

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

DIVERSIDADE GENÉTICA EM GENÓTIPOS DE GERGELIM (*Sesamum indicum* L.) POR MEIO DE CARACTERES MORFOLÓGICOS E MOLECULARES

Fernanda Ianuxauskas Dechechi¹, Matheus Montozo Correa Silva¹, Paula da Silva Mendel¹, Guilherme Ferreira Sirtoli¹, Rodrigo Monte Lorenzoni², Franciele Barros de Souza Sobreira³, Taís Cristina Bastos Soares³

¹Universidade Federal do Espírito Santo/, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Alto Universitário, s/n, Guararema – 29500-000 – Alegre - ES, Brasil, fernandadechechi@hotmail.com, theusmontozo@gmail.com, paula.mendel@hotmail.com, guilhermeferreirasirtoli@gmail.com

²Sebra Agrícola S.A., Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento, Lote Canarana I, Chácara G08, 78640-000 – Canarana -MT. rodrigomlorenzoni@gmail.com

³Universidade Federal do Espírito Santo/ Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde, Alto Universitário, s/n, Guararema – 29500-000 – Alegre - ES, Brasil, francielesouza@gmail.com, tcbsoares@gmail.com

Resumo

A participação do gergelim (*Sesamum indicum* L.) está em expansão no agronegócio brasileiro. Sendo necessário a caracterização da diversidade genética para a seleção de genótipos superiores em programas de melhoramento genético. Dessa forma, objetivou-se avaliar a diversidade genética entre genótipos por meio caracterização morfológicas e moleculares. As características morfológicas foram avaliadas de acordo com IPGRI e NBPGR (2004) e para as moleculares foi realizado a extração de DNA das folhas de gergelim para a utilização nas reações de PCR (reação em cadeia da polimerase) e os produtos foram submetidos à eletroforese em gel vertical de poliacrilamida 10%. Em seguida, realizou análise dos dados através do programa computacional GENES. No agrupamento dos genótipos pelo método UPGMA, observou a formação de 4 grupos conforme o ponto de corte realizado. A maior distância genética observada foi entre os genótipos 4 e 19. Entretanto, a maior similaridade foi observada entre os genótipos 19 e 20. Os genótipos 4 e 19 se destacaram, devido a divergência podendo ser de interesse para realizar cruzamentos no melhoramento genético.

Palavras-chave: Polimorfismo. Microsatélites. Variabilidade genética.

Área do Conhecimento: Ciências Agrárias.

Introdução

O gergelim (*Sesamum indicum* L.) é utilizado como cultura alternativa em pequenas propriedades rurais e desempenhando um papel crucial como centro econômico de apoio no semiárido nordestino (SILVA *et al.*, 2017; CRUZ *et al.*, 2013). Além de se destacar no Mato Grosso devido ser uma boa alternativa ao milho na segunda safra (EMBRAPA, 2021). Contudo, a cultura vem se evidenciando em virtude de seu alto valor nutricional e pela possibilidade de promover a diversificação da produção agrícola. A sua implementação ocorre através de sementes, as quais são utilizadas como matéria-prima para a comercialização de grãos e para a fabricação de subprodutos (LUCENA *et al.*, 2013).

O gergelim é uma planta autógama, contendo uma alta diversidade de características morfológicas (ARRIEL *et al.*, 2007). Apresenta sistema radicular pivotante, caule ereto de 0,5 a 3 metros, ramificado ou não, podendo apresentar pilosidade (SILVA, 1993). As flores variam de 1 a 3 por axila foliar e são completas (ANDRADE, 2009). O fruto é uma cápsula alongada e suas sementes são pequenas, medindo cerca de 3 mm de comprimento e até 2 mm de espessura, ovais e levemente achatadas, podendo variar conforme a cultivar, tanto seu tamanho, cor e formato (ANILAKUMAR *et al.*, 2010). Na cultura do gergelim os principais parâmetros para diferenciação das cultivares são: altura de planta, comprimento de cápsula, ciclo, tipo de ramificação, coloração das sementes, entre outros (SILVA, 2022).

