

**SELEÇÃO ASSISTIDA POR MARCADORES  
MICROSSATÉLITES PARA  
PRODUTIVIDADE DE GRÃOS EM  
FEIJOEIRO**

**HELTON SANTOS PEREIRA**

**2006**

**HELTON SANTOS PEREIRA**

**SELEÇÃO ASSISTIDA POR MARCADORES MICROSSATÉLITES  
PARA PRODUTIVIDADE DE GRÃOS EM FEJJOEIRO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para obtenção do título de “Doutor”.

Orientador

Prof. João Bosco dos Santos

LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2006

Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da

**Biblioteca Central da UFLA**

Pereira, Helton Santos

Seleção assistida por marcadores microssatélites para produtividade de grãos em feijoeiro / Helton Santos Pereira. – Lavras : UFLA, 2006.

135 p. : il.

Orientador: João Bosco dos Santos.

Tese (Doutorado) - UFLA.

Bibliografia.

1. Feijão. 2. Seleção. 3. Marcador molecular. 4. Microssatélite. 5. Seleção de população segregante. 6. Produção de grãos. I. Universidade Federal de Lavras. II.

Título.

CDD-635.65223

**HELTON SANTOS PEREIRA**

**SELEÇÃO ASSISTIDA POR MARCADORES MICROSSATÉLITES  
PARA PRODUTIVIDADE DE GRÃOS EM FEJJOEIRO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para obtenção do título de “Doutor”.

Aprovada em 30 de novembro de 2006

Dra. Angela de F. B. Abreu                      EMBRAPA/Arroz e Feijão

Prof. Daniel Furtado Ferreira                      UFLA/DEX

Dr. Leonardo Cunha Melo                      EMBRAPA/Arroz e Feijão

Dra. Flávia França Teixeira                      EMBRAPA/Milho e Sorgo

Prof. João Bosco dos Santos  
UFLA/DBI - Orientador

LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL

*Aos meus pais e minha família, que sempre me apoiaram.*

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

À Deus acima de tudo.

À Universidade Federal de Lavras, pela oportunidade de realizar o curso de Doutorado e ao CNPq e à CAPES, pela concessão da bolsa durante a realização do curso.

Aos meus pais, Lair e Angela, por tudo que me proporcionaram durante a vida.

Ao professor e orientador João Bosco dos Santos, pela oportunidade, paciência, confiança e por todos os ensinamentos transmitidos durante o curso.

Aos professores do curso de Genética e Melhoramento de Plantas da UFLA pelos ensinamentos transmitidos e pela boa convivência durante o curso.

Aos professores e pesquisadores Leonardo Melo, Flávia Teixeira, Daniel Ferreira e Ângela Abreu pela participação na banca de defesa e pelas valiosas sugestões.

Aos funcionários do Departamento de Biologia pela boa vontade e ajuda na realização do trabalho, especialmente à Elaine, Léo e Lindolfo.

À todos os colegas do curso de Genética e Melhoramento de Plantas, dos demais cursos de Pós-graduação e graduação da UFLA, pelo apoio.

Aos amigos e colegas do laboratório de Genética Molecular da UFLA, em especial ao Lamartine, Igor, Thaís e Karla, pela amizade e essencial ajuda na realização do trabalho.

Às amigas Lívia, Nara, Tathi, Paula, Francine e Quélen pela amizade sincera e apoio.

Aos amigos, que tenho como irmãos, companheiros em todas as horas, Marcelo (Jacaré), Rudney, Daniel, Sérgio, Emerson (Fininho), Flávio, Léo Bhering, Xande, Rodrigo Kelson, Adriano Bruzi, Sidney, Wila, Wel, Odair e

Kaesel, pela sincera amizade e ajuda e por terem tornado esses anos de convivência muito prazerosos.

À todos os familiares, em especial aos meus avós José Biléca e Nazaré e aos tios Luciano, Roselene, Ginho, Neuza, Aílton e Elaine pelo apoio e incentivo.

A todos que, embora não citados, contribuíram para o sucesso desse trabalho.

## SUMÁRIO

RESUMO.....	I
ABSTRACT .....	III
CAPÍTULO 1.....	1
1 INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO .....	4
2.1 Melhoramento do feijoeiro .....	4
2.1.1 Escolha de genitores e de populações segregantes .....	5
2.1.2 Cruzamentos dialélicos .....	7
2.1.3 Estimativas de parâmetros genéticos e fenotípicos.....	9
2.1.4 Interação genótipos por ambientes.....	11
2.2 Marcadores moleculares .....	13
2.2.1 Marcadores moleculares no melhoramento de plantas .....	15
2.2.2 Marcadores moleculares no estudo de caracteres quantitativos.....	16
2.2.3 Identificação de QTLs em feijoeiro comum .....	18
2.2.4 Dificuldades na identificação de QTLs.....	22
2.2.5 Seleção assistida por marcadores moleculares (SAM) em características quantitativas.....	26
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	37
CAPÍTULO 2: ESCOLHA DE POPULAÇÕES SEGREGANTES DE FEIJOEIRO UTILIZANDO INFORMAÇÕES FENOTÍPICAS E MARCADORES DE QTLs .....	49
RESUMO.....	50
1 INTRODUÇÃO .....	53
2 MATERIAL E MÉTODOS .....	55
2.1 Material utilizado .....	55
2.2 Avaliações preliminares.....	55



2.2.1 Análises estatísticas .....	56
2.3 Obtenção e avaliação do dialelo .....	58
2.3.1 Análise genética e estatística dos dados.....	59
2.4 Análise molecular .....	60
2.4.1 Extração de DNA.....	61
2.4.2 Análise com marcadores microssatélites - SSR.....	62
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	63
3.1 Avaliações preliminares.....	63
3.2 Análise do dialelo .....	67
3.3 Avaliação molecular .....	74
4 CONCLUSÕES .....	78
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	79
CAPÍTULO 3: SELEÇÃO DE FAMÍLIAS DE FEIJOEIRO BASEADA EM PRODUTIVIDADE DE GRÃOS E EM MARCADORES MICROSSATÉLITES DE QTLS.....	83
RESUMO.....	84
ABSTRACT .....	85
1 INTRODUÇÃO .....	86
2 MATERIAL E MÉTODOS .....	88
2.1 Material utilizado.....	88
2.2 Avaliação das famílias.....	89
2.2.1 Análises estatísticas .....	90
2.3 Análise com marcadores moleculares.....	96
2.3.1 Extração de DNA.....	97
2.3.2 Análise com marcadores microssatélites - SSR.....	98
2.3.3 Análises de associação por marcas simples.....	98
2.3.4 Seleção assistida por marcadores (SAM) .....	100
3.1 Avaliação das famílias.....	102

3.2 Análises com marcadores moleculares .....	111
3.2.1 Análises de associação por marcas simples .....	111
3.2.2 Considerações gerais sobre as análises de marcas simples .....	117
3.2.3 Seleção assistida por marcadores (SAM) .....	119
3.2.4 Considerações gerais sobre a SF e SAM .....	123
4 CONCLUSÕES .....	126
5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	127
ANEXOS .....	131

## RESUMO

PEREIRA, Helton Santos. **Seleção assistida por marcadores microsatélites para produtividade de grãos em feijoeiro**. Lavras: UFLA, 2006, 135 p. (Tese – Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas).\*

A seleção de populações e de famílias segregantes promissoras para a produtividade de grãos é muito importante para o sucesso de um programa de melhoramento de feijão. Os objetivos desse trabalho foram: selecionar populações promissoras para a produtividade de grãos utilizando informações fenotípicas e de marcadores moleculares ligados a QTLs; selecionar famílias promissoras para a produtividade de grãos, oriundas das populações selecionadas e verificar a eficiência da seleção assistida por marcadores (SAM), em relação a seleção fenotípica (SF). Foram avaliadas 49 linhagens em dois experimentos na safra da “seca” de 2004, um no município de Lavras e outro em Lambari, utilizando um látice triplo 7x7 com parcelas de duas linhas de três metros, nos quais foram avaliadas a produção de grãos, a reação à mancha angular e o porte. Posteriormente, selecionou-se sete linhagens, que foram intercruzadas no esquema dialélico e também genotipadas com 24 marcadores microsatélites previamente identificados como ligados a QTLs relacionados com a produção de grãos. As populações  $F_2$  foram avaliadas em um experimento em DBC com três repetições e parcelas de duas linhas de três metros, no município de Lavras. Cerca de 25% dos marcadores SSR utilizados foram polimórficos e no máximo quatro marcadores de QTLs foram polimórficos para uma mesma população. Com base no desempenho *per se* das linhagens, na avaliação dialélica e no polimorfismo entre os genitores para os marcadores de QTLs previamente identificados, selecionaram-se quatro populações. Dessas, obtiveram-se 394 famílias, que foram avaliadas no município de Lavras quanto à produção de grãos na geração  $F_{3,4}$ , na safra das “águas” 05/06 em um látice simples com parcelas de uma linha de um metro e na geração  $F_{3,5}$ , na safra da “seca” de 2006, em um látice triplo com parcelas de uma linha de dois metros. Também foi realizada a genotipagem das famílias de três populações com os marcadores polimórficos associados a QTLs previamente identificados. Procedeu-se a seleção de 10% das famílias com base na produtividade de grãos e em um índice construído com informações fenotípicas e dos marcadores (SAM). Os marcadores explicaram pequena porcentagem da variação fenotípica e apresentaram alta interação QTLs x ambientes. A seleção fenotípica apresentou elevados ganhos com a seleção de famílias em todas as populações e a SAM também possibilitou a obtenção de ganhos; porém, de menor magnitude. O número de famílias coincidentes entre as selecionadas pelos dois métodos foi em média 40%. A seleção de famílias superiores foi alcançada pelas duas

metodologias, porém a SF mostrou-se mais eficiente do que a SAM, principalmente devido à pequena disponibilidade de marcadores de QTLs e aos pequenos efeitos desses marcadores. Assim, nas condições desse trabalho foi reduzida a utilidade das informações moleculares na seleção para produtividade de grãos em feijoeiro.

---

\*Orientador: João Bosco dos Santos - UFLA

## ABSTRACT

PEREIRA, Helton Santos. **Microsatellite marker assisted selection for grain yield in common bean. Lavras: UFLA, 2006. 135p.** (Tesis – Plant Genetics and Breeding Program)\*

The selection of promising populations and segregant families for grain yield is very important to the success in a common bean breeding program. The objectives of the research were to select superior segregating populations for grain yield using phenotypic and grain yield QTL markers, to select grain yield promising families derived from selected populations, and to verify the efficiency of marker assisted selection (MAS) in relation to phenotypic selection. Fourty nine lines were evaluated in two field trials in the dry season of 2004, one in Lavras, and the other in Lambari, using a triple 7x7 lattice design with plots of two 3m rows. Grain yield, angular leaf spot reaction and the plant architecture were evaluated. Seven lines were selected and intercrossed according to the diallel scheme and also genotyped with 24 SSR markers of QTLs related to grain yield previously identified. The F<sub>2</sub> populations were evaluated in a RCB design with three replications and plots of two 3m rows in Lavras. 25% of the SSR markers used were polymorphic in the parents with a maximum of four in one population. Four segregating populations were selected based on the grain yield of the lines, on combining ability of the parents, and on the QTL markers polymorphism between the parent combinations. From those populations, 394 families were taken and evaluated for grain yield in the F<sub>3,4</sub> in the rainy season of 2005/2006 in a simple lattice design with plots of one 1m row. The F<sub>3,5</sub> families were evaluated in the dry season of 2006, using a triple lattice design with plots of one 2m row. The families from three populations were genotyped with the previously identified polymorphic QTL markers. The best families (10%) were selected based on grain yield and on an index using phenotypic and markers information (MAS). The markers explained a small part of phenotypic variation and showed QTLs by environments and QTLs by populations interaction. The phenotypic selection achieved higher gains in all populations and the MAS also achieved gains, although, in lower intensity. 40% of the families were selected in both selection methods. The selection of superior families was achieved by both methods, although the phenotypic selection was more efficient, mainly due to the small number and effects of the available markers. So, in this conditions the molecular informations presented low contribution.

---

\*Major professor: João Bosco dos Santos - UFLA

## **CAPÍTULO 1**

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

O aumento de produtividade das espécies cultivadas mais conhecidas tem sido o principal responsável para atender à demanda crescente de alimentos e outros produtos agrícolas. Vários fatores contribuíram para esse aumento, com destaque para o melhoramento genético (Vencovsky & Ramalho, 2000).

Na história do melhoramento de plantas o homem vem praticando seleção desde o início da agricultura. No entanto, o melhoramento como ciência desenvolveu-se de forma muito acentuada no século XX, graças ao uso dos conhecimentos de genética. Em consequência, os ganhos mais significativos em menor tempo foram conseguidos a partir do uso da ciência no melhoramento.

