

FOL 05430
2001
FL-05430

Estudo das Relações Genéticas de Acessos de Feijão Utilizando Marcadores RAPD

República Federativa do Brasil

Fernando Henrique Cardoso
Presidente

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Marcus Vinicius Pratini de Moraes
Ministro

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

Conselho de Administração

Márcio Fortes de Almeida
Presidente

Alberto Duque Portugal
Vice-Presidente

Dietrich Gerhard Quast
José Honório Accarini
Sérgio Fausto
Urbano Campos Ribeiral
Membros

Diretoria-Executiva da Embrapa

Alberto Duque Portugal
Diretor-Presidente

Dante Daniel Giacomelli Scolari
Bonifacio Hideyuki Nakasu
José Roberto Rodrigues Peres
Diretores-Executivos

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Luiz Antonio Barreto de Castro
Chefe-Geral

Arthur da Silva Mariante
Chefe-Adjunto de Administração

Clara Oliveira Goedert
Chefe-Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento

José Manuel Cabral Sousa Dias
Chefe-Adjunto de Comunicação, Negócios e Apoio

FOL 05430 19321
Embrapa

ISSN 1676 - 1340

Dezembro, 2001

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

EMBRAPA
GENARGEN

**Boletim de Pesquisa
e Desenvolvimento 9**

**Estudo das Relações Genéticas
de Acessos de Feijão Utilizando
Marcadores RAPD.**

Gláucia Salles Cortopassi Buso
Zilneide Pedrosa de Souza Amaral
Márcio de Carvalho Moretzsohn
Cláudio Brondani
Heloísa Torres da Silva

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: Alysson Messias da Silva

Editoração eletrônica: Alysson Messias da Silva

1ª edição

1ª impressão (2001): tiragem 150 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).

BUSO, G. S. C.; AMARAL, Z. P. de S.; MORETZSOHN, M. de C.; BRONDANI, C.; SILVA, H. T. da. **Estudo das relações genéticas de acessos de feijão utilizando marcadores RAPD**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2001. 21p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 9).

ISSN 1676-1340

1.Genética - Feijão. 2.Diversidade - Feijão. 3.RAPD - Feijão.
I.Título II.Amaral, Z. P. de S. III.Moretzsohn, M. de C.
IV.Brondani, C. V.Silva, H. P. da.

CDD.635.652

© Embrapa 2001

Sumário

Resumo	5
Abstract.....	7
Introdução	9
Material e Métodos	10
Resultados e Discussão	14
Conclusão	19
Referências Bibliográficas	20

Estudo das Relações Genéticas de Acessos de Feijão Utilizando Marcadores RAPD

*Gláucia Salles Cortopassi Buso*¹

*Zilneide Pedrosa de Souza Amaral*²

*Márcio de Carvalho Moretzsohn*³

*Cláudio Brondani*⁴

*Heloísa Torres da Silva*⁵

Resumo

O feijão é um alimento importante, principalmente em países em desenvolvimento, onde é utilizado como fonte primária de proteínas, ferro e carboidratos. A média de produtividade no Brasil, no entanto, é baixa, em virtude, principalmente, da complexidade dos sistemas e épocas de cultivo e, também, da estreita variabilidade genética das cultivares comerciais em uso. Uma das alternativas para incrementar esta produtividade é a melhor utilização dos recursos genéticos existentes, como fonte de introdução de variabilidade genética nos programas de melhoramento. O conhecimento da extensão e distribuição da variabilidade genética das espécies cultivadas e seus parentes silvestres é uma condição básica para incrementar a utilização do germoplasma nesses programas. Para esta finalidade, marcadores moleculares fornecem a melhor estimativa da diversidade genética, pois são independentes de efeitos ambientais. Marcadores RAPD têm sido muito utilizados para análise de variabilidade genética em Bancos de Germoplasma, pois apresentam, em geral, um alto conteúdo informativo, identificam um bom número de locos polimórficos por reação, além de ser uma técnica altamente acessível, por ser rápida, de baixo custo e pouco intensiva em mão-de-obra. Este trabalho teve como objetivo o

¹ Eng^a. Agr^a., Dr^a. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. E-mail: buso@cenargen.embrapa.br

² Assistente de Operação, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

³ Eng. Agr., M.Sc. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

⁴ Eng. Agr., Dr. Embrapa Arroz e Feijão.

