

# DIVERSIDADE GENÉTICA EM ACESSOS DE FEIJOEIRO COMUM ANALISADA ATRAVÉS DE MARCADORES MICROSSATÉLITES

Tereza Cristina de Oliveira **BORBA**<sup>1</sup>

Flávio **BRESEGHELLO**<sup>1</sup>

Maria José Del **PELOSO**<sup>1</sup>

Leonardo Cunha **MELO**<sup>1</sup>

Helton Santos **PEREIRA**<sup>1</sup>

Rosana Pereira Vianello **BRONDANI**<sup>1</sup>

## INTRODUÇÃO

Uma coleção nuclear de germoplasma deve representar grande parte da diversidade genética armazenada nas coleções completas, com um número reduzido de acessos. A seleção dos acessos deve seguir uma metodologia que minimize a duplicidade de acessos. Neste sentido, o uso de marcadores moleculares do tipo microssatélites é bastante adequado, além disto, esta classe de marcadores é considerada ideal à caracterização molecular de recursos genéticos, já que são marcadores codominantes, abundantes, multialélicos e altamente polimórficos. Este trabalho objetivou a caracterização genotípica de dois grupos de acessos de feijoeiro comum do banco ativo de germoplasma da Embrapa Arroz e Feijão: um grupo proveniente de coletas realizadas no Brasil e um grupo de materiais introduzidos de outros programas de melhoramento nacionais e internacionais. Através desta caracterização deseja-se identificar os acessos mais divergentes geneticamente e auxiliar na sugestão de eliminação de possíveis duplicatas, permitindo a eleição dos acessos geneticamente mais distantes, candidatos a integrar a coleção nuclear do feijoeiro comum da Embrapa Arroz e Feijão.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram avaliados neste trabalho 211 acessos representativos de introduções (selecionados a partir de diferentes países, 57 ao todo) e variedades tradicionais brasileiras (coletadas em 11 estados brasileiros) do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Arroz e Feijão. As extrações de DNA genômico foram realizadas segundo protocolo descrito por BRONDANI et al. (1998) e cada acesso foi representado por um *bulk* de cinco plantas. A caracterização molecular foi realizada com 23 marcadores SSR fluorescentes, disponíveis na literatura. Estes marcadores foram avaliados em seis painéis multiplexes em seqüenciador automático de DNA, modelo ABI 3100. A escolha destes marcadores foi realizada em função da qualidade dos produtos amplificados, de sua localização no genoma e de seus valores de PIC (*Polymorphism Information Content*). A determinação do tamanho dos fragmentos amplificados foi feita com base na utilização de um marcador de massa molecular interno, marcado com o fluorocromo Cy-3.5 (corante cianina solúvel em água), desenvolvido de acordo com BRONDANI e GRATTAPAGLIA (2001). As análises realizadas utilizaram os seguintes *softwares*, GDA (*Genetic Data Analysis*) (LEWIS e ZAYKIN, 2002) para a identificação de alelos raros e para a determinação do PIC de cada marcador, FSTAT (GOUDET, 2001) para a construção de uma matriz de frequências alélicas, Identity (WAGNER e SEFC, 1999) para a determinação dos acessos com genótipos idênticos e determinação da probabilidade de identidade, Genetix (BELKHIR et al., 2001) para a visualização da

---

<sup>1</sup>Embrapa Arroz e Feijão, Rodovia Goiânia – Nova Veneza, Km 12 Zona Rural, C.P. 179, CEP 75375-000, Santo Antônio de Goiás, GO E-mail: [tereza@cnpaf.embrapa.br](mailto:tereza@cnpaf.embrapa.br)

distribuição espacial da variabilidade genética, e NTSYS (ROHLF, 1989), para a determinação da distância genética média de Rogers modificada por Wrigth (RW) (WRIGHT, 1978).

