



ISSN 1676 - 1340

Novembro, 2001

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro Nacional de Pesquisa de Recursos Genéticos e Biotecnologia
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 13

**Análise da variabilidade
genética da coleção brasileira de
germoplasma de amendoim
(*Arachis hypogaea* L.), por meio
de marcadores microssatélites**

Márcio de Carvalho Moretzsohn
José Francisco Montenegro Valls

Brasília, DF
2001

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Serviço de Atendimento ao Cidadão

Parque Estação Biológica, Av. W5 Norte (Final) - Brasília, DF

CEP 70770-900 - Caixa Postal 02372

PABX: (61) 448-4600

Fax: (61) 340-3624

<http://www.cenargen.embrapa.br>

e.mail:sac@cenargen.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: José Manuel Cabral de Sousa Dias

Secretária-Executiva: Miraci de Arruda Camara Pontual

Membros: Antônio Costa Allem

Marcos Rodrigues de Faria

Marta Aguiar Sabo Mendes

Sueli Correa Marques de Mello

Vera Tavares Campos Carneiro

Suplentes: Edson Junqueira Leite

José Roberto de Alencar Moreira

Supervisor editorial: Miraci de Arruda Camara Pontual

Revisor de texto: Miraci de Arruda Camara Pontual

Normalização bibliográfica: Sérgio Souza Santos

Tratamento de ilustrações: Alysso Messias da Silva

Editoração eletrônica: Alysso Messias da Silva

1ª edição

1ª impressão (2001): tiragem 250 exemplares

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

MORETZSOHN, M. de C.; VALLS, J. F. M. **Análise da variabilidade genética da coleção brasileira de germoplasma de amendoim (*Arachis hypogaea* L.), por meios de marcadores microssotélites.** Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2001. 27p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 13).

ISSN 1676 - 1340

1. *Arachis hypogaea*. 2. Caracterização molecular. 3. Variabilidade genética. 4. SSR. I. Título. II. Série. III. Valls, J. F. M.

CDD 583.74

© Embrapa 2001

Sumário

Resumo	5
Abstract	7
Introdução	9
Material e Métodos	10
Resultados e Discussão	15
Conclusão	22
Referências Bibliográficas	23

Análise da variabilidade genética da coleção brasileira de germoplasma de amendoim (*Arachis hypogaea* L.), por meio de marcadores microssatélites

Márcio de Carvalho Moretzsohn¹

José Francisco Montenegro Valls²

Resumo

O amendoim (*Arachis hypogaea* L.) possui considerável variabilidade para diversas características morfológicas, fisiológicas e agronômicas. No entanto, pouca variação tem sido detectada por marcadores moleculares, tais como RAPD ("Random Amplified Polymorphic DNA"), AFLP ("Amplified Fragment Length Polymorphism") e RFLP ("Restriction Fragment Length Polymorphism"). A identificação de marcadores moleculares polimórficos seria, portanto, de grande utilidade para o melhoramento genético e para estudos de relações genéticas e filogenia do amendoim. Marcadores microssatélites ou SSR ("Simple Sequence Repeats") constituem a ferramenta ideal para estes estudos, por serem multialélicos, codominantes e baseados em PCR. Os objetivos deste trabalho foram (1) desenvolver e caracterizar marcadores microssatélites polimórficos para o amendoim e (2) analisar a variabilidade genética de acessos da coleção brasileira de germoplasma de amendoim. Foi construída uma biblioteca genômica, enriquecida para repetições TTG. Um total de 67 pares de primers foi desenhado (41,4% dos clones positivos seqüenciados), com base nas seqüências de DNA que flanqueiam o microssatélite (seqüência repetitiva). Destes, 53 primers (79,1%) amplificaram fragmentos com boa resolução, mas apenas três primers mostraram-se polimórficos para *A. hypogaea*. Estes primers, mais outros cinco já descritos na literatura, foram caracterizados quanto ao

¹ Eng. Agrôn., M.Sc., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

² Eng. Agrôn., Ph.D., Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

Análise da variabilidade genética da coleção brasileira de germoplasma de amendoim (*Arachis hypogaea* L.), por meio de marcadores microssatélites

número de alelos por loco (de 2 a 18) e diversidade gênica (de 0,465 a 0,931), em uma amostra de 60 acessos de *A. hypogaea*. Os resultados mostraram que a coleção brasileira de germoplasma de amendoim possui considerável variabilidade genética. Além disso, grupos de similaridade foram estabelecidos e serão de grande utilidade para a definição de plantas parentais, a serem utilizadas em programas de melhoramento genético. Este estudo contém importantes informações para a conservação de germoplasma, para programas de melhoramento e para um melhor entendimento da evolução de *A. hypogaea*.

