

ANÁLISE DE SIMILARIDADE GENÉTICA ENTRE VARIEDADES DE ARROZ IRRIGADO (*Oryza sativa* L.) DESENVOLVIDAS PELA EMBRAPA CLIMA TEMPERADO COM BASE EM MARCADORES AFLP

Adriana Pires Soares Bresolin¹; Juliana Severo Castelo Branco¹; Ariano de Magalhães Junior²; Renata Juliana Ahlert¹; Maurício Marini Kopp¹; Claudete Mistura¹; Naciele Marini¹; Emília Malone¹; Fernando Irajá Félix de Carvalho¹; Antonio Costa de Oliveira¹, ¹Centro de Genômica e Fitomelhoramento FAEM/ UFPel, Caixa Postal 354, Cep: 96.001-970
²EMBRAPA – Clima Temperado Estação Experimental de Terras Baixas
spadri@pop.com.br

O arroz (*Oryza sativa* L.) é um dos cereais mais importantes no mundo e seu cultivo ocorre em todos os continentes (ABADIE et al., 2005). No Brasil as maiores áreas de cultivo estão localizadas na região Sul do país (1,27 milhões de hectares). Sendo o Estado do Rio Grande do Sul o principal produtor com uma área estimada de 1,04 milhões de hectares, o que corresponde a 78% da área cultivada com arroz nesta região (IBGE, 2006). O crescente aumento na produtividade alcançado no Estado deve-se a intensas pesquisas desenvolvidas visando o melhoramento genético e a tecnologias empregadas na lavoura de arroz irrigado geradas pela pesquisa agropecuária.

A Embrapa Clima Temperado, desde 1972, participou do desenvolvimento de 16 cultivares de arroz irrigado recomendadas para cultivo no Rio Grande do Sul. Sendo estes cultivares lançados em escala comercial para determinadas condições edafoclimáticas, com caracteres de interesse comum a uma região específica, provavelmente estas constituições genéticas revelem conteúdos genéticos relacionados, o que pode acarretar em restrição na variabilidade genética. Desta forma, como o êxito de um programa de melhoramento fundamenta-se na existência de variabilidade genética, a utilização destes materiais não seria apropriada. O padrão de seleção dos genitores ocorre basicamente em função do fenótipo; no entanto, este além de influenciado pelo ambiente, interage com o mesmo, dificultando o sucesso da seleção. Visando superar esta limitação, o uso de marcadores moleculares torna-se uma importante ferramenta para auxiliar na seleção de genitores, uma vez que pode-se obter informações diretamente do genoma sem a interferência do ambiente.

O marcador molecular baseado no polimorfismo de comprimento de fragmentos amplificados (AFLP) tem sido bastante utilizado, principalmente ao nível de estudos acadêmicos. Isso se deve principalmente a capacidade deste marcador em acessar a variabilidade em nível de genoma, de detectar um grande número de fragmentos por reação o que possibilita uma amostragem ampla e simultânea do genoma tornado a técnica mais específica e por apresentar considerável repetibilidade. (SPOONER et al., 2005).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a similaridade genética de genótipos pertencentes à coleção de base do programa de melhoramento genético da Embrapa Clima Temperado - Estação Experimental de Terras Baixas assumindo como hipótese, a semelhança entre alguns genótipos. O trabalho foi realizado no Laboratório de Genômica do Centro de Genômica e Fitomelhoramento (CGF) da FAEM/UFPel, localizado no município do Capão do Leão/RS. O DNA foi extraído a partir de tecido vegetal jovem de 16 indivíduos, cada um representando uma cultivar, utilizando tampão CTAB. A análise de AFLP foi realizada segundo protocolo descrito por VOS et al., (1995). Fez-se o uso de reagentes do Kit AFLP® Analysis System I, (Gibco/BRL). Foram empregadas cinco combinações de *primers*: *EcoRI* / *MseI* (E-AAG / M-CTT); (E-ACT / M-CAA); (E-AGG / M-CAC); (E-ACA / M-CAT) e (: E-AGG / M-CAT). As reações de PCR (reações de polimerase em cadeia) foram realizadas em termociclador PT100, conforme recomendado pelo fabricante (AFLP Analysis System I, Gibco/BRL). Os fragmentos amplificados e separados eletroforéticamente em gel desnaturante de poliacrilamida a 6% corado com nitrato de

prata, seguindo protocolo descrito por CRESTE et al., (1999). Os marcadores AFLP foram identificados por presença (1) e ausência (0). Com base na leitura dos géis foi construída uma matriz binária. A similaridade genética entre os genótipos foi estimada utilizando o coeficiente de Dice. Com base nos coeficientes de similaridade foram construídos os dendrogramas com a adoção do critério de agrupamento o método de UPGMA. Foi estimado o coeficiente de correlação cofenética (r) entre a matriz de similaridade e o dendrograma. A estabilidade estatística do agrupamento foi computada por meio da análise de *bootstrapping* com 1000 replicações, com a utilização do programa computacional Winboot. As análises dos dados foram realizadas com auxílio do programa computacional NTSYS pc 2.1 (ROHLF, 2001).