⁵ Eng^a. Agr^a., Dr^a. Embrapa Arroz e Feijão.

estudo da variabilidade de acessos representativos da coleção de germoplasma de feijão mantida na Embrapa Arroz e Feijão, utilizando marcadores RAPD. Foram analisados 80 acessos de feijão comum (*P. vulgaris*), 2 acessos de feijão fava (*P. lunatus*) e 3 acessos de feijões silvestres, utilizando-se 105 marcadores RAPD. Formaram-se dois agrupamentos principais, um contendo acessos de *P. vulgaris* e o outro com *P. lunatus*. Dentro de *P. vulgaris*, formou-se um grande grupo de feijões de origem Mesoamericana, como preto, carioca e roxo e um grupo contendo feijões Andinos, tipo manteigão. Foi possível a identificação de acessos de feijão preto com até 60% de similaridade e acessos de feijão carioca e mulatinho com até 78% de similaridade. Estes dados são uma fonte de informação adicional aos melhoristas, durante a etapa de planejamento de novos cruzamentos, visando o aumento da variabilidade genética das populações de melhoramento.

Termos para indexação: *Phaseolus*, RAPD, variabilidade genética, germoplasma

Study of Genetic Relatedness in Beans Based in RAPD Markers

Abstract

Beans are very important food legume, mainly for developing countries where they are used as primary protein, iron and carbohydrate source. The mean productivity in Brazil is low, due, mainly, to complexity of cultivation systems and cultivation time and also to the low genetic variability of commercial cultivars in use. One alternative to increase the productivity is the better use of available genetic resources, as a source of genetic variability in breeding programs. The knowledge of the extension and distribution of genetic variability of cultivated species and its wild relatives is a basic condition to increase the utilization of germplasm in breeding programs. For this end, molecular markers provide the best genetic diversity estimate, as they are independent of environmental effects. RAPD markers have been used in genetic variability studies of germplasm banks. These markers present, in general, high information content, identify a good number of polymorphic loci by reaction, and constitute a highly accessible technique, because it is fast, low-cost and low intensive in hand-work. This work had the objective to study the variability of representative accessions of the germplasm collection maintained by Embrapa Arroz e Feijão using RAPD markers. Eighty accessions of *P. vulgaris*, 2 accessions of *P. lunatus* and 3 wild accessions were analyzed using 105 RAPD markers. Two main groups were formed, one containing *P. vulgaris* accessions and another one with *P. lunatus* accessions. Within the *P. vulgaris* group, a large group was differentiated containing Mesoamerican pool beans, such as black, "carioca" and red beans and a second subgroup with beans of Andine pool. In *P. vulgaris*

group, it was also possible to identify accessions of black bean type with similarity of 60% and accessions of "carioca" and "mulato" bean types with similarity of 78%. This data are an additional information source to breeders during the planning phase of new crossings, aiming to increase genetic variability of the breeding populations.

Index terms:

Phaseolus, RAPD, genetic variability, germplasm

Introdução

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma das leguminosas alimentícias mais importantes do mundo. A América Latina é responsável por aproximadamente metade da produção mundial e Brasil, México e América Central são os maiores produtores deste continente (CGIAR, 1997). O feijão é importante principalmente para os países em desenvolvimento, onde é utilizado como fonte primária de proteínas, ferro e carboidratos. Apesar disso, a média de produtividade do feijão é baixa, em virtude, principalmente, da complexidade dos sistemas e épocas de cultivo, ou seja, da coexistência de sistemas altamente tecnificados com sistemas de subsistência. Também tem sido apontada como uma limitação para o aumento do rendimento da cultura, a estreita variação genética no "background" das cultivares comerciais desenvolvidas pelos programas de melhoramento. No Brasil são plantadas várias cultivares de feijão que representam, basicamente, os tipos comerciais mais comuns: Preto, Carioca, Mulatinho, Roxo, Rosinha e Amarelo (Silva, 1999). A análise de "pedigrees" e do padrão da proteína faseolina em acessos de *Phaseolus* cultivado e silvestre evidencia que a base genética do feijão cultivado é bastante estreita (Gepts & Bliss, 1986). O germoplasma utilizado no melhoramento genético do feijão consiste principalmente de material cultivado e poucas formas silvestres têm sido incorporadas (Bliss, 1989). Segundo Voysest et al. (1994a), nos programas de melhoramento da América Latina, a predominância de hibridação dentro de genótipos de uma mesma raça mostra um padrão marcado pela excessiva contribuição genética de um pequeno grupo de ancestrais da raça Mesoamericana.

É premente, portanto, a necessidade de se ampliar a base genética dos programas de melhoramento de feijão e um pré-requisito para o uso dos recursos genéticos é o conhecimento detalhado da extensão e distribuição da variabilidade genética disponível nas espécies cultivadas e seus parentes silvestres. A Embrapa Arroz e Feijão mantém uma grande coleção de variedades e parentes silvestres de feijão. Para se gerar conhecimento sobre a variabilidade genética disponível, é necessária a caracterização deste germoplasma. Diversas técnicas de biologia molecular são disponíveis, hoje, para a detecção de variação genética em seqüências de DNA, ou seja, para detecção de polimorfismo genético. Estas técnicas permitem a obtenção de um número ilimitado de marcadores moleculares, cobrindo todo o genoma do organismo. Os marcadores moleculares são, em geral, neutros em relação a efeitos fenotípicos, e podem ser utilizados

para caracterizar o genótipo de um indivíduo, a partir de amostras de células ou tecidos em qualquer estágio de desenvolvimento da planta (Ferreira & Grattapaglia, 1995). Recentemente, grandes avanços têm sido obtidos com várias técnicas moleculares, as quais têm tornado possíveis os estudos de variabilidade, de similaridade e de distância genética entre organismos. Um dos métodos mais simples e rápidos baseia-se na análise de polimorfismo de fragmentos de DNA amplificados ao acaso (RAPD – “Random Amplified Polymorphic DNA”) (Williams et al., 1990; Welsh & McClelland, 1990). A técnica envolve a utilização de um único “primer” na reação de PCR (“Polymerase Chain Reaction”), o que resulta na amplificação de vários produtos discretos de DNA na mesma reação de amplificação (PCR). Cada produto é derivado de uma região do genoma que contém dois segmentos curtos complementares ao “primer”, em fitas opostas de DNA e suficientemente próximos para que a amplificação ocorra. Os polimorfismos são detectados como presença ou ausência de bandas e resultam da diferença na sequência de DNA, que possibilita ou não o anelamento do “primer”. Estas bandas são herdadas de forma Mendeliana e, portanto, são úteis como marcadores moleculares para caracteres qualitativos e quantitativos (Williams et al., 1990). Marcadores do tipo RAPD são marcadores dominantes, ou seja, em um indivíduo heterozigoto, somente é detectado um alelo. Apesar disto, estes marcadores são extremamente eficientes na análise de coleções de germoplasma muito extensas, pois podem amostrar simultaneamente várias regiões genômicas, além de possuírem um dos menores custos, em comparação com as demais classes de marcadores moleculares. Sua aplicação na análise de diversidade genética de feijão pode trazer novas informações e auxiliar o programa de melhoramento desta espécie. O objetivo deste trabalho foi a utilização de marcadores RAPD no estudo da variabilidade genética entre acessos de feijão, representativos da coleção de germoplasma da Embrapa Arroz e Feijão, visando a ampliação da base genética de populações iniciais do programa de melhoramento.

