

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

ANÁLISE DA DIVERSIDADE GENÉTICA EM GENÓTIPOS DE GERGELIM

(*Sesamum indicum* L.)

Paula da Silva Mendel Soares¹, Fernanda Ianuxauskas Dechechi¹, Guilherme Ferreira Sirtoli¹, Rodrigo Monte Lorenzoni², Matheus Montozo Correa Silva¹, Franciele Barros de Souza Sobreira³, Taís Cristina Bastos Soares³

¹ Universidade Federal do Espírito Santo/, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Alto Universitário, s/n, Guararema – 29500-000 – Alegre - ES, Brasil, paula.mendel@hotmail.com, fernandadechechi@hotmail.com, guilhermeferreirasirtoli@gmail.com, theusmontozo@gmail.com
² Sebra Agrícola S.A., Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento, Lote Canarana I, Chácara G08, 78640-000 – Canarana - MT. rodrigomlorenzoni@gmail.com
³ Universidade 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

O gergelim (*Sesamum indicum* L.) vem sendo cultivado no Brasil em larga escala, a maior parte da produção é destinada para a extração de óleo devida à alta versatilidade de uso. Compreender a variabilidade genética do gergelim é importante para o direcionamento dos programas de melhoramento e, dentre as ferramentas moleculares utilizadas para este fim, o uso de marcadores microssatélites (SSR) presentes em *Expressed Sequence Tags* (EST), tem sido amplamente documentado. Neste estudo, buscou-se avaliar a diversidade genética de 10 genótipos de gergelim através de *primers* de marcadores EST-SSR. Foi utilizado para estimar a diversidade genética a análise de agrupamento entre os indivíduos. Foram avaliados 63 marcadores EST-SSR. No agrupamento dos genótipos pelo método UPGMA, observou-se a formação de 4 grupos de acordo com o ponto de corte realizado. A maior distância genética foi observada entre os genótipos 3 e 10, contrastando com uma maior similaridade observada entre os genótipos 7 e 8. Os marcadores EST-SSR estudados foram eficientes em discriminar, a nível molecular, os genótipos avaliados.

Palavras-chave: genotipagem. microssatélites. marcadores moleculares. polimorfismo.

Área do Conhecimento: Ciências agrárias.

Introdução

O gergelim (*Sesamum indicum* L.) é uma planta que pertence à família Pedaliaceae, oriunda da região da Etiópia (MAZZANI, 1983). O cultivo desta espécie ocorre principalmente na África e Ásia (TENYANG *et al.*, 2017). A introdução do gergelim no Brasil foi realizada pelos portugueses no século XVI (QUEIROGA *et al.*, 2017). No Brasil, o mercado de gergelim cresceu, tanto em área cultivada quanto em produção, nos últimos anos (CONAB, 2022a; EMBRAPA, 2021). A produção brasileira é de 146,9 mil toneladas em 284,3 mil hectares e produtividade de 517 kg.ha⁻¹. A região Centro-Oeste, é a maior produtora (CONAB, 2023).

Os principais benefícios do uso do gergelim na alimentação humana estão relacionados a sua composição nutricional. A semente é composta de 50-60% de óleo, 19% de proteína e 21,6% de carboidratos totais (PAVANI *et al.*, 2020). A maior parte da produção da cultura é destinada para a extração de óleo, fonte de ácidos graxos insaturados, como ácidos linoleicos e oleicos (UZUN, ARSLAN e FURAT, 2008), e que possui alta versatilidade de uso na indústria de alimentos e cosméticos (ARRIEL *et al.*, 2007; BELTRÃO *et al.*, 2013).

