

## Caracterização Genética da Coleção Nuclear de Feijão da Embrapa Pelo Uso de Marcadores SSR

Luma Mariano Cascão<sup>1</sup>, Jorge Freitas Cieslak<sup>2</sup>, Leonardo Cunha Melo<sup>3</sup>, Jaison Pereira de Oliveira<sup>3</sup>,  
Maria José Del Peloso<sup>3</sup>, Joaquim Geraldo Cáprio da Coata<sup>3</sup> Tereza Cristina de Oliveira Borba<sup>3</sup>

### Resumo

O Objetivo deste trabalho foi caracterizar molecularmente a Coleção Nuclear de feijão da Embrapa (constituída por 580 acessos)

A utilização de marcadores microssatélites permitiu a determinação da relação genética entre os acessos, a variabilidade genética existente dentro de cada acesso, aspecto este relevante como etapa inicial da avaliação de uma coleção nuclear.

### Introdução

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma cultura amplamente difundida no Brasil e se caracteriza por ser adotada por pequenos e médios produtores (Anuário ABRASEM, 2003). O plantio do feijão no Brasil é dividido em três safras, a safra “das águas”, safra “da seca”, e a safra “de inverno”, auxiliada por irrigação, e conduzida no Oeste da Bahia e nos estados do Centro-Oeste e Sudeste do país (23% da produção). Além da ampla distribuição de lavouras pelo país, outro fator que dificulta a adequada condução da cadeia produtiva do feijão é a preferência pelo tipo do grão consumido, a qual varia conforme a região. O consumidor brasileiro tem preferência pelo grão do tipo carioca (75%), seguido pelo grão do tipo preto (21%), com os outros tipos de grão representando somente 4% do mercado. Entretanto, apesar da importância da cultura no país, existe uma grande dificuldade na recomendação de novas cultivares, pois a cadeia produtiva do feijão envolve um grande número de pequenos produtores, uma grande diversidade de ambientes e hábitos culturais que influenciam o mercado, além disto o baixo uso de sementes melhoradas (10% da produção total) não gera retorno econômico satisfatório. Dessa forma, para o desenvolvimento de novas cultivares é muito importante a seleção de genótipos que mantenham sua competitividade independente do local ou época de semeadura. Diante de tal cenário, a exploração da diversidade preservada em bancos ativo de germoplasma surge como uma alternativa aos programas de melhoramento. Porém, grande parte dos bancos de germoplasma enfrenta problemas relacionados à sua dimensão e dificuldade para sua organização. Algumas coleções se tornaram muito extensas, obstruindo seus propósitos de conservação e utilização da diversidade genética. Daí a necessidade de se estabelecer coleções nucleares (CN), uma CN consiste de um limitado conjunto de acessos representando grande parte da diversidade presente na coleção original (Van Hintum, 1999). Entre as ferramentas disponíveis para a caracterização de acessos de germoplasma encontram-se os marcadores moleculares. Diversas classes estão disponíveis, porém os marcadores do tipo SSR (*Simple Sequence Repeats*) são considerados ideais à caracterização molecular de recursos genéticos por serem co-dominantes, multialélicos, altamente polimórficos e informativos (Brondani *et al.*, 2007). O Objetivo deste trabalho foi caracterizar os acessos componentes da Coleção Nuclear de Feijão e identificar a variabilidade genética destes através de marcadores SSR fluorescentes.

### Material e Métodos :

Foram analisados 580 acessos componentes da Coleção Nuclear de Feijão da Embrapa (CONFE) através de 9 marcadores SSR fluorescentes já publicados na literatura. O DNA genômico foi obtido através da metodologia descrita por Doyle e Doyle (1987) e adaptado por Gratapaglia *et al.* (1992). Cada acesso foi representado por vinte plantas divididas em quatro bulks de cinco plantas. A concentração do DNA foi estimada através de eletroforese em gel de Agarose 1% por comparação visual com DNA-padrão do fago lambda (50, 100, 200 e 400 ng), posteriormente ajustada para 3ng/µl. Os produtos de PCR foram analisados em analisador automáticos de DNA, modelo ABI 3100 (Applied Biosystems) e os alelos identificados através do programa GeneMapper™ 3.5 (Applied Biosystems). O programa Identity foi utilizado para o cálculo da

---

<sup>1</sup> Estudante de Graduação em Agronomia, Universidade Federal de Goiás. Goiânia Goiás

<sup>2</sup> Estudante de Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás. Goiânia Goiás

<sup>3</sup> Pesquisador da Embrapa Arroz e Feijão. Santo Antônio de Goiás, GO

probabilidade de identidade (PI) e o número de pares de genótipos idênticos. Os níveis de heterozigosidade observada e esperada, além do número de alelos privados para cada loco foram calculados utilizando o software PowerMarker. O software Structure nos permitiu identificar a presença de estruturação entre os acessos analisados.. A decisão pela melhor estruturação representada entre os acessos analisados foi definida pela metodologia proposta por Evanno et al. (2005).

