

## CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE GENÓTIPOS DE FEIJÃO (*PHASEOLUS VULGARIS* L.) CULTIVADOS NO SUL DO ESPÍRITO SANTO

**Franciele Barros de Souza<sup>1</sup>, Érica Mangaravite<sup>1</sup>, Diogo Souza Alves<sup>1</sup>, Pablo Diego Silva Cabral<sup>1</sup>, Yaska Janaína Bastos Soares<sup>2</sup>, Sebastião Martins<sup>4</sup>, Olavo dos Santos Pereira Júnior<sup>1</sup>, Frederico de Pina Matta<sup>3</sup>, Marcelo Antônio Tomaz<sup>3</sup>, Taís Cristina Bastos Soares<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Universidade Federal do Espírito Santo, Departamento de Zootecnia, Centro de Ciências Agrárias, UFES. Alto Universitário, s/nº Alegre, ES – 29.500-000, [tcbssoares@yahoo.com.br](mailto:tcbssoares@yahoo.com.br)

<sup>2</sup> Universidade Estadual do Norte Fluminense /Mestrado em Produção Vegetal, Campos do Goytacazes, R.J., [yaskasoares@yahoo.com.br](mailto:yaskasoares@yahoo.com.br)

<sup>3</sup> Universidade Federal do Espírito Santo, Departamento de Produção Vegetal, Centro de Ciências Agrárias, UFES. Alto Universitário, s/nº Alegre, ES – 29.500-000

<sup>4</sup> Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Estatística, Viçosa, MG - 36571-000

**Resumo-** O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma importante fonte alimentar. No estado do Espírito Santo é um dos produtos agrícolas de maior importância econômica, e o aumento da produtividade pode ocorrer com o uso de materiais melhorados geneticamente, selecionadas para cada região. Neste trabalho foram analisados 15 genótipos locais de feijoeiro e comparados a 5 genótipos comerciais mais adaptados a região do sul do estado do Espírito Santo, utilizando marcadores moleculares RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) e SCAR (Sequence Characterized Amplified Regions). As amostras foram submetidas a análises de divergência genética, sendo que o genótipo resgatado FORT 13 apresentou similaridade genética com a variedade IAPAR-81, cultivar comercial, indicando ser um genótipo promissor para o cultivo na região sul do Espírito Santo. A cultivar Formosa se mostrou a mais divergente em relação aos demais genótipos. Este fato indica que, para o seu desenvolvimento, foram utilizados genitores com base genética diferente dos demais cultivares comerciais.

**Palavras-chave:** Feijão comum, RAPD, SCAR, diversidade genética, marcadores moleculares.

**Área do Conhecimento:** Agronomia

### Introdução

O feijão-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é um dos alimentos básicos da população mundial sendo uma das principais fontes de proteínas na dieta alimentar da população economicamente menos favorecida (SCHWARTZ et al., 1996).

No estado do Espírito Santo o feijão é o terceiro produto agrícola de importância econômica, ocupando uma área de aproximadamente 24,4 mil hectares com a produção de 19,1 mil toneladas, e produtividade de 783 kg/ha na safra de 2006/2007 (CONAB, 2007). O aumento da produtividade pode ocorrer caso sejam utilizadas sementes melhoradas e selecionadas para cada região, assim como espaçamento e densidade de plantios adequados.

O feijoeiro é uma planta autógama e, como tal, possui uma baixa taxa de fecundação cruzada, inferior a 3%, podendo chegar a 10,6% em algumas regiões (BORÉM et al., 1997). Em razão dessa característica, grande parte dos agricultores não compra semente, preferindo utilizar as sementes oriundas da safra anterior, ou a conseguem de vizinhos. Esta prática de obtenção de sementes é uma realidade no município de Muqui, ES.

Caracteres fenotípicos, tradicionalmente usados para estimar a diversidade genética, são de importância limitada, uma vez que são geralmente influenciados pelo ambiente e respectivo estágio de desenvolvimento da planta, sendo que, em algumas espécies, um adequado nível de polimorfismo fenotípico não está disponível (TATINENI et al., 1996). Por sua vez, marcadores de DNA são independentes das condições ambientais, demonstram alto nível de polimorfismo, são abundantes e possuem herança mendeliana o que possibilita uma descrição mais detalhada da estrutura genética de populações (WILLIAMS et al., 1990). Os marcadores moleculares mais utilizados para a análise de diversidade genética em feijão são os RAPDs (Random Amplified Polimorphic DNA) (HAGIWARA et al., 2001). As informações geradas com o uso dos marcadores RAPD e SCAR, serão usadas para seleção de genótipos mais adaptados à região sul do estado do Espírito Santo, e posteriormente, estes genótipos serão fornecidos aos pequenos agricultores da região. Futuramente, estas informações serão úteis no direcionamento de cruzamentos em programas de melhoramento.

