

Adaptação regional de variedades de cana-de-açúcar tolerantes ao frio através de análise de expressão gênica e avaliação de características agrônômicas

Robson Tadeu Bolson¹, Miriam Valli Büttow², Caren Regina Cavichioli Lamb³, Fernando Fracaro³, André Samuel Strassburger³, Daiane Silva Lattuada³.

¹Acadêmico de Engenharia Ambiental/UCS, ²Pesquisadora Dra.- Orientadora, ³Pesquisadores Dr.

INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar (*Saccharum* spp. L.) é uma importante fonte de alimento e bioenergia, cultivada em cerca de nove milhões de hectares no Brasil, porém, temperaturas baixas típicas da região serrana do Rio Grande do Sul podem ser limitantes para o seu cultivo. Desta forma, a identificação de variedades adaptadas pode aumentar a produtividade e rentabilidade aos produtores.

OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho foi avaliar variedades de cana-de-açúcar através de características agrônômicas, diversidade genética e perfil de expressão de genes relacionados à tolerância ao frio.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foi instalado um campo experimental com 20 variedades de cana-de-açúcar na Fepagro Serra do Nordeste, Caxias do Sul, em 2014. Foram realizadas avaliações nos meses de abril a agosto de 2015 dos parâmetros de teor de sacarose (°Brix) e índice de maturação (IM). O diâmetro de colmo (DC), altura de colmo (AC), número total de colmos (NTC) e peso de 10 colmos (P10C), foram avaliados no fim do ciclo e utilizados para o cálculo de toneladas de colmos por hectare (TCH) e toneladas de °Brix por hectare (TBH). Foi realizada a análise da variabilidade genética através de 13 marcadores moleculares microssatélites polimórficos. Para análise de expressão gênica, foram selecionadas três variedades consideradas tolerantes ao frio (RB855156, RB966928 e RB935744) e uma sensível (RB925268). Toletes foram plantados em substrato e mantidos à temperatura de 26 °C e fotoperíodo de 16 h luz por cerca de 60 dias até o momento da exposição a 1 °C em câmara fria por 0 h (controle), 24 h e 48h.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Tabela 1 Teor de sacarose (°Brix) de 20 variedades de cana de açúcar em quatro meses de avaliação. As médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e mesma letra maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si a partir do teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade.

Genótipo	Maio	Junho	Julho	Agosto
RB855156	13,00 aC	16,30 aB	16,28 aB	19,72 aA
RB925345	12,45 aC	14,97 aC	16,47 aB	19,25 aA
RB966928	14,23 aB	15,03 aB	18,13 aA	19,22 aA
RB946903	11,08 bB	12,98 bB	13,98 bB	16,68 bA
RB965902	10,68 bB	10,85 bB	13,85 bA	14,55 bA
RB845210	7,80 bD	10,98 bC	13,85 bB	16,75 bA
RB867515	11,97 aA	12,80 bA	11,55 bA	14,08 bA
RB925268	12,87 aA	12,30 bA	12,83 bA	14,80 bA
RB935744	10,27 bB	12,82 bB	11,03 bB	16,05 bA
RB935581	10,78 bB	11,62 bB	13,47 bA	14,37 bA
RB965911	14,40 aA	16,18 aA	14,13 bA	16,18 bA
RB966923	11,13 bC	14,45 aB	15,90 aB	18,35 aA
RB975932	14,77 aA	12,50 bB	15,62 aA	17,35 aA
RB975935	11,28 bB	12,08 bB	13,80 bA	15,40 bA
RB975944	12,83 aB	13,67 aB	14,32 bB	18,22 aA
RB996961	10,22 bB	14,28 aA	13,85 bA	15,80 bA
RB835089	12,10 aB	13,65 aB	12,88 bB	18,00 aA
RB008347	12,83 aB	14,67 aB	14,27 bB	18,13 aA
RB987935	10,62 bB	14,43 aA	14,30 bA	15,32 bA
RB987932	13,07 aC	11,48 bC	15,88 aB	19,37 aA

Em agosto todas as variedades expressaram o seu teor mais elevado de sacarose em comparação aos meses anteriores, sendo que as variedades que apresentaram maiores °Brix tiveram uma variação de 17,35 (RB975932) a 19,72 (RB855156).

