

## IDENTIFICAÇÃO PRELIMINAR DE MARCADORES DE MICROSSATÉLITES CANDIDATOS À QTLs DE RESISTÊNCIA A *MELOIDOGYNE INCOGNITA* EM FEIJÃO COMUM

**VIEIRA, Lucas Donizetti<sup>1</sup>; SILVA, Juliana Oliveira<sup>1</sup>; MENEZES, Ivandilson Pessoa Pinto<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Estudante de Iniciação Científica – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Câmpus Urutaí - GO. [lucasvieira135@hotmail.com](mailto:lucasvieira135@hotmail.com); <sup>2</sup> Orientador – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Câmpus Urutaí - GO. [ivan.menezes@ifgoiano.edu.br](mailto:ivan.menezes@ifgoiano.edu.br)

**RESUMO:** Objetivou-se com este trabalho caracterizar locos SSRs candidatos a resistência ao nematoide de galha em feijão comum usando ferramentas de bioinformática. As sequências de QTLs, em soja, associadas a resistência genética foram obtidas no banco de dados NCBI. Estas sequências foram usadas para identificação de regiões homologas no genoma de feijão usando a ferramenta BLAST. Para identificação dos marcadores de microssatélites e desenho dos pares de primers foi usado o programa WebSat. Foram identificados três genes descritos que conferem resistência ao nematoide de galha em soja em feijão. Uma alta homologia também foi constatada para cada gene no feijão. Três pares de primers SSRs foram identificados, uma para cada sequência homologa em feijão. A partir dos dados é possível indicar três marcadores microssatélites em feijão candidatos a conferir resistência ao nematoide da galha.

**Palavras-chave:** Marcadores SSR, Seleção Assistida, Ortologia, pré-melhoramento.

### INTRODUÇÃO

O Brasil é líder no mundo quanto a produção e consumo de feijão comum *Phaseolus vulgaris* (SILVA; WANDER, 2013). É uma cultura plantada na maioria dos estados brasileiros, principalmente, por agricultores locais, os quais exploram o potencial de seus acessos conforme a observações locais feitas durante o desenvolvimento de suas lavouras.

Os danos causados pelas doenças, que incluem o nematoide de galha, tem feito com que a produção brasileira de feijão não seja capaz de suprir a demanda de abastecimento do mercado interno (YOKOYAMA, 2013).

Uma importante forma de manejo dos nematoides é o uso de variedades resistentes. Embora fontes de resistência a *Meloidogyne* sp. já tenham sido encontradas são pouco exploradas (CANEIRO et al.1992; WALBER et al., 2003). Fato que ressalta a importância no desenvolvimento de ferramentas que ajudem a definir recomendações preventivas.

Nesse aspecto ressalta-se a importância do uso de ferramentas biotecnológicas, assim como os marcadores de DNA SSR (*Simple Sequence Repeats*), para o desenvolvimento de cultivares mais competitivas quanto a condições específicas reduzindo o custo de produção local dos agricultores.

O uso de marcadores de DNA tem envolvido estudos de seleção assistida (ALZATE-

MARIAN et al., 2005), na caracterização de linhagens de valor de cultivo e uso (VCU) (BRONDANI-VIANELLO et al., 2013) entre outras.

A obtenção de marcadores de microssatélites seletivos ficou mais fácil, rápido e econômico quando comparado aos desenvolvidos a partir de bibliotecas genômicas enriquecidas (BUSO et al., 2006).

O presente trabalho propõe identificar marcadores SSRs candidatos associados a genes de resistências a nematoides para seleção assistida de variedades locais de feijão resistentes que melhor atendam a demanda dos produtores rurais quanto a doença causada pelo nematoide de galha.

### MATERIAL E MÉTODOS

Inicialmente foi feita uma pesquisa nos indexadores Scielo e Google Acadêmico, afim de descobrir artigos que descrevessem os genes que conferem a resistência da soja (*Glycine max*) a nematoide de galha (*Meloidogyne incognita*).

Uma vez encontrados os genes, partiu-se então para a pesquisa de similaridade e identificação de marcadores EST-SSR em feijão. As sequências de QTLs associados a resistência genética a nematoide em soja foram obtidas no banco de dados NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

As sequências foram usadas para identificação de regiões homologas no genoma de feijão usando o programa “BLAST” disponível no

site phytosome. As sequências de “Assembly EST” similares obtidas foram definidas significativas quando valor de E-value for <1e-50.