## Metodologia

Neste experimento foram utilizados 15 genótipos locais de feijoeiro pertencentes à comunidade de Fortaleza, Muqui, Espírito Santo, e mais alguns cultivares comerciais: Carioca, Formosa, IAPAR 81, e Pérola, como referência mostrado na Tabela 1. Estes genótipos foram cultivados em casa de vegetação no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo. Cada genótipo foi plantado em um vaso.

Tabela 1: Relação com nomes dos genótipos.

Número do genótipo	Genótipo
1	FORT 01
2	FORT 04
3	FORT 05
4	FORT 06
5	FORT 09
6	FORT 11
7	FORT 12
8	FORT 13
9	FORT 14
10	FORT 19
11	FORT 23
12	IAPAR-81
13	Carioca
14	FORT 30
15	FORT 30
16	FORT 37
17	FORT 38
18	Monte Alegre
19	Ouro Negro
20	Formosa

Cinco folhas de cada planta foram coletadas e utilizadas para extração de DNA, que foi realizada de acordo com o protocolo de Doyle e Doyle (1990), com algumas modificações propostas por Abdelnoor *et al.* (1995).

As amostras de DNA foram amplificadas pela técnica de RAPD de acordo com Alzate-Marin *et al.* (2001) e pela técnica de SCAR (QUEIROZ *et al.*, 2004). Os marcadores RAPD que apresentaram maior polimorfismo entre genótipos de feijoeiros avaliados no Programa de Melhoramento do Feijoeiro do BIOAGRO/UFV foram os escolhidos para esta análise.

O registro de dados foi feito a partir das bandas polimórficas detectadas entre os cultivares. Foi

gerada uma matriz de valores binários, onde a codificação (0) significou ausência e (1) presença da banda.

As estimativas de similaridade genética foram feitas de acordo com o complemento aritmético do coeficiente de coincidências simples (SNEATH e SOKAL, 1973), e com o método de similaridade de Jaccard (1901).

Os valores de dissimilaridade (1-valor de similaridade) genética foram organizados em matrizes, e empregados na análise de agrupamento pela ligação média entre grupos (UPGMA). As análises de divergência genética e de agrupamento foram realizadas com o auxílio do programa computacional Genes (CRUZ, 2001).

## Resultados

De acordo com o modelo de análise multivariada foram computadas as medidas de dissimilaridade com base em variáveis binárias. Na Tabela 2, são apresentadas as medidas de dissimilaridade expressas pela distância entre pares de genótipos, pode-se observar que os genótipos 8 (FORT 13) e 12 (IAPAR-81) são similares ( $d_{(8;12)} = 0,21$ ) e que os genótipos 5 (FORT 09) e 17 (FORT 38) são também similares entre si ( $d_{(5;17)} = 0,23$ ). Os 20 genótipos analisados formaram grupos de similaridade e dissimilaridade. Observa-se, ainda na Tabela 1, que o genótipo 20 (Formosa) é o mais divergente, em relação aos demais genótipos. Essas relações foram agrupadas no dendograma, representado na Figura 1.

## Discussão

De acordo com o dendograma, os genótipos agrupados apresentam maior semelhança genética. Essa semelhança é devido ao fato dos genótipos terem sido resgatados na mesma região do sul do Espírito Santo, onde é disseminada a prática de obtenção de sementes com produtores vizinhos.

O genótipo 8 (FORT 13), de acordo com os resultados, apresentou muita semelhança com o genótipo 12 (IAPAR-81), dessa forma o FORT13 pode ser considerado um genótipo promissor para o cultivo na região sul do Espírito Santo, uma vez que o IAPAR 81 (cultivar comercial do grupo carioca, moderadamente resistente à antracnose, ferrugem, oídio e resistente a vírus do mosaico comum) é adaptável em diversas regiões do Brasil.

Os genótipos comerciais 5 (FORT 09) e 17 (FORT 38) também apresentaram elevada similaridade, entretanto, não se apresentaram similares aos cultivares comerciais conhecidos, adaptados ao cultivo no sul do estado do Espírito Santo.

O genótipo 20 (Formosa) é também uma cultivar comercial adaptada em diversas regiões do Brasil. Porém, de acordo com os resultados, apresentou-se

divergente dos outros comerciais analisados. Este fato indica que, para o seu desenvolvimento, foram utilizados genitores com base genética diferente dos demais cultivares comerciais.

