

Caracterização Citogenética do Banco Ativo de Germoplasma de Capim-elefante da Embrapa

Tadiana Luiza Fernandes, Carolina de Souza Fonseca², Ana Luisa Sousa Azevedo³,
Juliane Dornellas Nunes³, Juarez Campolina Machado³, Francisco José da Silva Lédo³, Antonio Vander
Pereira³, Fausto de Souza Sobrinho³, Flávio Rodrigo Gandolfi Benites³

Resumo

O objetivo do presente trabalho foi realizar a caracterização citogenética por meio da determinação do conteúdo de DNA dos acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Capim-elefante da Embrapa (BAGCE). A caracterização foi realizada em 94 acessos do BAGCE e na cultivar Pioneiro por meio da citometria de fluxo. O conteúdo de DNA foi estimado utilizando como padrão de referência interno, a soja (*Glycine max*). Observou-se que a quantidade de DNA entre os acessos variou de 4,3pg a 5,9pg. O acesso BAGCE 55 apresentou quantidade de DNA diferente dos demais, equivalente a 8,79pg. A diferença na quantidade de DNA dos acessos possibilitou a divisão destes em três grupos distintos (A, B e C). Apesar de ter havido a divisão dos acessos em grupos, a quantidade de DNA presente nos grupos B e C foi próxima e, além disso, ambos apresentaram conteúdo de DNA de acordo com os valores já relatados para *Pennisetum purpureum*. Com base nos resultados obtidos conclui-se que há variabilidade genética entre os acessos do BAGCE para o conteúdo de DNA. O elevado conteúdo de DNA do acesso BAGCE 55 subsidia sua classificação como uma espécie selvagem de *Pennisetum*.

Introdução

O capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) é uma espécie forrageira nativa do continente Africano, que foi introduzida no Brasil no início do século XX (Daher *et al.* 1997). Por apresentar características de elevado potencial de produção de matéria seca, valor nutritivo, qualidade, palatabilidade, vigor, persistência e versatilidade de usos, o capim-elefante é considerado uma das forrageiras mais importantes (Soares *et al.* 1999; Pereira *et al.* 2008).

A Embrapa Gado de Leite foi responsável pela criação do Banco Ativo de Germoplasma de Capim-elefante (BAGCE) no início da década de 1980 e a principal função deste banco é a conservação da variabilidade genética do gênero *Pennisetum*. Caracterizações e avaliações morfológica, agrônômica e molecular dos acessos do BAGCE foram realizadas, sendo essas avaliações eficientes em diferenciar os acessos e separá-los em grupos relativamente homogêneos.

A caracterização citogenética por meio da avaliação do conteúdo de DNA dos acessos é importante para ampliar as informações sobre o germoplasma conservado e consequentemente promover o uso da variabilidade genética em programas de melhoramento e/ou pré-melhoramento genético de capim-elefante (Machado *et al.* 2012).

O objetivo do trabalho foi determinar o conteúdo de DNA dos acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Capim-elefante da Embrapa por meio da citometria de fluxo.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no Laboratório de Genética Vegetal da Embrapa Gado de Leite, localizado em Juiz de Fora, Minas Gerais, nos meses de Junho a Setembro de 2012. Foi avaliado o conteúdo de DNA de 94 acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Capim-elefante da Embrapa (BAGCE), e da cultivar Pioneiro (testemunha). Os genótipos foram cultivados em vasos plásticos de 9,0 L com substrato contendo mistura de solo, areia e esterco na proporção 1:1:1, em casa de vegetação. De cada acesso retirou-se amostra constituída de três folhas jovens.

Para análise das amostras, foram triturados em placa de Petri, com o auxílio de um bisturi, 20-30 mg de tecido foliar jovem, com a mesma quantidade de tecido foliar jovem do padrão interno de referência *Glycine max* (soja), juntamente com 800 µL de solução tampão LB01 para obtenção de suspensão nuclear (Dolezel 1997). Após a trituração total dos tecidos foliares, estes foram aspirados por uma pipeta descartável juntamente com duas camadas de gaze, e em seguida, a suspensão foi filtrada em uma malha de 50 µm.