Vários métodos de melhoramento são utilizados na cultura do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), entre esses merece destaque o uso da hibridação. Uma das etapas mais importantes no processo de melhoramento por hibridação é a seleção de genitores e de populações segregantes promissoras, o que leva a uma grande economia de tempo e recursos na obtenção de novas cultivares, aumentando a eficiência do programa de melhoramento. Existem diversas metodologias para a escolha de genitores e populações segregantes, entre elas, merece destaque os cruzamentos dialélicos e o desempenho *per se* das linhagens.

Outra etapa importante no programa de melhoramento é a seleção de famílias segregantes promissoras dentro das populações selecionadas. Essa seleção também deve ser realizada o mais cedo possível, eliminando as famílias inferiores para possibilitar que os esforços sejam dirigidos à avaliação das famílias superiores, em que a chance de se obter uma nova cultivar é maior.

A comprovada eficiência das técnicas clássicas de melhoramento é refletida pelos contínuos ganhos genéticos em produtividade obtidos ao longo de vários anos e para várias culturas (Alliprandini et al., 1993; Arias & Ramalho,

1998; Atroch & Nunes, 2000), sendo que no feijão estima-se em 1,6% ao ano (Matos, 2005). No entanto, sempre que houver novas ferramentas para melhorar a eficiência dos programas de melhoramento, elas devem ser empregadas.

A partir da década de 1980, com o advento dos marcadores moleculares, inúmeros trabalhos vêm sendo realizados visando utilizá-los para auxiliar o melhoramento (Yousef & Juvick, 2001; Mendonça et al., 2002; Yousef & Juvick, 2002; Moreau et al., 2004; Faleiro et al., 2004; Blair et al., 2006). Esse fato ocorreu porque, até então, o melhoramento somente vinha sendo feito com base nas avaliações fenotípicas e o efeito do ambiente representa grande parcela do fenótipo em vários caracteres. Assim, o emprego dos marcadores é uma forma de identificar os alelos de interesse e auxiliar na seleção dos mesmos quando a seleção fenotípica é pouco eficiente.

No estudo de caracteres quantitativos, em que a influência do ambiente é maior, espera-se maior contribuição dos marcadores moleculares, dadas as dificuldades envolvidas no processo de seleção. Para que as informações de marcadores moleculares sejam úteis no processo seletivo, a primeira etapa é a identificação de marcadores associados aos QTLs (*Quantitative Trait Loci*) envolvidos no controle do caráter de interesse. Inúmeros QTLs já foram identificados para vários caracteres na maioria das culturas de grande importância, inclusive alguns para a produção de grãos em feijão (Taran et al., 2000; Faleiro et al., 2003; Melo et al. 2004; Teixeira, 2004; Blair et al., 2006; Rodrigues et al., 2006). Esses marcadores associados aos QTLs, podem ser utilizados na seleção assistida por marcadores (SAM) objetivando a obtenção de genótipos superiores. Porém, são poucos os relatos de sucesso da incorporação dessas informações na obtenção de novas cultivares.

Com base no comentado, os objetivos desse trabalho foram: 1) selecionar populações promissoras para a produtividade de grãos utilizando informações fenotípicas e de marcadores moleculares ligados a QTLs; 2)



selecionar famílias promissoras para a produtividade de grãos, das populações selecionadas; 3) Verificar a eficiência da SAM quando comparada com a seleção fenotípica.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Melhoramento do feijoeiro

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é um dos alimentos mais importantes para a maioria dos brasileiros por ser a principal fonte de proteína e de valor mais acessível. Devido a sua ampla adaptação, ele é cultivado e consumido em todo o país, sendo um dos componentes principais da dieta alimentar. Daí o seu destaque sob o ponto de vista econômico e principalmente social. Entre as cultivares utilizadas no Brasil, a maioria corresponde àquelas com tipo de grão semelhante ao da cultivar Carioca, a qual é a preferida.

O aumento de produtividade das espécies cultivadas mais importantes, como o feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.), tem sido o principal responsável por atender à demanda crescente de alimentos e outros produtos agrícolas no mundo. Vários fatores contribuíram para esse aumento, com destaque para o melhoramento genético (Vencovsky & Ramalho, 2000).

Ganhos genéticos contínuos em produtividade vêm sendo obtidos pelo melhoramento de plantas ao longo de vários anos para culturas de importância como milho (1,82%), arroz (2,07%), soja (1,02%) e feijão (1,6%) (% ao ano, em média) (Matos, 2005). O maior desafio, contudo, é continuar obtendo ganhos, pois as diferenças a serem detectadas são cada vez menores, exigindo do melhorista conhecimento científico crescente e o emprego de metodologias de seleção mais eficientes para continuar tendo sucesso.

O melhoramento genético do feijoeiro no Brasil é realizado principalmente por empresas públicas, concentrando-se nas Regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste. Alguns objetivos são comuns aos programas, destacando-se boa qualidade comercial e culinária dos grãos; resistência a doenças, especialmente

antracnose e mancha angular, porte ereto e alta produtividade (Carneiro, 2002).

Existem várias opções de métodos de melhoramento de plantas autógamas (Fehr, 1987; Ramalho et al., 1993; Borém, 1999), que se enquadram em duas categorias. A primeira visa utilizar a variabilidade disponível no germoplasma pela introdução de novas espécies ou novas cultivares de uma espécie já estabelecida e o procedimento denominado de seleção de linhas puras, que utiliza a variabilidade disponível no germoplasma em uso pelos agricultores. A segunda alternativa, muito mais freqüente que a anterior, amplia a variabilidade por meio da hibridação entre genitores contrastantes para os caracteres de interesse para a seleção. O objetivo da hibridação é combinar, em um mesmo indivíduo, alelos para os fenótipos desejáveis que estão em indivíduos diferentes.

### **2.1.1 Escolha de genitores e de populações segregantes**

Na condução de um programa de melhoramento utilizando a hibridação, um dos pontos mais importantes é a definição de quais genitores deverão ser cruzados. A escolha dos genitores pode ser considerada a etapa mais crítica, pois qualquer erro irá comprometer todo o processo, acarretando em perdas de recursos e, sobretudo, de tempo. Assim, para se ter sucesso na escolha dos genitores para um programa de melhoramento, os objetivos devem ser bem claros, pois a decisão depende dos caracteres a serem melhorados, do tipo de controle genético dos caracteres e da fonte de germoplasma disponível (Fehr, 1987).

Se o caráter a ser melhorado for de herança qualitativa, isto é, controlado por poucos genes e pouco influenciado pelo ambiente, a escolha dos genitores é mais fácil. Nesse caso, normalmente é realizada a hibridação de um genitor portador do alelo de interesse com outro que apresente boas características

agronômicas. Em se tratando de caracteres quantitativos, ou seja, controlados por muitos genes e muito influenciados pelo ambiente, como é o caso da produtividade de grãos, a escolha de genitores não é tão simples. Estes genitores devem ser tais que possibilitem a obtenção de populações segregantes com média alta, associada à grande variabilidade para o caráter a ser selecionado. Com este propósito, várias metodologias têm sido propostas e utilizadas.

De acordo com Baenziger & Peterson (1991), os métodos de escolha de genitores, visando o melhoramento de caráter quantitativo, são classificados em duas categorias: a primeira delas envolve os procedimentos que utilizam apenas as informações dos genitores, e a segunda utiliza informações sobre o comportamento das progênes oriundas do cruzamento.

Entre os métodos de escolha dos genitores utilizando o seu próprio desempenho, o mais empregado é a própria média do caráter em questão. O sucesso na sua utilização depende da ocorrência de predominância de ação gênica aditiva no controle do caráter. Esse método, apesar de ser importante e o mais utilizado, tem como desvantagem a impossibilidade de antever a variabilidade genética gerada no cruzamento, pois o fato de dois genitores apresentarem média alta não implica em que o híbrido entre eles irá gerar uma população segregante com variabilidade suficiente para se obter sucesso com a seleção. Isso só irá ocorrer se os genitores superiores apresentarem constituição genética diferente, que resultará em uma população com muitos locos heterozigóticos (Ramalho et al., 1993).

A avaliação do potencial de um cruzamento pode ser feita ainda com base na divergência genética entre os pais, utilizando-se o coeficiente de parentesco, técnicas multivariadas, avaliando-se um conjunto de características ou marcadores moleculares (Mendonça, 2001).

Entre os métodos de escolha dos genitores em função do desempenho de suas progênes, pode-se utilizar as estimativas de  $m+a$  e  $d$ , a metodologia de

Jinks & Pooni (1976) e os cruzamentos dialélicos. A cultura do feijoeiro é provavelmente a que mais tem utilizado esses procedimentos na escolha das populações segregantes (Oliveira et al., 1996; Otubo et al., 1996; Abreu et al., 1999; Kurek et al., 2001; Mendonça et al., 2002).

### **2.1.2 Cruzamentos dialélicos**

Os cruzamentos dialélicos têm sido o método de escolha de genitores mais empregado em várias espécies, inclusive no feijoeiro (Ramalho et al., 1988; Nienhuis & Singh, 1988; Takeda et al., 1991; Otubo et al., 1996; Abreu et al., 1999; Kurek et al., 2001; Machado et al., 2002; Mendonça et al., 2002). Este método auxilia na escolha dos genitores, orienta na condução das populações segregantes e na seleção (Vencovsky & Barriga, 1992; Ramalho et al., 1993; Cruz & Regazzi, 2001).

Cruzamentos dialélicos, ou simplesmente dialelos, podem ser conceituados como sendo os intercruzamentos de  $p$  genitores, dois a dois. A obtenção da tabela dialélica completa não é o único esquema de cruzamento utilizado. Variações desse esquema foram introduzidas como a utilização dos híbridos e seus recíprocos, isto é, excluindo-se apenas os parentais e totalizando  $n(n-1)$  combinações ou tratamentos experimentais. No entanto, as variações mais utilizadas correspondem ao emprego dos parentais e seus cruzamentos, sem os recíprocos, perfazendo  $n(n+1)/2$  tratamentos, ou apenas dos cruzamentos, em razão da não inclusão dos parentais e dos cruzamentos recíprocos. Esses dois últimos esquemas são preferidos devido à dificuldade de obtenção de número suficiente de sementes híbridas em cada cruzamento e, principalmente, porque o efeito materno, que só pode ser detectado com a inclusão dos cruzamentos recíprocos, não é uma causa de variação importante da maioria dos caracteres, como a produção de grãos (Ramalho et al., 1993).

Vários métodos foram propostos para a análise dos cruzamentos dialélicos (Jinks & Hayman, 1953; Griffing, 1956; Gardner & Eberhart, 1966). O método de Jinks & Hayman (1953) tem sido utilizado principalmente visando fornecer informações sobre o controle genético em várias espécies. A metodologia de Gardner & Eberhart (1966) tem como principal vantagem o estudo da heterose. Já o procedimento de Griffing (1956) possibilita estimar as capacidades geral e específica de combinação dos genitores envolvidos nos cruzamentos e é o que utiliza as maiores variações de esquemas de cruzamento, analisando quatro métodos experimentais. O valor da capacidade geral de combinação (CGC) dos genitores indica que é possível identificar genitores com potencial superior em combinações híbridas. Já a capacidade específica de combinação (CEC) indica que há heterogeneidade dos genitores, expressada pelos efeitos genéticos não aditivos, isto é, nos cruzamentos, que não é explicada pela capacidade geral de combinação. Assim, é possível identificar pares que apresentem capacidade específica de combinação diferentes estatisticamente de outros.

Apesar de os cruzamentos dialélicos serem ferramenta muito útil aos melhoristas na escolha dos genitores em um programa de melhoramento por hibridação, apresentam como principal limitação, em espécies como o feijoeiro, o trabalho envolvido na realização das hibridações. Isso ocorre especialmente quando estão envolvidos muitos genitores, tornando-se necessário obter muitos cruzamentos, alguns dos quais desinteressantes para o melhorista.

Kurek et al. (2001) estimaram a CGC e CEC para caracteres de rendimento em feijoeiro comum por meio de um dialelo entre seis genótipos utilizando o método 2 de Griffing. Os resultados mostraram maior importância da CGC do que da CEC para todos os caracteres. O genitor Rudá apresentou melhores valores para CGC e os maiores valores para CEC foram para os cruzamentos Rudá x CI 967/2V, Rudá x FT Nobre e Pérola x CI 9661.

