



Caracterização molecular e análise de transferibilidade de marcadores microssatélites em Leguminosas.

GARCIA¹, Robertha Augusta Vasconcelos; **BRONDANI**², Claudio.; **SILVA**², Heloisa Torres; **BRONDANI**³, Rosana Pereira Vianello

Palavras chave: SSRs, *Phaseolus vulgaris*, Leguminosae.

1. INTRODUÇÃO

Os legumes (Leguminosae ou Fabaceae) constituem a terceira maior família de plantas superiores, com cerca de 640 gêneros, sendo que a maioria dos legumes economicamente importantes pertence à subfamília Papilionoideae. Os legumes têm sido cultivados por milhões de anos e tem se apresentado com um papel importante na dieta tradicional de várias regiões do mundo, devido às características que os compõe e a sua importância econômica em Países desenvolvidos e em desenvolvimento. Os grãos das leguminosas estão entre os três primeiros no consumo humano, apresentando cerca de 20 a 40% de proteína, sendo a Lisina o aminoácido mais encontrado (Gepts et al., 2005). Um grande número de espécies de leguminosas estão sendo caracterizadas simultaneamente ou independentemente, mas a maioria das culturas apresentam uma ou mais características que inviabilizam este sistema experimental, como exemplo: o tamanho do genoma, natureza poliplóide, dificuldade de regeneração e sementes recalcitrantes. Estudos de macrosintenia entre genomas de leguminosas têm revelado que, analogamente ao observado em gramíneas, substanciais níveis de conservação de regiões genômicas têm sido observados, apesar das variações em relação ao tamanho dos genomas e número de cromossomos entre as espécies (Choi et al., 2004). Os marcadores microssatélites por apresentarem natureza co-dominante e o elevado multialelismo dos locos gênicos, estes geram informações que permitem a comparação e troca de informações entre diferentes estudos, principalmente no que diz respeito à geração de mapas genéticos, detecção de QTLs, mapeamento comparativo, seleção assistida por marcadores (Muehlbauer et al., 2006). Os objetivos deste estudo foram avaliar um conjunto de SSRs desenvolvidos a partir do genoma do feijoeiro comum quanto ao conteúdo de informatividade gênica e a capacidade de transferibilidade para espécies de leguminosas, incluindo organismos-modelo e espécies de interesse comercial.

2. METODOLOGIA

Um total de 120 locos SSRs distribuídos ao longo do genoma do feijoeiro comum com padrão de amplificação específica, foram utilizados no estudo, sendo estes 107 de origem genômica (Yu et al., 2000; Gaitán-Solís et al., 2002; Blair, et al., 2003; Buso et al., 2006; Buso et al., dados não publicados) 13 de gênicos (dados não publicados). Os marcadores foram caracterizados em um painel composto por 16 genótipos provenientes do Banco de Germoplasma da Embrapa Arroz e Feijão, representativos dos seis principais grupos de interesse comercial, sendo estes Roxo, Mulatinho, Rajado, Branco, Carioca e Preto. A análise de transferibilidade foi realizada utilizando

um conjunto de 11 espécies da família Leguminosae, representando seis gêneros: *Phaseolus*, *Medicago*, *Vigna*, *Arachys*, *Glycyne* e *Dipteryx*. Para a análise dos dados de caracterização utilizou-se o programa PowerMarker versão 3.23 (Liu and Muse, 2005), para estimar o valor de PIC (Polymorphism Information Content), número de alelos por loco. Já na análise de transferibilidade, esta se baseou-se em uma avaliação visual e a análise para determinação da similaridade entre gêneros, utilizou-se o programa NTSys (Rohlf, 1989).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 120 locos caracterizados, 74 (61,7%) foram polimórficos, sendo que o número de alelos identificados variou de dois à onze, com média de 4 alelos/loco. O conteúdo médio de informação de polimorfismo foi de 0,52, com as estimativas variando de 0,21 a 0,89 (Tabela 1). Destes locos, 34 foram caracterizados (Buso et al., 2006, Blair et al., 2006) evidenciando que os valores de PIC apresentaram-se próximos aos analisados, demonstrando que a amostragem utilizada foi representativa na caracterização molecular dos locos SSRs. A porcentagem de locos transferíveis, entre as espécies, variou de 78 (65,0%) a 1 (0,8%), com média de 29 (24,17 %). Conforme o esperado, os maiores índices de amplificação interespecífica foram observados para as espécies do gênero *Phaseolus* (57,5%), seguido por *Vigna* (19,44%), *Glycyne* (16,5%) e *Arachis* (0,8%) (Figura 1). Os SSRs derivados de seqüências gênicas apresentaram maiores taxas de transferibilidade (48,95%), sendo totalmente amplificados nas espécies do gênero *Phaseolus*. O dendrograma corrobora com estes resultados, formando quatro grupos distintos, com índice cofenético de (r) 0,91, e a distância média de 0,36 pelo coeficiente de Jaccar. Não foi observada correlação entre os valores de PIC e os dados de transferibilidade, evidenciando que a conservação do genoma independe do conteúdo informativo do loco.