Para identificação dos marcadores de microssatélites e desenho dos pares de primers foi usando o programa WebSat (<http://purl.oclc.org/NET/websat/>).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram identificados três genes descritos que conferem resistência ao nematoide de galha na soja, sendo eles: Rhg1, Rhg4 (PHAM et al. 2013) e Rmi1 (LI et al. 2001).

Alta homologia, também, foi constatada para cada gene em feijão 70%, 70% e 70% respectivamente. Semelhança que indica a microcolinearidade evolutiva entre a soja e feijão, grupos que divergiram independentemente a cerca de 56 milhões de anos a partir de um evento de duplicação de genoma (*whole-genome duplication* WGD) (LAVIN et al. 2005)

Três pares de primers SSRs foram identificados, um para cada sequência homóloga a Rhg1, Rhg4 e Rmi1 em feijão. Estes representam marcadores SSR candidatos a conferir resistência a nematóide.

Todos marcadores SSRs foram do tipo perfeito, com unidade de repetição para o primeiro gene caracterizada de dinucleotídeo (TC)<sub>5</sub> e para os outros dois trinucleotídeo (GAA)<sub>4</sub>, (CGA)<sub>4</sub> e tamanho esperado de 208, 378 e 352 pb, nesta ordem.

## CONCLUSÃO

Com estes resultados preliminares é possível indicar três marcadores de microssatélites em genes ortólogos em feijão a partir de genes descritos em soja como responsáveis por conferir resistência ao nematoide da galha.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Instituto Federal Goiano – Câmpus Urutaí pelo suporte financeiro.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALZATE-MARIN, A. L.; CERVIGNI, G. D. L.; MOREIRA, M. A.; BARROS, E. G. Seleção assistida por marcadores moleculares visando ao desenvolvimento de plantas resistentes a doenças, com ênfase em feijoeiro e soja. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, n. 4, p. 333–342, 2005.

BRONDANI-VIANELLO, R. P.; CARDOSO, P. C. B.; VEIGA, M. M.; MENEZES, I. P. P.; VALDISSER, P. A. M. R.; BORBA, T. C. O.;

MELO, L. C.; PELOSO DEL, M. J.; BRONDANI, C. Molecular characterization of high performance inbred lines of Brazilian common beans. **Genetics and Molecular Research**, p. 5467-84, 2013.

BUSO, G.; AMARAL, Z.; BRONDANI, R.; FERREIRA, M. Microsatellite markers for the common bean *Phaseolus vulgaris*. **Molecular Ecology Notes**, v. 6, n. 1, p. 252-254, 2006.

CARNEIRO, R. G.; FERRAZ, S.; REGAZZI, A. J. Estudo de mecanismo de resistência a *Meloidogyne incognita* raça 3 em variedades de feijoeiro. **Nematologia Brasileira**, v. 16, n. 1/2, p. 41-52, 1992.

LAVIN, M.; HERENDEEN, P.S.; WOJCIECHOWSKI, M.F. Evolutionary rates analysis of Leguminosae implicates a rapid diversification of lineages during the Tertiary. **Syst. Biol.** v. 54, p. 575–594, 2005.

LI, Z.; JAKKULA, L.; HUSSEY, R. S.; TAMULONIS, J. P.; BOERMA, H. R. SSR mapping and confirmation of the QTL from PI96354 conditioning soybean resistance to southern root-knot nematode. **Theory Apply genetic**, v. 103 p. 1167-1173, 2001.

PHAM, A. T.; MCNALLY, K.; ABDEL-HALEEM, H.; BOERMA, H. R.; LI, Z. Fine mapping and identification of candidate genes controlling the resistance to southern root-knot nematode in PI 96354. **Theory Apply genetic**, 2013.

SILVA, O. F.; WANDER, A. E. **O feijão-comum no Brasil passado, presente e futuro**. Santo Antônio de Goiás, Embrapa Arroz e Feijão. 2013. Documentos 287.

WALBER, R. et al. **Avaliação de acessos de feijoeiro em relação aos nematóides das galhas**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 36, 2003, Uberlândia. Anais. Brasília, Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 2003.

YOKOYAMA, L.P. **Cultivo do feijoeiro comum**: sistemas de produção, 2. Disponível em:<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/CultivodoFeijoeiro/importancia.htm>. Acesso em: 29 dez. 2013.