Na caracterização dos 16 genótipos no trabalho, através do emprego de cinco combinações de *primers* foi possível visualizar um total de 150 fragmentos polimórficos. Cada combinação de *primer* produziu em média 30 fragmentos polimórficos, sendo o maior número de bandas verificado para a combinação de *primers* (E-AAG / M-CTT) que produziu um total de 57 bandas. O nível de polimorfismo verificado entre as cultivares foi de 85,22%. A análise de similaridade genética, baseada nos coeficientes de similaridade, permitiu a construção de um dendrograma (Figura 1), que revelou uma similaridade média entre os genótipos de 33%. O emprego da similaridade média como critério para a definição dos agrupamentos, propiciou a visualização de quatro grupos distintos: (I) cultivar Firmesa; (II) cultivar Ligeirinho; (III) cultivares Chui, IRGA 411, Querência, Agrisul, IRGA 414, IRGA 413, IRGA 410, IRGA 412, Taim, IRGA409, Pelota e Bojuru e (IV) cultivares Atalanta e Formosa. O coeficiente de correlação cofenética (r) foi de 0,93 o que indica uma alta correlação entre a matriz de similaridade o e dendrograma construído.

Na avaliação geral dos agrupamentos o destaque foi a cultivar Firmesa (grupo I) como a de menor similaridade com todas as demais cultivares avaliadas, seguida pela cultivar Ligeirinho (grupo II). Dentro do grupo (III), que foi o que concentrou o maior número de genótipos, as cultivares IRGA 410 e IRGA 413 foram as mais similares, ainda dentro do mesmo grupo podem ser classificadas as cultivares menos similares que foram Chui e Bojuru. Já o grupo (IV) as cultivares Atalanta e Formosa formaram um agrupamento com 0,45 de similaridade. Dentre os 16 genótipos avaliados molecularmente, não foram encontrados genótipos idênticos nem tão pouco, genótipos com elevada similaridade (Figura 1). Apesar destes cultivares terem sido selecionados para alguns caracteres morfológicos e condições de ambiente comuns, neste estudo utilizando marcadores acessados em regiões aleatórias do genoma e representados por um grande número de *loci* polimórficos podemos constatar a existência de variabilidade genética entre as cultivares em estudo. Considerando como ponto chave para o melhoramento genético a existência de variabilidade, através da identificação de indivíduos com baixa similaridade genética, podem ser procedidas técnicas utilizando estes indivíduos contrastantes e dessa forma selecionar uma progênie segregante com elevada heterozigose, gerando uma gama de variabilidade que pode ser de grande utilidade na seleção de caracteres agrônômicos de interesse.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- BADIE, T.; CORDEIRO, C.M.T.; FONSECA, J.R. et al. Construção de uma coleção nuclear de arroz para o Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.40, n.2, p.129-136, 2005.
- CRESTE, S.; TULMANN NETO, A.; FIGUEIRA, A. Detection of single sequence repeat polymorphism in denaturing polyacrylamide sequencing gels by silver staining. **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 19, p. 299-306. 2001.

IBGE. Censo agropecuário, 2006. Disponível na Internet: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp?z=t&o=1&i=P>. Acesso em 25 de maio de 2007.

ROHLF, J. NTSYS-pc. **Numerical taxonomy and multivariate analysis system**. Version. 2.1. New York: Exeter, 2001.

SPOONER, D., van TREUREN, R. and VICENTE de, M.C. **Molecular markers for genebank management**. IPGRI Technical Bulletin No.10. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy, 2005. 126p.

VOS, P.; HOGERS, R.; BLEEKER, M.; REIJANS, M.; van de LEE, T.; HORNES, M.; FRIJTERS, A.; POT, J.; PELEMAN, J.; KUIPER, M.; ZABEAU, M. AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. **Nucleic Acids Research**, London, v.23, n.21, p.4.407-4.414. 1995.

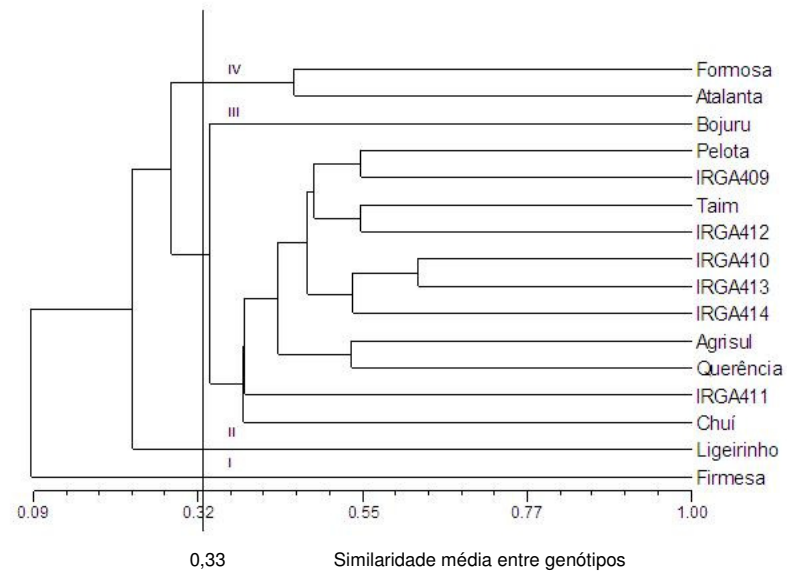


Figura 1. Análise do agrupamento de 16 cultivares de arroz irrigado da Embrapa Clima Temperado, por meio da matriz de similaridade calculada através de marcadores AFLP, utilizando o índice de similaridade de Dice e pelo método de agrupamento UPGMA. Coeficiente de correlação cofenética (r) = 0,93