Machado et al. (2002) realizaram um dialelo completo em feijoeiro comum entre doze genitores para obter as estimativas de capacidade geral (CGC) e específica de combinação (CEC). Os resultados obtidos indicaram que houve predominância de efeitos não aditivos, sendo que os efeitos aditivos também foram significativos. Entre os genitores com valores positivos de CGC, as populações Aporé x CI-128, CI-128 x Pérola, PF 9029975 x Ouro Negro e CI-128 x Ouro Negro também exibiram valores positivos de CEC e elevadas produções de grãos, sendo estas as mais promissoras para a seleção de linhagens. O genitor ESAL 693 apresentou maior valor negativo de CGC, indicando baixo potencial produtivo. Também foi verificada correlação significativa entre capacidade específica de combinação e heterose.

### **2.1.3 Estimativas de parâmetros genéticos e fenotípicos**

As estimativas dos parâmetros genéticos e fenotípicos auxiliam os melhoristas na tomada de decisões a respeito do método de melhoramento a ser empregado, como melhorar sua eficiência, e várias dessas estimativas auxiliam na escolha de genitores. Essas estimativas podem ser obtidas utilizando componentes de médias e/ou variâncias. O emprego da variância é preferido, uma vez que o uso de médias pode conduzir a conclusões errôneas, já que, neste caso, o que se obtém no final é uma soma algébrica dos efeitos de cada um dos locos individualmente, e se os alelos dominantes estiverem atuando em sentidos opostos nos vários locos, o efeito final é pequeno ou nulo. Isto não acontece quando se usa a variância, dado que os efeitos individuais de cada loco são elevados ao quadrado, não havendo possibilidade de eles se anularem. A variância permite ainda que sejam estimados a herdabilidade e o ganho esperado com a seleção. É por isso que muitas vezes ela tem sido preferida (Ramalho et al., 1993).

Quando se utiliza variância, estima-se principalmente a variância genética total, embora em alguns casos possa ser obtida a variância genética aditiva ( $\sigma_A^2$ ) e de dominância ( $\sigma_D^2$ ). É necessário enfatizar que há um número restrito de relatos de estimativas dos componentes genéticos da variância quando a frequência alélica é diferente de 0,5. Neste caso, além da variância genética aditiva e de dominância, a variância genética total contém também a covariância genética entre os efeitos médios (aditivos) dos alelos e os efeitos de dominância dos homozigotos ( $D_1$ ), a variância genética dos efeitos de dominância dos homozigotos ( $D_2$ ) e a depressão por endogamia elevada ao quadrado (H) (Souza Junior, 1989). É importante lembrar que as estimativas obtidas de populações em que atua a seleção natural devem conter maiores erros. Isso porque a seleção natural é comum em alguns métodos de condução de populações segregantes e as frequências alélicas geralmente diferem de 0,5 (Rodrigues & Santos, 2006).

Na obtenção das estimativas de parâmetros genéticos são utilizados diferentes procedimentos, tais como o emprego de linhas puras (Ramalho et al., 1979; Ramalho et al., 1982; Pereira Filho et al., 1987), de famílias de populações segregantes da hibridação de dois ou mais genitores (Abreu et al., 1990; Takeda et al., 1991; Collicchio et al., 1997) e os cruzamentos dialélicos analisados por diferentes procedimentos (Otubo et al., 1996; Abreu et al., 1999).

Em praticamente todos os trabalhos, ênfase foi dada às estimativas da herdabilidade. Isso porque ela indica o potencial da população para a seleção e, conseqüentemente, permite ao melhorista avaliar suas chances de sucesso. A herdabilidade corresponde à proporção da variação genética em relação à variância fenotípica total (Falconer, 1987), que pode ser no sentido amplo quando envolve, no numerador da expressão, toda a variância genética, isto é, aditiva e não aditiva, e no sentido restrito, que contém no numerador da expressão apenas a variância genética aditiva. Vale ressaltar que ao avaliar



linhas puras ou famílias com alto nível de endogamia, a variância genética entre as famílias é toda aditiva. Assim, quando se avaliam linhas puras, a herdabilidade estimada é equivalente àquela no sentido restrito. A herdabilidade também pode variar em função da unidade seletiva a ser utilizada, isto é, indivíduos ou famílias.

Para a obtenção das estimativas de herdabilidade podem ser utilizados alguns procedimentos, tais como os citados por Borém (1999). As estimativas de herdabilidades para a produção de grãos relatadas na literatura são muito variáveis, e esta variação era esperada em função das condições ambientais em que as estimativas foram obtidas, da variabilidade genética presente nos materiais utilizados e também do método utilizado para a obtenção da estimativa. A amplitude de variação das estimativas de herdabilidade obtidas em trabalhos na Universidade Federal de Lavras (UFLA) foi semelhante às relatadas em outros estudos, sendo que a herdabilidade no sentido amplo variou de 0 a 82%, enquanto, em outros estudos, a variação foi de 5 a 71% (Ramalho et al., 1993; Carneiro, 2002).

Com relação ao controle genético do caráter produtividade de grãos, os resultados encontrados não são totalmente coincidentes, porém existem evidências de que a variância aditiva é a principal componente da variância genética (Carneiro, 2002).

#### **2.1.4 Interação genótipos por ambientes**

No Brasil, o feijoeiro é cultivado em praticamente todos os estados, nas mais variadas condições edafoclimáticas e em diferentes épocas e sistemas de cultivo. Aliado a isso, ocorre ampla variação no nível tecnológico, que vai desde o agricultor de subsistência até o empresário agrícola. Portanto, fica evidente a grande dificuldade para realizar com sucesso o melhoramento do feijoeiro nas

condições brasileiras. Além do mais, nas condições tropicais, o melhorista tem um desafio muito maior do que aqueles das regiões temperadas. A instabilidade climática e a heterogeneidade dos solos são muito maiores nas condições tropicais, exigindo que as cultivares recomendadas aos agricultores aliem alta produtividade de grãos e maior estabilidade (Paterniani, 1986).

A manifestação fenotípica (F), em um determinado ambiente, é o resultado da ação do genótipo (G) sob influência do meio ambiente (A) e da interação genótipos x ambientes (GxA). Quando se consideram vários ambientes detecta-se, além dos efeitos genéticos e de ambientes, um efeito adicional, proporcionado pela interação dos mesmos (GxA). Assim, a interação genótipos por ambientes é consequência do desempenho dos genótipos não ser consistente nos vários ambientes, o que se deve ao comportamento diferenciado dos genótipos em resposta às variações ambientais (Souza Júnior & Vencovsky, 1989). Quando ocorre resposta diferencial dos genótipos com a variação dos ambientes e a classificação não é alterada, esse tipo de interação é denominada simples e não acarreta maiores problemas para a seleção. Por outro lado, quando ocorre alteração na classificação dos genótipos, a interação é denominada complexa (Cruz & Regazzi, 2001).

Segundo Ramalho et al. (1993), a interação não só interfere na recomendação de cultivares como dificulta o trabalho do melhorista em relação a vários aspectos. Por exemplo, a interação interfere na obtenção das estimativas dos componentes da variância genética, estimativas estas muito utilizadas para fins de melhoramento. Além do mais, a ocorrência de interação complexa entre as progênies irá diminuir a eficiência do programa de melhoramento porque a seleção é normalmente realizada na média dos vários ambientes, o que não garante a seleção das melhores progênies para cada ambiente. Portanto, é consenso que a interação G x A é um desafio para os melhoristas, pois afeta diretamente o progresso com a seleção.

Estudos comprovando a interação G x A vêm sendo realizados utilizando principalmente ensaios finais, ou seja, um grupo pequeno de linhagens é avaliado em diferentes locais, anos e épocas de cultivo. Entretanto, em vários estudos realizados no feijoeiro, por meio dos quais se avaliaram progênies em diferentes gerações e/ou locais, observou-se também marcante interação (Abreu et al., 1990; Takeda et al., 1991; Raposo et al., 2000; Pirola et al., 2002; Santos et al., 2002). Este é um sério problema no melhoramento do feijoeiro pois, com raras exceções, as populações segregantes são avançadas ou submetidas à seleção em um único local. Assim, pode-se estar selecionando linhagens com adaptação a um ambiente específico, o que reduz a região de abrangência de recomendação da cultivar e a eficiência dos programas de melhoramento. Isto foi observado no estudo realizado por Pirola et al. (2002) quando avaliaram progênies F<sub>14:16</sub> oriundas de uma população conduzida em “bulk” em três localidades distintas no Sul de Minas. O resultado mais expressivo desse trabalho foi que a seleção natural atuou preservando os indivíduos mais adaptados a cada ambiente particular.

## **2.2 Marcadores moleculares**

Os marcadores moleculares começaram a ser empregados na década de 80 do século passado e são assim denominados por utilizarem o polimorfismo da molécula de DNA, havendo, para isso, grande variedade de técnicas desenvolvidas (Linch & Walsh, 1998). Desde então, inúmeros trabalhos vêm sendo realizados visando seu emprego no melhoramento de plantas (Santos, 2002). Porém, segundo Ferreira & Grattapaglia (1998), a integração efetiva de metodologias moleculares ao processo de melhoramento representa o principal desafio dessa área do conhecimento.

Dentre as metodologias para análise genética por marcadores moleculares destaca-se o SSR (Seqüências Simples Repetidas), ou microssatélites, que são regiões genômicas simples intercaladas por repetições de dois a seis nucleotídeos repetidos em *tandem* (Sênior et al., 1996). Regiões contendo SSR são amplificadas por PCR (*Polimerase Chain Reaction*) utilizando um par de *primers* específicos (de 20 a 30 pares de bases) complementares às seqüências únicas que flanqueiam os microssatélites. A detecção das seqüências amplificadas é feita em gel de poliacrilamida ou agarose de alta resolução e essas são separadas por eletroforese. É necessário utilizar géis adequados para a separação dos fragmentos, pois esses diferem em poucos pares de bases, dependendo do número de nucleotídeos repetidos. A visualização das bandas no gel pode ser feita diretamente por coloração com brometo de etídio, usando tratamento com prata, ou também por autoradiografia, quando se utilizam *primers* marcados com radioisótopos na reação de PCR. Cada loco de microssatélite pode ser analisado individualmente ou mais de um loco pode ser analisado de cada vez. Isso ocorre quando os alelos de cada loco têm tamanhos suficientemente diferentes para migrarem em zonas separadas no gel. Nesse método de genotipagem, denominado multiplex, emprega-se mais de um par de *primers* específicos na reação de PCR (Ferreira & Grattapaglia, 1998).

Os fragmentos amplificados a partir destes sítios quase invariavelmente apresentam alto grau de polimorfismo, resultante da presença de diferentes números de elementos simples repetidos. Portanto, os microssatélites são locos altamente variáveis; codominantes, ou seja, ambos os alelos de um indivíduo heterozigoto são visualizados; multialélicos e de grande conteúdo informativo, uma vez que cada segmento amplificado é de tamanho diferente, representando um alelo do mesmo loco. Assim, numa população, todos os alelos de um dado loco podem ser detectados e discriminados (Ferreira & Grattapaglia, 1998).

Outra vantagem dos SSR é a alta reprodutibilidade dos resultados, permitindo o intercâmbio entre diferentes grupos de pesquisa, o que facilita a utilização da seleção assistida por marcadores moleculares e a integração de mapas genéticos.

Os SSR são muito freqüentes e distribuídos aleatoriamente ao longo do genoma, permitindo a cobertura completa dos cromossomos de uma dada espécie. Além do seu emprego para mapeamento de genomas, os microssatélites são ideais para a identificação e discriminação de genótipos e para estudos de genética de populações.

A maior limitação do uso de microssatélites é o desenvolvimento dos marcadores, pois trata-se de procedimento muito trabalhoso, que exige uma equipe especializada, além de equipamentos para o sequenciamento, tornando o desenvolvimento dos marcadores SSR um empreendimento de elevado custo (Ferreira & Grattapaglia, 1998).

SSRs já foram identificados para várias espécies, inclusive para o feijoeiro (Gaitán-Solís et al., 2002; Yu et al., 2000; Blair et al., 2003; Yaish et al., 2003), o que torna possível a sua utilização para a espécie.

### **2.2.1 Marcadores moleculares no melhoramento de plantas**

Mesmo com a comprovada eficiência das técnicas clássicas de melhoramento, refletida pelos contínuos ganhos genéticos em produtividade obtidos ao longo de vários anos para várias culturas (Matos, 2005), novas alternativas podem ser utilizadas para aumentar a eficiência dos programas de melhoramento.

Os marcadores moleculares vêm sendo utilizados de várias formas para auxiliar no melhoramento. A seleção assistida por marcadores moleculares tem sido freqüentemente defendida na literatura, desde o advento de técnicas moleculares que possibilitaram uma análise genética mais detalhada. Enquanto

para características de herança simples esta possibilidade tem sido explorada, a prática efetiva de seleção assistida por marcadores (SAM) para características quantitativas ainda constitui uma área em que poucos testes foram efetuados, mesmo em culturas como tomate e milho, nas quais já existe um grande número de estudos de mapeamento de QTLs (*Quantitative Trait Loci*) (Ferreira & Gratapaglia, 1998).