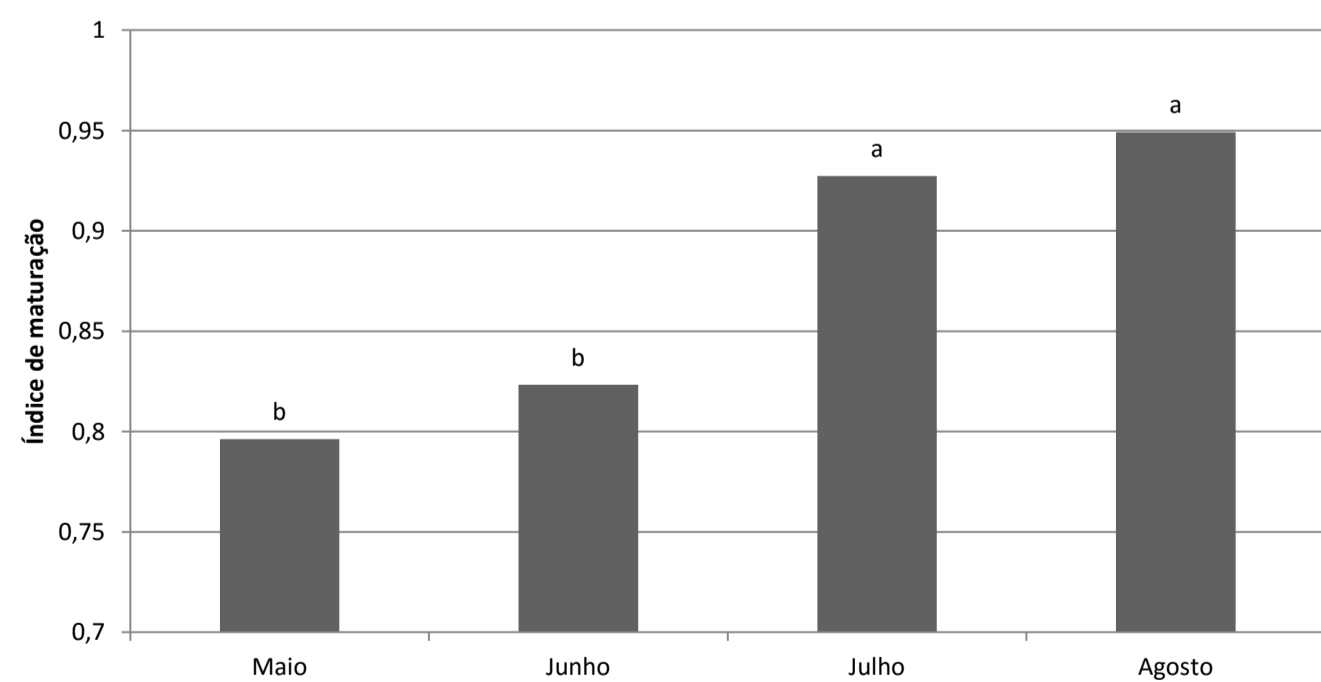


Figura 1 Índice de maturação das 20 variedades de cana-de-açúcar em 4 meses de avaliação. Barras com a mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Tabela 2 Peso de 10 colmos (P10C), toneladas de colmo por hectare (TCH), toneladas de °Brix por hectare (TBH) e uma estimativa de número de colmos por hectare (NC.Ha⁻¹) das 20 variedades de cana-de-açúcar referente ao mês de colheita (agosto).

Genótipo	P10C	TCH	TBH	NC.Ha ⁻¹
RB855156	6,32	39,90	7,87	63125
RB925345	9,76	66,84	12,87	68482,14
RB966928	6,93	48,14	9,25	69464,29
RB946903	5,58	42,30	7,06	75803,57
RB965902	6,69	44,68	6,50	66785,71
RB845210	8,61	47,28	7,92	54910,71
RB867515	10,44	49,59	6,98	47500
RB925268	7,88	59,66	8,83	75714,29
RB935744	12,59	91,95	14,76	73035,71
RB935581	10,80	59,79	8,59	55357,14
RB965911	6,44	28,87	4,67	44821,43
RB966923	7,22	13,22	2,42	18303,57
RB975932	10,25	56,10	9,73	54732,14
RB975935	9,55	57,81	8,90	60535,71
RB975944	7,01	39,31	7,16	56071,43
RB996961	9,90	55,69	8,80	56250
RB835089	10,07	64,20	11,56	63750
RB008347	14,52	69,62	12,62	47946,43
RB987935	9,61	55,09	8,44	57321,43
RB987932	8,26	35,03	6,78	42410,71

Tabela 3 Marcadores microssatélites, temperatura de Anelamento (T_a °C), número total de alelos (N_a), número de alelos por indivíduo (N_i), heterozigidade esperada (HZ) e poder de resolução do marcador (Rp), (C_j) probabilidade de confusão, (D_j) poder discriminatório,(PIC) quantidade de informação polimórfica, avaliados em 20 variedades de cana-de-açúcar cultivadas no Centro de Pesquisa Celeste Gobatto, Fepagro Serra do Nordeste, Caxias do Sul/ 2015.

