

CARACTERIZAÇÃO DE GERMOPLASMA CULTIVADO DE *PHASEOLUS VULGARIS* QUE COMPÕEM ENSAIOS DE VCU UTILIZANDO MARCADORES MICROSSATÉLITES

ANA PAULA SIMPLÍCIO MOTA^{1,2}, IVANDILSON PESSOA PINTO DE MENEZES^{2,3},
MARIANA MACHADO ALENCASTRO VEIGA^{1,2}, CLÁUDIO BRONDANI², TEREZA
CRISTINA DE OLIVEIRA BORBA², HELTON SANTOS PEREIRA², ROSANA PEREIRA
VIANELLO²

INTRODUÇÃO: O feijoeiro comum é cultivado em praticamente todos os estados brasileiros, nas mais variadas condições edafo-climáticas e em diferentes épocas e sistemas de cultivo, tanto em culturas de subsistência, quanto em cultivos altamente tecnificados, sendo que o Paraná ocupa a primeira colocação. A preferência da população brasileira por determinados tipo de grãos é regionalizada. Enquanto o feijão preto é consumido principalmente no estado de Minas Gerais, a demanda pelo feijão carioca, atualmente o mais consumido no Brasil, é maior nos estados do Rio de Janeiro, Santa Catarina e Rio Grande do sul (BORÉM; CARNEIRO, 2006). O teste de Valor de Cultivo e Uso (VCU) que corresponde à última etapa do programa de melhoramento para o lançamento de uma cultivar, avalia para o desempenho das linhagens para diversas características agrônômicas, como suas propriedades de uso em atividades agrícolas, industriais, comerciais e de consumo para fins de lançamento. A caracterização genética de linhagens de feijoeiro comum que compõem ensaios de VCU frente ao emprego de ferramentas moleculares para esse fim é um importante aliado para os melhoristas na avaliação precisa do nível de variabilidade genética contida nos ensaios, bem como na determinação da identidade genética dos materiais genéticos, podendo essa informação ser utilizada para fins de registro e proteção de cultivares. O objetivo desse estudo foi o de caracterizar a variabilidade genética de linhagens de feijoeiro comum que compõem diversos ensaios de VCU do programa de melhoramento genético da Embrapa Arroz e Feijão utilizando marcadores microssatélites em sistemas de amplificação simultânea e detecção semi-automatizada dos perfis genéticos gerados.

MATERIAL E MÉTODOS: Foram analisados 150 acessos de feijoeiro comum que fizeram parte de cinco ensaios de Valor de Cultivo e Uso (VCU) conduzidos nos anos de 2003/2004, 2005/2006, 2007/2008, 2009/2010 e 2011/2012 na Embrapa Arroz e Feijão. Os ensaios foram compostos por 51 acessos do grupo preto, 13 do grupo mulatinho, 69 do grupo carioca, 13 do grupo cores (incluindo roxos e rajados) e três do grupo caruncho, além de quatro testemunhas dentro de cada classe de grão avaliada. Foram utilizados nove sistemas de genotipagem multiloco, baseado em 36 marcadores microssatélites marcados com fluorescência (GARCIA et al. 2011). A distância genética foi estimada utilizando Rogers modificada por Wright, através do programa Ntsys 2.02 (ROHLF, 1989). Os valores de poder de exclusão, probabilidade de identidade e número de indivíduos idênticos foram calculados utilizando o programa Identity 1.0 (WAGNER; SEFC, 1999). O número de alelos por loco, a diversidade gênica e a heterozigosidade observada utilizando o programa Mstools (PARK, 2001). A estatística F de Wright foi calculada com reamostragem de 10000 bootstrapping usando programa Fstat 2.9.3.2 (GOUDET, 2002).

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Dos 36 marcadores analisados nos 150 acessos que compuseram os

¹Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO

²Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, GO

³Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, BA

cinco ensaios de VCU, 34 foram polimórficos e 24 foram utilizados para derivar as estimativas obtidas com base no maior poder discriminativo. Foram identificados 190 alelos, com uma média de 7,92 alelos por loco polimórfico, variando de três alelos para o loco BM212 e 17 alelos para o loco BM154. A diversidade gênica média para o total de locos foi de 0,654, variando de 0,225 para o loco BM212 a 0,878 para o loco BM154. O poder de exclusão combinado para os 24 marcadores foi de 0,999, e a estimativa da probabilidade de identidade combinada foi de $1,32 \times 10^{-16}$, indicando uma baixa probabilidade de serem identificados dois indivíduos com o mesmo genótipo em uma população utilizando esse conjunto de marcadores. Na tabela 1 são descritas as estimativas obtidas de modo detalhado por VCU e seus respectivos tipos e grão. O VCU conduzido nos anos de 2003/04 apresentou maior diversidade genética (0,503) em relação aos demais VCUs analisados. Os resultados indicaram uma diversidade gênica média de 0,451 entre os acessos dentro de cada ensaio avaliado e corroboram estimativas previamente obtidas para um conjunto de cultivares de feijoeiro comum do grupo carioca (0,47), conforme relatado por Perseguini et al. (2011) De modo geral, verificou uma baixa heterogeneidade dos acessos estudados como indicado pelo $H_o=0,017$, constatando a elevada homozigosidade dos locos dentro dos acessos que compõem os ensaios. De um modo geral, os VCUs têm mantido uma distinção genética entre si no decorrer dos anos os quais os ensaios são conduzidos de acordo com a distância genética média de Roger modificada calculada de 0,339. A menor divergência detectada foi de 0,227 entre o VCU 2003/04 e VCU 2005/06, enquanto a maior foi de 0,439 entre o VCU 2003/04 e VCU 2011/12. A análise de agrupamento ao nível de VCU determinou a formação de dois grupos: o primeiro grupo foi composto por um subgrupo contendo os VCU 2003/04 e VCU 2005/06, e outro unitário com o VCU07/08; e o segundo grupo foi formado pelos demais VCUs. O índice F_{st} estimado entre os cinco ensaios de VCU foi de 0,159 indicando uma elevada diferenciação genética entre os grupos de linhagens que compõem os ensaios. Na análise de F_{ST} aos pares entre os cinco ensaios foi possível distinguir todos os VCUs, com exceção do VCU 2003/04 e VCU05/06 que não diferiram ($p < 0,05$) em relação aos acessos que compõem esses dois ensaios, indicando que a base genética do grupo de linhagens avaliadas é homogênea. Os dados indicam um decréscimo nas estimativas de diversidade gênica dentro dos ensaios de VCU ao longo dos anos, reduzindo de 0,58 e 0,49 nos tipos de grão carioca e preto avaliados em 2003/04, para 0,31 e 0,39, respectivamente, em 2011/2012. Observa-se, do mesmo modo, uma redução gradual do número de alelos detectados, principalmente dentro do tipo de grão Carioca.