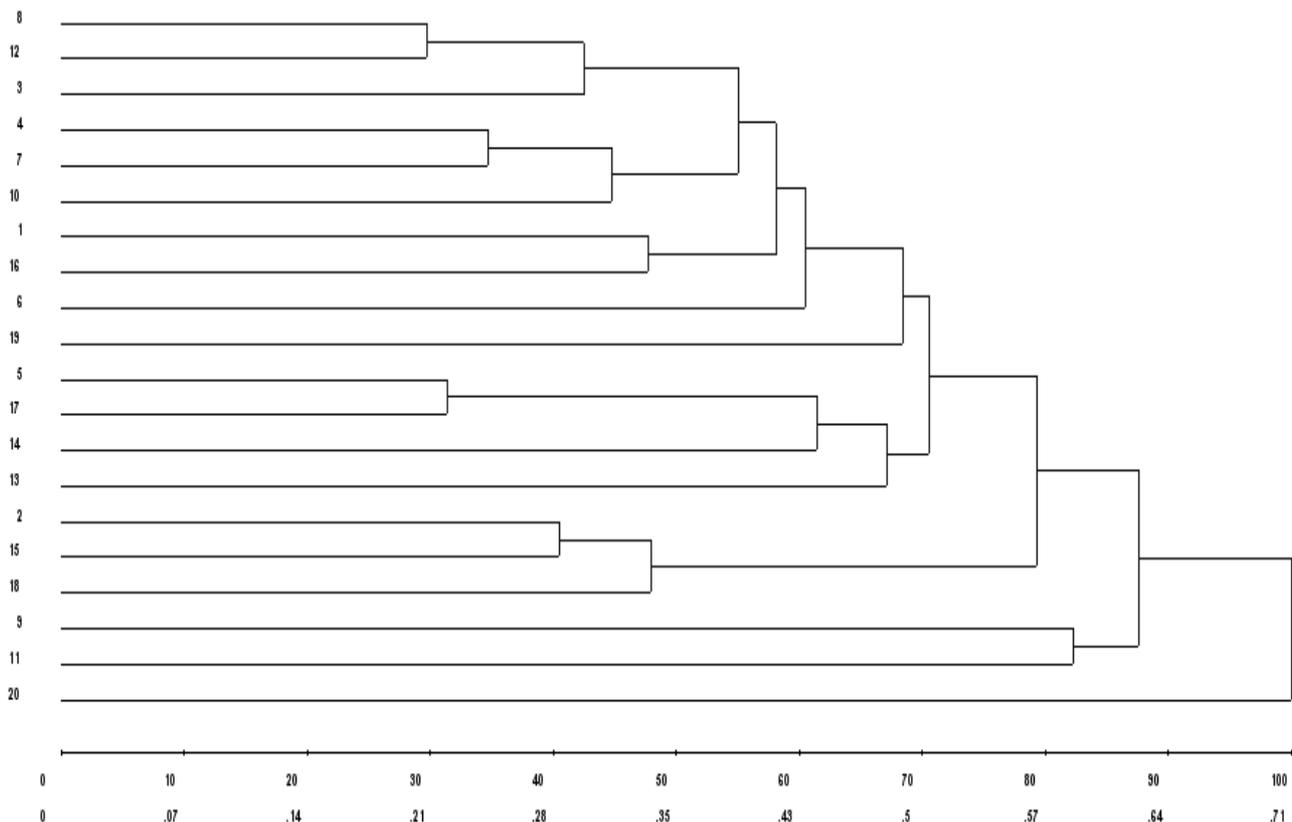


Figura 1: Dendrograma obtido pelo método UPGMA a partir da medida de dissimilaridade entre os 20 genótipos apresentados na tabela 1.

