

Estudo da diversidade genética de cultivares de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench)
selecionados para eficiência do uso de nitrogênio

Maria José V. de Vasconcelos¹, Célio V. Moreira², Fredolino G. dos Santos¹, Robert E. Schaffert¹, Ivanildo E. Marriel¹

¹ Embrapa Milho e Sorgo, C.P. 151 - 35.701-970 - Sete Lagoas, MG, Brasil. E-mail: mjose@cnpms.embrapa.br

² Bolsista de Aperfeiçoamento Fapemig

Palavras-chave: RAPD, Nitrogênio, distancia genética.

Introdução

O melhoramento de plantas, em todo mundo, baseia-se na habilidade de se poder selecionar indivíduos que manifestam determinadas características de interesse. Portanto, a existência de variabilidade é condição essencial para o sucesso de qualquer programa de melhoramento. Geralmente, a determinação do grau de variabilidade entre os diferentes genótipos, bem como o monitoramento dos caracteres de interesse, tem sido feitos através de análise visual. Mesmo assim, tem-se conseguido variedades melhoradas de alta qualidade.

Melhoristas e geneticistas têm, por muito tempo, proposto o uso de marcadores genéticos como ferramenta na caracterização de diferentes genótipos (“Fingerprint”) e também na seleção indireta para o rastreamento de caracteres de interesse. Em várias espécies de plantas, têm-se utilizado isoenzimas e outras proteínas como marcadores para genes responsáveis por algumas características qualitativas e quantitativas como a produtividade e a tolerância ao alumínio.

Extraordinário progresso tem sido alcançado nas análises de estrutura genética do genoma de Eucariotos superiores. A disponibilidade de marcadores moleculares de DNA permite a cobertura completa de todo o genoma, com crescentes aplicações no mapeamento e diagnóstico genético, taxonomia molecular e em estudos evolucionários (Hu and Quiros, 1991; Haley *et al.*, 1994; Vilarinhos *et al.* 1994; Vasconcelos *et al.* 1996). Com o recente advento das técnicas de análise de DNA através do PCR (Polymerase Chain Reaction), vários trabalhos de análise da estrutura genética entre e dentro de populações têm sido desenvolvidos, complementando os dados morfológicos e de isoenzimas disponíveis para várias espécies vegetais, gerados nos estudos de melhoramento e de conservação genética.

Para superar essas limitações, utilizamos marcadores moleculares do tipo RAPD (“Random Amplified Polymorphic DNA”) para estudar vinte e cinco cultivares de sorgo utilizadas como progenitores no programa de melhoramento de sorgo do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo (Embrapa milho e sorgo).

Material e Métodos

Vinte e quatro cultivares de sorgo com eficiência diferencial para uso de nitrogênio (EUN) (Tabela 1) do programa de melhoramento da Embrapa Milho e Sorgo, selecionadas dentro de um grupo de 400 genótipos caracterizados sob estresse de Nitrogênio, foram usadas neste trabalho. As plantas foram crescidas em solução nutritiva, as folhas coletadas e armazenadas a -80 °C até a extração dos DNAs. Os DNAs foram amplificados com 25 diferentes “primers” (Operon Technologies, CA, USA). Os produtos de amplificação (DNAs) foram separados em gel de agarose 1,2%, corados com brometo de etídio e fotografados. Os dados foram analisados usando-se o programa estatístico, STATISTICA for Windows, v. 5.0.

Tabela 1. – Lista dos 24 cultivares de sorgo (*Sorghum bicolor*(L.) Moench)

| Número | Cultivares | EUN ¹ | Número | Cultivares | EUN ¹ |
|--------|------------------|------------------|--------|------------------|------------------|
| 01 | IPA 1011 | 549 | 13 | IS 2511 1 | 327 |
| 02 | 3Dx57/1/1910 | 534 | 14 | IS 8147 - | 323 |
| 03 | FBS 8701-09 | 527 | 15 | - IS 12537C | 283 |
| 04 | 156-8-5-serere | 511 | 16 | IS 12658C | 269 |
| 05 | FBS 8701-16 | 461 | 17 | IS 12685C | 245 |
| 06 | FBS 8701-06 | 420 | 18 | FBS 8701-07 (| 203 |
| 07 | FBS 8701-10 | 402 | 19 | IS12570C | 192 |
| 8 | (101x136) 46-1-2 | 362 | 20 | FBS 8701-72 | 190 |
| 9 | (101x136) 45-1-1 | 354 | 21 | 102x136) 20-1-C | 173 |
| 10 | IS 2508C | 343 | 22 | (101x136) 37-1-3 | 131 |
| 11 | 101x136) 4-1-2 | 339 | 23 | IS 6350 | 102 |
| 12 | 101x136) 43-2-1S | 328 | 24 | IS 5322 | 93 |