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

Os marcadores moleculares são recursos relevantes em estudos de populações inter e intraespecífica e detecção de variabilidade genética (CRUZ *et al.*, 2011). Sendo assim, o estudo da diversidade em gergelim, possibilita desenvolver cultivares com caracteres importantes para o mercado, por meio do estudo de características morfológicas e moleculares, que auxiliam na avaliação das relações filogenéticas e as estruturas das populações propostas, visando o melhoramento da espécie, consequentemente elevando o rendimento e a qualidade do gergelim (WOLDESENBET *et al.*, 2015; PARQUE *et al.*, 2014). Os métodos moleculares são vantajosos para a obtenção direta de informações das sequências de DNA e em relação à detecção de polimorfismo no mesmo. Existem diferentes classes de marcadores moleculares, entre eles os microssatélites, conhecidos também como SSR (*Simple Sequence Repeats*). Os SSR são distribuídos por todo o genoma de maneira abundante e uniforme, eles são codominantes e multialélicos (OLIVEIRA *et al.*, 2006; OLIVEIRA e SILVA, 2008). Sendo assim, estudos da diversidade genética por meio da caracterização morfológicas e moleculares auxiliam na identificação de genótipos de gergelim possivelmente promissores.

Metodologia

Os genótipos de gergelim avaliados foram: TGUU1 (3), AGUU1 (4), KGAU1 (7), PGUU1 (19) e SGUU1 (20). As sementes de gergelim utilizadas nesse trabalho foram obtidas e cedidas do banco de germoplasma da empresa Sebra Agrícola - MT. As plântulas foram conduzidas em bandejas de mudas com substrato, na casa de vegetação da Universidade Federal do Espírito Santo, Campus Alegre.

As características qualitativas foram ramificação da haste, padrão ramificação da haste, cor do pecíolo, número de flores por axila, cor exterior da corola, cor interior da corola, pigmentação interior da corola, cor do lábio inferior, cor da casca da semente, ácido esteárico (% m/m), ácido eicosenóico (% m/m), relação entre ácido palmítico/palmitoléico e relação entre ácido oléico/linoleico (IPGRI e NBPGR, 2004). No entanto para as características quantitativas foram realizados delineamento em blocos casualizados (DBC) para cada genótipos foram 3 blocos com 4 repetições e cada repetição contém 4 linhas de 5 metros e calculado as médias dos seguintes parâmetros: 50% floração (dias) – 50%F, altura primeira cápsula (cm) – A1CP, altura planta (cm) – APL, comprimento entrenó (cm) – CE, número nódulos 1 flor – NN1FL, número cápsula por planta – NCPPL, comprimento cápsula (cm) – CCP, largura cápsula (cm) – LCP, espessura cápsula (cm) – ECP, média de semente por cápsula – MSCP e teor de óleo (%) – TO (IPGRI e NBPGR, 2004).

As coletas de material genético para as análises moleculares e morfológicas foram realizadas a partir do segundo par de folhas de cinco indivíduos distintos e armazenadas em freezer -80°C. Para extração de DNA, foi utilizado protocolo descrito por King *et al.* (2014).

A concentração do DNA nas amostras foi verificada por espectrofotômetro Nanodrop™ 2000 (Thermo Scientific) e a integridade foi confirmada em eletroforese em gel de agarose 0,8% com 3 µL de DNA concentrado e 3 µL gelred. Foram utilizados 55 pares de *primers* microssatélites, que foram desenvolvidos dentro do programa de melhoramento da empresa sebra agrícola. As reações de PCR foram realizadas utilizando-se: 40 ng de DNA, 0,4 µM de cada primer, 0,5% U de Invitrogen Platinum Taq DNA polimerase, 1X de tampão (100 mM de Tris-HCl pH 8,5, 500 mM KCl), 2,75mM de MgCl₂ e 0,8 mM de dNTPs, com o volume final da reação de 15 µL. As reações foram submetidas à desnaturação inicial por 4 min a 94 °C, seguido de 35 ciclos de 45 segundos a 94° C, 1 min a 56° C (variável conforme o *primer*) e 1 min a 72° C, com uma extensão final de 8 min a 72° C.