Embora um grande número de trabalhos já tenha sido feito empregando os marcadores, tanto no estudo de diversidade entre genótipos como, e principalmente, na identificação de um grande número de genes ou regiões genômicas de interesse, muito pouco se sabe da contribuição efetiva dos marcadores para o melhoramento. Pode-se considerar que essa situação se deve ao fato de os marcadores moleculares estarem sendo utilizados ainda há pouco tempo. Como se sabe, o desenvolvimento dos métodos de melhoramento até atingir o nível de eficiência que conhecemos hoje levou cerca de um século. Então, é necessário mais tempo para que os marcadores venham a ser mais eficientemente utilizados para auxiliar no melhoramento (Santos, 2002).

### **2.2.2 Marcadores moleculares no estudo de caracteres quantitativos**

O estudo de caracteres quantitativos vem sendo realizado por meio de estimativas de parâmetros genéticos obtidos a partir da mensuração fenotípica, ou seja, tais estimativas representam o somatório dos efeitos dos locos segregando para o caráter. A principal alternativa para o conhecimento do número aproximado de locos atuando no controle genético dos caracteres quantitativos, de como esses locos encontram-se distribuídos no genoma e qual a intensidade dos seus efeitos, é estudá-los indiretamente, por meio da associação com marcadores genéticos (Doerge, 2002).

Com o emprego dos marcadores moleculares, tornou-se possível mapear e caracterizar os poligenes de caracteres quantitativos (QTLs) e espera-se (Stuber et al., 1999): a) entender as bases genética e fisiológica da heterose e prever o comportamento de híbridos; b) identificar alelos favoráveis em populações ou linhagens divergentes; c) inserir esses alelos nas populações e linhagens sob seleção; d) aumentar a eficiência dos programas de seleção recorrente; e e) entender e utilizar a interação genótipos por ambientes.

Existem várias metodologias utilizadas para identificação de QTLs, como o mapeamento por marcas simples, o mapeamento por intervalo simples e o mapeamento por intervalo composto (Schuster & Cruz, 2004).

Um grande número de QTLs já foi identificado nas espécies mais estudadas, como milho, soja, arroz e feijão, entre outras.

A associação entre 243 RFLPs e QTLs para conteúdo de óleo e teor de proteína em soja foi estudada por Diers et al. (1992). A análise foi efetuada em famílias  $F_2$  derivadas do cruzamento de *G. max* com *G. soja*. As linhagens foram divididas em três classes, de acordo com o padrão de bandas das sondas (homozigotas para bandas de *G. max*, homozigotas para bandas de *G. soja* e heterozigotas). Foram encontradas oito sondas associadas com o teor protéico com todos os alelos para altos teores provenientes de *G. max*, e nove sondas associadas com o conteúdo de óleo total, com todos os alelos para maior conteúdo de óleo provenientes de *G. soja*.

Backes et al. (1995) avaliaram vários caracteres em cevada por três anos e em dois locais. De um total de 431 sondas de RFLP utilizadas, 50 foram polimórficas e usadas para construir o mapa de ligação, sendo identificados QTLs, explicando de 5 a 52% da variância genética. Ocorreu segregação transgressiva em todos os caracteres estudados.

Brondani (2000) avaliou 11 características de interesse agrônômico no arroz a partir de 96 famílias  $RC_2F_2$ , em experimentos conduzidos em dois locais,

utilizando marcadores microssatélites. Foram identificados QTLs para todas as 11 características mensuradas, além de locos com agrupamentos de QTLs para caracteres ligados à produtividade nos cromossomos 1, 2, 3, 4, 5, 7 e 11.

Soares (2000), utilizando 118 RILs de soja e marcadores microssatélites, identificou dois QTLs associados a teor de proteína nos grupos de ligação C1 e C2 para as famílias cultivadas em um ambiente, que explicaram, respectivamente, 11,13 e 12,19% da variação do teor de proteínas.

Silva et al. (2005) mapearam QTLs para tolerância ao encharcamento do solo em milho usando 44 marcadores microssatélites e 74 famílias F<sub>3</sub> avaliadas em um ambiente. Os QTLs explicaram altos percentuais da variação para características relacionadas com a tolerância, 32% para matéria seca da parte aérea e 19% para matéria seca da raiz. Também em milho, QTLs para a produção de grãos e seus componentes foram mapeados em vários trabalhos (Austin & Lee, 1998; Ribaut et al., 1997; Mihaljevic et al., 2005; Bento, 2006).

### **2.2.3 Identificação de QTLs em feijoeiro comum**

Taran et al. (2000), usando os marcadores RFLP, SSR, AFLP e RAPD identificaram 29 QTLs associados com caracteres agronômicos no feijoeiro comum. Foram identificados QTLs para hábito de crescimento, dias para o florescimento, dias para maturação, acamamento de plantas e produtividade de grãos, mostrando a possibilidade de identificar marcadores moleculares úteis ao processo de melhoramento do feijoeiro. Os autores afirmaram que esses marcadores, se utilizados em um programa de seleção assistida por marcadores, podem contribuir para o aumento da eficiência de seleção e, conseqüentemente, possibilitar um incremento nos ganhos com a seleção, aumentando a eficiência do programa de melhoramento.



Melo et al. (2002b) identificaram QTLs relacionados ao florescimento no feijoeiro comum utilizando 63 marcadores RAPD e 196 famílias do cruzamento Carioca x Flor de Mayo, avaliadas em quatro ambientes (duas safras e dois anos) no município de Lavras. Nas avaliações individuais foram identificados de um a seis marcadores ligados a QTLs que explicaram de 3,8 a 34,33 % da variação fenotípica. Já na média por safra, o número de marcadores ligados a QTLs variou de zero a seis, e os QTLs explicaram de zero a 28,37 % da variação para a característica. Considerando todas as avaliações em conjunto foram identificados cinco marcadores, explicando 32,15% da variação, com destaque para os marcadores OPE20 (891pb) e OPO13 (13187pb).

QTLs para reação ao oídio e à mancha angular em feijoeiro comum foram mapeados por Melo et al. (2002c), utilizando 63 marcadores RAPD em 196 famílias do cruzamento Carioca x Flor de Mayo, avaliadas em três ambientes. O número de marcadores ligados a QTLs e à porcentagem da variação explicada variou entre os ambientes. Para a reação ao oídio, nas avaliações individuais o número de marcadores ligados a QTLs variou de 2 a 9 e esses marcadores explicaram, em conjunto, de 8,13 a 63,86% da variação fenotípica. Na média das avaliações foram identificados oito marcadores e os QTLs explicaram 38,56% da variação. Para reação à mancha angular identificaram-se de três a quatro marcadores, explicando de 8,69 a 16,04% nas avaliações individuais, e na média das avaliações foram identificados cinco marcadores ligados a QTLs, que explicaram 16,57% da variação fenotípica.

Os mesmos autores identificaram QTLs para peso de 100 sementes em feijão (Melo et al., 2002a) e foi observada alta interação QTLs por ambientes. Os QTLs identificados explicaram de 5,5 a 32,89% da variação fenotípica nas avaliações individuais, e na média de todas avaliações os QTLs explicaram 9,79% da variação. Os marcadores mais promissores foram OPN02 (1445) e OPM06 (1096).

Faleiro et al. (2003) avaliaram oito características quantitativas em um ambiente, em 154 linhas endogâmicas recombinantes (RILs) de feijoeiro do cruzamento Ouro Negro e Rudá, utilizando 42 marcadores RAPD e SCARs. Os marcadores associados a cada característica, em conjunto, explicaram 39,79% do número de dias até o florescimento, 40,14% do número de dias até a maturação, 28,99% do número médio de vagens por planta, 36,07% do peso de 100 sementes, 14,03% do número médio de sementes por planta, 23,62% do número médio de sementes por vagem, 19,20% da produção média por planta e 17,13% da produção média por vagem.

Melo et al. (2004) identificaram QTLs para produtividade de grãos em feijoeiro comum utilizando 63 marcadores RAPD e 196 famílias do cruzamento Carioca x Flor de Mayo, avaliadas em sete ambientes, incluindo diferentes safras (época de plantio) e locais. Os autores constataram alta interação QTLs por ambientes. Considerando as avaliações individualmente foram identificados de três a seis marcadores ligados a QTLs, que explicaram de 8,79 a 22,06% da variação fenotípica. Foram identificados de três a seis marcadores que explicaram de 11,62 a 22,27% da variação fenotípica, considerando a média das avaliações por local. Levando-se em conta a média das avaliações por safra, os autores identificaram de quatro a seis marcadores que explicaram de 15,75 a 25,5% da variação para a característica avaliada. Os marcadores OPN07 (1445pb) e OPO20 (1585pb) explicaram 7,8% da variação, considerando a média de todos os experimentos.

QTLs para resistência a gafanhoto e peso de semente em feijoeiro comum foram mapeados por Murray et al. (2004) utilizando marcadores RFLP, STS, SCAR e SSR. Os autores identificaram três marcadores associados à resistência, que explicaram 26% da variação. Para o peso de sementes também foram identificados três marcadores, explicando 25% da variação fenotípica.

Rodrigues (2004) mapeou QTLs em feijoeiro comum utilizando 30 marcadores SSR e 107 famílias do cruzamento Carioca MG x ESAL686 nas gerações  $F_8$  e  $F_{24}$ . A característica produção de grãos foi avaliada em três ambientes e a reação à mancha angular e o peso de 100 sementes, em apenas um local. A autora identificou 10 QTLs para produção de grãos, que explicaram isoladamente de 3,14 a 9,24% da variação, quando considerados conjuntamente, os marcadores explicaram 18,95% da variação fenotípica na  $F_8$  e 20,52% na  $F_{24}$ . Já para reação à mancha angular foram identificados seis QTLs, sendo que um deles (BM 154) conseguiu explicar 17,48% da variação fenotípica; em conjunto, os QTLs explicaram 22,42% da variação em  $F_8$  e 23,94% na  $F_{24}$ . Também foram mapeados cinco QTLs para peso de 100 sementes, sendo que um deles (X61293) explicou 16,78% da variação fenotípica e os marcadores em conjunto explicaram 31,78% da variação em  $F_8$  e 5,61% em  $F_{24}$ . A autora concluiu ainda que a maioria dos QTLs expressou-se em apenas um ambiente.

Teixeira (2004) mapeou QTLs para produção de grãos e peso de 100 sementes, avaliados em sete ambientes; reação a oídio, avaliado em um ambiente; e porte, avaliado em seis ambientes, utilizando 24 marcadores microsatélites e 142 famílias do cruzamento Jalo EEP 558 x Small White. Para a produção de grãos a autora identificou QTLs explicando, em conjunto, de 2,26 a 28,6% da variação fenotípica, considerando apenas um ambiente. Considerando a análise para todos os ambientes, os três marcadores identificados explicaram 14,7% da variação. O marcador X-80051 foi o mais constante, chegando a explicar 8,75% da variação em um ambiente e 7,66% na média de todos ambientes. Para o peso de 100 sementes os marcadores explicaram, em conjunto, de 14,55 a 31,9% da variação fenotípica considerando cada ambiente isoladamente. Na análise considerando todos os ambientes em conjunto, os quatro marcadores identificados explicaram 26,11% da variação.

Merecem destaque os marcadores BM 210 e BM 152, que chegaram a explicar 20,81 e 11,61% da variação.

Para reação ao oídio a autora identificou três marcadores que explicaram apenas 11,51% da variação. Já para o porte, os marcadores identificados explicaram de 3,39 a 24,56% da variação fenotípica em um ambiente. Entre os marcadores identificados não foram encontradas grandes contribuições para a explicação da variação, sendo que o marcador mais constante foi o BM210; os demais marcadores foram inconstantes e explicaram pequenos percentuais da variação.

Teixeira et al. (2005) identificaram QTLs estáveis explicando altos percentuais da variação fenotípica para reação à mancha angular do feijoeiro comum utilizando 24 marcadores microssatélites e 142 famílias do cruzamento Jalo EPP x Small White avaliadas em quatro ambientes. Foram mapeados QTLs que explicaram de 17,92 a 31,02% da variação fenotípica, com destaque para os marcadores BM210 e BM146.

Blair et al. (2006) mapearam QTLs em feijoeiro comum usando linhagens do cruzamento entre uma cultivar andina e uma selvagem com marcadores microssatélites, SCARs e marcadores de phaseolina. Foram identificados 41 QTLs para as oito características avaliadas, sendo cinco para peso de sementes, dois para dias para florescimento e um para produção, estáveis em dois ou mais ambientes.