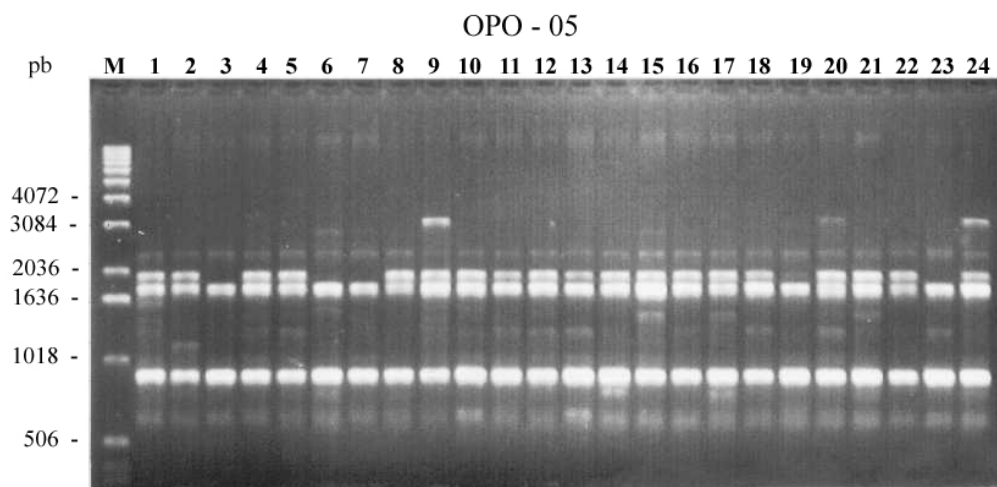
¹EUN= kg de grãos produzidos / kg de N aplicado no solo, sob condições de campo. Valores médios de 2 anos.

Resultados e Discussão

As amostras de DNA dos tecidos foliares de 24 cultivares de sorgo selecionados para eficiência no uso de nitrogênio foram amplificados usando-se a técnica de RAPD (Williams et al., 1990; Welsh and McClelland, 1990). A Figura 1 mostra os produtos de amplificação dos 24 cultivares de sorgo usando o “primer” OPO - 05. Vinte e cinco oligonucleotídeos foram usados e geraram um total de 111 bandas amplificadas, 47 polimórficas e 64 monomórficas. Destes 25 oligonucleotídeos, cinco “primers” não apresentaram polimorfismo após amplificação. Os produtos gerados na amplificação foram usados para estimar a distância genética entre as linhagens elites selecionadas pelo programa de melhoramento para Nitrogênio. As distâncias genéticas variaram de 6,38% a 57,45%. Os cultivares “3Dx57/1/1910 e FBS 8701-72” foram os

mais distantes geneticamente, 57,45%. A menor distancia genética foi de 6,38% entre os cultivares FBS 8701 e FBS 8701-10. Baseados nestes resultados é possível concluir que existe sete diferentes grupos (Tabela 2) entre os genótipos em estudo, como mostra a árvore filogenética da Figura 2.

Figura 1. Produto de amplificação do DNA dos 24 cultivares de milho usando-se o oligonucleotídeo decâmico OPO – 05



Para melhor entendimento da variação genética dos genótipos foram feitas análises de agrupamento baseadas nas distâncias genéticas entre os genótipos. Ao nível de 35% os cultivares foram agrupadas em sete grupos distintos (Figura 2). O primeiro e o segundo grupo foram compostos de um membro cada, cultivar número 14 e 11 respectivamente. Os genótipos de número 15, 17 e 21 formaram o terceiro grupo. O quarto grupo foi composto pelos genótipos de número 13 e 20. O quinto grupo teve sete membros, genótipos de número 08, 09, 12, 16, 18, 22 e 24. O grupo seis foi formado por seis membros, números 03, 06, 07, 10, 19 e 23. O último grupo composto por quatro membros, números, 01, 02, 04 e 05. Estes resultados sugerem a importância do conhecimento não só da origem mas também da similaridade entre os genótipos que foram selecionados para eficiência e ineficiência ao uso de nitrogênio.