Material e Métodos

Oitenta e cinco acessos da coleção de germoplasma de feijão (Tabela 1) mantida pela Embrapa Arroz e Feijão foram selecionados, para realização de uma análise de similaridade genética, com a utilização de marcadores RAPD. O grupo é formado por acessos representativos da coleção de germoplasma, sendo 80 acessos de feijão comum (*P. vulgaris*), 2 de feijão fava (*P. lunatus*) e 3 acessos de feijões silvestres oriundos do México, Argentina e Peru.

Tabela 1. Acessos de feijão da coleção de germoplasma da Embrapa Arroz e feijão, utilizados na análise de variabilidade genética com marcadores RAPD.

No.	No. CNPAF	Nome	Grupo	Origem
1	246	Mineiro Precoce	Manteigão	1
2	480	Ouro Negro	Preto	1
3	546	Goiano Precoce	Manteigão	2
4	1056	Mão Curta	Mulato	2
5	1162	IPA 74-19	Mulato	1
6	1206	Roxão EEP	Vermelho/Roxo	1
7	2035	Rio Tabagi	Preto	1
8	2147	Catu	Mulato	1
9	2150	EPABA 1	Mulato	1
10	3228	Moruna 80	Preto	1
11	4024	A 230 Serrano	Preto	1
12	4108	A 285 Ruda	Carioca	1
13	4514	Capixaba Precoce	Preto	1
14	4640	Varre Sai	Preto	1
15	4681	IAPAR 10	Preto	1
16	4856	Rubi	Rosinha	1
17	4947	Jalo EEP 558	Manteigão	1
18	5036	Cubano	Preto	2
19	5417	Onix	Preto	1
20	5455	IPA 6 L 1055	Mulato	1
21	5484	Barriga	Verde Preto	1
22	5488	Minuano	Preto	1
23	5490	Macotaco	Preto	1
24	5494	Macanudo	Preto	1
25	5520	Corrente	Mulato	1
26	5533	São José	Mulato	1
27	5544	EMGOPA Ouro 201 Amarelo		1

Continua...

Tabela 1. Continuação.

28	5597	FT 120	Preto	1
29	5598	Chapecó	Preto	1
30	5599	Rio Negro	Preto	1
31	5604	BR1 Xodó	Preto	1
32	5612	Iraí	Manteigão	1
33	5613	IAPAR 14	Carioca	1
34	5824	Aporé	Carioca	1
35	5887	Goyatacazes	Carioca	1
36	5923	Diamante Negro	Preto	1
37	6134	FT Tarumã	Preto	1
38	6141	Ouro Branco	Manteigão	1
39	6296	Safira	Vermelho/roxo	1
40	6530	FT 85-206	Carioca	1
41	6537	IAC Carioca	Carioca	1
42	6538	Vermelho 2157	Vermelho/roxo	1
43	6548	Princesa	Carioca	1
44	6850	Novo Jalo	Manteigão	1
45	6878	Jalo Pecoce	Manteigão	1
46	7050	Roxo 90	Roxo	1
47	7057	Xamego	Preto	1
48	7090	MA 733327	Preto	1 (Linhagem)
49	7131	IAPAR 31	Carioca	1
50	7132	IAPAR 44	Preto	1
51	7133	IAPAR 57	Carioca	1
52	7135	Bambuí	Mulato	1
53	7137	Porto Real	Carioca	1
54	7138	FT Bonito	Carioca	1
55	7294	CB 911921	Preto	1 (Linhagem)
56	7382	IAPAR 65	Preto	1

Continua...

Tabela 1. Continuação.

57	7383	IPA 11-Brigida	Carioca	1
58	7384	Pérola	Carioca	1
59	7449	IAC Carioca Pyatã	Carioca	1
60	7560	Valente	Preto	1
61	7624	TB 94-01	Preto	1 (Linhagem)
62	7800	Iacuna	Preto	1
63	7844	Carioca Akytã	Carioca	1
64	7845	IAC Carioca Aruã	Carioca	1
65	7893	IAC Bico de Ouro	Mulato	1
66	7907	FT Nobre	Preto	1
67	7940	LP 96-32	Carioca	1 (Linhagem)
68	810441	Mulatinho Vagem Roxa	Mulato	2
69	840563	Bagajó	Manteigão	2
70	840621	Manteiga	Manteigão	2
71	871004	Jalinho	Amarelo	2
72	880156	Favita	Manteigão	2
73		96201333		1 (Linhagem)
74		96201531		1 (Linhagem)
75		97200441		1 (Linhagem)
76		G 12670	Silvestre	México
77		G 21200	Silvestre	Argentina
78		G 23426	Silvestre	Peru
79	GL 0071	Fava Desconhecida (<i>P. lunatus</i>)		
80	GL 0075	Fava var. Potato (<i>P. Lunatus</i>)		
81		96200246		
82		CI 9690		
83		LP 97-58		
84		VI 4899		