Foram adicionados à suspensão nuclear 25µL de iodeto de propídio e 25µL de RNase.

As amostras foram analisadas no citômetro FACS Calibur (Becton Dickinson). Os histogramas foram obtidos no software Cell Quest e analisados no software WinMDI 2.8 (disponível em: <http://facs.scripps.edu/software.html>). O conteúdo de DNA nuclear (pg) das amostras foi estimado por comparação com a posição em relação ao pico G1 do padrão interno de referência *Glycine max* (2,5pg). Foram analisados pelo menos 10 mil núcleos de cada amostra.

Para cada acesso, três amostras foram avaliadas, sendo cada uma delas considerada como uma repetição. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente ao acaso. Foram obtidos o desvio padrão fenotípico, o desvio padrão da amostra e o intervalo de confiança. Também foi realizado teste de comparação de médias de Scott e Knott a 5 % de probabilidade. Todas as análises estatísticas foram realizadas com auxílio do Programa Genes (Cruz *et al.* 2006).

Resultados e Discussão

Foram detectadas diferenças no conteúdo de DNA dos acessos do BAGCE (Figura 1). Dos 95 genótipos analisados, observou-se que, 94 deles possuem quantidade de DNA que variou entre 4,3 pg e 5,9 pg. O conteúdo de DNA do capim-elefante é de 4,6 pg, portanto, os resultados encontrados estão de acordo com o relatado na literatura (Martel *et al.* 1997). O acesso BAGCE 55 apresentou conteúdo de DNA de 8,79 pg.

O acesso BAGCE 55, cujo nome comum é Kizozí, possuía identificação no BAGCE como sendo da espécie *P. purpureum* ($2n=4x=28$ cromossomos). Apesar de ser semelhante morfológicamente aos demais acessos que constituem o BAGCE, concluiu-se que não se trata de um representante da espécie *P. purpureum*, mas sim, uma espécie selvagem do gênero *Pennisetum* (Techio 1998). A maior quantidade de DNA observada no BAGCE 55 está diretamente relacionada a variações cromossômicas numéricas já relatadas neste acesso (Davide *et al.* 2007). Estes resultados subsidiam a reclassificação do acesso na coleção de germoplasma, e evidenciam a importância da caracterização citogenética no manejo e conservação de germoplasma.

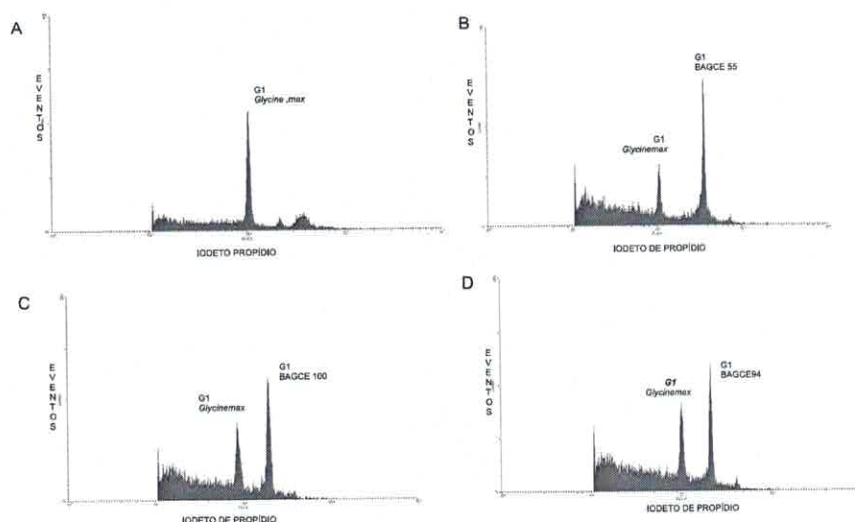


Figura 1 Histograma de citometria de fluxo para quantificação de DNA. A) Pico G1 do padrão de referência *Glycine max*. B) Pico G1 do acesso BAGCE 55 equivalente a 8,79pg. C) Pico G1 do acesso BAGCE 100 equivalente a 5,85pg. D) Pico G1 do acesso BAGCE 94 equivalente a 5,18pg

