



CARACTERIZAÇÃO DE VINTE E CINCO ACESSOS DE *Panicum maximum* ATRAVÉS DE MARCADORES MICROSSATÉLITES

Boaventura, L.R¹.; Sousa, A.C.B¹.; Campos, T¹.; Junk, L².; Souza, A.P^{1,3}

¹Centro de Biologia Molecular e Engenharia Genética (CBMEG) – Laboratório de Análise Genética e Molecular, UNICAMP, Campinas CEP 13083-970

²EMBRAPA Gado de Corte, Campo Grande/MS

³Depto. de genética e Evolução (DGE), Instituto de Biologia (IB), UNICAMP, Campinas CEP 13083-970

E-mail: lorenaboaventura@gmail.com

INTRODUÇÃO

No Brasil, o agronegócio da pecuária de corte depende significativamente de animais criados em pastos, o que nos confere uma vantagem competitiva em relação aos diversos países produtores, devido ao menor custo e boa qualidade do produto, sem o risco de aparecimento de uma série de enfermidades associadas à nutrição animal.

Entre as principais forrageiras cultivadas, destaca-se *Panicum maximum*. É uma espécie tetraplóide ($2n=32$ ou 36), com número básico de 8 a 9 cromossomos, e se reproduz por apomixia facultativa.

Apesar de ser bastante estudada sob aspectos agrônômicos, pouco é conhecida do ponto de vista genético. A EMBRAPA Gado de Corte, Campo Grande-MS, desenvolve um programa de melhoramento genético para esta espécie. Através deste programa, pode-se esperar elevados incrementos em produção, alguma diminuição na estacionalidade da produção, a incorporação de hábito estolonífero, resistência a doenças, entre outras características. Portanto, nosso objetivo é avaliar a diversidade genética através de marcadores microssatélites, em vinte e cinco genótipos tetraplóides de *P. maximum* presentes no banco ativo de germoplasma da Embrapa Gado de Corte – MS.

MATERIAL E MÉTODOS

Material Vegetal: Vinte e cinco genótipos foram obtidos na EMBRAPA Gado de Corte, Campo Grande-MS. Os acessos foram coletados, liofilizados, moídos e armazenados a -20°C .

Extração de DNA: O material liofilizado foi empregado para extração de DNA, utilizando-se o método CTAB, segundo Hoisington et al., (1994).

Caracterização dos microssatélites: Foram selecionados 10 SSRs polimórficos para caracterizar 25 genótipos tetraplóides de *P. maximum*. As reações de PCR foram constituídas de: 20 mM de Tris-HCl pH 8.4; 50mM de KCl, 1.5 mM de MgCl₂; 0.15 mM de cada dNTP; 0.8 mM de cada *primer*; 10 ng de DNA e 0.1U de Taq DNA polimerase, utilizando-se termocicladores PTC 100 da MJ Research. O programa utilizado para amplificação consistiu de: 94°C 1 min, 30 X (94°C 1 min; $X^{\circ}\text{C}$ 1 min; 72°C 1 min) e 72°C 5 min, sendo $X^{\circ}\text{C}$ a temperatura utilizada para anelamento dos *primers*. Os produtos amplificados foram genotipados em géis de poli-acrilamida 6%, corados com prata (Creste et al., 2001).

RESULTADOS

Foram analisados 25 genótipos de *P. maximum*, os quais foram selecionados com base nas características agrônômicas de interesse dos melhoristas.

Foram utilizados 10 marcadores microssatélites. A figura 1 mostra o perfil do loco 1PMs35 em 25 acessos de *P. maximum*. Os genótipos exibiram alelos bastante diferentes entre si para cada loco de microssatélite avaliado. O número de alelos/loco variou de 2 a 7.

