

ANÁLISE DA VARIABILIDADE GENÉTICA EM *Triticum tauschii* UTILIZANDO MARCADORES MICROSATÉLITES

Cordeiro, M.C.R.¹; Barros, A.M.¹; Faleiro, F.G.¹; Bonato, A.L.²; Brammer, S. P.²; Vital, D.P.¹ & Santos, V.A.¹

¹Embrapa Cerrados - BR 020, km 18, 73310-970 cristina@cpac.embrapa.br; ²Embrapa Trigo - BR 285, km 174, 99001-970 sandra@cnpt.embrapa.br

INTRODUÇÃO

O trigo é uma das culturas agrônomicas mais estudadas do mundo (Bell, 1987). Uma das principais doenças do trigo que limita sua produção no Brasil é a ferrugem da folha causada pelo fungo *Puccinia triticina* Erikss (Anikster et al., 1997). Uma das principais estratégias utilizadas atualmente para obter cultivares resistentes à doenças, tais como a ferrugem da folha, é o melhoramento genético (Agris, 1997). Além disso, o uso de cultivares resistentes é considerado o método mais efetivo e econômico de controle da ferrugem de cereais (Nelson, 1973).

O trigo constitui espécies poliplóides podendo ser encontradas espécies diplóides, tetraplóides e hexaplóides (Moraes-Fernades et al., 2000) O genoma D do trigo comercial (*Triticum aestivum* - AABBDD) tem origem do *T. tauschii* (sinônimo: *Aegilops squarrosa*). Esta espécie é considerada uma das boas fontes de genes de resistência para a ferrugem da folha.

Este trabalho objetivou avaliar a variabilidade genética em 58 acessos de *T. tauschii* da coleção da Embrapa Trigo como etapa inicial para a seleção dos melhores acessos a serem utilizados em cruzamentos no programa de melhoramento do trigo para resistência à ferrugem da folha.

MATERIAL E MÉTODOS

Material genético

Sementes dos 58 acessos de trigo (*T. tauschii*) procedentes do Banco de Germoplasma da Embrapa Trigo foram desinfestadas por um minuto em hipoclorito de sódio a 50% e por um minuto em etanol 70% e, colocadas a germinar em papel de filtro umedecido.

Extração de DNA

As folhas recém germinadas das sementes foram utilizadas para extrair o DNA genômico utilizando o método do CTAB (Doyle & Doyle, 1990) com algumas modificações (Faleiro et al., 2003). Após a extração, a concentração e pureza do DNA foi estimada por espectrofotometria (Sambrook et al., 1989) e as amostras diluídas para a concentração de 10 ng/ μ L. Também foi observada a integridade do DNA em gel de agarose a 0,8%.

Análise de Microsatélites (SSR)

O DNA dos acessos de *T. tauschii* extraídos serviram como molde para a reação de PCR utilizando 28 pares de primers específicos para sequências de microsatélites desta espécie. As amplificações foram efetuadas em termociclador (MJRes.), programado para 45 ciclos de 1 minuto a 94 °C, 1 minuto a 55 °C ou 60°C e 2 minutos a 72 °C. Antes dos 45 ciclos, foi realizada uma etapa de desnaturação do DNA por 3 minutos a 94 °C e, após os 45 ciclos, foi realizada uma etapa de extensão final de 10 minutos a 72 °C. Após a amplificação, as amostras foram aplicadas em gel de agarose (2%) em TBE (Tris-Borato 100 mM, pH 8,3; EDTA 2 mM) e corado com brometo de etídio (0,5 μ g/ml). A separação eletroforética foi de, aproximadamente, quatro horas, a 85 volts. Ao término da corrida, os géis foram fotografados sob luz ultravioleta.

Análise dos Dados

Os alelos amplificados por cada primer foram analisados gerando uma matriz de dados binários que foi utilizada pelo programa NTSYS 2.0 para cálculo do coeficiente de similaridade Jaccard.

