

VARIABILIDADE GENÉTICA DE GENÓTIPOS DE CANA-DE-AÇÚCAR COM BASE EM MARCADORES MOLECULARES

Luciana Sobral de Souza¹, Fabio Gelape Faleiro², Adeliano Cargnin², Graciele Bellon³ e Thomaz Adolpho Rein²

Resumo

O objetivo deste trabalho foi estimar a variabilidade genética de 20 genótipos de cana-de-açúcar, por meio de marcadores moleculares RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA). O DNA genômico de cada acesso foi extraído e doze primers decâmeros foram utilizados para a obtenção de marcadores moleculares RAPD, que foram convertidos em uma matriz de dados binários, a partir da qual foram estimadas as distâncias genéticas entre os acessos e realizadas análises de agrupamento e de dispersão gráfica. Foi verificada variabilidade genética entre os 20 genótipos de cana-de-açúcar e uma tendência de agrupamento relacionada ao programa de melhoramento genético de origem dos genótipos.

Introdução

A cana-de-açúcar é de grande importância para a agricultura brasileira e mundial. A utilização de variedades melhoradas é o que tem permitido contínuo avanço na elevação da produtividade agroindustrial brasileira, mantendo o Brasil na liderança mundial (Dieese, 2008). A variabilidade genética é de extrema importância em programas de melhoramento genético, sobretudo na identificação de combinações híbridas de maior heterozigose (Silva, 2006). O uso de marcadores moleculares é uma ferramenta valiosa, por permitir rápido, preciso e acurado estudo da variabilidade existente, detectando as variações diretamente no DNA, possibilitando comparar diferentes genótipos quanto à variabilidade existente.

Recentemente, está em execução na Embrapa Cerrados e parceiros o projeto “Cana-de-açúcar nos Cerrados: Avaliação de cultivares, manejo do solo e da água, e impactos socioeconômicos e ambientais”. Este projeto contribuirá com relação ao aprimoramento dos sistemas de produção de cana-de-açúcar nos cerrados e desenvolvimento sustentável do setor sucroalcooleiro na região. A avaliação de alguns dos genótipos de cana-de-açúcar que poderão ser indicados para os diferentes ambientes de produção em áreas de expansão da região dos cerrados, para as quais informações com relação ao comportamento não estão disponíveis, permitirá quantificar a interação genótipo-ambiente e identificar materiais de comportamento previsível e que sejam responsivos às variações ambientais. Para complementar tais informações dos genótipos avaliados neste projeto, realizou-se este trabalho com o objetivo de estimar a variabilidade genética entre os genótipos de cana-de-açúcar com base em marcadores RAPD.

Material e Métodos

Foram analisados 20 genótipos de cana-de-açúcar, procedentes de diferentes programas de melhoramento, os quais estão sendo avaliados em diferentes ambientes de produção em áreas de expansão da cana-de-açúcar na região dos cerrados. Os genótipos são apresentados na tabela 1.

O DNA genômico de cada genótipo foi extraído utilizando o método do CTAB, com modificações (FALEIRO *et al.*, 2003). A concentração e a quantidade do DNA foram estimadas por espectrofotometria a 260 nm (SAMBROOK *et al.*, 1989) e a relação A_{260}/A_{280} utilizada para avaliar a pureza e a qualidade do DNA extraído. *Primers* decâmeros foram utilizados para a obtenção de marcadores moleculares RAPD (Tabela 2). Os marcadores foram convertidos em uma matriz de dados binários, a partir da qual foram estimadas as distâncias genéticas entre os genótipos com base

¹ Bióloga/Bolsista do CNPq. Embrapa Cerrados BR 020, Km 18, Caixa Postal 08223, 73010-970 Planaltina, DF Endereço eletrônico: lusobral@cpac.embrapa.br

² Pesquisador da Embrapa Cerrados, BR 020, Km 18, Caixa Postal 08223, 73010-970 Planaltina, DF. Endereço eletrônico: ffaleiro@cpac.embrapa.br, adeliano@cpac.embrapa.br, rein@cpac.embrapa.br

³ Eng. Agr. Mestre em Ciências Agrárias/Bolsista do CNPq. Embrapa Cerrados, BR 020, Km 18, Caixa Postal 08223, 73010-970 Planaltina, DF Endereço eletrônico: bellon@cpac.embrapa.br

no complemento de similaridade de Nei & Li (1979), utilizando-se o Programa Genes (CRUZ, 1997) e realizadas análises de agrupamento por meio de dendrograma, utilizando-se o método UPGMA (Unweighted pair-group arithmetic average) como critério de agrupamento e a dispersão gráfica baseada em escalas multidimensionais usando o método das coordenadas principais, com auxílio do programa SAS (SAS Institute Inc.,1989) e Statistica (Stat Soft Inc,1999).

Resultados e Discussão

Os 14 *primers* decâmeros utilizados no estudo geraram um total de 202 marcadores RAPD, sendo que desses 105 (52%) foram polimórficos, evidenciando a existência de variabilidade genética e a eficiência da técnica de RAPD na detecção da variabilidade genética presente nos 20 genótipos estudados. O *primer* que proporcionou o maior número de bandas polimórficas foi o OPE-16, com 18 bandas, sendo que o OPD-04 não evidenciou nenhuma banda polimórfica (Tabela 2). As distâncias genéticas entre os 20 genótipos de cana-de-açúcar variaram entre 0,049 e 0,179. As menores distâncias genéticas foram verificadas entre os genótipos IAC 913186 e IAC 862480 (0,049), ambos originários do programa de melhoramento do Instituto Agrônomo de Campinas (IAC). A maior distância genética foi verificada entre os genótipos SP 791011 e SP 801842 (0,179), originários do programa de melhoramento do Centro de Tecnologia Canavieira (CTC).

A partir da análise de agrupamento (Figura 1) realizada com base nas distâncias genéticas, subdividiu-se os 20 genótipos em pelo menos 6 grupos de similaridade genética a uma distância genética relativa de 0,095. O primeiro grupo foi formado por apenas um genótipo, RB 867515 do programa de melhoramento da RIDESA - Rede Interuniversitária para o Desenvolvimento do Setor Sucroalcooleiro (RB). O segundo grupo foi formado, em sua maioria, por genótipos originários do programa de melhoramento da RIDESA e apenas um genótipo originário do programa de melhoramento do CTC (SP 841431). O terceiro grupo foi formado por dois genótipos da Ridesa (RB 965911 e RB 855536). O quarto grupo foi formado, em sua maioria, por genótipos do programa de melhoramento do IAC, um genótipo (RB 855156) da RIDESA e um genótipo (SP 801816) do CTC. O quinto e sexto grupo foram compostos, unicamente, por genótipos do programa do CTC, SP 791011 e SP 801842, respectivamente. Desta forma, foi possível constatar que, dentre os genótipos analisados, aqueles originários do programa de melhoramento do CTC possuem maior base genética. Este fato pode ser confirmado com base na análise de dispersão (Figura 2). O gráfico evidencia uma tendência de agrupamento dos genótipos dentro da base genética de cada programa de melhoramento, com exceção dos genótipos do programa do CTC. De fato, o banco de germoplasma do programa de melhoramento do CTC possui maior número de acessos que os demais programas além de ser composto na maioria por acessos não melhorados e representantes das várias espécies de cana-de-açúcar.

É importante ressaltar que, em tais estudos, deve-se aliar as informações obtidas por meio de técnicas moleculares ao desempenho dos genótipos em condições de cultivo, orientando as avaliações a campo. Assim, as informações obtidas nesse trabalho irão complementar a avaliação agrônoma desses genótipos nas condições de cerrado, que já foi iniciada. Tais informações serão valiosas para identificar fontes de genes para utilização futura que, além de prevenir a perda desses recursos, também poderão ser de grande importância para o desenvolvimento da cultura no Cerrado.

Conclusões

Com base em marcadores RAPD, foi verificada e quantificada a existência de variabilidade genética entre os genótipos de cana-de-açúcar.

Os resultados de agrupamento e dispersão evidenciaram a tendência de agrupamento dos genótipos de acordo com o programa de melhoramento de origem.

Referências

- CRUZ, C.D. *Programa Genes: aplicativo computacional em genética e estatística*. Viçosa: UFV. 1997. 442p.
- DIEESE. Departamento Intersindical de Estatísticas e Estudos Socioeconômicos. Contato 2008 (www.dieese.org.br) <acesso em maio de 2008>

FALEIRO, F.G., LUZ, E.D.M.N., CERQUEIRA, A.O., ROCHA, C.S.S. Uso de marcadores RAPD como ferramenta auxiliar na classificação de isolados de *Phytophthora* spp. causadores da podridão parda do cacauzeiro no Brasil. *Fitopatologia Brasileira*, v. 28, n. 3, p.312-315, 2003.

NEI, M.; LI, W. H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proceedings of the the National Academy of Science of the United States of America, Washington, v. 76, n. 10, p. 5269-5273. 1979.

SAMBROOK, J.;FRITSCH, E.F.;MANIATS, T. 1989. *Molecular cloning: a laboratory manual*. 2 ed. NewYork: Cold Spring Harbor. 653p.

SAS INSTITUTE. SAS/STAT user`s guide. Version 6, 4th. Ed. Cary, North Caroline, 1989. 846 p.

SILVA, P. P. *Divergência genética em genótipos de cana-de-açúcar (Saccharum spp.) através de caracteres morfoagronômicos e por marcadores moleculares*. 2006. 96p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo-AL.

STATSOFT INC. *Statistica for Windows [Computer program manual]* Tulsa, OK. StatSoft Inc. 2300 Ecast 14th Street, Tulsa. 1999.

Tabela 1 - Genótipos de cana-de-açúcar e seus respectivos programas de melhoramento

Tubo	Genótipos	Programa de melhoramento
1	RB 867515	RIDESA (RB)
2	RB 925345	RIDESA (RB)
3	RB 835486	RIDESA (RB)
4	RB 72454	RIDESA (RB)
5	RB 935744	RIDESA (RB)
6	RB 925268	RIDESA (RB)
7	RB 758540	RIDESA (RB)
8	RB 946022	RIDESA (RB)
9	RB 965911	RIDESA (RB)
10	RB 855536	RIDESA (RB)
11	RB 855453	RIDESA (RB)
12	SP 791011	CENTRO DE TECNOLOGIA CANAVIEIRA (CTC)
13	SP 841431	CENTRO DE TECNOLOGIA CANAVIEIRA (CTC)
14	IAC 862210	INSTITUTO AGRONÔMICO DE CAMPINAS (IAC)
15	IAC 873396	INSTITUTO AGRONÔMICO DE CAMPINAS (IAC)
16	RB 855156	CENTRO DE TECNOLOGIA CANAVIEIRA (CTC)
17	IAC 913186	INSTITUTO AGRONÔMICO DE CAMPINAS (IAC)
18	IAC 862480	INSTITUTO AGRONÔMICO DE CAMPINAS (IAC)
19	SP 801842	CENTRO DE TECNOLOGIA CANAVIEIRA (CTC)
20	SP 801816	CENTRO DE TECNOLOGIA CANAVIEIRA (CTC)

Tabela 2 - *Primers* utilizados para obtenção dos marcadores RAPD e respectivos números de bandas polimórficas e monomórficas

Primer	Seqüência 5´→3´	Nº bandas polimórficas	Nº bandas monomórficas
OPD-04	TTGGCACGGG	6	0
OPD-07	GTGTGCCCCA	8	5
OPD-08	AGGGCGTAAG	10	9
OPD-16	AGGGCGTAAG	3	11
OPE-16	GGTGACTGTG	5	18
OPE-20	AACGGTGACC	2	12
OPF-01	ACGGATCCTG	4	7
OPF-14	TGCTGCAGGT	11	5
OPG-05	CTGAGACGGA	5	9
OPG-08	TCACGTCCAC	7	7
OPG-15	ACTGGGACTC	11	6
OPG-17	ACGACCGACA	10	6
OPH-12	ACGCGCATGT	8	4
OPH-19	CTGACCAGCC	7	6
TOTAL		97	105

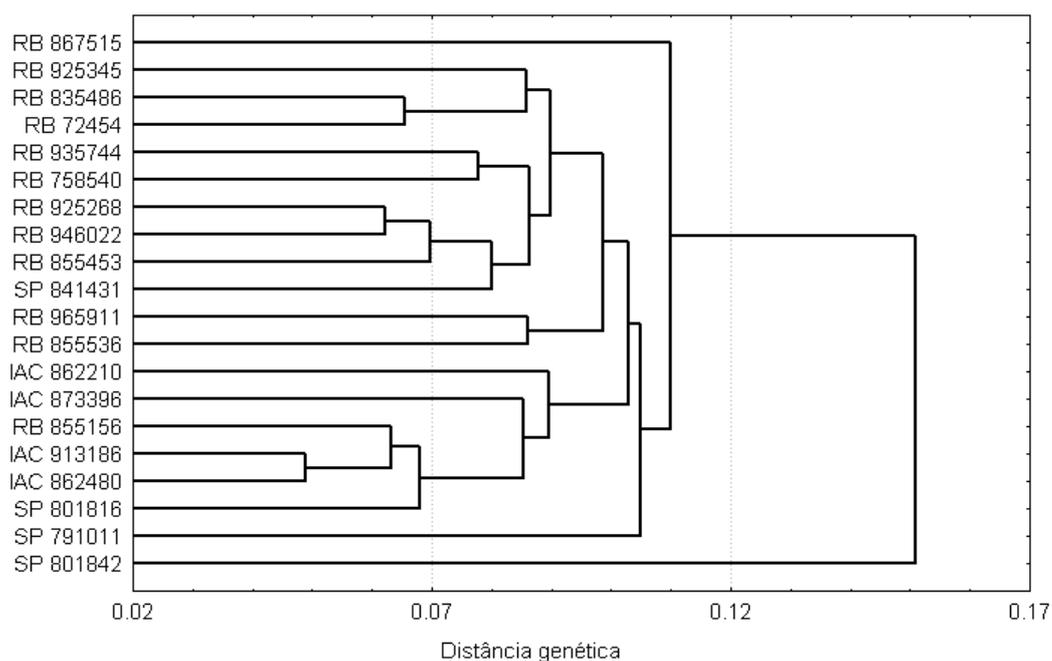


Figura 1 - Análise de agrupamento de 20 genótipos de cana-de-açúcar, com base na matriz de distâncias genéticas calculadas utilizando-se 202 marcadores RAPD. O método do UPGMA foi utilizado como critério de agrupamento.

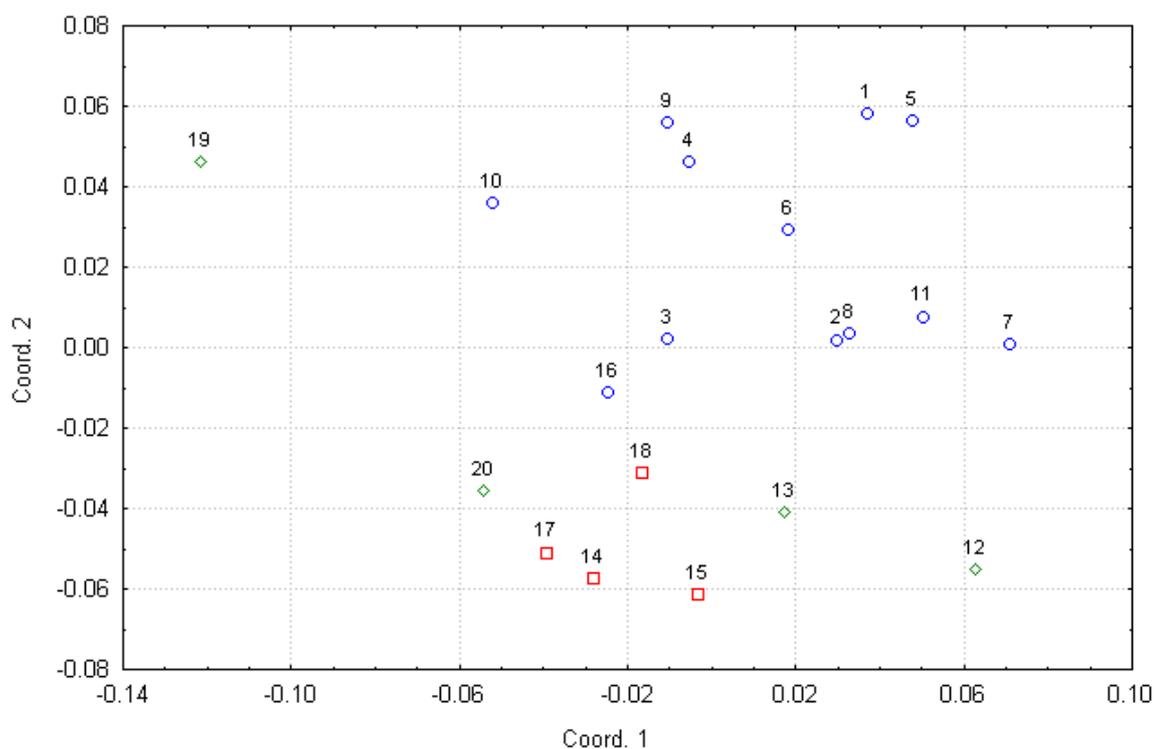


Figura 2 - Dispersão gráfica de 20 genótipos de cana-de-açúcar com base na matriz de distâncias genéticas calculadas utilizando-se 202 marcadores RAPD. RIDESA (○), IAC (□) e CTC (◇).