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

Devido a expansão da participação do gergelim no agronegócio brasileiro, é necessária a caracterização da diversidade genética entre diferentes acessos para a seleção de genótipos superiores em programas de melhoramento genético. Para este fim, diferentes tipos de marcadores podem ser aplicados, como os morfológicos, bioquímicos e moleculares. Os marcadores moleculares são fenótipos moleculares de um gene expresso ou de um segmento específico de DNA que proporciona a verificação de polimorfismos (diferenças) no material genético de indivíduos (FERREIRA e GRATTAPAGLIA, 1998), esses marcadores sobressaem por não serem influenciados pelo ambiente e estado fisiológico do indivíduo (LANZA *et al.*, 2000). Entre os marcadores moleculares, os microssatélites ou *Simple Sequence Repeats* (SSR) apresentam ampla utilização em estudos com espécies de interesse agrônomo por exibirem diversas vantagens em relação aos outros tipos de marcadores, incluindo sua abundância no genoma e por serem multialélicos, codominantes, com alto grau de polimorfismo, alta reprodutibilidade e transferibilidade (CRUZ *et al.*, 2011; CAIXETA *et al.*, 2013; COSSON *et al.*, 2014).

Entre os marcadores SSR, os contidos em *Expressed Sequence Tags* (EST) apresentam vantagens, tais como estarem relacionadas a genes de função conhecida, exibirem alta transferibilidade entre espécies próximas e custo reduzido para desenvolvimento (ZHANG *et al.*, 2014).

Nesse contexto, objetivou-se avaliar a diversidade genética de 10 genótipos de gergelim (*Sesamum indicum* L.) através de *primers* de marcadores EST-SSR.

Metodologia

Foram utilizados 63 marcadores EST-SSR sintetizados e fornecidos pela empresa Sebra Agrícola para a espécie *Sesamum indicum* L. e que estavam associados à diferentes características de interesse agrônomo.

Foram utilizados dez genótipos do banco de germoplasma da empresa Sebra Agrícola, sendo cinco comerciais (denominadas pelos números 3, 4, 7, 19 e 20) e cinco não-comerciais (8, 10, 21, 22 e 24). As sementes cedidas foram colocadas em bandejas de 200 células (53 x 27 x 4,2 cm) contendo substrato comercial na casa de vegetação na Universidade Federal do Espírito Santo – Campus Alegre. Quando as plantas emitiram o segundo par de folhas, elas foram coletadas para a extração do DNA.

A extração do DNA foi conduzida conforme com protocolo descrito por King *et al.* (2014) no Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular (BqMol) da Universidade Federal do Espírito Santo – Campus Alegre. A concentração do DNA nas amostras foi avaliada utilizando espectrofotômetro Nanodrop™ 2000 (Thermo Scientific) e a integridade foi verificada em eletroforese em gel de agarose 0,8% aplicando-se 3 µL da amostra de DNA e 3 µL do reagente intercalante Gelred. As reações de PCR foram realizadas utilizando-se 40 ng de DNA, 0,4 µM de cada *primer* (F + R), 0,5 U de Taq DNA polimerase (*Invitrogen*), 1X de tampão (10 mM Tris HCl - pH 8,5, 50 mM KCl), 2,75 mM 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™).

Os dados obtidos com os *primers* foram usados para analisar o grau de similaridade entre os genótipos avaliados. A estimativa foi realizada por meio do complemento do índice não ponderado através do programa GENES (CRUZ, 2013). A matriz gerada permitiu a obtenção da frequência de dissimilaridade. Para as análises 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.

Resultados

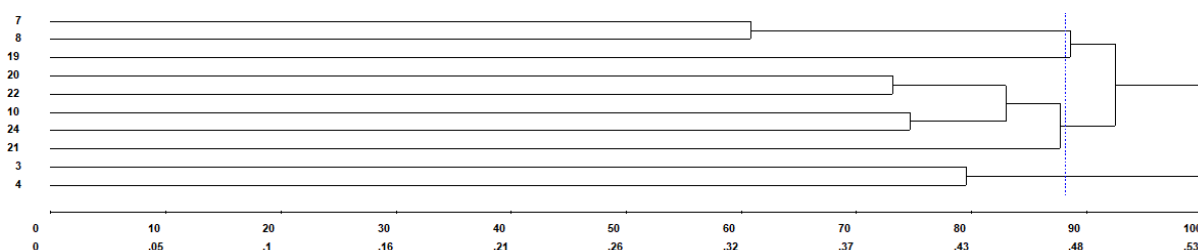
Os dados da caracterização molecular foram utilizados para análise de agrupamento entre os indivíduos, o dendrograma resultante da análise de agrupamento (Figura 1), exhibe os genótipos no eixo vertical e as medidas de dissimilaridade genética, juntamente com suas respectivas porcentagens, no eixo horizontal. Para análise do dendrograma foi traçada uma linha de corte, baseada no método de

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

Mojena (1977) a aproximadamente 90% de dissimilaridade (0,475), evidenciando os grupos formados. O Coeficiente de Correlação Cofenética (CCC), encontrado foi de 77,79%, revelando variação genética entre as os genótipos de gergelim avaliadas.

No dendrograma gerado observa-se a formação de 4 grupos de acordo com o ponto de corte realizado, com CCC de 77,79% (Figura 1). O primeiro grupo é formado pelos genótipos 7 e 8; o segundo pelo genótipo 19; o terceiro apresenta os genótipos 20, 22, 10, 24 e 21; por último, dois genótipos constituem o quarto grupo, 3 e 4.

Figura 1. Dendrograma da dissimilaridade genética baseada em locos microssatélites para dez genótipos de gergelim gerado a partir do método de agrupamento UPGMA.



Fonte: Os autores.

Com base nas distâncias obtidas pela matriz de dissimilaridade genética, os genótipos mais próximos são 7 e 8 (0,328); 20 e 22 (0,394) e 3 e 7 (0,412), enquanto os mais contrastantes são 3 e 10 (0,589), 3 e 21 (0,587), seguido de 4 e 19 e 4 e 20 com 0,585 (Tabela 1).

Tabela 1. Matriz de distâncias genéticas de dez genótipos de gergelim a partir da análise de 63 locos EST-SSR

	3	4	7	8	10	19	20	21	22	24
3	—									
4	0.429	—								
7	0.412	0.571	—							
8	0.473	0.571	0.328	—						
10	0.589	0.536	0.500	0.446	—					
19	0.545	0.585	0.455	0.500	0.473	—				
20	0.537	0.585	0.527	0.509	0.426	0.463	—			
21	0.587	0.560	0.490	0.500	0.490	0.510	0.480	—		
22	0.509	0.528	0.491	0.464	0.500	0.566	0.394	0.442	—	
24	0.544	0.488	0.489	0.580	0.402	0.467	0.419	0.477	0.446	—

Fonte: Os autores.

Discussão

A identificação de genótipos com alta diversidade genética é de extrema importância em programas de melhoramento genético (BARAN *et al.*, 2022). A dissimilaridade genética entre os genótipos pode surgir devido à origem ancestral diversa e alto fluxo gênico causado por polinização cruzada (WILLIAM *et al.*, 2019).

A variabilidade genética é importante para obtenção de ganhos de seleção (SPINELLI *et al.*, 2014). A ampla variabilidade entre características genéticas permite melhor adaptação das plantas cultivadas. Porém, a seleção dos agricultores e as práticas de manejo afetam os padrões de diversidade genética (BARNAUD *et al.*, 2008).

Considerando a notória similaridade entre os genótipos 7 e 8 (0,328) e que o genótipo 7 é comercialmente utilizado, novos estudos com o genótipo 8 se tornam promissores visando a sua futura comercialização. Segundo o banco de dados da Sebra Agrícola, o genótipo 7 apresenta boa média de

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

sementes por cápsula (56,53), alto teor de óleo na semente (51,77%) e a cor da casca da semente é bege. Teklu *et al.* (2021) relata a correlação positiva entre o rendimento de grãos com o rendimento de óleo ($r = 0,99$; $p < 0,01$) e também foram observadas correlações significativas e positivas entre rendimento de grãos e número de sementes por cápsula ($r = 0,17$; $p < 0,01$). Além disso, as sementes de cor clara têm maior qualidade e teor de óleo do que as sementes de cor escura (SILVA *et al.*, 2011). Singh *et al.* (2022) descreve que a planta ideal de gergelim visando o melhoramento deve ter alto teor de óleo. Assim, essas características expressam as potencialidades de estudo do genótipo 8.