Os produtos da amplificação foram separados por eletroforese em gel vertical de poliácridamida 10%, com tampão 1X TBE (Tris HCl/ácido bórico/EDTA), corados com GelRed biotium e fotografados com sistema de fotodocumentação (ChemiDocXRS + System– Bio-Rad™). O tamanho dos fragmentos amplificados foi estimado usando marcador de DNA de 100pb.

A partir dos géis de poliácridamida 10%, as imagens fotodocumentadas, foram selecionadas e os genótipos e *primers* de interesse foram analisados, calculando o número de alelos de cinco genótipos (3, 4, 7, 19 e 20) para os 55 pares de *primers* utilizados. Sendo assim, os dados moleculares foram registrados a partir das bandas detectadas entre os genótipos, onde se gerou uma matriz de valores

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

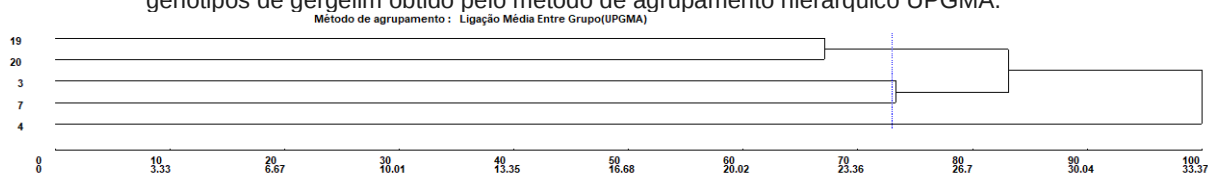
binários, utilizando a codificação (1, 2, ..., n) estando de acordo com o número de alelos por loco. Portanto, os homozigotos foram representados por 11, 22, ..., nn, e os heterozigotos por 12, 13, 14, 23, 24, ... nn e utilizando -9 para identificar dados perdidos, ou seja, com falta de informação do indivíduo (CRUZ, 2006). Esses dados coletados foram organizados em planilhas e convertidos para os formatos exigidos para as análises do programa computacional GENES (CRUZ, 2013).

Para a análise conjunta das características morfológicas e moleculares em medidas de dissimilaridade, que representam a diversidade que há no conjunto de acessos estudados. A matriz gerada permitiu a obtenção da frequência de dissimilaridade. Para a análise de agrupamento, foi avaliada a ligação média entre grupos (UPGMA) e calculado o coeficiente de correlação cofenética (CCC) entre a matriz de dissimilaridades genéticas e a matriz dos valores cofenéticos, a fim de verificar a consistência do agrupamento. Para melhor visualização, um dendrograma foi gerado.

Resultados

A partir do ponto de corte, a cerca de 73% de dissimilaridade utilizando o critério de Mojena (1997), evidenciou a formação de 4 grupos (Figura 1) e o coeficiente de correlação cofenética foi de 0,68.

Figura 1 - Dendrograma da dissimilaridade genética em locos microsatélites para a análise conjunta de cinco genótipos de gergelim obtido pelo método de agrupamento hierárquico UPGMA.



Fonte: os autores.

Os genótipos 19 e 20 se encontram no mesmo grupo contendo a maior similaridade (22,39). Entretanto, é notório que o genótipo 4 e 19 apresentam dissimilaridade de 41,10, como observado na matriz de distância genética (Tabela 1).

Tabela 1 - Matriz de distâncias genéticas entre cinco genótipos de gergelim a partir da análise conjunta.

	3	4	7	19	20
3	0	24,78139	24,47056	32,66079	26,00513
4		0	33,57898	41,10458	34,04874
7			0	27,53892	24,76152
19				0	22,39086
20					0

Fonte: os autores.