4. CONCLUSÃO

Estes resultados evidenciam a existência de genes ortólogos, na conservação de marcadores microssatélites tanto entre espécies do gênero *Phaseolus*, quanto entre gêneros dentro da tribo Phaseolae e da família Fabaceae, maximizando a sua utilização e, conseqüentemente, reduzindo o custo necessário para o desenvolvimento de marcadores. O conhecimento da conservação de locos microssatélites entre espécies da tribo Phaseoleae, que inclui os legumes adaptados a climas tropicais, como o feijão, caupi e a soja, que representam 75% dos legumes comercializados no mundo todo, é essencial, uma vez que os marcadores SSRs com elevado conteúdo informativo geram a possibilidade de serem realizados estudos comparativos e integrar informações genômicas obtidas em cada uma destas espécies.



Tabela 1: Parâmetros de diversidade genética para os 120 marcadores SSRs obtidos pela análise de 16 acessos de feijoeiro comum representativos dos grupos de interesse econômico e a relação dos dados de transferibilidade.

Primers	N° Alelos	Ho	PIC	Espécies transferíveis	Primers	N° Alelos	Ho	PIC	Espécies transferíveis
AG1	5	0.5625	0.5506	2,3,4,5,6 e 7	GATS11B	2	0.0000	0.3589	4
AJ416395	-	-	Monomórfico	-	GATS54	2	0.0000	0.3698	2
AJ416389	3	0.0000	0.4065	-	PV101	-	-	Monomórfico	8
AJ416391	2	0.0000	0.3457	-	PV102	3	0.0000	0.5659	-
BM114	4	0.0000	0.5758	-	PV105	-	-	Monomórfico	-
BM137	9	0.0000	0.8574	3	PV11	4	0.0000	0.6357	2 e 4
BM138	2	0.0000	0.3698	-	PV112	3	0.0000	0.4277	2,3 e 4
BM140	3	0.0000	0.2146	1,2 e 4	PV113	3	0.0000	0.4561	2 e 4
BM142	-	-	Monomórfico	2,3,4 e 7	PV118	2	0.0000	0.3374	2 e 4
BM143	10	0.0000	0.8683	2 e 4	PV12	2	0.0000	0.3374	2 e 4
BM146	-	-	Monomórfico	2,3,4,5, e 7	PV13	7	0.0000	0.7089	-
BM148	-	-	Monomórfico	2,3,4 e 7	PV131	-	-	Monomórfico	4
BM149	2	0.0000	0.2583	2,4,5 e 6	PV140	-	-	Monomórfico	2,3,4,5,7,8 e 10
BM151	3	0.0000	0.4992	2,3 e 4	PV148	-	-	Monomórfico	3
BM153	-	-	Monomórfico	-	PV162	-	-	Monomórfico	2
