

Ribeiro, MAN^{1,2}; Diener, PSA^{1,2}; Lins, TCL¹; Soares, CN¹; Guimarães, CS¹; Grattapaglia, D^{1,2} e Ferreira, ME^{1,2}
GENOMAX/HERÉDITAS Tecnologia em Análise de DNA, SHIN CA 02 Lote I9, Lago Norte, 71503-502 Brasília D.F. ²Universidade Católica de Brasília, Brasília DF

Discriminação de cultivares e linhagens experimentais de soja com base em painéis de multiplexes de marcadores microssatélites

O requerimento de proteção varietal em plantas cultivadas é baseado em descritores clássicos como características morfológicas avaliadas em diferentes ambientes. A abundância de polimorfismo de descritores morfológicos é potencialmente restrita em espécies de estreita base genética. A instabilidade dos descritores morfológicos em diferentes ambientes restringe o seu número e, por conseguinte, a sua capacidade discriminatória. A análise de polimorfismo de sequência de DNA, por outro lado, permite uma elevada precisão na identificação genética e discriminação de indivíduos, revelando extenso polimorfismo e estabilidade ambiental. É provável que polimorfismo de marcadores moleculares hipervariáveis como microssatélites sejam cada vez mais utilizados em testes de DHE (distinguíbilidade, homogeneidade e estabilidade) para fins de proteção varietal, especialmente em espécies de base genética estreita, como a soja. Este estudo teve por objetivo avaliar o poder de resolução de marcadores microssatélites na discriminação individual de centenas de variedades comerciais e linhagens experimentais de soja plantadas no Brasil. A análise genética foi realizada em sistema de prova e contraprova em experimentos “cegos”, onde a relação de vínculo genético e/ou comercial entre as amostras não era conhecida. A determinação do perfil genético dos cultivares foi realizada em 14 a 20 locos microssatélites internacionalmente recomendados para soja por apresentarem alto conteúdo informativo e robustez analítica. Os locos selecionados são constituídos de repetições em tandem de trinucleotídeos ou dinucleotídeos, genotipados em sistemas “multiplexes” de análise simultânea em seqüenciador automático de DNA ABI Prism 377XL. Os genótipos foram descritos com os alelos em pares de bases. As diferenças genéticas entre os cultivares/linhagens foram reveladas pelas diferenças no comprimento das seqüências de DNA amplificadas em cada loco. Entre as variedades comerciais analisadas, 125 representam germoplasma protegido. Destas, 123 foram declaradas geneticamente distintas e apenas duas foram geneticamente indistinguíveis com os marcadores utilizados. Utilizou-se, para este fim, o critério mínimo de duas diferenças genéticas para declarar dois materiais como distintos com elevada confiabilidade. Algumas variedades comerciais apresentaram fortes indícios de mistura de linhas e/ou evidência de heterozigiosidade residual, sugerindo a necessidade de um controle mais rígido no monitoramento do processo de produção de sementes. Várias linhagens experimentais mostraram-se geneticamente idênticas a linhagens controle, apesar de ainda apresentarem alguma diferença morfológica como variação na coloração do hilo. Foram observados diversos alelos não reportados anteriormente em análises similares com germoplasma de outros países, o que indicaria a utilização de material genético exclusivo no pool gênico brasileiro. Este trabalho estabelece de forma pioneira um sistema de identificação genética de cultivares de soja baseado em uma tecnologia rápida, econômica e, mais importante, de alto poder de resolução, que poderá se constituir em uma ferramenta inovadora para testes de DHE no processo de proteção varietal. Os resultados possibilitam o estabelecimento de um sistema eletrônico de comparação na condução de testes de identidade genética entre amostras questionadas e amostras padrão visando o controle de qualidade e fiscalização da comercialização de sementes. ■