Marcador	T _a °C	N _a	N _i	HZ	R _p	C _j	D _j	P
SOMS 143	55	2	12	0,34	1,1	0,12	0,88	0,
SOMS 148	52	1	11	0,48	0,8	0,5	0,51	0,
SOMS 156	52	7	36	0,37	4,2	0,03	0,97	0,
UGSM 60	55	7	27	0,41	4,6	0,02	0,98	0,
UGSM 118	55	1	11	0,46	0,7	0,52	0,48	0,
UGSM 312	58	1	11	0,46	0,7	0,52	0,48	0,
UGSM 193	55	5	14	0,34	2,4	0,1	0,9	0,
UGSM 665	51	5	14	0,39	2,9	0,11	0,9	0,
UGSM 585	53	3	13	0,22	0,8	0,44	0,56	0,
SOMS 135	52	6	36	0,36	3,2	0,04	0,96	0,
UGSM 565	53	4	14	0,43	2,6	0,1	0,9	0,
SCM 16	50	2	12	0,44	1,4	0,29	0,71	0,
UGSM 542	55	1	11	0,48	0,8	0,5	0,51	0,
Total		45						
Média		3,46		0,4	2,02	0,25	0,75	0,

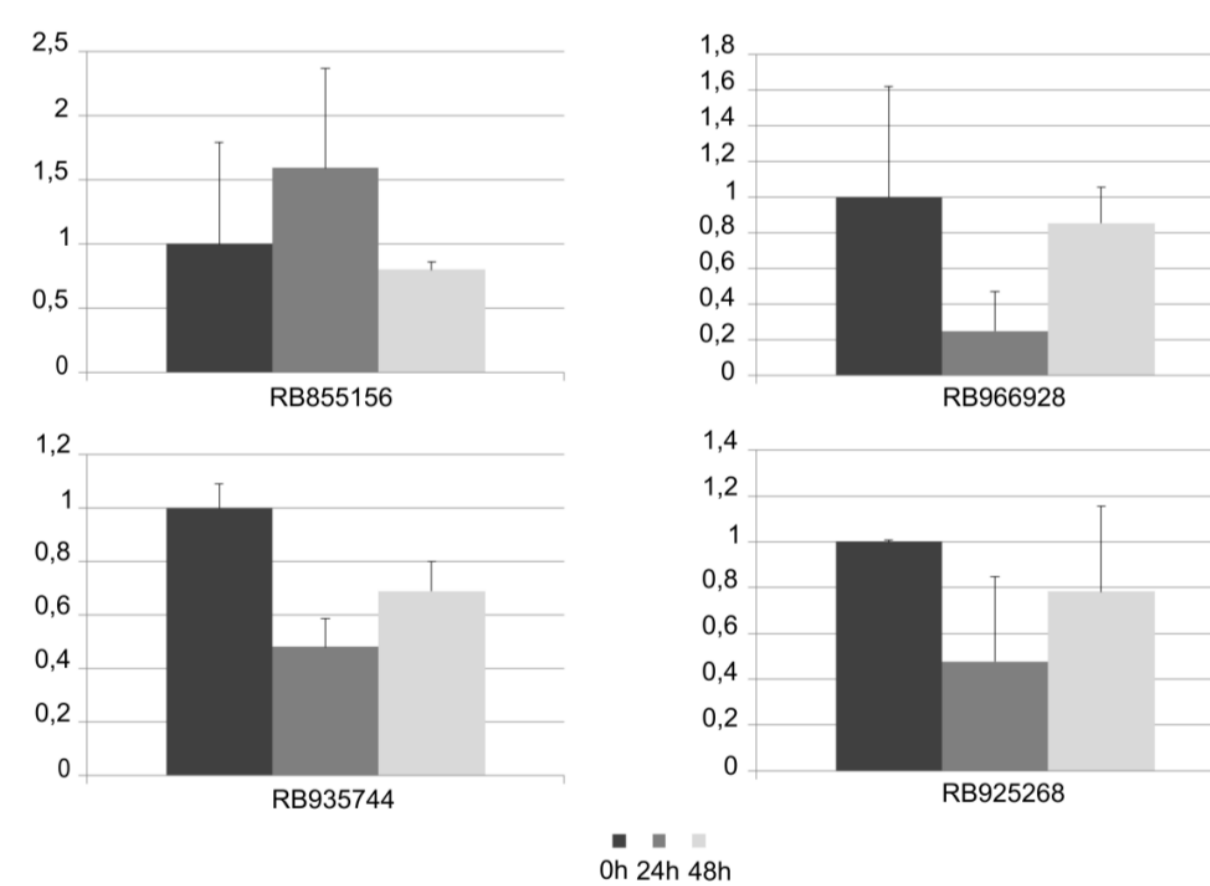
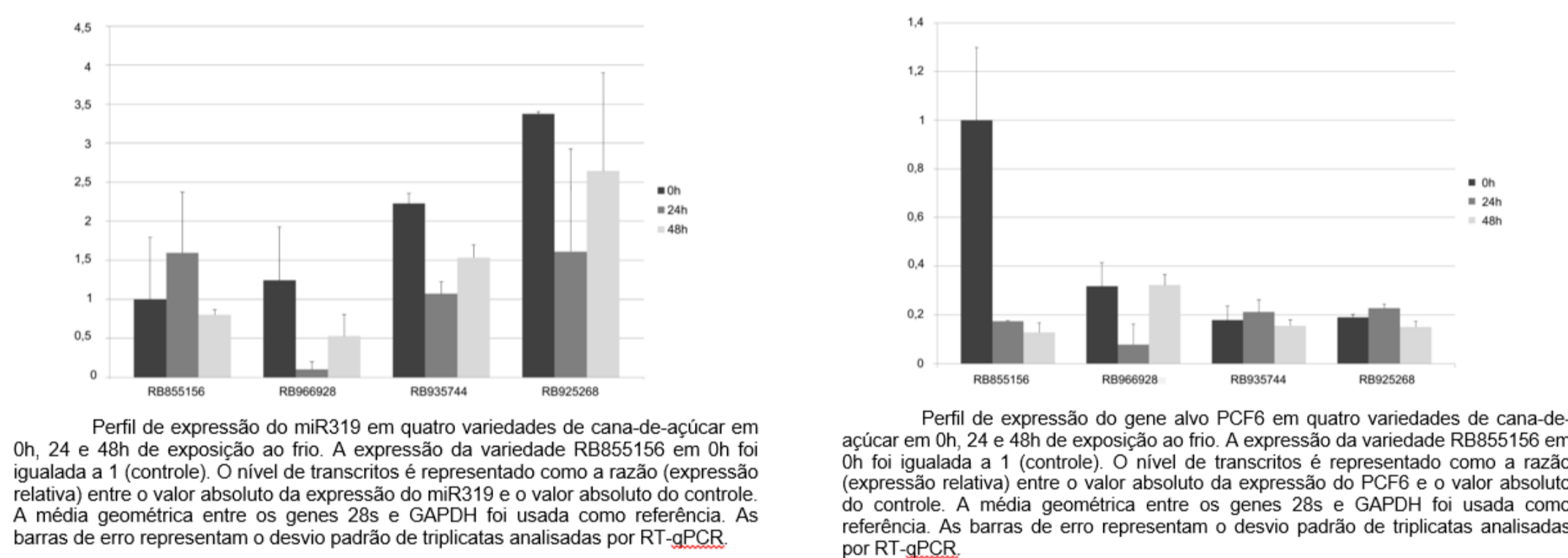