Embora marcadores moleculares tenham sido empregados em estudos de diversidade genética de gergelim, a maioria deles não foi baseada nas informações da sequência do genoma (BADRI *et al.*, 2014). Marcadores SSR específicos da cultura empregados pela primeira vez no gergelim revelaram sua natureza altamente informativa, mas o número de marcadores SSR usados foi baixo (DIXIT *et al.*, 2005). Zhang *et al.* (2007) também observaram uma alta variabilidade genética em germoplasma de gergelim com o uso de marcadores EST-SSR e SRAP. No presente estudo, os marcadores EST-SSR desenvolvidos para gergelim provaram ser informativos em estudos de diversidade genética e promissores para serem aplicados em análises de genótipos com características agrônomicas superiores visando a sua aplicação comercial.

Conclusão

Os genótipos 3 e 10 apresentaram a maior distância entre os genótipos avaliados, enquanto o 7 e 8 a maior similaridade.

Referências

- ARRIEL, N. H. C. *et al.* **A cultura do gergelim**. 1. ed. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica: Campina Grande: Embrapa Algodão, 2007. v. 1
- BADRI, J.; YEPURI, V.; GHANTA, A.; SIVA, S.; SIDDIQ, E. A. Development of microsatellite markers in sesame (*Sesamum indicum* L.). **Turkish Journal of agriculture and Forestry**, 38, 603–614. 2014.
- BARAN, N. *et al.* Exploring Genetic Diversity and Population Structure of Turkish Black Sea Region Maize (*Zea mays* L.) Germplasm using SSR Markers. Erzincan University, **Journal of Science and Technology**, v. 15, n. 3, p. 953-963, 2022.
- BARNAUD, A.; TRIGUEROS, G.; MCKEY, D.; JOLY, H.I. High outcrossing rates in fields with mixed sorghum landraces: How are landraces maintained? **Heredity**. 101, 445–452. 2008.
- BELTRÃO, N. E. DE M. *et al.* **O gergelim e seu cultivo no semiárido brasileiro**. 1. ed. Natal: IFRN Editora, 2013. v. 1.
- CAIXETA, E. T.; FERRÃO, L. F. V.; MACIEL-ZAMBOLIM, E. Marcadores moleculares. Em: BORÉM, A.; FRITSCHÉ-NETO, R. (Eds.). **Biotecnologia aplicada ao melhoramento de plantas**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2013. p. 9–30.
- CONAB. Acompanhamento da safra brasileira de grãos, safra 2022/23. **Companhia Nacional de Abastecimento**, v. 10, n. 7, sétimo levantamento, 2023.
- CONAB. Acompanhamento da safra brasileira de grãos. **Companhia Nacional de Abastecimento**, v. 10, n. 2, p. 1–84, 2022a.
- COSSON, P.; DECROOCQ, V.; REVERS, F. Development and characterization of 96 microsatellite markers suitable for QTL mapping and accession control in an Arabidopsis core collection. **Plant methods**, v. 10, n. 1, p. 2, 2014. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24447639>>. Acesso em: 17 abr. 2023.
- CRUZ, C. D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics, **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 35, n. 3, p. 271-276, 2013.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

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.; REGAZZI, A.J.; CARNEIRO, P.C.S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 3 ed. Viçosa: UFV, v.1, 2004, 480p.

DIXIT, A.; JIN, M.H.; CHUNG, J.W.; YU, J.W.; KICHUNG, H. Ma, K. H; PARK, Y.P.; CHI, E. G. Development of polymorphic microsatellite markers in sesame (*Sesamum indicum* L.). **Mol Ecol Notes** 5:736–738. 2005.