BIBLIOGRAFIA

- AGRIOS, G. Plant pathology, 4 ed., San Diego: Academic Press, 1997.
- ANIKSTER, Y.; BUSHNELL, W.R.; EILAM, T.; MANISTERSKI, J.; ROELFS, A.P. *Puccinia recondita* causing leaf rust on cultivated wheats, wild wheats, and rye. Canadian Journal of Botany, v.75, p.2082-2096, 1997.
- BELL, G.D.H. The history of wheat cultivation. In: Lupton, F.G.H. Wheat Breeding. London, New York, Chapman and Hall, 1987. p.31-50.
- DOYLE, J.J. & DOYLE, J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. Focus, v.12, p. 13-15, 1990.
- FALEIRO, F.G.; FALEIRO, A.S.G.; CORDEIRO, M.C.R.; KARIA, C.T. Metodologia para operacionalizar a extração de DNA de espécies nativas do cerrado. Planaltina, Embrapa Cerrados, Comunicado Técnico, no.92, 6p, 2003.
- MORAES-FERNANDES, M.I.B.; ZANATTA, A.C.A.; PRESTES, A.M.; CAETANO, V.R.; BARCELLOS, A.L.; ANGRA, D.C.; PANDOLFI, V. Cytogenetics and immature embryo culture at Embrapa Trigo breeding program: transfer of disease resistance from related species by artificial resynthesis of hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L. em Thell). Genetics and Molecular Biology, v. 23, p. 1051-1062, 2000.
- NELSON, R. R. The meaning of disease resistance in plants. In: NELSON, R. R. (Ed.). Breeding Plants for Disease Resistance. Pennsylvania: The Pennsylvania State University Press, p. 13-25, 1973.
- SAMBROOK, J.; FRITSCH, E.F.; MANIATIS, T. Molecular cloning: a laboratory manual. Sambrook, J.; Fritsch, E.F.; Maniatas, T., New York, 1989.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

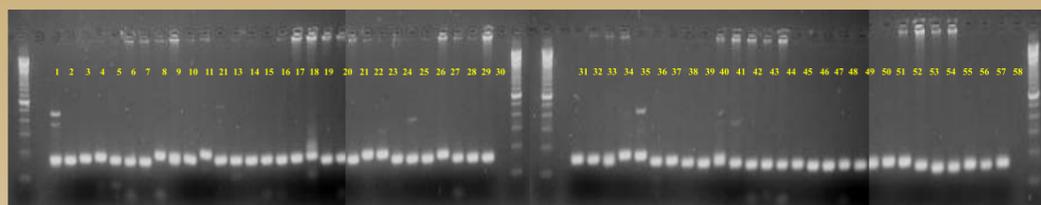


Figura 1. Gel de agarose a 2% mostrando alelos amplificados nos 58 acessos de trigo (*T. tauschii*) utilizando o primer microsatélite XWMC245.

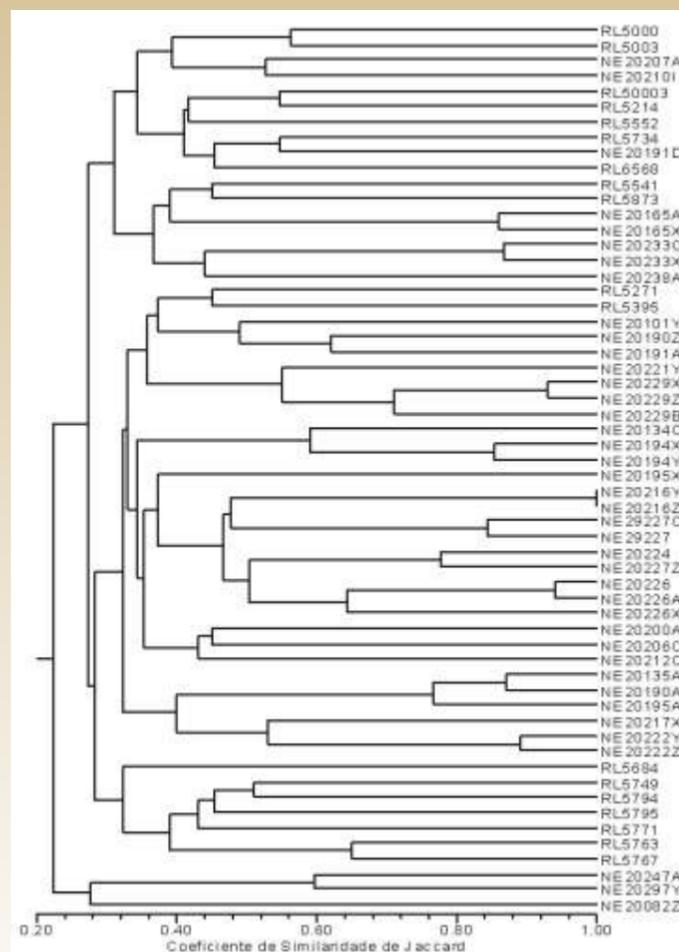


Figura 2. Dendrograma obtido da análise utilizando o programa NTSYS 2.0 dos alelos amplificados por primers microsatélites em acessos de *T. tauschii*.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente trabalho demonstram que há uma boa diversidade genética entre os acessos analisados. O índice de distância genética pelo Coeficiente de Jaccard encontrado variou de 1 (entre NE20216Y X NE20216Z) a 0,094 (entre NE20297Y E RL5767) sendo o valor médio igual a 0,303. Estes dados somados às avaliações agrônomicas servirão para a seleção de acessos visando cruzamento específicos para a obtenção de variedades resistentes à ferrugem da folha.