Devido à variação do conteúdo de DNA entre os acessos do BAGCE, foram formados três grupos estatisticamente distintos (Tabela 1). O grupo A, é composto exclusivamente pelo acesso BAGCE 55, já discutido anteriormente. No grupo B, o acesso que apresentou maior conteúdo de DNA foi o BAGCE 29 com 5,94 pg. O menor conteúdo de DNA foi observado no acesso BAGCE 49, correspondente a 5,37 pg.

A diferença da quantidade de DNA entre o BAGCE 29 e o BAGCE 49 foi de 0,56 pg. Entre os acessos do grupo C, o BAGCE 39 foi o acesso com maior conteúdo de DNA, equivalente a 5,36 pg e o acesso Pioneiro com menor quantidade, referente a 4,31 pg. A diferença entre o maior e o menor valor, foi de 1,05 pg.

A ampla variabilidade genética existente dentro do gênero *Pennisetum*, pode ter levado às diferenças no conteúdo de DNA entre os acessos do BAGCE, e, além disso, pode estar relacionada com as diferentes procedências dos mesmos. Constatou-se que os grupos B e C são diferentes (estatisticamente), porém, ambos apresentam conteúdo de DNA que se encontram dentro do padrão existente na literatura para *P. purpureum* (Martel et al. 1997). Em relação às médias de tais grupos (5,62 pg e 5,11 pg respectivamente), foi observado que a diferença entre elas foi de 0,5 pg. Apesar de os acessos terem sido divididos em três grupos distintos, o conteúdo de DNA dos acessos dos grupos B e C é próxima.

Com base nos resultados obtidos conclui-se que há variabilidade genética entre os acessos do BAGCE para o conteúdo de DNA. O acesso BAGCE 55 apresenta diferença do conteúdo de DNA esperado para a espécie *P. purpureum*.

Tabela 1 Estimativas do conteúdo de DNA de acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Capim-elefante da Embrapa