EMBRAPA. **Cultivo do gergelim no Brasil cresce 230% em um ano - Portal Embrapa**. Embrapa Agrossilvipastoril, 2021. Disponível em: < <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/64027841/cultivo-do-gergelim-no-brasil-cresce-230-em-um-ano>>. Acesso em: 13 abr. 2023.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3 ed. Brasília-DF: Embrapa, 1998.

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.

LANZA, M. A.; GUIMARÃES, C. T.; SCHUSTER, I. **Aplicação de marcadores moleculares no melhoramento genético**. 2000.

MAZZANI, B. Cultivo y mejoramiento de plantas oleaginosas. **Caracas**, p. 169–226, 1983.

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

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, 1 jul. 2020.

QUEIROGA, V. DE P. *et al.* **GERGELIM - A Importância da cultura**. Teresina, 2017. Disponível em: <www.embrapa.br/fale-conosco/sac>. Acesso em: 13 abr. 2023.

SILVA, A. R. A.; BEZERRA, F. M. L.; SOUSA, C. C. M.; PEREIRA FILHO, J.V.; FREITAS, C. A. S. Desempenho de cultivares de girassol sob diferentes lâminas de irrigação no Vale do Curu, CE. **Revista Ciência Agrônômica**, v. 42, p. 57-64, 2011.

SINGH, M., CHAHAR, S., AVTAR, R., SINGH, A., KUMAR, N. Advances in Classical and Molecular Breeding in Sesame (*Sesamum indicum* L.). In: Gosal, S.S., Wani, S.H. (eds) **Accelerated Plant Breeding**, v. 4. Springer, Cham. 2022.

SPINELLI, V. M.; DIAS, L. A. S.; ROCHA, R. B.; RESENDE, M. D. V. Yield performance of half-sib families of physic nut (*Jatropha curcas* L.). **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 14, n. 1, p. 49-53, 2014.

TENYANG, N.; PONKA, R.; TIENCHEU, B.; DJIKENG, F. T.; AZMEERA, T.; KARUNA, M. S. L., *et al.* Effects of boiling and roasting on proximate composition, lipid oxidation, fatty acid profile and mineral content of two sesame varieties commercialized and consumed in Far-North Region of Cameroon. **Food Chemistry**, v. 221, p. 1308–1316, 2017.

TEKLU, D. H.; SHIMELIS, H.; TESFAYE, A.; MASHILO, J.; ZHANG, X.; ZHANG, Y.; SHAYANOWAKO, A. I. T. Genetic Variability and Population Structure of Ethiopian Sesame (*Sesamum indicum* L.) Germplasm Assessed through Phenotypic Traits and Simple Sequence Repeats Markers. **Plants**, 10(6), 1129, 2021.

UZUN, B.; ARSLAN, Ç.; FURAT, S. Variation in fatty acid compositions, oil content and oil yield in a germplasm collection of sesame (*Sesamum indicum* L.). **J. Amer. Oil Chem. Soc.** v. 85, n. 12, p.1135–1142, 2008.

A era digital e suas implicações sociais: Desafios e contribuições

WILLIAM, T.S.; HUSSEIN, S.; MARK, L.; ISACK, M.; ADMIRE, I.T.S. Assessment of the genetic diversity and population structure of rice genotypes using SSR markers. **Acta Agric. Scand.Sect. B Soil Plant Sci.** p. 70, 76–86, 2019.

ZHANG, M., MAO, W., ZHANG, G., WU, F. Development and Characterization of Polymorphic EST-SSR and Genomic SSR Markers for Tibetan Annual Wild Barley. **Plos One**, China, v. 9, 2014.

ZHANG, P.; YANG, Z. H.; ZHEN, G. W.; ZHAN, Z. Y.; BIN, W. L.; ZHEN, Z. T. Genetic diversity analysis of *Sesamum indicum* L. germplasm using SRAP and EST-SSR markers. **Acta Agronomica Sinica** 33: 1696–1702. 2007.

Agradecimentos

À sebra Agrícola pelo fornecimento dos materiais genéticos e suporte financeiro para desenvolvimento das análises. À Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) por possibilitar a realização dessa pesquisa.