#### **2.2.4 Dificuldades na identificação de QTLs**

Vários problemas têm sido verificados na identificação de QTLs (Bernardo, 2002). Um deles é o número relativamente baixo de QTLs identificados. Em 50% dos estudos relatados na literatura foram identificados de 1 a 3 QTLs, enquanto mais de 10 QTLs foram identificados em apenas 12% dos

estudos. O autor comenta também que em cruzamentos entre linhagens elite, como as oriundas de programas de melhoramento, o número de QTLs detectáveis para uma dada característica é menor ainda, já que vários dos QTLs que controlam essa características já estão fixados.

Outro problema é o fato de a maioria dos QTLs explicar pequena parcela da variação fenotípica. Entre os 747 QTLs relatados, 240 (32%) explicaram de 1 a 5% da variação, 301 (40%) explicaram de 6 a 10% da variação, e ainda, o número de QTLs que explicaram maiores percentuais da variação diminuiu progressivamente. Para características complexas, como produção, a maioria dos QTLs explicou de 1 a 5% da variação, corroborando com o fato de que as características quantitativas são controladas por poucos locos com maiores efeitos e por muitos locos com pequenos efeitos.

O principal fator responsável por esses problemas é o pequeno tamanho da população utilizado na identificação dos QTLs. Em estudos de simulação, as populações pequenas, além de permitirem a identificação de pequeno número de QTLs, superestimam seus efeitos (Bernardo, 2002).

Segundo o mesmo autor, é relativamente fácil identificar um QTL em experimentos de mapeamento, mas validar os efeitos dos QTLs previamente mapeados é uma tarefa mais difícil.

Beavis (1994) comparou a localização e os efeitos de QTLs estimados em duas populações, formadas por amostras obtidas de um mesmo cruzamento. As localizações dos QTLs foram diferentes nas populações estudadas, já o número de QTLs detectados e a magnitude dos seus efeitos foram semelhantes.

Segundo Beavis (1994) e Melchinger et al. (1998), a utilização de populações de pequeno tamanho em estudos de mapeamento leva a um menor número de QTLs detectados (menor poder de detecção) e à superestimativa dos efeitos desses QTLs. Resultados de estudos teóricos (Lande & Thompson, 1990), práticos (Beavis, 1994; Melchinger et al., 1998) e estudos de simulação

(Beavis, 1994) sobre tamanhos de população para mapeamento indicam que maiores tamanhos populacionais são necessários para o mapeamento quando a herdabilidade da característica é baixa.

Bernardo (2002) comenta que os resultados obtidos por Beavis (1994) indicam que uma população para mapeamento deve ter cerca de 500 indivíduos ou famílias, mas que o custo da avaliação fenotípica e molecular desse número de progênies é muito alto. O autor relata ainda que a maioria dos estudos de mapeamento, em diferentes espécies, utiliza populações com menos de 250 indivíduos ou famílias e, conseqüentemente, os efeitos da maioria dos QTLs relatados na literatura estão superestimados.

Os 747 QTLs considerados por Bernardo (2002) foram estimados em populações com 250 ou mais indivíduos. Considerando os tamanhos de populações nos estudos mencionados nos tópicos anteriores, todas foram menores do que 250 indivíduos, o que indica que os problemas de pequeno número de QTLs e superestimativa de seus efeitos devem ter sido ainda maiores.

Um terceiro problema sério é a forte interação QTLs por ambientes, que corresponde à ocorrência de efeitos genéticos de magnitudes não coincidentes para dado QTL mapeado em diversos ambientes, ou a não expressão do QTL em alguns dos ambientes avaliados (Linch & Walsh, 1998), relatada em várias espécies (Melo et al., 2004; Teixeira, 2004; Bento, 2006).

Resultados sobre a detecção do efeito da interação QTLs x ambientes são controversos na literatura. Stuber et al. (1992) encontraram pouca evidência de interação QTLs x ambientes para produtividade de milho, uma característica que geralmente apresenta interação significativa.

Lee et al. (1996) relataram que para data de maturação em soja foram encontrados, em todos os locais, quatro dos cinco QTLs mapeados. Os mesmos autores também afirmaram que para a altura da planta, somente dois dos 11 QTLs foram detectados em todos os quatro locais utilizados nos estudos. Zhu et

al. (1999) relataram que todos os cinco QTLs identificados para produção em cevada nos seus estudos exibiram interação com o ambiente. Ajmone-Marsan et al. (1995) relataram a consistência de QTLs mapeados em milho para produção de grãos em dois ambientes, evidenciando baixo efeito da interação.

Paterson et al. (1991) identificaram 29 QTLs associados a uma série de características quantitativas em tomate, avaliadas em três ambientes. Destes QTLs, apenas quatro eram comuns aos três ambientes, 10 em dois ambientes e os outros 15 se expressaram especificamente em cada ambiente.

Em feijão, também existem alguns relatos da ocorrência da interação QTLs x ambientes. Melo et al. (2002c) relatam a ocorrência da interação para o peso de 100 sementes. Os mesmos autores (Melo et al., 2004) também relatam a presença da interação QTLs x ambientes para a produção de grãos.

Teixeira (2004) constatou a presença da interação QTLs x ambientes para as características produção de grãos e peso de 100 sementes em feijão

Beavis et al. (1994), utilizando a mesma população de milho empregada por Stuber et al. (1992), relataram a falta de coincidência entre os QTLs mapeados para produção de grãos nos dois estudos, concluindo que tal resultado foi devido, em parte, à ocorrência da interação QTLs x ambientes.

Veldboom & Lee (1996) realizaram o mapeamento de QTLs para a produção de grãos e componentes da produção em dois ambientes com o objetivo de comparar os QTLs identificados em cada um deles. Foram realizadas análises com as observações fenotípicas em cada ambiente, e também com as médias das observações nos dois ambientes, sendo mapeados 39 QTLs. Apenas 50% dos QTLs mapeados em ao menos um dos ambientes foram identificados nos dois ambientes simultaneamente, indicando que a avaliação realizada em apenas um deles seria insuficiente para a elucidação do número de QTLs envolvidos no controle dos caracteres, caracterizando a ocorrência da interação QTLs x ambientes. Zhuang et al. (1997) encontraram que somente 17 dos 44

QTLs identificados foram detectados em pelo menos dois dos três ambientes utilizados no estudo.

Austin & Lee (1998), no mapeamento de QTLs em dois ambientes para os caracteres produção de grãos e alguns de seus componentes em milho, observaram que 83% dos QTLs foram identificados em apenas um dos ambientes, indicando baixa correspondência entre os QTLs mapeados em ambos, indicando que o efeito da interação QTLs x ambientes refere-se tanto à expressão de QTLs diferentes em diversos ambientes quanto às diferenças nas magnitudes dos efeitos dos QTLs nos ambientes considerados.

Bento (2006) relata que entre os 24 QTLs mapeados para produção de grãos em uma população tropical de milho, todos sofreram efeito da interação QTLs x ambientes.

Estes resultados não são particularmente surpreendentes, uma vez que a interação genótipos x ambientes é rotineiramente encontrada em experimentos de melhoramento e varia com diferentes características. Assim, se existir interação deste tipo, o problema não é exclusivo da seleção com marcadores, e sim deve ser considerado sob qualquer forma de seleção artificial.

### **2.2.5 Seleção assistida por marcadores moleculares (SAM) em características quantitativas**

A seleção fenotípica das espécies domesticadas tem sido praticada consciente ou inconscientemente por milênios, porém os avanços da genética molecular prometem aumentar a eficiência das técnicas de melhoramento até então utilizadas. Por isso, existem muitas razões para se acreditar que a genética molecular não irá substituir os atuais processos de melhoramento, mas sim integrar-se a eles para que se possa obter o máximo de ganho de forma econômica e racional (Lande & Thompson, 1990).



Uma classe de locos ou regiões genômicas de grande interesse são os que controlam os caracteres quantitativos (QTLs). Espera-se grande contribuição dos marcadores para auxiliar na seleção desses caracteres, dada a menor eficiência da seleção fenotípica. Assim, propõe-se que os marcadores de QTLs devem ser utilizados para auxiliar na seleção de caracteres de baixa herdabilidade. Para isso eles devem estar intimamente ligados aos QTLs e a população deve estar em desequilíbrio de ligação para os marcadores em relação aos QTLs (Dudley, 1993; Bearzoti, 1997; Knapp, 1998; Yousef & Juvik, 2001; Yousef & Juvik, 2002).

A seleção indireta com base em marcadores deve ser avaliada considerando simultaneamente a intensidade de seleção, a herdabilidade, as correlações genéticas, a duração de uma geração de melhoramento (seleção e recombinação) e o custo relativo de cada alternativa, caso a caso.

Embora tenham sido encontrados marcadores associados a QTLs controlando várias características quantitativas em várias espécies, poucas pesquisas têm mostrado a efetividade da SAM para o melhoramento e são poucos os resultados da contribuição efetiva dos marcadores para o desenvolvimento de novas linhagens e cultivares (Stromberg et al., 1994).

As razões para esses poucos resultados são (Tanksley & Nelson, 1996; Stuber et al., 1999): a) a identificação dos QTLs e o seu uso para a obtenção de cultivares têm sido feitos em pesquisas separadas; b) a maioria dos trabalhos com QTLs tem usado apenas germoplasma elite; c) nos caracteres complexos como produtividade de grãos, a expressão dos QTLs depende do conjunto gênico (*background*) em que eles se encontram. Nota-se, por esses problemas, que uma dificuldade no uso de QTLs é a interação QTLs x ambientes.

Outros fatores que devem ser considerados ao se contemplar a utilização de marcadores para seleção incluem: (1) a repetibilidade da informação de

ligação entre marcador e QTL de população para população; (2) a interação entre QTLs e ambientes; e (3) a seleção simultânea para várias características.

Resultados experimentais em milho e tomate são controversos em relação às questões. Beavis et al. (1991) encontraram poucos QTLs em comum entre quatro populações de milho diferentes. Por outro lado, Lee et al. (1991) encontraram sete QTLs para resistência à broca de milho (“European corn borer”), dos quais quatro mapearam em regiões previamente identificadas, em experimentos independentes. O mesmo ocorre, como comentado anteriormente, com a presença da interação QTLs x ambientes.

De forma análoga, o melhoramento de múltiplas características simultaneamente incorre nos mesmos tipos de problemas de respostas correlacionadas que frequentemente levam ao sacrifício de ganho genético esperado em uma característica em favor de outra.

Dada a necessidade de ligação do marcador com o QTL e do desequilíbrio de ligação entre os dois na população, para que a seleção assistida por marcador seja eficiente, vários resultados de simulação e mesmo experimentais vêm mostrando a maior eficiência da seleção assistida por marcadores nas primeiras gerações segregantes ou no início dos programas de melhoramento (Edwards & Page, 1994; Bearzoti, 1997; Hospital et al., 1997; Stuber et al., 1999). A redução de eficiência da seleção assistida com o passar das gerações segregantes em geral é conseqüência de os marcadores não estarem intimamente ligados aos QTLs, da redução do desequilíbrio de ligação e também da interação genótipos por ambientes. Porém, se os marcadores são intimamente ligados aos QTLs e estes são mais estáveis, a seleção assistida tende a ser compensadora nas gerações avançadas ou no mínimo igual à seleção fenotípica (Stromberg et al., 1994; Eathington et al., 1997; Yousef & Juvik, 2002).

A eficiência de seleção para características de baixa herdabilidade pode ser incrementada significativamente com o uso de marcadores cuja

herdabilidade se aproxima de 1. Por outro lado, a detecção de QTLs para estas características é mais difícil, exigindo a avaliação de grande número de indivíduos para vários marcadores. Lande & Thompson (1990) analisaram esta questão e propuseram o uso de índices de seleção em que a soma dos efeitos aditivos nos locos marcadores seria utilizada como uma “nota molecular”, que seria combinada com informação fenotípica ao nível individual e de média de família. Entretanto, a correta estimativa de pesos para cada informação no índice poderia limitar a eficiência da técnica. Outras abordagens para a utilização da informação molecular foram discutidas por Dudley (1993).

A eficiência da SAM depende do número de marcadores e das suas distâncias dos QTLs desejados (Taran et al., 2003). Quando o número é alto e a ligação é estreita, uma alta proporção da variação pode ser explicada pelos marcadores (Lande & Thompson, 1990).

A eficiência da SAM, em comparação com a seleção fenotípica (SF), é dada pela expressão (Lande & Thompson, 1990):

$$ER_{SAM:SF} = \sqrt{\frac{V_M/V_A}{h^2} + \frac{(1-V_M/V_A)^2}{1-h^2(V_M/V_A)}} ,$$

em que:

$ER_{SAM:SF}$ : Eficiência da SAM em relação a SF;

$V_M$ : Variância genética aditiva explicada pelos marcadores;

$V_A$ : Variância genética aditiva;

$h^2$ : Herdabilidade do caráter.

