia genética e melhoramento de plantas.** R. bras. Agrociência, Pelotas, v.11, n. 2, p. 127-133, abr-jun, 2005.

LANDER, ES., GREEN, P., ABRAHAMSON, J., BARLOW, A., DALY, M.J., et al. (1987). **MAPMAKER-An interactive computer package for constructing primary genetic linkage maps of experimental and natural populations.** Genomics 1, 174–181.

LIRA, M. T. R., CARNEIRO, VERA TAVARES DE CAMPOS, VALLE, C. B., MORETZSOHN, MÁRCIO DE CARVALHO, FERREIRA, MARCO ANTONIO, AMARAL, Z. P., BUSO, G. S. C. **Marcadores EST- SSR e ISSR para mapeamento da apomixia e estudos de diversidade em Brachiaria.** In: I Congresso Brasileiro de Recursos Genéticos, 2010, Salvador. Anais do I Congresso Brasileiro de Recursos Genéticos. Salvador: , 2010. v.1. p.179 – 179.