BM154	9	0.0000	0.8352	2 e 4	PV163	7	0.0000	0.7746	2 e 4
BM155	3	0.0000	0.4377	4	PV168	2	0.0000	0.3457	2 e 4
BM157	2	0.0000	0.3146	1,2,3,7 e 8	PV169	4	0.0000	0.6232	-
BM158	6	0.0000	0.7193	3	PV174	-	-	Monomórfico	2 e 4
BM159	3	0.0000	0.4683	4	PV180	-	-	Monomórfico	2 e 4
BM16	-	-	Monomórfico	1,2,3,e 4	PV193	3	0.0000	0.5439	1,2 e 3
BM160	6	0.0000	0.5530	2 e 4	PV194	-	-	Monomórfico	1,2 e 3
BM161	-	-	Monomórfico	2,3,5,6 e 7	PV198	2	0.0000	0.3680	-
BM161	-	-	Monomórfico	2,4 e 5	PV200	-	-	Monomórfico	-
BM164	3	0.0000	0.4275	2,3,4,7 e 10	PV202	-	-	Monomórfico	2,3,4 e 8
BM165	2	0.0000	0.3457	-	PV204	-	-	Monomórfico	3
BM167	3	0.0000	0.5112	3,4 e 7	PV207	-	-	Monomórfico	3
BM175	4	0.0000	0.4625	4, 5	PV215	-	-	Monomórfico	-
BM181	2	0.0000	0.3750	2 e 4	PV221	-	-	Monomórfico	-
BM183	5	0.0000	0.6568	2,3,4	PV231	-	-	Monomórfico	2 e 4
BM184	3	0.0000	0.5015	-	PV237	2	0.3125	0.2289	3
BM185	4	0.0000	0.6750	1,2,3,4,5,7 e 8	PV243	-	-	Monomórfico	2,3,4,5 e 7
BM187	11	0.0000	0.8894	1,2,3 e 4	PV243	7	0.0000	0.8119	-
BM189	4	0.0000	0.5703	2 e 4	PV25	7	0.0000	0.8247	2 e 4
BM197	3	0.0000	0.4683	2,3,4,5,6,7 e 8	PV251	-	-	Monomórfico	1,2,3,4 e 7
BM20	-	-	Monomórfico	-	PV254	-	-	Monomórfico	-
BM200	7	0.0000	0.7681	2 e 4	PV258	2	0.3750	0.2583	4
BM201	4	0.0000	0.6582	2 e 4	PV259	2	0.0000	0.3750	-
BM202	2	0.0000	0.3249	2, 3 e 4	PV265	2	0.0000	0.2583	-
BM206	5	0.0000	0.7110	-	PV268	-	-	Monomórfico	-
BM210	4	0.0000	0.6130	2 e 4	PV270	2	0.0000	0.3557	2 e 4
BM211	7	0.0000	0.7923	2 e 4	PV272	8	0.0000	0.8253	3
BM212	10	1.0000	0.8447	-	PV35	5	0.0000	0.5623	2 e 4
BMS	-	-	Monomórfico	2 e 4	PV38	2	0.0000	0.3750	-
BM6	-	-	Monomórfico	3 e 4	PV5	6	0.0000	0.7125	-
BM68	3	0.0000	0.4555	2 e 4	PV51	-	-	Monomórfico	2,3,4,5 e 7
BM98	2	0.0000	0.3374	1,2,3,4,5,6,7,8,9 e 10	PV53	3	0.0000	0.3878	2,3 e 4
BMc78	5	0.0625	0.5509	2 e 4	PV55	5	0.4667	0.6992	2 e 4
BMd64-1	-	-	Monomórfico	1,2,3 e 4	PV60	6	0.0000	0.7262	2,3 e 4
EST106	-	-	Monomórfico	1,2,3 e 4	PV67	4	0.0000	0.6244	-

Espécies Transferíveis: 1- *Medicago sativa*; 2- *P. Lunatus* 3- *P. Coccineus* 4- *P. Acutifolius*; 5- *Vigna mungo*; 6- *Vigna mungo*; 7- *Vigna umbellata*; 8- *Glicine max*;; 9- *Arachis hypogaea*; 10- *Dipteryx alata*;
Ho: Heterozigotidade observada; PIC: Conteúdo de Informação de Polimorfismo;

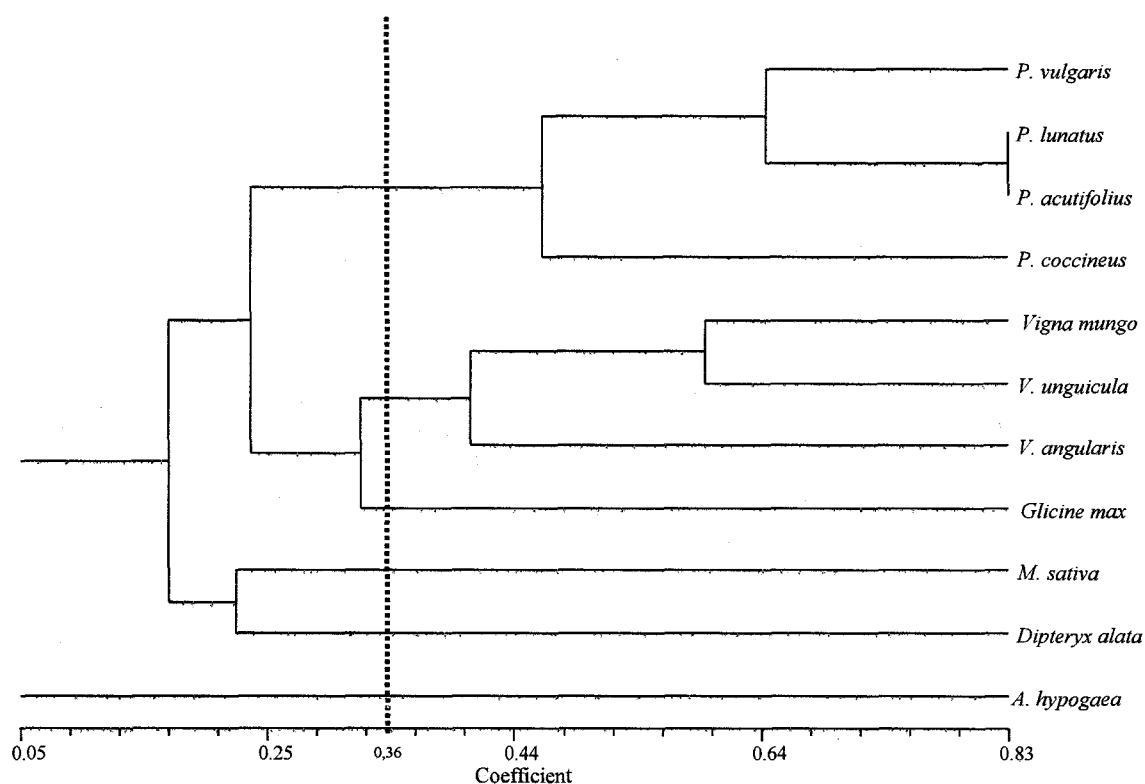


Figura 1: Dendrograma construído a partir da análise genética dos 120 marcadores SSR nas 11 espécies representativas da família Leguminosae. A linha tracejada indica a distância média de Jaccar.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BLAIR, M.W.; PEDRAZA, F.; BUENDÍA, H. F.; GAITÁN-SOLÍS, E.; BEEBE, S.E.; GEPTS, P.; TOHME, J. Development of a genome-wide anchored microsatellite map for common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Theoretical Applied Genetics**, n.107, p.1362–1374, 2003.
2. BLAIR, M. W., GIRALDO, M. C., BUENDÍA, H. F., TOVAR, E., DUQUE, M. C., BEEBE, S.E. Microsatellite marker diversity in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Theoretical Applied Genetics**, v.113, p. 100-109, 2006.
3. BUSO, G. S. C., AMARAL, Z. P. S., BRONDANI, R. P. V., FERREIRA, M. E. Microsatellite markers for the common bean *Phaseolus vulgaris*. **Molecular Ecology Notes**, v.6, p.252-254, 2006.
4. CHOI, H.; MUN, J.; KIM, J.; ZHU, H.; BAEK, J.; MUDGE, J.; ROE, B.; ELLIS, N.; DOYLE, J.; KISS, G. B.; YOUNG, N. D.; COOK, D. R. Estimating genome conservation between crop and model legume species. **PNAS**, n. 43, v. 101, p. 15289-15294, 2004.



5. GAITÁN-SOLÍS, E.; DUQUE, M.C.; EDWARDS, K.J.; TOHME, J. Microsatellite repeats in common bean (*Phaseolus vulgaris*): Isolation, characterization and cross-species amplification in *Phaseolus* ssp. **Crop Science**, v. 42, p. 1228-1236, 2002.
6. GEPTS, P.; BEAVIS, W. D.; BRUMMER, E. C.; SHOEMAKER, R. C.; STALKER, H. T. WEEDEN, N. F.; YOUNG, N.D. Legumes as a model plant family. genomics for food and feed report of the cross-legume advances through genomics conference1. **Plant Physiology**, v. 137, p. 1228–1235, 2005.
7. LIU, K.; MUSE, S. PowerMarker: integrate analysis environment for genetic marker data. **Bioinformatics**, v. 21, n. 9, p. 2128-2129, 2005.
8. MUEHLBAUER, F. J.; CHO, S.; SARKER, A.; MCPHEE, K. E.; COYNE, C. J.; AJESH, P.N.; FORD, R. Application of biotechnology in breeding lentil for resistance to biotic and abiotic stress. **Euphytica**, v. 147, p. 149–165, 2006.
9. YU, K.; PARK, S.J.; POYSA, V.; GEPTS, P. Integration of simple sequence repeat (SSR) markers into a molecular linkage map of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **The Journal of Heredity**, v. 91, p. 429-434, 2000.

FONTE DE FINANCIAMENTO - Capes, USDA.

¹ Doutoranda em Agronomia – Bolsista CAPES, AE-UFG. roberthagarcia@yahoo.com.br

² Pesquisadores da Embrapa Arroz e Feijão.

³ Orientadora. Pesquisadora Embrapa Arroz e Feijão. rosanavb@cnpaf.embrapa.br