1- Melhoramento; 2- Tradicional (crioulo)

DNA genômico total foi isolado de folhas jovens de acordo com Doyle & Doyle (1987). As reações de RAPD foram feitas em volumes de 13 μ l, contendo: tris-HCl 10 mM pH 8,3, MgCl₂ 1,5 mM, BSA 1,0 mg/ml, 0,2 mM de cada dNTP, primer 0,4 μ M, 7,5 ng de DNA genômico e 1 unidade de *Taq* DNA polimerase, conforme descrito em Ferreira & Grattapaglia (1995). As reações foram feitas num termociclador MJ, programado para 40 ciclos de 1 min a 92°C, 1 min a 35°C, 2 min a 72°C. Os produtos das reações foram separados por eletroforese em géis de agarose a 1,5%, usando tampão Tris-Borato-EDTA (TBE). Foram obtidas fotos de géis corados com brometo de etídio sob luz UV. Os tamanhos das bandas foram determinados por comparação com o marcador de 1 Kb.

Foram testados 41 "primers" RAPD (Operon Tech.), para selecionar os mais informativos, ou seja, mais polimórficos, reproduzíveis e com boas resoluções de bandas. Cento e cinco fragmentos polimórficos selecionados foram utilizados para estimativas dos coeficientes de similaridade e análises de agrupamento. Os dados foram analisados de acordo com a presença ou ausência da banda no gel, sendo o nível de similaridade genética entre os acessos estimado através do índice de Jaccard, utilizando-se o programa NTSYS-pc versão 2.02 (Rohlf, 1993). As estimativas de similaridade genética foram empregadas para construção do dendrograma, pelo método UPGMA.

Resultados e Discussão

Dos 41 "primers" testados, 19 foram selecionados (OP-A6, OP-A13, OP-C9, OP-C16, OP-C19, OP-N7, OP-N10, OP-O5, OP-R3, OP-R4, OP-R7, OP-R9, OP-U17, OP-V16, OP-V15, OP-W7, OP-W9, OP-W11, OP-W13), por serem informativos, ou seja, polimórficos, reproduzíveis e com boas resoluções de bandas. Cada "primer" selecionado amplificou entre 3 e 13 bandas, com uma média de 5,84 marcadores por "primer". Um exemplo de padrão de amplificação com marcadores RAPD é apresentado na Fig. 1. Um total de 105 marcadores polimórficos foi utilizado na análise das relações genéticas entre os 85 acessos de feijão (Tabela 2). Considerando os 80 acessos de *P. vulgaris*, a similaridade genética média foi de 0,64. O menor valor (0,39) foi observado entre os acessos Manteiga, do tipo Manteigão, e Catu, do tipo Mulatinho, enquanto o maior (0,92) foi detectado entre os acessos Macotaço e Macanudo, ambos do tipo Preto. A análise do dendrograma (Fig. 2) mostra a formação de dois grupos