Discussão

O coeficiente de correlação cofenética foi satisfatório, apresentando valor de 0,68, semelhante ao resultado apresentado por Houmanat *et al.* (2021), cujo CCC de 0,67 foi observado na avaliação de características qualitativas, quantitativas e marcadores moleculares em acessos de cártamo.

Os genótipos 19 e 20 contém maior similaridade (22,39) e estão no mesmo grupo, o que torna não interessante o cruzamento de ambos de modo que não restrinja a variabilidade genética. Entretanto, é notório que o genótipo 4 se diverge de todos os outros, principalmente do 19 apresentando dissimilaridade de 41,10, podendo ser promissoras para um cruzamento.

O genótipo 4 é um possível promissor, uma vez que possui características de interesse para o mercado, como maior teor de óleo, maior número de cápsulas, bom rendimento de semente, duas flores por axila e cor de semente creme. Além disso, o genótipo 19, apesar de conter a coloração da semente preta, ele apresentou alto teor de óleo, duas flores por axila, características desejáveis para o melhoramento de planta.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

O cruzamento de genótipos com maior dissimilaridade apresenta tendência de gerar populações com grande variabilidade genética (GIBORI *et al.* 1978). No entanto, para os genótipos que possuem baixa dissimilaridade, não é interessante o cruzamento, pois eles têm uma base genética muito estreita, gerando falta de variabilidade, fragilidade a doenças e atinge um limite de produtividade (KISHA *et al.*, 1997; MANJARREZ-SANDOVAL *et al.*, 1997).

Conclusão

Os marcadores moleculares e morfológicos utilizados neste estudo foram eficientes para a caracterização da variabilidade genética;

O genótipo 4 apresentou características que podem ser interessantes para o melhoramento, entre elas, coloração de semente, número de cápsulas por planta, média de semente e alto teor de óleo;

O genótipo 19 apesar de conter coloração escura contém características de interesse como 2 flores por axila e teor de óleo similar às demais sementes de coloração clara, podendo ser um genótipo em potencial.

Referências

ANDRADE, P.B. **Potenciais polinizadores e requerimentos de polinização do gergelim**. 2009. 74f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Centro de Ciências Agrárias, UFC, Fortaleza, 2009.

ANILAKUMAR, K. R.; PAL, A.; KHANUM F.; BAWA, A. S. Nutritional medicinal and industrial uses of sesame (*sesamum indicum* L.) seed – In: Overview. **Agriculturae Conspectus Scientificus**, v. 75, n. 4, p. 159-168, 2010.

ARRIEL, N. H. C.; FIRMINO, P. de T.; BELTRÃO, N. E. de M.; SOARES, J. J.; ARAÚJO, A. E. de; SILVA, A. C.; FERREIRA, G. B. **A cultura do gergelim**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 72 p., 2007.

CRUZ, C. D.; FERREIRA, F. M.; PESSONI, L. A. **Biometria aplicada ao estudo da diversidade genética**. Visconde do Rio Branco - MG: Suprema, 2011.

CRUZ, C.D. GENES - A software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta scientiarum**. v.35, n.3, p.271-276, 2013.

CRUZ, C. D. **Programa genes: análise multivariada e simulações**. Viçosa: UFV, 2006. 175P.

CRUZ, R. N. *et al.* Adubação orgânica residual no crescimento e produção do gergelim irrigado com água residuária. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, Mossoró, v. 8, n. 1, p. 257-263, 2013. Disponível em: <<https://www.gvaa.com.br/revista/index.php/RVADS/article/view/2012/1592>>. Acesso em: 18 de Junho 2023.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUARIA (EMBRAPA). **Cultivo do gergelim no Brasil cresce 230% em um ano**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/64027841/cultivo-do-gergelim-no-brasil-cresce-230-em-um-ano>. Acesso em: 25 de julho de 2023.