### Resultados e Discussão:

Um total de 121 alelos foi identificado, com média de 13,44 alelos por marcador. O valor médio de PIC foi 0.70, variando de 0.43 (PV53) a 0.90 (PV272). A distância genética média de Rogers modificada por Wright (He) foi de 0.74. A diversidade gênica (He) média encontrada foi de 0,74. Entre os acessos analisados, 35 apresentaram heterogeneidade, ou seja, mais de um alelo por loco. Não é possível discutir a presença de heterozigotos entre estes acessos, pois se optou pela análise de plantas em bulk. Sabendo-se que a cultura do feijão cultivado apresenta duas origens, Mesoamericana e Andina, a estruturação encontrada foi compatível com tal teoria. Encontrou-se um  $K$  igual a dois, segundo o modelo bayesiano (Figura 1). Na Figura 1 é possível observar os dois sub-conjuntos de acessos, com a cor verde representando uma possível origem Andina e a vermelha a Mesoamericana. É possível se observar também que entre os acessos analisados, o *pool* gênico Mesoamericano é o mais frequente. A estruturação dos acessos foi verificada através da metodologia desenvolvida por Evanno et al. (2005) em que se confirmou que o valor de  $k$  igual a dois era o mais provável (Figura 2).



Figura 1: Estrutura populacional dos acessos componentes da Coleção Nuclear de Feijão da Embrapa,  $K=2$

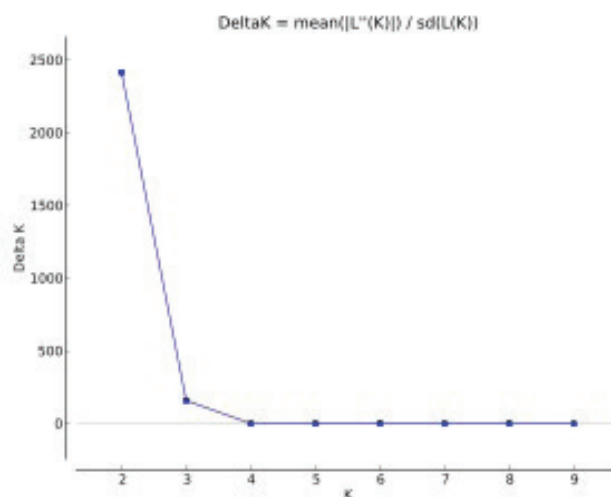


Figura 2: Gráfico da subestruturação mais provável;  $\Delta K = 2$ , através da metodologia desenvolvida por Evanno et al. (2005).

### Agradecimentos :

A Embrapa Arroz e Feijão.

### Referências

- ANUÁRIO ABRASEM 2003. Associação Brasileira de Sementes e Mudanças. Brasília, 2003. 164p.
- BRONDANI, R.P.V.; BRONDANI, C.; GRATTAPAGLIA, D. Manual Prático para o Desenvolvimento de Marcadores Microsatélites em Plantas. Embrapa. Informação Tecnológica, Brasília, DF, 2007.
- DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Isolation of Plant DNA from Fresh Tissue. Focus. V. 12, P 13-15, 1987.
- EVANNO G, REGNAUT S, GOUDET J. Detecting the Numero F Cluster of Individuals Using the Software Structure: A Simulation Study. Molecular Ecology 14: 2611-2620. 2005 DOI: 10.1111/J.1365-294X.2005.02553.X.
- GRATTAPAGLIA, D.; O'MALEY, D. M.; SEDEROFF, R. R. Multiple Applications of Rapdmarkers to Genetic Analysis of *Eucalyptus Sp.* In: Proceedings of Iufro International Conference "Breeding Tropical Trees", Cali, Resumos, P. 132-137, 1992.
- POWELL, W.; OROZCO-CASTILLO, C.; CHALMERS, K.J.; PROVAN, J.; WAUGH, R. Polymerase Chain Reaction-Based Assays for the Characterization of Plant Genetic Resources. Electrophoresis. V.16, N.1, P.1726-1730, 1995.
- VAN HINTHUM, T. The General Methodology for Creating a Core Collection. In: JOHNSON, R.C.; HODGKIN, T. (ED.). Core Collections for Today and Tomorrow. Rome: IPGRI, 1999. P.10-17.