Introdução

O amendoim (*Arachis hypogaea* L.) é uma cultura importante internacionalmente, tanto para consumo direto, como para produção de óleo, sendo cultivada em mais de 80 países nas Américas, na Ásia e na África (Singh & Singh, 1992). O gênero *Arachis* é nativo da América do Sul e contém 69 espécies descritas, reunidas em nove seções, de acordo com a morfologia, distribuição geográfica e viabilidade de cruzamentos (Krapovickas & Gregory, 1994).

A grande maioria das espécies é diplóide, mas o amendoim cultivado é alotetraplóide (AABB). A origem de *A. hypogaea* é bastante controversa. Por ser um alotetraplóide, acredita-se que tenha surgido da hibridização entre duas espécies diplóides. Diversas espécies têm sido sugeridas como as possíveis doadoras dos genomas A e B (revisto por Kochert et al., 1996; Raina & Mukai, 1999). Atualmente, a hipótese mais aceita é de que o amendoim tenha uma origem única, resultante de um cruzamento entre *A. ipaënsis*, doadora do genoma B, e *A. duranensis* (Kochert et al., 1996) ou *A. villosa* (Raina & Mukai, 1999), doadoras do genoma A.

Arachis hypogaea possui considerável variabilidade para diversas características morfológicas, fisiológicas e agrônômicas. No entanto, pouca variação tem sido detectada por marcadores moleculares, tais como RAPD ("Random Amplified Polymorphic DNA"), AFLP ("Amplified Fragment Length Polymorphism") e RFLP ("Restriction Fragment Length Polymorphism") (Halward et al., 1991; Kochert et al., 1991, 1996; Paik-Ro et al., 1992; Hilu & Stalker, 1995; He & Prakash, 1997; Subramanian et al., 2000). Acredita-se que esta baixa variabilidade genética seja decorrente do isolamento reprodutivo do amendoim, em relação às espécies silvestres diplóides, devido à poliploidização (Halward et al., 1991; Young et al., 1996). No entanto, pouco se sabe sobre a variabilidade genética da coleção brasileira de germoplasma, especialmente ao nível de DNA. O conhecimento da variabilidade genética de acessos de amendoim é essencial para seu eficiente uso em programas de melhoramento, para estudos de filogenia e para a conservação de germoplasma. A análise de acessos com marcadores moleculares, junto à caracterização fenotípica, é a ferramenta ideal para a identificação de grupos de similaridade e para a seleção de genitores que irão constituir as novas populações de melhoramento. No contexto da conservação *ex situ*, marcadores moleculares têm-se mostrado de grande utilidade para o manejo de coleções de germoplasma

Análise da variabilidade genética da coleção brasileira de germoplasma de amendoim (*Arachis hypogaea* L.), por meio de marcadores microssatélites

(Westman & Kresovich, 1997). A identificação de marcadores moleculares polimórficos seria, portanto, de grande utilidade para o melhoramento genético, para a conservação de germoplasma e para estudos de relações genéticas e filogenia do amendoim. Marcadores microssatélites ou SSR ("Simple Sequence Repeats") constituem a ferramenta ideal para estes estudos, por serem multialélicos, codominantes e baseados em PCR. Estudos comparativos, em plantas, mostraram que marcadores SSR são mais polimórficos do que outros tipos de marcadores moleculares (Powell et al., 1996; Milbourne et al., 1997; Bohn et al., 1999). Microssatélites têm sido utilizados em diversos estudos em plantas, incluindo a análise da variabilidade genética de coleções de germoplasma (revisto por Gupta & Varshney, 2000). Em *Arachis*, seis marcadores SSR foram recentemente desenvolvidos (Hopkins et al., 1999). Os objetivos do presente trabalho foram: (1) desenvolver e caracterizar marcadores microssatélites polimórficos para o amendoim e (2) analisar a variabilidade genética de acessos da coleção brasileira de germoplasma de amendoim.