principais: um contendo os acessos de feijão dos tipos Preto, Carioca, Mulatinho e Roxo e o outro contendo acessos do tipo Manteigão. Os dois acessos de *P. lunatus*, incluídos na análise, formaram um grupo diferenciado, com similaridade igual a 0,21, em relação aos demais. Com base em características morfo-agronômicas qualitativas e quantitativas avaliadas, classificam-se os grupos Preto, Mulatinho e Vermelho/Roxo como pertencentes à raça Mesoamérica, originária do "pool" mesoamericano, e o Manteigão à raça Nueva Granada, originária do "pool" Andino (Singh et al., 1991). Os dados obtidos com marcadores RAPD mostraram divergência genética entre os grupos de feijão analisados, segundo o respectivo "pool" gênico. O acesso de feijão silvestre Mexicano também é originário do "pool" mesoamericano. Isto explica o agrupamento do mesmo junto aos feijões cultivados dos grupos Pretos, Mulatinhos, Carioca e Roxo/Vermelho. Já os acessos silvestres da Argentina e Peru pertencem ao "pool" andino e agruparam-se com os feijões do tipo Manteigão.

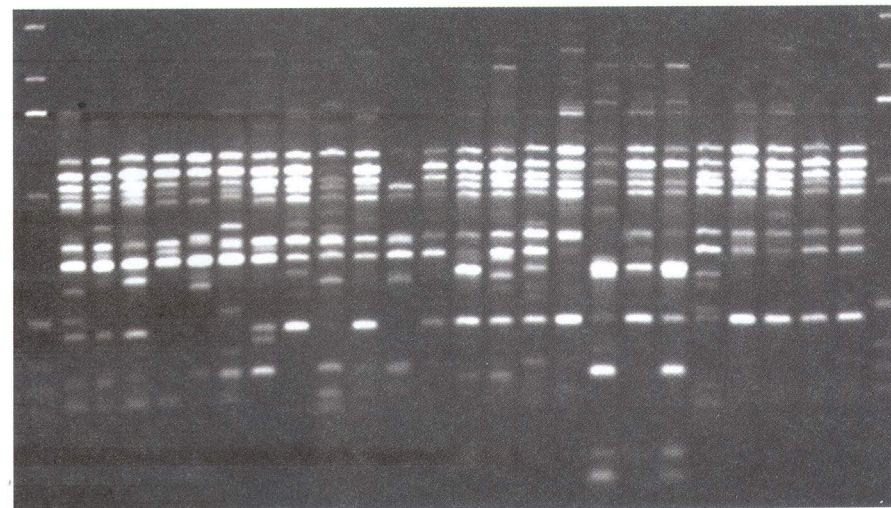
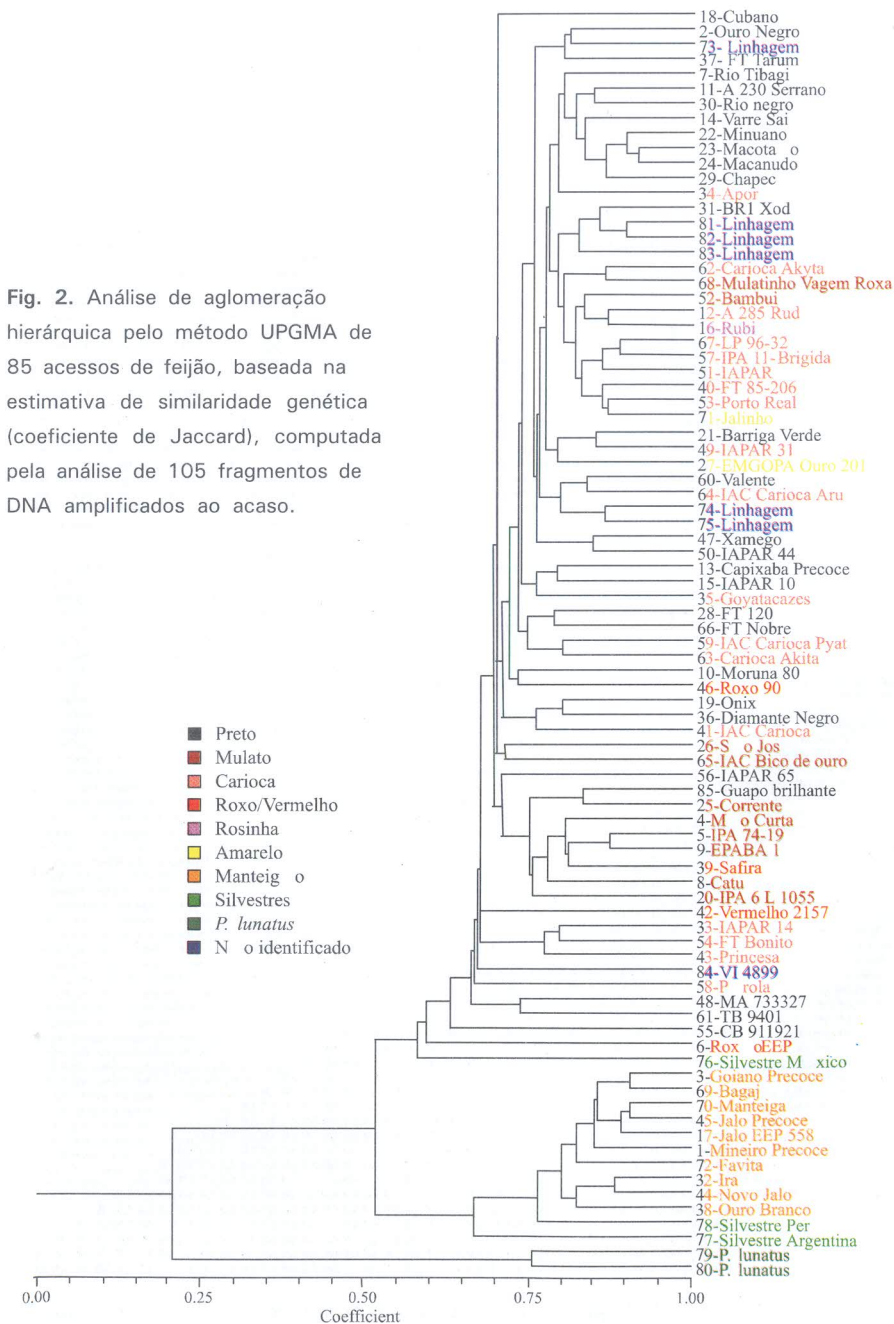


Fig. 1. Eletroforese de fragmentos RAPD em gel de agarose a 1,5%, amplificados com o primer OP-C09 e corados com brometo de etídio. Da esquerda para direita: Pista 1 e 25: marcador 1Kb; pistas 2-24: acessos de feijão.



Entre feijões do "pool" mesoamericano, foi possível identificar acessos de feijão preto com similaridade de 60% (acessos Cubano e CB911921) a 92% (acessos Macotaço e Macanudo); acessos de feijão carioca com similaridade de 78% (acessos Aporé e Pérola) a 89% (acessos LP9632 e Ipa 11); e acessos de feijão mulatinho com similaridade de 78% (acessos Mulatinho Vagem Roxa e Ipa 6) a 88% (acessos Ipa 7419 e Epaba 1) (Tabela 2). Estes dados podem indicar cruzamentos com grande potencial de aumento da variabilidade das populações de melhoramento. Entre feijões do tipo Manteigão foi possível identificar acessos com similaridade entre 76% (acessos Goiano Precoce e Ouro branco) e 91% (acessos Manteiga e Jalo Precoce). Observou-se que dentro do grupo formado por feijões de origem mesoamericana não houve agrupamento referente ao tipo ou cor de grãos, o que também foi constatado por Silva (1999), através da análise de características morfológicas e agrônômicas. Segundo Silva (1999), apesar das diferenças quanto à cor e ao tamanho da semente, os feijões cultivados possuem uma base genética relativamente estreita, o que foi confirmado pela análise com marcadores RAPD, na qual foram observados acessos de feijões do tipo Preto mais próximos a acessos do tipo Carioca, do que do tipo Preto, por exemplo. Convém salientar, que a maioria dos acessos estudados é derivado dos programas de melhoramento. Voysest et al. (1994b) cita que dos 74 diferentes ancestrais que contribuíram para a composição das cultivares brasileiras, 55 pertencem à raça Mesoamérica; os demais pertencem às raças Durango, Jalisco e Nueva Granada. Este trabalho constatou a utilidade de marcadores RAPD para a rápida análise da variabilidade de acessos da coleção de germoplasma de feijão, indicando aqueles divergentes, com potencial de serem introduzidos em cruzamentos que visem o aumento da variabilidade genética no programa de melhoramento da cultura.

Conclusão

1 - Marcadores RAPD mostraram-se de grande utilidade para a rápida análise da variabilidade genética de acessos da coleção de germoplasma de feijão.

2 - A coleção de germoplasma de feijão mantida na Embrapa Arroz e Feijão apresenta consideráveis níveis de variabilidade genética. Os resultados indicaram acessos geneticamente divergentes, que poderão ser introduzidos em cruzamentos que visem o aumento da variabilidade genética no programa de melhoramento da cultura.

3 - As análises de agrupamento mostraram que acessos de *P. vulgaris* não agruparam de acordo com o tipo ou cor de grãos, mas segundo o respectivo "pool" gênico (mesoamericano ou andino).

4 - Inferiu-se que, provavelmente, o acesso de feijão silvestre Mexicano é originário do "pool" mesoamericano, pois o mesmo agrupou-se aos feijões cultivados dos grupos Pretos, Mulatinhos, Carioca e Roxo/Vermelho, pertencentes a este "pool". Já os acessos silvestres da Argentina e Peru pertencem, provavelmente, ao "pool" andino pois agruparam-se com os feijões do tipo Manteigão.

Referências Bibliográficas

BLISS, F. A. Utilization of genetic resources for crop improvement: the common bean. In: BROWN, A. H. D.; CLEGG, M. T.; KAHLER, A. L.; WEIR, B.S., (Ed.). **Plant population genetics, breeding and genetic resources**. Sunderland: Sinauer Associates, 1989. p.317-333.

CONSULTATIVE GROUP ON INTERNATIONAL AGRICULTURAL RESEARCH (CGIAR). Technical Advisory Committee. **CGIAR Priorities and strategies for resource allocation during 1998-2000**. [S.l.], Apr. 1997.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v.12, p.13-15, 1987.

FERREIRA, M.E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética**. 2.ed. Brasília: Embrapa-Cenargen, 1995. 220p.

GEPTS, P.; BLISS, F. A. Phaseolin variability among wild and cultivated common beans (*Phaseolus vulgaris*) from Colombia. **Economic Botany**, v.40, p.469-478, 1986.

ROHLF, F. J. **NTSYS-pc: Numerical Taxonomy and Multivariate System**. Versão 2.02. New York: Applied Biostatistics, 1993. não paginado.

SILVA, H. T. **Análise da divergência genética do germoplasma de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) melhorado e tradicional (Crioulo) cultivado no Brasil, e**

das formas silvestres de origem Centro e Sul Americana. 1999. 111f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

SINGH, S. P.; GUTIÉRREZ, J. A.; MOLINA, A. Genetic diversity in cultivated common bean: II. Marker based analysis of morphological and agronomic traits. **Crop Science**, v.31, p.23-29, 1991.

VOYSEST, O.; THUNG, M.; VALENCIA, M. C. Genetic base of Brazilian cultivars. **Annual Report of Bean the Improvement Cooperative**, v.37, p.135-136, 1994a.

VOYSEST, O.; VALENCIA, M.C.; AMEZQUITA, M.C. Genetic diversity among Latin America Andean and Mesoamerican common bean cultivars. **Crop Science**, v.34, n.4, p.1100-1110, 1994b.

WELSH, J.; McCLELLAND, M. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. **Nucleic Acids Research**, v.18, p.7213-7218, 1990.

WILLIAMS, J. G. K.; KUBELIK, A. R.; LIVAK, K. J.; RAFALSKI, J. A.; TINGEY, S. V. DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, v.18, p.6531-6535, 1990.



*Recursos Genéticos e
Biotecnologia*

Estudo das relações ...

2001

FL-05430



CENARGEN- 19321-1

**MINISTÉRIO DA AGRICULTURA,
PECUÁRIA E ABASTECIMENTO**