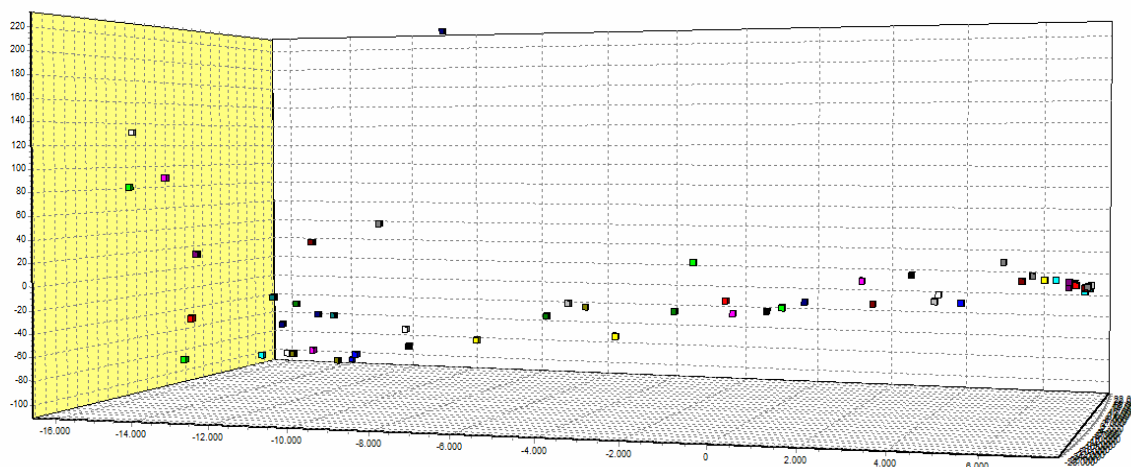
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram avaliados, com 23 marcadores do tipo microsatélite, 211 acessos de feijoeiro comum, sendo 176 derivados de introduções e 35 representantes de variedades tradicionais. O número de alelos identificados, dentro dos dois grupos, variou de três (PV168) a 20 (PV87), com uma média de nove alelos/marcador. Este valor identificado foi superior ao encontrado por GAITÁN-SOLÍS et al. (2002), que avaliando um conjunto de 21 acessos de feijoeiro comum identificaram uma média de seis alelos/marcador.

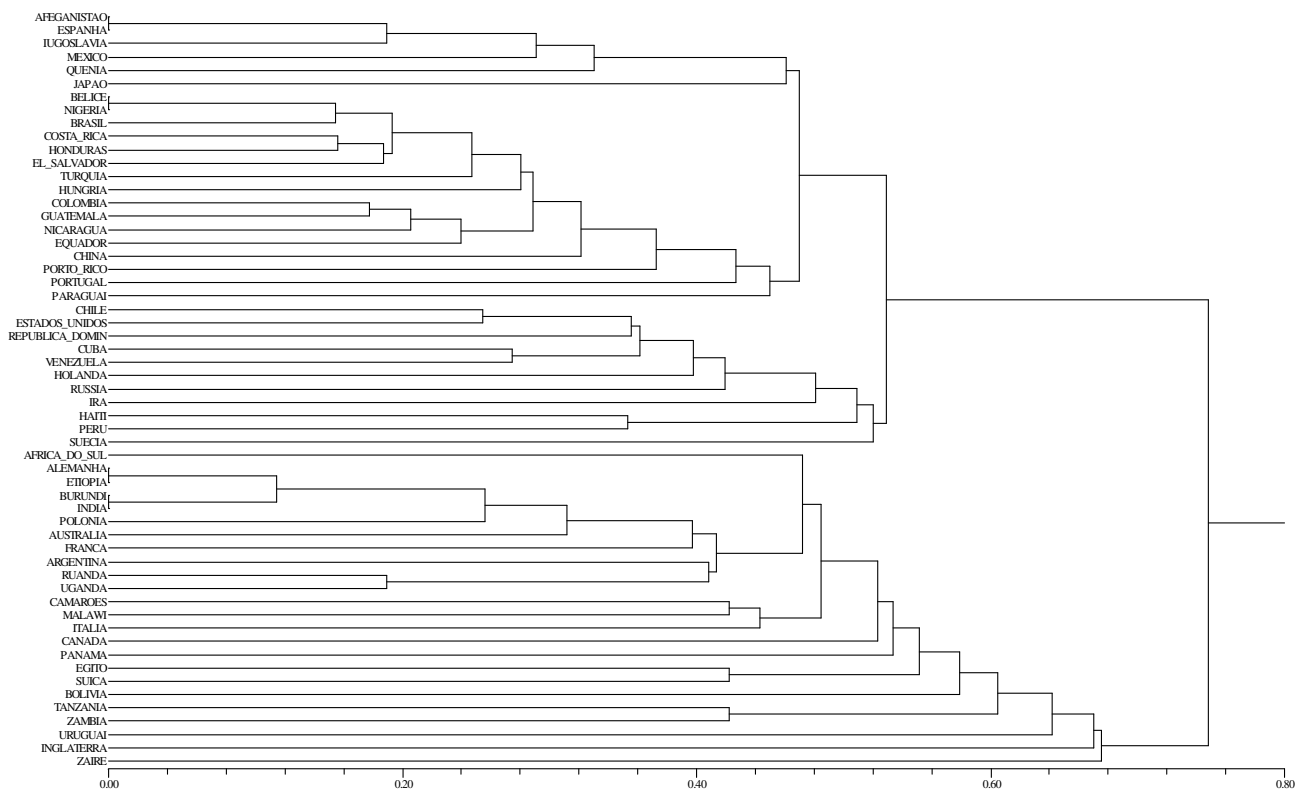
Entre os alelos identificados neste trabalho, 63% podem ser considerados raros, pois apresentaram uma frequência inferior a 5%. Dentre os marcadores, o que identificou um maior número de indivíduos com alelos privados foi o PV87. Os valores de PIC variaram de 0,47 (PV168) a 0,81 (PV5 e PV87), com uma média de 0,74. Entre as variedades tradicionais, encontrou-se um número médio de alelos de três alelos/marcador e um PIC médio de 0,3, sugere-se que este declínio no número de alelos encontrados e no conteúdo de informação polimórfica possa ser atribuído ao pequeno número de acessos avaliados.

A representação espacial da diversidade genética dos acessos subdivididos de acordo com seu país de origem (Figura 1), incluindo as variedades tradicionais brasileiras, indicou uma amplitude relativamente grande, sugerindo que a seleção dos acessos de acordo com seu país de origem foi uma estratégia interessante. A distância genética média de Rogers modificado por Wright (WRIGHT, 1978) foi de 0,62, refletindo a amplitude da distribuição espacial da diversidade.

O valor da probabilidade de identidade, que se refere à probabilidade de se encontrar dois indivíduos iguais ao acaso, deste conjunto de marcadores foi de  $3,5 \times 10^{-6}$ . Entre os acessos analisados, foram identificados quatro pares de genótipos idênticos (Figura 2) (“656 PV. N.E. PV. 0068” e “YELLOW FLAT GREEN”, representando Afeganistão e Espanha, respectivamente; “CHAC TZAMA” e “VERANIC 2” representando Belice e Nigéria, respectivamente; “IBISIZA” e “JATU RONG” representando Burundi e Índia, respectivamente; “E. W. DAVIS N° 199 A” e “G 01205” representando Alemanha e Etiópia, respectivamente). Para estes indivíduos sugere-se que uma análise molecular com um maior número de marcadores seja conduzida para que esta identidade genética seja confirmada.



**Figura 1** – Perfil da distribuição espacial da variabilidade genética referente aos 57 países representados para a composição da coleção nuclear de feijoeiro comum. Cada ponto representa o posicionamento médio dos acessos de um único país em relação aos demais.



**Figura 2.** Distribuição da distancia genética entre os acessos representados a partir de seu país de origem utilizando-se a distância de Rogers modificada por Wright (WRIGHT, 1978) em um dendrograma.

## CONCLUSÕES

A caracterização molecular de grupos de genótipos de feijoeiro comum do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Arroz e Feijão permitiu uma avaliação do nível da variabilidade genética existente nos diferentes grupos de genótipos. Esta análise permitiu a identificação de acessos com maior divergência genética e também genótipos com perfil genético similar. Permitiu também que se visualizasse a eficiência da seleção dos acessos à partir do país de origem.

Desta maneira sugere-se que aqueles com maior grau de divergência sejam introduzidos na coleção nuclear de feijoeiro comum, pois são fonte de variabilidade genética. Já para os acessos classificados como idênticos, sugere-se que exista um estudo mais aprofundado antes de sua remoção da seleção.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BELKHIR, K.; BORSA, P.; CHIKHI, L.; RAUFASTE, N.; BONHOMME, F. **GENETIX**. Université de Montpellier Version 4.05.2. 2001. Disponível em: <http://www.univ-montp2.fr/~genetix/genetix/genetix.htm>. Acesso em :05 mai 2004.

BRONDANI, R. P. V.; BRONDANI, C.; TARCHINI, R.; GRATTAPAGLIA, D. Development, characterization and mapping of microsatellite markers in *Eucalyptus grandis* and *E. urophylla*. **Theoretical and Applied Genetics**, v.97, p.816-827, 1998.

BRONDANI, R. P. V.; GRATTAPAGLIA, D. Cost-effective method to synthesize a fluorescent internal DNA standard for automated fragment sizing. **Biotechniques**. v. 31, p. 802-810, 2001.