Acessos	Conteúdo de DNA (pg)	Acessos	Conteúdo de DNA (pg)	Acessos	Conteúdo de DNA (pg)
BAGCE 55	8,79 a ¹	BAGCE 16	5,32 c	BAGCE 06	5,11 c
BAGCE 29	5,94 b	BAGCE 30	5,31 c	BAGCE 99	5,11 c
BAGCE 33	5,90 b	BAGCE 60	5,30 c	BAGCE 127	5,09 c
BAGCE100	5,85 b	BAGCE 71	5,30 c	BAGCE 07	5,08 c
BAGCE 26	5,82 b	BAGCE 04	5,29 c	BAGCE 17	5,08 c
BAGCE 24	5,79 b	BAGCE 22	5,29 c	BAGCE 20	5,08 c
BAGCE 96	5,78 b	BAGCE 98	5,26 c	BAGCE 51	5,08 c
BAGCE 36	5,77 b	BAGCE 25	5,26 c	BAGCE 91	5,08 c
BAGCE 74	5,73 b	BAGCE 80	5,25 c	BAGCE 101	5,07 c
BAGCE 82	5,71 b	BAGCE 72	5,24 c	BAGCE 66	5,07 c
BAGCE 32	5,66 b	BAGCE 102	5,22 c	BAGCE 21	5,06 c
BAGCE 35	5,66 b	BAGCE 126	5,22 c	BAGCE 75	5,06 c
BAGCE 95	5,62 b	BAGCE 65	5,22 c	BAGCE 62	5,06 c
BAGCE 97	5,62 b	BAGCE 92	5,22 c	BAGCE 88	5,05 c
BAGCE 58	5,61 b	BAGCE 14	5,20 c	BAGCE 18	5,05 c
BAGCE 31	5,59 b	BAGCE 13	5,20 c	BAGCE 40	5,05 c
BAGCE 27	5,55 b	BAGCE 79	5,20 c	BAGCE 68	5,05 c
BAGCE 15	5,54 b	BAGCE 70	5,18 c	BAGCE 86	5,04 c
BAGCE 34	5,53 b	BAGCE 94	5,18 c	BAGCE 08	5,04 c
BAGCE 77	5,52 b	BAGCE 11	5,16 c	BAGCE 64	5,02 c
BAGCE 57	5,51 b	BAGCE 56	5,16 c	BAGCE 73	5,01 c
BAGCE 83	5,51 b	BAGCE 38	5,16 c	BAGCE128	5,01 c
BAGCE 02	5,51 b	BAGCE 03	5,16 c	BAGCE 37	5,00 c
BAGCE 23	5,47 b	BAGCE 19	5,15 c	BAGCE 12	5,00 c
BAGCE 52	5,46 b	BAGCE 59	5,15 c	BAGCE 76	4,98 c
BAGCE 53	5,46 b	BAGCE 54	5,15 c	BAGCE 61	4,93 c
BAGCE 05	5,46 b	BAGCE 67	5,15 c	BAGCE 63	4,93 c
BAGCE 85	5,43 b	BAGCE 129	5,15 c	BAGCE 01	4,90 c

BAGCE 49	5,38 b	BAGCE 78	5,14 c	BAGCE 69	4,74 c
BAGCE 39	5,36 c	BAGCE 93	5,12 c	BAGCE 10	4,61 c
BAGCE 50	5,34 c	BAGCE 09	5,12 c	Pioneiro	4,31 c
BAGCE 28	5,32 c	BAGCE 81	5,12 c		

¹Médias seguidas pela mesma letra pertencem ao mesmo grupo pelo teste de Scott e Knott a 5% de probabilidade.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo apoio financeiro.

Referências

- Cruz, CD (2006) **Programa GENES: Biometria**. Editora UFV.
- Davide LC et al. (2007) Variação cromossômica numérica em *Pennisetum*. **Ciência e Agrotecnologia** 2: 398-405.
- Daher RF et al. (1997) Diversidade morfológica e isozimática em capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.). **Revista Brasileira de Zootecnia** 2: 255-264.
- Dolezel J (1997) Application of flow cytometry for the study of plant genomes. **Journal of applied Genetics** 3:285-302.
- Machado JC et al. (2012) **Banco ativo de germoplasma de capim-elefante: Avaliação da resistência à cigarrinha-das-pastagens e tolerância à toxidez por alumínio**. (Embrapa Gado de Leite. Documentos, 159). 27 p.
- Martel E et al. (1997) Genome size variation and basic chromosome number in Pearl Millet and fourteen related *Pennisetum* species. **Journal of Heredity** 2: 139-143.
- Pereira AV, Léo FJS (2008) Melhoramento genético de *Pennisetum purpureum*. In: Resende RMS, Valle CB and Jank L (eds.) **Melhoramento de Forrageiras Tropicais**. Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, p. 89-113.
- Soares JPG et al. (1999) Capim-Elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) sob duas doses de nitrogênio. Consumo e produção de leite. **Revista Brasileira de Zootecnia** 4: 889-897.
- Techio VH (1998) **Citotaxonomia de algumas espécies e de híbridos interespecíficos de *Pennisetum***. 112 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

70 Congresso
Brasileiro de
Melhoramento
de Plantas

Variedade Melhorada:
A força da nossa agricultura

05 a 08 de agosto de 2013
Center Convention - UBERLÂNDIA - MG



ISBN: 978.85.8179.043-5