Tabela 2. Distribuição em grupos. Análise de agrupamento baseadas nas distâncias genéticas dos cultivares de milho selecionados para uso eficiente de nitrogênio.

| Grupo | Genótipos |
|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| G1 | FBS 8701-72 |
| G2 | IS12570C |
| G3 | (101x136) 4-1-2; (102x136) 20-1-C; IS 12685C |
| G4 | (101x136) 43-2-1; IS 6350 |
| G5 | FBS 8701; FBS 8701-06; FBS 8701-10; IS 2508C; IS 12658C; FBS 8701-07 |
| G6 | (101x136) 46-1-2; (101x136) 45-1-1; IS 8147; IS 12537C; (102x136) 20-1-C; IS 5322; (101x136) 37-1-3 |
| G7 | IPA 1011; 3Dx57/1/1910; 156-8-5-serere; FBS 8701-16 |

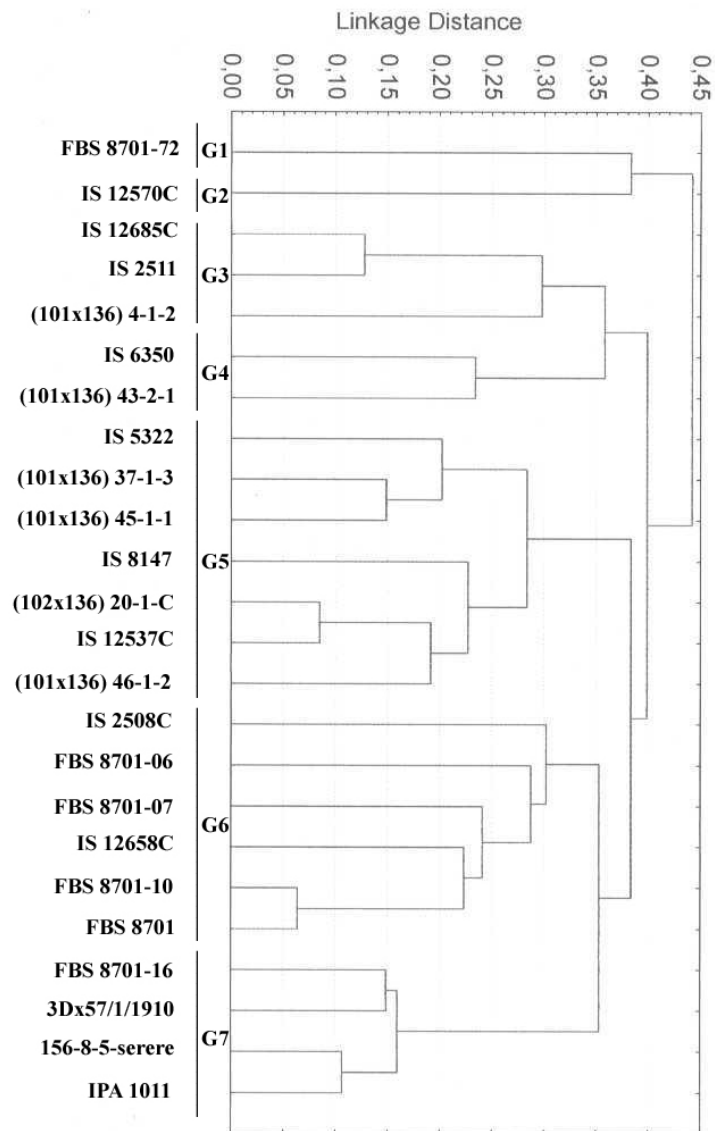


Figura 2. Dendrograma construído baseado na distancia genéticas de 24 cultivares de sorgo (UPGMA). Grupos A e B foram obtidos considerando a dissimilaridade máxima de 45% enquanto que os sub grupos G1, G2, G3, G4, G5, G6 e G7 foram obtidos considerando o limite máximo de 45%.

Literatura citada

HALEY, S.D.; MIKLAS, P.N.; AFANADOR, L and KELLY, J.D. Random amplified polymorphic dna (RAPD) marker variability between and within gene pools of common bean. **J.Amer. Soc. Hort. Sci.** 119: 122-125. 1994.

- HU, J. and QUIROS, C.F. Identification of broccoli and cauliflower cultivars with RAPD markers. **Plant Cell Rep.** 10: 505-511. 1991.
- VASCONCELOS, M.J.V.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. and VIEIRA, C. Genetic diversity of the common bean *Phaseolus vulgaris*, L. determined by DNA-based molecular markers. **Brazilian Journal of Genetics**, 19 (3) 447-451 1996.
- VILARINHOS, A.D.; BARROS, E.G.; PAIVA, E.; SEDIYAMA, C.S. and MOREIRA, M.A. Use of the random amplified polymorphic DNA technique to characterize soybean (*Glycine max* (L) Merrill). **Rev. Bras. Genet.** 17: 7213-7218. 1994.
- WELSH, J. & McCLELLAND, M.. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. **Nucleic Acids Research**, 18(24) : 7213-8, 1990.
- WILLIAMS, J. G. K.; KUBELIK, A. R.; LIVAK, K. J.; RAFALSKI, J. A.; TINGEY, S. V.. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, 18(22) : 6531-5, 1990.