Tabela 2: Matriz de dissimilaridade entre os genótipos. Os genótipos correspondentes aos valores de 1 a 20 podem ser observados na Tabela 1.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1																			
2	0.48																		
3	0.36	0.72																	
4	0.50	0.60	0.44																
5	0.46	0.56	0.53	0.35															
6	0.57	0.69	0.41	0.47	0.52														
7	0.46	0.64	0.34	0.25	0.35	0.31													
8	0.45	0.70	0.32	0.39	0.44	0.41	0.39												
9	0.51	0.63	0.59	0.45	0.54	0.67	0.58	0.64											
10	0.53	0.64	0.52	0.32	0.32	0.45	0.32	0.41	0.58										
11	0.53	0.67	0.62	0.70	0.66	0.62	0.70	0.63	0.59	0.70									
12	0.42	0.68	0.29	0.35	0.30	0.47	0.35	<b>0.21</b>	0.58	0.38	0.61								
13	0.51	0.63	0.50	0.45	0.45	0.58	0.50	0.55	0.65	0.58	0.64	0.35							
14	0.63	0.63	0.63	0.54	0.35	0.67	0.58	0.64	0.61	0.48	0.77	0.50	0.47						
15	0.56	0.29	0.71	0.59	0.50	0.68	0.63	0.76	0.66	0.53	0.70	0.67	0.57	0.57					
16	0.34	0.59	0.37	0.42	0.42	0.39	0.32	0.41	0.66	0.40	0.61	0.38	0.48	0.62	0.53				
17	0.49	0.55	0.56	0.51	<b>0.23</b>	0.59	0.47	0.52	0.61	0.45	0.69	0.38	0.53	0.53	0.48	0.50			
18	0.41	0.36	0.57	0.44	0.39	0.61	0.44	0.58	0.59	0.42	0.67	0.49	0.55	0.55	0.33	0.42	0.38		
19	0.56	0.64	0.50	0.55	0.59	0.48	0.50	0.38	0.67	0.54	0.72	0.45	0.57	0.67	0.72	0.48	0.53	0.50	
20	0.68	0.78	0.77	0.71	0.75	0.73	0.71	0.69	0.79	0.76	0.71	0.71	0.60	0.75	0.72	0.67	0.74	0.72	0.68

## Conclusão

De acordo com os resultados obtidos, conclui-se que os marcadores moleculares do tipo RAPD e os SCARs são eficientes para caracterização da diversidade genética de acessos de feijoeiro. Mas, as análises de similaridade nos permitiram selecionar apenas um genótipo resgatado (FORT 13) que apresentou similaridade genética com a variedade IAPAR-81. Portanto, estão sendo realizadas novas análises moleculares empregando um número maior de marcadores e de variedades comerciais, para servirem de referência, de forma a possibilitar uma melhor seleção dos genótipos resgatados e, posteriormente, serem realizadas análises morfoagronômicas para otimizar esta seleção.

## Referências

- ABDELNOOR, R.V.; BARROS, E.G. de; MOREIRA, M.A. Determination of genetic diversity within Brazilian soybean germplasm using random amplified polymorphic DNA techniques and comparative analysis with pedigree. **Revista Brasileira de Genética**, v. 18, p.265-273, 1995.
- ALZATE-MARIN, A.L.; COSTA, M.R.; SARTORATO, A.; RAVA, C., BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. 2001. Use of markers as a tool to investigate the presence of disease resistance genes in common bean cultivars. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, 1:125-133.
- BORÉM, A. **Melhoramento de plantas**. Viçosa: UFV, 1997. 547.
- CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. 4º Levantamento de grãos 2006/2007. 2007. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conabweb>. Acesso em: 25 de janeiro de 2007.
- CRUZ, C.D. **GENES** – versão Windows. 2001. Editora UFV. Viçosa, MG. 642p.
- DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v.12, p.13-15, 1990.
- HAGIWARA, W. E.; SANTOS, J. B. dos; CARMO, S. L. M. Use of RAPD to aid selection in common bean backcross breeding programs. **Crop Breeding and Applied biotechnology**, Londrina, v. 1, n. 4, p.355-362, 2001.
- JACCARD, P. 1901. Étude comparative de la distribution florale dans une portion des Alpes et des Jura Bull. **Society Vaudoise Scientific Nature**, v. 37, p. 547-579.
- QUEIROZ, V.T.; SOUSA, C.S.; COSTA, M.R.; SANGIAD, D.A.; ARRUDA, K.M.A.; SOUZA, T.L.O.; RAGAGNIN, V.A.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Development of SCAR markers linked to common bean anthracnose resistance genes *Co-4* and *Co-6*. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, 47:249-250, 2004b.
- SCHWARTZ, H.F., BRINK, M.A., NULAND, D.S., FRANC, G.D. (Ed.). **Dry Bean Production and Pest Management**. Fort Collins: Cooperative Extension Resources Center, 1996.106p.
- SNEATH, P.H.; SOKAL, R.R. 1973. **Numerical taxonomy: the principles and practice of numerical classification**. San Francisco: W. H. Freeman. 573p.
- TATINENI, V.; CANTRELL, R. G.; DAVIS, D. D. Genetic diversity in elite cotton germplasm determined by morphological characteristics and RAPDs. **Crop Science**, Madison, v. 36, p. 186-192, 1996.
- WILLIAMS, J.; KUBELIK, A.; LIVAK, K.; RAFALSKI, A.; TINGEY, S. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**,18:6531-6535, 1990.