Figura 3 Perfil de expressão do miR319 em quatro variedades de cana-de-açúcar em 0h, 24 e 48h de exposição ao frio. Em cada variedade o tempo de exposição ao frio de 0h foi ajustado para 1 (controle para cada variedade). O nível de transcritos é representado como a razão (expressão relativa) entre o valor absoluto da expressão do miR319 e o valor absoluto do respectivo controle. A média geométrica entre os genes 28s e GAPDH foi usada como referência. As barras de erro representam o desvio padrão de triplicatas analisadas por RT-qPCR.

CONCLUSÃO

As análises mostraram que, independentemente da variedade, os meses com maior IM são julho e agosto. Destaca-se a variedade RB935744 com o maior valor de TCH (91,95) e TBH (14,76). Conforme a caracterização molecular, o número de alelos variou de 1 a 7 por genótipo, destacando-se os marcadores SOMS156 e UGSM60 com o maior número de alelos. O agrupamento mostrou diferenciação entre as variedades, porém não houve uma formação clara de subgrupos, com similaridade média entre os genótipos de 52 %. Os experimentos de tolerância ao frio através de análise de perfil de expressão do miR319 e do PCF6, revelaram que a variedade RB855156 demonstrou o perfil de expressão semelhante para o miR319 de variedades tolerantes ao frio estudadas anteriormente, com um aumento de 50 % na sua expressão após 24 h de tratamento por frio, e retorno ao nível basal após 48 h de tratamento.