A SAM será mais efetiva quando a herdabilidade da característica for baixa e quando a  $V_M$  explicar uma grande parte da  $V_A$ , ou seja, quando a relação  $V_M/V_A$  é alta. Porém, o poder de detecção dos QTLs diminui com baixos valores de herdabilidade e, assim, a  $V_M$  só será alta quando a herdabilidade for alta, o

que leva a uma baixa eficiência da SAM. A SAM será mais efetiva quando os QTLs forem mapeados, seus efeitos estimados em situações em que a herdabilidade é alta e a seleção for realizada quando a herdabilidade é baixa (Bernardo, 2002).

Utilizando essa expressão, Bernardo (2002) relata que a eficiência da SAM em relação à SF variou de 1 a 3,2, com herdabilidade de 0,1 e a  $V_M/V_A$  variando de 0 a 1. Knapp (1998) comenta que a vantagem da SAM sobre a SF aumenta quando a eficiência é interpretada em termos de probabilidade de selecionar genótipos superiores; o autor relata que em termos de número mínimo de progênies requeridas para se obterem genótipos superiores, a eficiência da SAM variou de 1 a 16,7, com herdabilidade de 0,1 e  $V_M/V_A$  variando de 0 a 1, ou seja, um melhorista teria de avaliar de 1 a 16,7 vezes mais famílias por meio da seleção fenotípica do que outro usando a SAM. Portanto, a SAM pode ser usada na seleção precoce para reduzir o tamanho das populações necessárias em programas de melhoramento.

Soller & Beckmann (1983) afirmaram que a SAM para caracteres quantitativos com alta herdabilidade não seria tão eficiente como o melhoramento tradicional. O valor preditivo da SAM é inversamente proporcional à herdabilidade da característica (Paterson et al., 1991). Por exemplo, a herdabilidade para a produção sob *stress* de seca em feijão é baixa a moderada ( $h^2 = 0,19$  a  $0,59$ , Scheider et al., 1997), indicando que se forem identificados marcadores que expliquem uma proporção da variação para uma característica quantitativa com alta herdabilidade, a SAM poderia ainda ser útil depois que um QTL de efeito maior for fixado e a herdabilidade for reduzida (Paterson et al., 1991).

Alguns trabalhos foram realizados no sentido de verificar a eficiência da SAM. Scheider et al. (1997), trabalhando com feijão, usaram cinco marcadores RAPD para seleção assistida de produção sob condições de *stress* de seca. A

SAM melhorou a produção em 11% e 8% em condições de *stress* e sem *stress*, respectivamente, enquanto a seleção convencional para produção falhou em melhorar a produção.

Yu et al. (2000) relatam que vários QTLs foram identificados para resistência ao crestamento bacteriano comum em feijoeiro comum. Esses autores avaliaram a possibilidade de uso da SAM com marcadores ligados a QTLs responsáveis pela resistência, em populações diferentes das usadas para o mapeamento. Um dos marcadores utilizados (SCAR BC420<sub>900</sub>) explicou 62% da variação fenotípica e foi altamente eficiente na seleção. Comparando a SAM e a seleção convencional, o custo da SAM ficou em cerca de 1/3 ao da seleção convencional.

Taran et al. (2003) testaram a SAM com marcadores de QTLs para cinco características importantes em feijão, incluindo a produção de grãos, o número de vagens por planta, a altura de planta, o índice de colheita e o total de nódulos e desenvolveram um processo para SAM de características complexas usando um índice baseado em marcadores ligados a QTLs e distância genética ultramétrica entre linhagens e um genitor. Esse método possibilitou a seleção de linhagens que tinham QTLs importantes.

Estudos iniciais com milho mostraram que a seleção com base em sete locos de isoenzimas aumentou a produção de grãos em uma variedade de polinização aberta (Stuber et al., 1982).

Para produtividade em milho, Stuber & Edwards (1986) originalmente compararam seleção com 15 marcadores isoenzimáticos e seleção fenotípica e concluíram que o ganho genético foi igual. Johnson (1991) sugeriu que seleção com marcadores para produtividade em linhagens S<sub>4</sub> foi mais eficiente do que a seleção baseada no comportamento de testcross de S<sub>2</sub>.

Stromberg (1992), trabalhando com milho, verificou que a seleção com marcadores em indivíduos F<sub>2</sub> e subsequente seleção de plantas na F<sub>4</sub> foram

igualmente eficientes em relação à seleção baseada em médias de cruzamento teste de  $F_2$ .

Edwards et al. (1992) estudaram a associação de 98 sondas e 11 isoenzimas com 18 QTLs (responsáveis pelo controle genético de peso de grãos, altura da planta, altura da espiga, etc.) utilizando 187 plantas  $F_2$  do cruzamento das linhagens de milho CO159 x Tx303. Observou-se que algumas regiões genômicas influenciaram o crescimento da planta nos estágios iniciais do desenvolvimento, outras em estágios mais avançados e outras em ambos. De modo semelhante, os QTLs para produção de grãos também se mostraram complexos, com alguns locos afetando um caráter simples relacionado com produção, como número de fileiras de grãos na espiga, e outros afetando vários caracteres relacionados com a produção de grãos simultaneamente. Dezoito regiões cromossômicas foram relacionadas com a altura de plantas e doze com produção de grãos.

Stuber (1994), utilizando a mesma população de milho do estudo anterior, concluiu que a seleção assistida por marcadores, baseada em 15 locos isoenzimáticos, que representavam no máximo 40% do genoma, foi tão efetiva quanto a seleção fenotípica, representando todo o genoma. O autor comenta que isso é um indicio de que a utilização de mapas mais saturados, que representam maior parte do genoma, pode trazer resultados ainda melhores. Apesar de esses resultados indicarem o grande poder de seleção dos marcadores moleculares, Lande & Tompson (1990) demonstraram, de maneira teórica, que o máximo ganho com a seleção é obtido quando se utiliza a informação molecular associada com a fenotípica, principalmente usando índices de seleção que considerem os dois tipos de informação.

Stromberg et al. (1994) compararam o uso de marcadores moleculares RFLP associados à informação fenotípica no desenvolvimento de um híbrido de milho com o uso exclusivo da informação fenotípica. A seleção assistida por

marcadores foi feita por meio de um índice de seleção que levava em consideração os oito locos de RFLP e o valor fenotípico de cada família. A seleção assistida com marcadores mostrou-se 3,5% superior quando realizada em um local e 3% inferior quando realizada em outro local; na média dos dois locais, a eficiência da seleção por marcadores foi semelhante à seleção fenotípica.

Eathington et al. (1997), trabalhando com milho, compararam a utilidade da seleção fenotípica e da SAM com relação à seleção precoce. A seleção fenotípica foi superior nos caracteres com alta  $h^2$  ( $> 0,75$ ). Para a produção de grãos, a SAM foi superior à seleção fenotípica para prever a performance de testcrosses na geração  $S_5$ . A SAM durante a geração  $S_1$  permitiu uma redução de 40% no número de famílias usadas no testcross na geração  $S_5$ . Esses resultados indicam que, como sugerido por Knapp (1998), a SAM é útil para a seleção em gerações precoces.

Um dos melhores exemplos de contribuição efetiva dos QTLs para auxiliar na seleção é o trabalho realizado por Yousef & Juvik (2001), que obtiveram ganhos com a seleção assistida em vários caracteres de milho doce. Os autores usaram três populações,  $su_1su_1Se_1Se_1$ ,  $su_1su_1se_1se_1$  e  $sh_2sh_2$ , com um total de 203 famílias. Elas foram previamente avaliadas em experimentos de campo para a seleção fenotípica. Essa seleção foi realizada em caracteres individuais (emergência, teor de sacarose na semente, textura da semente cozida e palatabilidade) e também foi realizada seleção por meio de um índice, quando foi atribuído o mesmo valor para cada caráter. A seleção assistida foi realizada utilizando cinco RFLPs ligados aos principais QTLs de cada caráter. Os autores tomaram o cuidado de selecionar os marcadores independentes entre si, isto é, localizados em cromossomos diferentes ou a mais de 50cM.

Utilizando o efeito aditivo dos cinco marcadores favoráveis para cada caráter, foi estimado um valor genotípico para cada família, que foi também

incluído na construção do índice de seleção. Cerca de 20% das famílias superiores e inferiores foram selecionadas para cada caráter com base na avaliação fenotípica, no índice e na seleção assistida por marcadores. As famílias selecionadas foram usadas para sintetizar seis compostos ( $C_1$ ), que foram avaliados juntamente com os compostos  $C_0$  em quatro ambientes, em experimentos de campo, para determinar o ganho com a seleção.

Como o progresso com a seleção é dependente do aumento da frequência de alelos favoráveis, este foi, para todos os caracteres, 45%, 48% e 32% com a seleção assistida e 24%, 31% e 6% com a seleção fenotípica, nas três populações originalmente utilizadas. Além disso, após o primeiro ciclo de seleção assistida, nenhum dos alelos favoráveis foi fixado, indicando a possibilidade de novos ganhos. O ganho médio de seleção foi de 10,9% para a seleção assistida e 6,1% para a fenotípica. Os autores consideraram também os custos na obtenção dos resultados e concluíram que uma vez que os alelos (QTLs) favoráveis estejam identificados, a seleção assistida trará maior retorno econômico. Além disso, considerando um programa a longo prazo, esta também será mais vantajosa por acelerar o processo, permitir o uso populações menores e o melhoramento simultâneo de vários caracteres.

Os mesmos autores avaliaram a eficiência dos marcadores para a transferência de QTLs para aumentar a emergência em milho doce. Concluíram que mesmo após várias gerações de autofecundação e de retrocruzamento, empregando diferentes backgrounds genéticos e em diferentes ambientes, os marcadores foram eficientes. Reconheceram, entretanto, que se os marcadores não estiverem intimamente ligados, avaliações fenotípicas devem ser feitas para evitar perdas da ligação entre os marcadores e os QTLs devido à permuta genética (Yousef & Juvik, 2002).

Edwards & Johnson (1994) relataram a utilização de marcadores moleculares no melhoramento de milho-doce, sendo avaliado o desempenho de



famílias F<sub>4</sub> para várias características com relação a 61 locos de RFLP distribuídos ao longo do genoma. A partir dessa avaliação foram feitos contrastes com o objetivo de detectar a ligação dos QTLs aos locos marcadores. Os resultados mostraram ganhos significativos para a maioria das características quando se utilizou a seleção assistida por marcadores.

O insucesso também foi relatado em alguns casos quando se empregaram marcadores de QTLs. Openshaw & Frascaroli (1997) realizaram a SAM com 12 RFLPs associados com produção em milho, sem utilização de índice, em uma população diferente da utilizada no mapeamento, e não obtiveram resposta significativa para aumento e nem para diminuição da produção mesmo depois de três ciclos de SAM.

Em cevada, Kandemir et al. (2000) relataram que três QTLs para produção de grãos na cultivar Steptoi não tiveram efeito na produção quando introgrididos na cultivar Morex, uma cultivar com qualidade de malte superior, mas com produção moderada.

Reyna & Sneller (2001) procuraram aumentar a produtividade de grãos de soja em linhagens adaptadas às condições do Sul dos Estados Unidos a partir da introgressão de três QTLs que contribuem para alta produtividade em cultivares adaptadas no norte do país, por meio de marcadores microssatélites. Verificaram que os QTLs não contribuíram para aumentar a produtividade nas condições do Sul do país. Argumentaram que QTLs, para serem usados em *backgrounds* e ambientes muito diferentes, devem ser aqueles que exibem superioridade universal, como, por exemplo, os de resistência a patógenos. No caso de produção de grãos, a cultivar elite em que os QTLs foram identificados no Norte do país apresentou um desempenho muito inferior ao das cultivares elite nas quais os QTLs foram introgrididos no Sul do país. Assim, atribuíram a ineficiência dos QTLs introduzidos à interação genótipos (QTLs) por ambientes ou epistasia no novo background.

Moreau et al. (2004) avaliaram a eficiência da SAM para produção de grãos em uma população de 300 famílias  $F_{3,4}$ , gerada a partir do cruzamento de duas linhagens de milho. Foram utilizados 93 marcadores RFLPs e as famílias foram avaliadas em vários ambientes. Os métodos de seleção adotados foram: 1- dois ciclos de seleção fenotípica (SF); 2- dois ciclos de SAM baseada em um índice combinando os valores fenotípicos e os valores genéticos dos QTLs; 3- Um ciclo de SAM combinada, seguido de dois ciclos de SAM somente pelos valores genéticos dos QTLs estimados na primeira geração. Os ganhos genéticos foram avaliados e foram significativos para todos os métodos de seleção, mas a diferença entre a SF e a SAM combinada não foi significativa, os autores atribuem isso aos altos valores de herdabilidade obtidos. Os dois ciclos de seleção adicionais só com marcadores não aumentaram o valor genético da população. Os efeitos estimados dos QTLs na população inicial não foram estáveis, provavelmente devido à epistasia e/ou à interação QTLs por ambientes.