Tabela 1. Estimativas de diversidade genética obtidas a partir da caracterização molecular de cinco ensaios de VCU que compõem o programa de melhoramento genético da Embrapa Arroz e Feijão.

VCU	Tipo	Acessos	Alelos	H_E	H_O	F_{ST}
VCU 03/04	Carioca	18	106	0,579	0,019	0,119 IC _{95%} : 0,081-0,157
	Preto	12	66	0,493	0,000	
	Cores	6	78	0,630	0,079	
	Mulatinho	13	86	0,576	0,008	
	Caruncho	3	35	0,236	0,014	
		52	143	0,503	0,024	
VCU 05/06	Carioca	10	62	0,402	0,083	0,259 IC _{95%} : 0,184-0,336
	Preto	7	64	0,495	0,000	
	Cores	7	67	0,580	0,080	
		24	122	0,492	0,029	
VCU 07/08	Carioca	12	64	0,466	0,000	0,286 IC _{95%} : 0,194-0,380
	Preto	10	66	0,443	0,000	
		22	93	0,455	0,000	
VCU09/10	Carioca	12	84	0,497	0,024	0,190 IC _{95%} : 0,123-0,256
	Preto	10	64	0,408	0,041	
		23	102	0,453	0,033	
VCU 11/12	Carioca	17	62	0,314	0,000	0,415 IC _{95%} : 0,328-0,501
	Preto	12	54	0,394	0,000	
		29	83	0,354	0,000	
Média		-		0,451	0,017	0,159
Total		150	190	-	-	IC _{95%} : 0,100-0,227

CONCLUSÕES: As linhagens de feijoeiro comum apresentaram um perfil genético distinto entre si indicando que a bateria de marcadores microssatélites utilizados é útil na discriminação de linhagens de feijoeiro comum. A constatação de que as linhagens dos grupos comerciais de feijão carioca e preto que compoem os VCUs ao longo dos anos apresentam uma redução gradual da diversidade genética levada a campo é um alerta para a necessidade de ampliação da base genética sobre o qual o programa de melhoramento tem trabalhado. O monitoramento a partir dessas estimativas utilizando marcadores moleculares dão suporte a novas ações dentro dos programas de melhoramento genético do feijoeiro comum e representam um importante sistema de identificação e discriminação baseado em uma tecnologia rápida econômica e com elevado poder de discriminação individual.

REFERÊNCIAS

- BORÉM, A.; CARNEIRO, J. E. S. A cultura. In: VIEIRA, C.; PAULA JÚNIOR, T. J.; BORÉM, A. (Ed.). **Feijão**. 2 ed. Atual. Viçosa: UFV, p.13-18, 2006.
- PERSEGUINI, J. M. K. C.; CHIORATTO, A. F.; ZUCCHI, M. I. Z.; COLOMBO, C. A.; CARBONELL, S. A. M.; MONDEGO, J. M. C.; GAZAFFI, R.; GARCIA, A. A. F.; CAMPOS, T.; SOUZA, A. P.; RUBIANO, L. B. Genetic diversity in cultivated carioca common beans based on molecular marker analysis. **Genetics and Molecular Biology**, v.34, 1, 88-102, 2011.
- GARCIA, R. A. V.; RANGEL, .N.; BRONDANI, C.; MARTINS, W. S.; MELO, L. C.; CARNEIRO, M. S.; BORBA, T. C. O.; BRONDANI, R. P. V. The characterization of a new set of EST-derived simple sequence repeat (SSR) markers as a resource for the genetic analysis of *Phaseolus vulgaris*. **BMC Genetics**, v.12, p. 41, 2011.
- GOUDET, J. **FSTAT**: a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3.2). Lausanne: University of Lausanne, Department of Ecology & Evolution, 2002. <http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>. Accessed 20 December 2009.
- PARK, S. D. E. Trypanotolerance in West African Cattle and the Population Genetic Effects of Selection [Ph.D. thesis] University of Dublin, 2001.
- ROHLF, F. J. NTSYS-pc numerical taxonomy and multivariate analysis system: version 1.7. New York: Exeter Software, 1992.
- WAGNER, H. W.; SEFC, K. M. Identity 1.0. Centre for Applied Genetics, University of Agricultural Sciences Vienna, 1999.