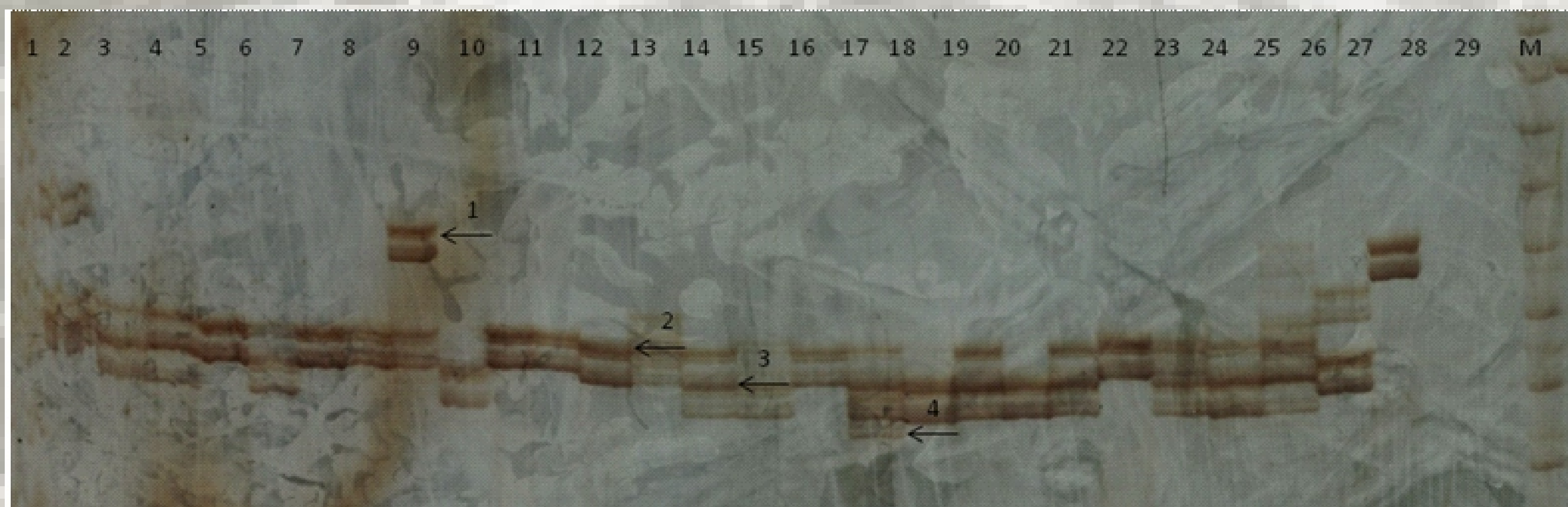


Figura 1. Padrões de amplificação em gel de poli-acrilamida a 6,0% do loco 1PMs35. Os números de 1 a 25 correspondem a identidade dos genótipos em estudo, os números 26 a 29 correspondem a genótipos de *Brachiaria* e *Paspalum*. No poço M está o marcador 10pb.

Os valores de PIC variaram entre 0 e 1 sendo que o maior valor apresentado foi 0,92 (2PMc222) e o menor foi 0,43 (1PMs35). O Poder discriminatório (PD) é um algoritmo usado pra comprovar a eficiência de marcadores para identificação varietal. O microssatélite 2PMc40 (1,00) foi o maior PD encontrado enquanto o 1PMs35 (0,70) apresentou o menor valor dos dez marcadores testados.

Tabela 1: Valores de PIC, He e PD presentes nos genótipos de *Panicum maximum*

SSRs	PIC	He	PD
1PMs43	0,58	0,61	0,81
1PMc1.1	0,46	0,53	0,79
1PMs35	0,43	0,54	0,70
1PMc1	0,53	0,6	0,83
1PMc72	0,57	0,62	0,88
2PMc8a	0,66	0,71	0,93
1PMc61.2	0,78	0,8	0,97
2PMc252	0,79	0,81	0,97
2PMc40	0,89	0,91	1,00
2PMc222	0,91	0,92	0,99

Além dos 25 genótipos de *P. maximum* foram utilizados dois genótipos de *Brachiaria sp.* (26 e 27) e dois de *Paspalum sp* (28 e 29) para testar transferibilidade entre as espécies.

Observou-se uma perfeita amplificação dos microssatélites desenvolvidos para *P. maximum* nos genótipos de *Brachiaria* e *Paspalum*, utilizados como grupo externo, mostrando a possibilidade de transferibilidade, mesmo que baixa, entre as espécies avaliadas. Analisando o dendrograma, foi possível observar alto grau de polimorfismo entre os genótipos tetraplóides de *P. maximum*.