Segundo Bernardo (2002), de modo geral os resultados indicam que a SAM, quando comparada com a seleção fenotípica, às vezes é mais eficiente e outras vezes não. O autor comenta ainda que em geral, os resultados publicados mostram que para caracteres complexos como a produção, a SAM é menos eficiente. Young (1999) relata que os marcadores mostram-se úteis para seleção quando obedecem a dois critérios: a) as características são controladas por poucos locos com grandes efeitos; e b) a avaliação fenotípica da característica é difícil.

Um claro exemplo que envolve os dois critérios de eficiência relatados por Young (1999) é a seleção com marcadores para resistência ao nematóide do cisto na soja (gene *rhg1*), uma das características mais bem estabelecidas no momento, já que os principais QTLs que controlam a característica estão mapeados (Concibido et al., 1996; Schuster et al., 2001), e a seleção assistida, que neste caso é extremamente eficiente.

### 3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, A. F. B.; RAMALHO, M. A. P.; FERREIRA, D. F. Selection potential for seed yield from intra and inter racial populations in common bean.

**Euphytica**, Wageningen, v. 108, n. 2, p. 121-127, 1999.

ABREU, A. de F. B.; RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B. dos; PEREIRA FILHO, I. A.; Effects genotype x environment interaction on estimations of genetic and phenotypic parameters of common beans. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 13, n. 1, p. 75-82, mar. 1990.

AJMONE-MARSAN, P.; MONFREDINI, G.; LUDWIG, W. F.; MELCHINGER, A. E.; FRANCESCHINI, P.; PAGNOTTO, G. In an elite cross of maize a major quantitative trait locus controls one-fourth of the genetic variation for grain yield. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 90, n. 3/4, p. 415-424, mar. 1995.

ALLIPRANDINI, L. F.; TOLEDO, J. F. F.; FONSECA JÚNIOR, L.; KIHIL, R. A. S. E.; ALMEIDA, L. A. Ganho genético em soja no estado do Paraná, via melhoramento, no período de 1985/86 a 1989/90. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 4, p. 489-497, abr. 1993.

ARIAS, E. R. A.; RAMALHO, M. A. P. Progresso genético em milho no estado do Mato Grosso do Sul, no período de 1986/87 a 1993/94. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 9, p. 1549-1554, set. 1998.

ATROCH, A. L.; NUNES, G. H. S. Progresso genético em arroz de várzea úmida no estado do Amapá. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 4, p. 767-771, abr. 2000.

AUSTIN, D. F.; LEE, M. Detection of quantitative loci for grain yield and yield components in maize across generations in stress and nonstress environments. **Crop Science**, Madison, v. 38, n. 5, p. 1296-1308, Sept./Oct. 1998.

BACKES, G.; GRANER, B.; FOROUGGHI-WEHR, B.; FISCHBECK, G.; WENZEL, G.; JAHOR, A. Localization of quantitative trait loci (QTL) for agronomic important characters by use of a RFLP map in barley hordeum vulgare L. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 90, n. 2, p. 294-302, Feb. 1995.

BAENZIGER, P. S.; PETERSON, C. J. Genetic variation: its origin and use for breeding self-pollinated species. In: STALKER, H. T.; MURPHY, J. P. (Ed.). **Plant Breeding in the 1990's**. Raleigh: North Carolina State University, 1991. p. 69-100.

BEAVIS, W. D. The power and deceit of QTL experiments: Lessons from comparative QTL studies. Proc. Corn Sorghum Ind. Res. Conf. 49: 250-266. 1994.

BEAVIS, W. D.; GRANT, D.; ALBERTSEN, M.; FINCHER, R. Quantitative trait loci for plant height in four maize populations and their associations with qualitative genetic loci. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 83, n. 2, p. 141-145, 1991.

BEARZOTI, E. **Simulação de seleção recorrente assistida por marcadores moleculares em espécies autógamas**. 1997. 230 p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

BERNARDO, R. **Breeding for quantitative traits in plants**. Minnesota: Stema Press, 2002. 369 p.

BENTO, D. A. V. **Mapeamento de QTLs para produção de grãos e seus componentes em uma população de milho tropical**. 2006. 133 p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

BLAIR, M. W.; IRIARTE, G.; BEEBE, S. QTL analysis of yield in an advanced backcross population derived from a cultivated Andean x wild common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cross. **Theoretical and applied Genetics**, Berlin, v. 112, n. 6, p. 1149-1163, Apr. 2006.

BLAIR, M. W.; PEDRAZA, F.; BUENDÍA, H. F. GAITÁN-SOLÍS, E.; BEEBE, S. E.; GEPTS, P.; TOHME, J. Development of a genome-wide anchored microsatellite map for common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 107, n. 8, p. 1362-1374, Nov. 2003.

BORÉM, A. **Melhoramento de plantas**. Viçosa: UFV, 1997. 547 p.

BRONDANI, C. **Desenvolvimento de marcadores microssatélites, construção de mapa genético interespecífico de *Oryza glumaepatula* x *Oryza sativa* e análise de QTLs para caracteres de importância agrônômica**. 2000. 226 f. Tese (Doutorado) - Universidade de Brasília, Brasília.

CARNEIRO, J. E. de S. **Alternativas para obtenção e escolha de populações segregantes no feijoeiro.** 2002. 134 p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

CONCIBIDO, V. C.; YOUNG, N. D.; LANGE, D. A.; DENNY, R. L.; DANESH, D.; ORF, J. H. Target comparative genome analysis and qualitative mapping of major partial-resistance gene to soybean cyst nematode. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 93, n. 1/2, p. 234-2419, July 1996.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético.** Viçosa: UFV, 2001. 390 p.

DIERS, B. W.; KEIM, P.; FEHR, W. R.; SHOEMAKER, R. C. RFLP analysis of soybean seed protein and oil conten. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 83, n. 5, p. 608-612, Mar. 1992.

DOERGE, R. W. Multifactorial genetics mapping and analysis of quantitative trait loci in experimental populations. **Nature Reviews Genetics**, New York, v. 3, n. 1, p. 43-52, 2002.

DUDLEY, J. M. Molecular markers in plant improvement: Manipulation of genes affecting quantitative traits. **Crop Science**, Madison, v. 33, n. 4, p. 660-668, July/Aug. 1993.

EATHINGTON, S. R.; DUDLEY, J. W.; RUFENER, G. K. Marker effects estimated from test crosses of early and late generations of inbreeding in maize. **Crop Science**, Madison, v. 37, n. 6, p. 1679-1685, Nov./Dec. 1997.

EDWARDS, M.; JOHNSON, L. RFLPs for rapid recurrent selection. In: SYMPOSIUM OF ANALYSIS OF MOLECULAR MARKER DATA, 1994, Corvallis. **Proceedings...** Corvallis: American Society for Horticultural Science, 1994. p. 33-40.

EDWARDS, M. D.; HELENTJARIS, T.; WRIGHT, S.; STUBER, C. W. Molecular-marker-facilitated investigations of quantitative trait loci in maize. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 83, n. 6/7, p. 765-774, Apr. 1992.

EDWARDS, M. D.; PAGE, N. J. Evaluation of marker-assisted selection through computer simulation. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 88, p. 376-382, 1994.

FALCONER, D. S. **Introdução à genética quantitativa**. Viçosa: UFV, 1987. 279 p.

FALEIRO, F. G.; RAGAGNIN, V. A.; MOREIRA, M. A.; BARROS, E. G. de. Use of molecular markers to accelerate the breeding of common bean lines resistant to rust and anthracnose. **Euphytica**, Wageningen, v. 138, n. 3, p. 213-218, Aug. 2004.

FALEIRO, F. G.; SCHUSTER, I.; RAGAGNIN, V. A.; CRUZ, C. D.; CORRÊA, R. X.; MOREIRA, M. A.; BARROS, E. G. de. Caracterização de linhagens endogâmicas recombinantes e mapeamento de locos de características quantitativas associados a ciclo e produtividade do feijoeiro comum. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 12, p. 1387-1397, dez. 2003.

FEHR, W. R. **Principles of cultivar development**. London: Macmillan, 1987. v. 1, 536 p.

FERREIRA, A. M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética**. 3. ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 1998. 220 p.

GAITÁN-SÓLIS, E.; DUQUE, M. C.; EDWARDS, K. J.; TOHME, J. Microsatellite repeats in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Crop Science**, Madison, v. 42, n. 6, p. 2128-2136, Nov./Dec. 2002.

GARDNER, C. O.; EBERHART, S. A. Analysis and interpretation of the variety cross diallel and related populations. **Biometrics**, Raleigh, v. 22, n. 3, p. 439-452, Sept. 1966.

GRIFFING, B. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. **Australian Journal of Biological Science**, Melbourne, v. 9, p. 463-493, 1956.

JINKS, J. L.; HAYMAN, B. I. The analysis of diallel crosses. **Maize Genetics Corporation News Letter**, Ithaca, v. 27, n. 1, p. 48-54, 1953.

JINKS, J. L.; POONI, H. S. Prediction the properties of recombinant inbred lines derived by single seed descent. **Heredity**, Edinburgh, v. 36, n. 2, p. 253-266, 1976.

HOSPITAL, F.; MOREAU, L.; LACOUDRE, F.; CHARCOSSET, A.; GALLAIS, A. More on the efficiency of marker-assister selection. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 95, n. 8, p. 1181-1189, Dec. 1997.

KANDEMIR, N.; JONES, B. L.; WESENBERG, D. M.; ULLRICH, S. E.; KLEINHOF, A. Marker-assisted analysis of three grain yield QTL in barley (*Hordeum vulgare* L.) using near isogenic lines. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 6, n. 2, p. 157-167, Apr. 2000.

KNAPP, S. J. Marker-assisted selection as a strategy for increasing the probability of selecting superior genotypes. **Crop Science**, Madison, v. 38, n. 5, p. 1164-1174, Sept./Oct. 1998.

KUREK, A. J.; CARVALHO, F. I. F. de; ASSMANN, I. C.; CRUZ, P. J. Capacidade combinatória como critério de eficiência na seleção de genitores em feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 4, p. 645-651, abr, 2001.

LANDE, R.; THOMPSON, R. Efficiency of marker-assisted selection in the improvement of quantitative traits. **Genetics**, Baltimore, v. 124, n. 3, p. 743-756, Mar. 1990.

LEE, M.; MELCHINGER, A. E.; GUTHERIE, W. D. Molecular markers analysis of host-plant resistance to European corn borer in corn. In: ILLINOIS CORN BREEDERS SCHOO, 27., 1991, Champaign, Il. **Proceedings...** . Champaign, 1991.

LEE, S. H.; BAILEY, M. A.; MIAN, M. A. R.; CARTER Jr., T. E.; ASHLEY, D. A.; HUSSEY, W. A.; PARROTT, W. A.; BOERMA, H. R. Molecular markers associated with soybean plant height, lodging, and maturity across locations. **Crop Science**, Madison, v. 36, n. 3, p. 728-735, May/June 1996.

LYNCH, M.; WALSH, B. **Genetic and analysis of quantitative traits**. Massachusetts: Sinauer Sunderland, 1998. 980 p.

MACHADO, C. F.; SANTOS, J. B.; NUNES, G. H. de S.; RAMALHO, M. A. P. Choice of commom bean parents based on combining ability estimates. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão preto, v. 25, n. 2, p. 179-183, June 2002.

MATOS, J. W. de. **Análise crítica do programa de melhoramento genético do feijoeiro da UFLA no período de 1974 a 2004.** 2005. 116 p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

MELCHINGER, A. E.; UTZ, H. F.; SCHÖN. Quantitative trait locus (QTL) mapping using different testers and independent population samples in maize reveals low power of QTL detection and large bias in estimates of QTL effects. **Genetics**, v. 149, p.383-403. 1998.

MELO, L. C.; SANTOS, J. B. dos; FERREIRA, D. F. Mapeamento de QTLs para florescimento do feijoeiro com marcadores RAPD em diferentes ambientes. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 4, p. 768-779, jul./ago. 2002a.

MELO, L. C.; SANTOS, J. B. dos; FERREIRA, D. F. Mapeamento de QTLs para reação ao oídio e mancha angular do feijoeiro comum em diferentes locais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 8, p. 1115-1126, ago. 2002b.

MELO, L. C.; SANTOS, J. B. dos; FERREIRA, D. F. Mapping and stability of QTLs for seed weight in common beans under different environments. **Crop breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 2, n. 2, p. 227-236, June 2002c.

MELO, L. C.; SANTOS, J. B. dos; FERREIRA, D. F. QTL mapping for common bean yield in different environments. **Crop breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 4, n. 2, p. 135-144, June 2004.