GIBORI, A.; HILLEL, J.; CAHANER, A.; ASHRI, A. A 9 × 9 diallel analysis in peanuts (*A. hypogaea* L.): Flowering time, tops' weight, pod yield per plant and pod weight. **Theoretical and Applied Genetics**, v.53, n.4, p. 169-179, 1978.

HOUMANAT, K.; DOUAİK, A.; CHARAFI, J.; HSSAINI, L.; EL FECHTALI, M.; NABLOUSSI, A. Appropriate statistical methods for analysis of safflower genetic diversity using agglomerative

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

hierarchical cluster analysis through combination of phenotypic traits and molecular markers. **Crop Science**, v.61, n.6, p. 4164-4180, 2021.

IPGRI e NBPGR. 2004. **Descriptors for gergelim** (*sesame sp.*). Instituto Internacional de Recursos Genéticos de Plantas, Roma, Itália; e Escritório Nacional de Recursos Genéticos de Plantas, Nova Delhi, Índia.

KING, Z. et al. Non-toxic and efficient DNA extractions for soybean leaf and seed chips for high-throughput and large-scale genotyping. **Biotechn. Letters**, v. 36, n. 9, p. 1875–1879, 2014.

KISHA, T.J.; DIERS, B.W. Allele contribution of parents to selected progeny from two- way crosses. **Soybean Genetics Newsletter**, Ames, v. 24, p. 190-193, 1997.

LUCENA, A.M.A.; CAVALCANTI, N.T.F.; FARIAS, A.L.; SANTOS, K.S.; ARRIEL, N.H.C.; ALBUQUERQUE, F.A. Qualidade de sementes de gergelim colhidas de frutos em diferentes estádios de maturação. **Scientia Plena**, v.9, n.6, 2013.

MANJARREZ-SANDOVAL, P.; CARTER JR., T.E.; WEBB, D.M.; BURTON, J.W. RFLP genetic similarity estimates and coefficient of parentage as genetic variance predictors for soybean yield. **Crop Science**, Madison, v. 37, n. 3, p. 698-703, 1997.

MOJENA R. 1977. Hierarchical grouping methods and stopping rules: an evaluation. **The Computer Journal** 20: 359-363.

OLIVEIRA, E. J. et al. Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. **Genetics and Molecular Biology**, v. 29, n. 02, p. 294-307, 2006.

OLIVEIRA, M. S. P.; SILVA, K. J. D. Diferenciação genética entre procedências de acaizeiro por marcadores moleculares RAPD e SSR. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 02, p. 438-443, 2008.

PAVANI, K. et al. Studies on genetic variability parameters in sesame (*Sesamum indicum* L.). **International Journal of Chemical Studies**, v. 8, n. 4, p. 101–104, 2020.

PARQUE, J.H.; SURESH, S.; CHO, G.T.; CHOI, N.G.; JIN-BAEK, H.; LEE, C.W.; CHUNG, J.W. Assessment of molecular genetic diversity and population structure of sesame (*Sesamum indicum* L.) core collection accessions using simple sequence repeat markers. **Plant Genetic Resources**, v. 12, n. 01, p. 112-119, 2014.

SILVA, A. C. da et al. Salicylic acid as attenuator of drought stress on germination and initial development of sesame. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v. 21, n. 3, p. 156-162, 2017.

SILVA, A. R. **Métodos de agrupamento: avaliação e aplicação ao estudo de divergência genética em acessos de alho**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2012. 83p. (Dissertação – Estatística aplicada e Biometria).

SILVA, L.C. **Cultura do gergelim**. Campina Grande: EMBRAPA-CNPQ, 1993.

WOLDESENBET, D.T.; TESFAYE, K.; BEKELE, E. Genetic diversity of sesame germplasm collection (*Sesamum indicum* L.): implication for conservation, improvement and use. **Biotechnology and Molecular Biology Research**, v.6, n.2, p. 7- 18, 2015.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Sebra Agrícola, agradeço ao Laboratório de Bioquímica e de Biologia molecular e a UFES pelo suporte e estrutura.