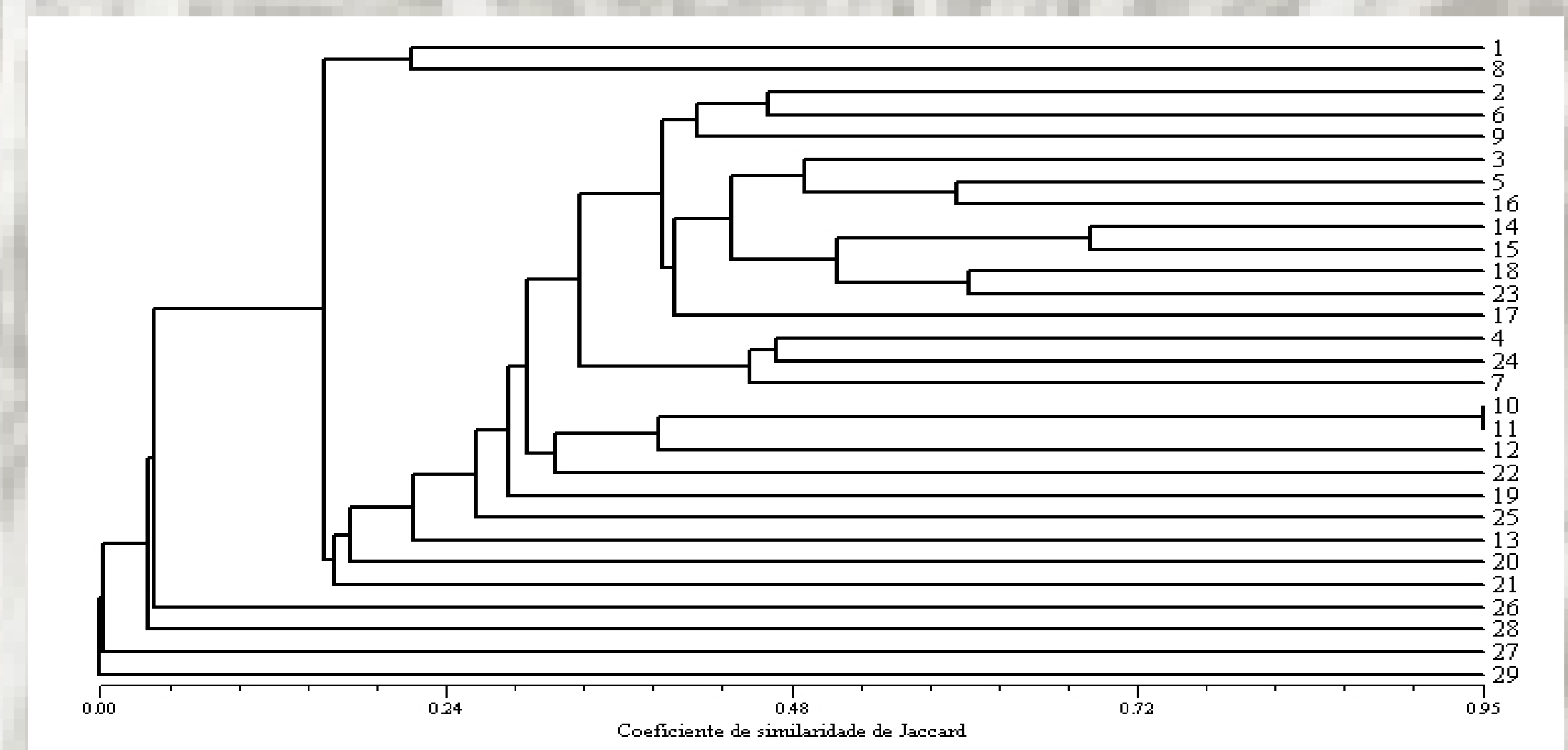


Figura 2: Dendrograma de vinte e cinco genótipos tetraplóide de *Panicum maximum*

Como se observa na figura 2, os genótipos 1, 8 e 21 foram agrupados separadamente dos demais, por serem híbridos entre *P. maximum* e *P. infestum*. No caso destes acessos não ocorreu agrupamento por região, pois todos são oriundos de uma única região.

CONCLUSÕES

A partir desses resultados, foi possível constatar a eficiência dos microssatélites para determinar o polimorfismo e a diversidade genética dentro da espécie. Esses resultados poderão auxiliar na seleção de novos genótipos com características superiores e desejáveis para serem introduzidos nos programas de melhoramento.

APOIO FINANCEIRO:

