



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.

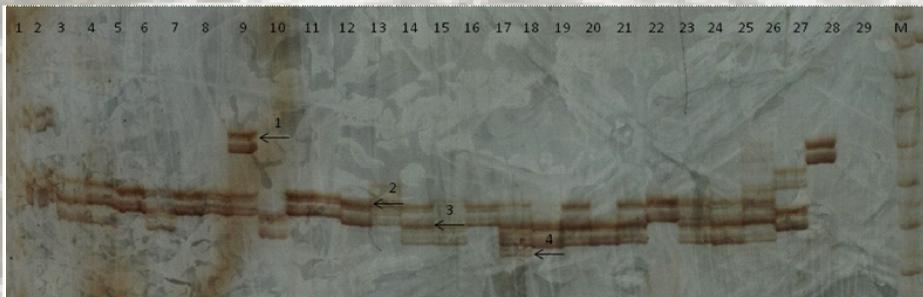


Figura 1. Padrões de amplificação em gel de poli-acrilamida a 6,0% do loco 1PMs35. Os números de 1 a 25 correspondem a identidade dos genótipos em estudo, os números 26 a 29 correspondem a genótipos de *Brachiaria* e *Paspalum*. No poço M está o marcador 10pb.

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*.

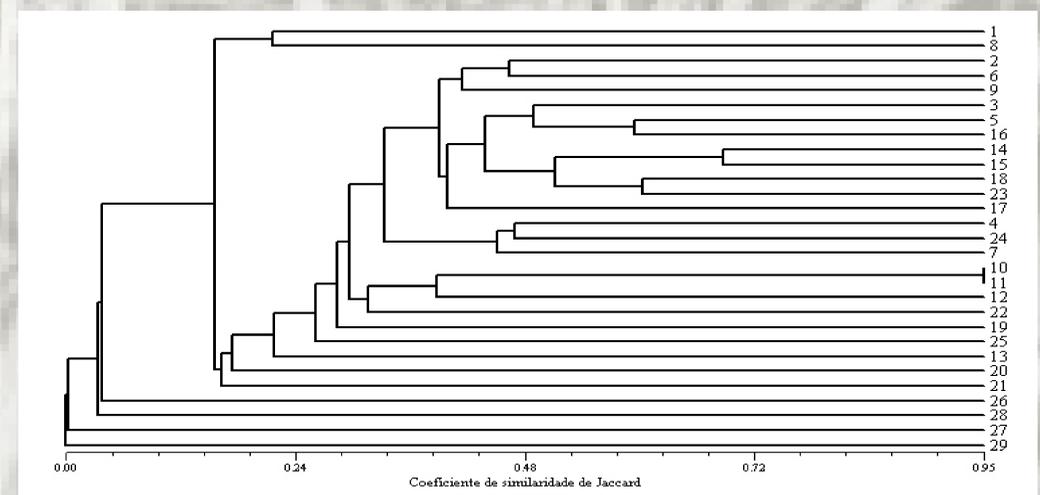


Figura 2: Dendrograma de vinte e cinco genótipos tetraplóide de *Panicum maximum*

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:

