

DESENVOLVIMENTO DE PRIMERS SSR PARA *Phaseolus vulgaris*

G.S.C. BUSO (buso@cenargen.embrapa.br); Z.P. AMARAL; R.V BRONDANI; A.M.M REIS; M.C.

MORETZSOHN; M.E. FERREIRA

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

O feijão é uma leguminosa importante, principalmente para os países em desenvolvimento onde é utilizado como fonte primária de proteínas. Apesar disso, a produção tem estado estagnada nos últimos trinta anos e uma das razões é a falta de variabilidade nas cultivares comerciais. Um pré-requisito para o uso dos recursos genéticos é o conhecimento detalhado da extensão e distribuição da variação genética nas espécies cultivadas e seus parentes silvestres. A Embrapa Arroz e Feijão mantém uma coleção de variedades e parentes silvestres de feijão com limitada informação genética. Existe a necessidade de desenvolvimento de métodos para estudos genéticos de feijão, visando estimativas de diversidade genética, genética de populações e mapeamento genético. Marcadores microsátélites (SSR) são eficientes para análises genéticas detalhadas. Eles são marcadores baseados em PCR, codominantes e multialélicos. Um conjunto de marcadores SSR tem sido desenvolvido como parte de um programa de análise genômica e melhoramento genético de feijão. O DNA genômico foi digerido com a enzima de restrição *Tsp509 I*. Os fragmentos entre 300 e 800 bp foram recuperados em uma membrana de nylon. Utilizou-se um procedimento de enriquecimento, em que os fragmentos que contêm SSRs foram selecionados por hibridização a oligonucleotídeos biotinilizados ligados a contas magnéticas. Esta fração foi utilizada para construção de uma biblioteca genômica enriquecida para seqüências de dinucleotídeos AG. Esta biblioteca tem sido selecionada para clones que contêm SSRs por hibridização das colônias com sonda (AG)₁₃. Os clones positivos foram selecionados por PCR-ancorado e seqüenciados. Seqüências flanqueadoras das repetições estão sendo usadas para o desenho de primers específicos. De 286 colônias positivas para SSR selecionadas por hibridização, em 80 confirmou-se a presença de repetições AG por PCR-ancorado. Uma sub-amostra de 30 clones foi seqüenciada. Destas seqüências, 5 apresentaram SSRs com DNA adjacente suficiente para o desenho e construção dos primers específicos. Estes locos SSR serão caracterizados e estudados em acessos silvestres e cultivados de *Phaseolus*.