MENDONÇA, H. A. de. **Escolha de populações segregantes de feijoeiro utilizando parâmetros genéticos, fenotípicos e marcadores RAPD.** 2001. 99 p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

MENDONÇA, H. A. de; SANTOS, J. B. dos; RAMALHO, M. A. P. Selection of common bean segregation populations using genetic and phenotypic parameters and RAPD markers. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 2, n. 2, p. 219-226, June 2002.

MIHALJEVIC, R.; SCHÖN, C. C.; UTZ, H. F.; MELCHINGER, A. E. Correlations and QTL correspondence between line per se and testcross performance for agronomic traits in four populations of European maize. **Crop Science**, Madison, v. 45, n. 1, p. 114-142, Jan./Feb. 2005.



MOREAU, L.; CHARCOSSET, A.; GALLAIS, A. Experimental evaluation for several cycles of marker-assisted selection in maize. **Euphytica**, Wageningen, v. 137, n. 1, p. 111-118, 2004.

MURRAY, J. D.; MICHAELS, T. E.; CARDONA, C.; SCHAAFSMA, A. W.; PAULS, K. P. Quantitative trait loci for leafhopper (*Empoasca fabae* and *Empoasca kaemeri*) resistance and seed weight in the common bean. **Plant Breeding**, Berlin, v. 123, n. 5, p. 474-479, Oct. 2004.

NIENHUIS, J.; SINGH, S. P. Genetics of seed yield and its components in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) of Middle-American origins. I. General combining ability. **Plant Breeding**, Berlin, v. 101, n. 2, p. 143-154, June 1988.

OLIVEIRA, L. B. de; RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. de F. B.; FERREIRA, D. F. Alternative procedures for parent choices in a breeding program for the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Brazilian Journal of Genetics**, Ribeirão Preto, v. 19, n. 4, p. 611-615, Dec. 1996.

OPENSHAW, S. J.; FRASCAROLI, E. QTL detection and marker-assisted selection for complex traits in maize. In: CORN SORGHUM INDUSTRY RESEARCH CONFERENCE, 52., 1997, **Proceedings...** 1997. p. 44-53.

OTUBO, S. T.; RAMALHO, M. A. P. ABREU, A. de F. B.; SANTOS, J. B. dos. Genetic control of low temperature tolerance in germination of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Euphytica**, Wageningen, v. 89, n. 3, p. 313-317, Mar. 1996.

PATERNIANI, E. Interação genótipo x ambiente em climas tropicais e subtropicais. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 16., 1986, Belo Horizonte. **Anais...** Sete Lagoas: EMBRAPA/CNPMS, 1986. p. 378-382.

PATERSON, A. H.; DAMON, S.; HEWITT, J. D.; ZAMIR, D.; HAWINOWITCH, H. D.; LINCOLN, S. E.; LANDER, E. S.; TANKSLEY, S. D. Mendelian factors underlying quantitative traits in tomato: comparison across species, generations and environments. **Genetics**, Baltimore, v. 127, n. 1, p. 191-197, Jan. 1991.

PEREIRA FILHO, I. A.; RAMALHO, M. A. P.; FERREIRA, S. Avaliação de progênies de feijão e estimativas de parâmetros genéticos na região do Alto São Francisco em Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 2, p. 987-993, set./out. 1987.

PIROLA, L. H.; RAMALHO, M. A. P.; CARNEIRO, J. E. de S.; ABREU, A. F. B. T. Natural selection and family x location interaction in the common (dry) bean. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 25, n. 3, p. 343-347, Sept. 2002.

RAMALHO, M. A. P.; PINTO, C. A. B. P.; SANTA CECÍLIA, F. C. Avaliação de amostras de cultivares de feijão roxo e seleção de progênies. **Ciência e Prática**, Lavras, v. 6, n. 1, p. 35-43, jan./jun. 1982.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B. dos.; PEREIRA FILHO, I. A. Choice of parents for dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) breeding. I. Interactions of mean components by generation and by location. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 11, n. 2, p. 391-400, jun. 1988.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B. dos.; SANTA CECÍLIA, F. C.; ANDRADE, C. A. Seleção de progênies no feijão Pintado e estimativas dos parâmetros genéticos e fenotípicos. **Ciência e Prática**, Lavras, v. 3, n. 1, p. 51-57, jan./jun. 1979.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; ZIMMERMANN, M. J. de O. **Genética quantitativa em plantas autógamas – aplicações ao melhoramento do feijoeiro**. Goiânia: UFG, 1993. 271 p.

RAPOSO, F. V.; RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B. Comparação de métodos de condução de populações segregantes do feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 10, p. 1991-1997, out. 2000.

REYNA, N.; SNELLER, C. H. Evaluation of marker assisted introgression of yield QTL alleles into adapted soybean. **Crop Science**, Madison, v. 41, n. 4, p. 1317-1325, July/Aug. 2001.

RIBAUT, J. M.; JIANG, C.; GONZÁLES-DE-LÉON, D.; EDMEADES, G. O.; HOISINGTON, D. A. Identificação de quantitative trait loci under drought conditions in tropical maize. II. Yield components and marker-assisted selection strategies. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 94, n. 6/7, p. 887-896, May 1997.

RODRIGUES, T. B. **Efeito da seleção natural em alelos microssatélites (SSR) do feijoeiro e associação com QTLs de caracteres agrônômicos**. 2004. 90 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

RODRIGUES, T. B.; SANTOS, J. B. dos. Effect of natural selection on common bean (*Phaseolus vulgaris*) alleles. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 29, n. 2, p. 345-352, June 2006.

RODRIGUES, T. B.; SANTOS, J. B. dos; RAMALHO, M. A. P.; AMORIN, E. P.; SILVA, N. O. Identificação de QTLs em feijoeiro por meio de marcadores SSR influenciados pela seleção natural. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, 2006. (aceito para publicação)

SANTOS, J. B. dos. Emprego de marcadores moleculares no melhoramento de plantas. In: SIMPÓSIO DE ATUALIZAÇÃO EM GENÉTICA E MELHORAMENTO DE PLANTAS. "MELHORAMENTO DE PLANTAS NA ERA DOS MARCADORES MOLECULARES", 6., 2002, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2002. p. 14-19.

SANTOS, V. S.; RAMALHO, M. A. P.; CARNEIRO, J. E. de S.; ABREU, A. F. B. Consequences of early selection for grain type in common bean breeding. **Crop breeding and applied biotechnology**, Londrina, v. 1, n. 4, p. 347-354, Oct./Dec. 2002.

SCHNEIDER, A.; BROTHERS, M. E.; KELLY, J. D. Marker assisted selection to improve drought resistance in common bean. **Crop Science**, Madison, v. 37, n. 1, p. 51, Jan./Feb. 1997.

SCHUSTER, I.; ABDELNOOR, R. V.; MARIN, S. R. R.; CARVALHO, V. P.; KIIHL, R. A. S.; SILVA, J. F. V.; SEDIYAMA, C. S.; BARROS, E. G.; MOREIRA, M. A. Identification of a new major QTL associated with resistance to soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 102, n. 1, p. 91-102, Jan. 2001.

SENIOR, M. L.; CHIN, E. C. L.; LEE, M.; SMITH, J. S. C.; STUBER, C. W. Simple sequence repeat marker developed from maize sequences found in the GENE BANK database: map construction. **Crop Science**, Madison, v. 36, n. 6 p. 1676-1683, Nov./Dec. 1996.

SILVA, S. D. dos A. e; SERENO, M. J. C. de M.; SILVA, C. F. L. e; OLIVEIRA, A. C. de; BARBOSA NETO, J. F.; Genetic parameters and QTL for tolerance to flooded soils in maize. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 5, n. 3, p. 286-292, Sept. 2005.

SOARES, T. C. B. **Mapeamento de locos que controlam o conteúdo de proteína em soja**. 2000. 58 f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

SOLLER, M.; BECKMANN, J. S. Genetic polymorphism in varietal identification and genetic improvement. **Theoretical and applied Genetics**, Berlin, v. 67, n. 1, p. 25-33, 1983.

SOUZA JÚNIOR, C. L. de. **Componentes da variância genética e suas implicações no melhoramento vegetal**. Piracicaba: FEALQ, 1989. 134 p.

SOUZA JÚNIOR, C. L.; VENCOVSKY, R. Covariância entre parentes na presença da interação genótipo x ambientes. In: SIMPÓSIO DE ESTATÍSTICA APLICADA À EXPERIMENTAÇÃO AGRONÔMICA, 1989, Lavras. **Resumos...** Lavras: ESAL, 1989. p. 50-51.

STROMBERG, L. D.; DUDLEY, J. W.; REFENER, G. K. Comparing conventional early generation selection with molecular marker assisted selection in maize. **Crop Science**, Madison, v. 34, n. 5, p. 1221-1225, Sept./Oct. 1994.

STUBER, C. W.; EDWARDS, M. D. Genotypic selection for improvement of quantitative traits in corn using molecular marker loci. In: ANNUAL CORN AND SORGHUM RESEARCH CONFERENCE, 41., 1986. **Proceedings...** American Seed Trade Association, 1986. p. 40-83.

STUBER, C. W.; GOODMAN, M. M.; MOLL, R. H. Improvement of yield and ear number resulting from selection at allozyme loci in a maize population. **Crop Science**, Madison, v. 22, n. 4, p. 737-740, July/Aug. 1982.

STUBER, C. W.; POLACDCO, M.; SENIOR, M. L. Synergy of empirical breeding, marker-assisted selection, and genomics to increase crop yield potential. **Crop Science**, Madison, v. 39, n. 6, p. 1571-1592, Nov./Dec. 1999.

TAKEDA, C.; SANTOS, J. B. dos. RAMALHO, M. A. P. Progeny test for the ESAL-501 x A354 common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) hybrid at different locations. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 14, n. 3, p. 771-779, Sept. 1991.

TANKSLEY, S. D.; NELSON, J. C. Advanced backcross QTL analysis: a method for the simultaneous discovery and transfer of valuable QTLs from unadapted germplasm into elite breeding lines. **Theoretical and applied Genetics**, Berlin, v. 92, n. 2, p. 191-203, Feb. 1996.

TARAN, B.; MICHAELS, T. E.; PAULS, K. P. Genetic mapping of agronomic traits in common bean (*Phaseolus vulgaris*). **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 43, p. 60-61, 2000.

TARAN, B.; MICHAELS, T. E.; PAULS, K. P. Marker-assisted selection for complex trait in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) using QTL-based index. **Euphytica**, Wageningen, v. 130, n. 3, p. 423-432, 2003.

TEIXEIRA, F. F. **Mapeamento de QTLs para caracteres do feijoeiro por meio de microssatélites**. 2004. 189 p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

TEIXEIRA, F. F.; SANTOS, J. B. dos; RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. de F. B.; GUIMARÃES, C. T.; OLIVEIRA, A. C. de. QTL mapping for angular leaf spot in common bean using microssatellite markers. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 5, n. 3, p. 272-278, Sept. 2005.

VELDBOOM, L. R.; LEE, M. Genetic mapping of quantitative trait loci in stress and nonstress environments: I. Grain yield and yield components. **Crop Science**, Madison, v. 36, n. 5, p. 1310-1319, Sept./Oct. 1996.

VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. **Genética biométrica no fitomelhoramento**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1992. 486 p.

VENCOVSKY, R.; RAMALHO, M. A. P. Contribuições do melhoramento genético de plantas no Brasil. In: PATERNIANI, E. **Agricultura brasileira e pesquisa agropecuária**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2000. p. 57-89.

YAISH, M. W. F.; VEGA, M. P. Isolation of (GA)<sub>n</sub> microssatellite sequences and description of a predicted MADS-box sequence isolated from common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 26, n. 3, p. 337-342, Sept. 2003.

YOUNG, N. D. A cautiously optimistic vision for marker-assisted breeding. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 5, n. 6, p. 505-510, Dec. 1999.

YOUSEF, G. G.; JUVIK, J. A. Comparison of phenotypic and marker-assisted selection for quantitative traits in sweet-corn. **Crop Science**, Madison, v. 41, n. 3, p. 645-653, May/June 2001.

YOUSEF, G. G.; JUVIK, J. A. Enhancement of seedling emergence in sweet corn by marker-assisted backcrossing of beneficial QTL. **Crop Science**, Madison, v. 42, n. 1, p. 96-109, Jan./Feb. 2002.

YU, K.; PARK, S. J.; PAYSA, V. Marker-assisted selection of common beans for resistance to common bacterial blight: efficacy and economics. **Plant Breeding**, Berlin, v. 119, n. 5, p. 411-415, Oct. 2000.

ZHU, H. G.; BRICEÑO, R.; DOVEL, P. M.; HAYES, B. H.; LIU, C. T.; ULRICH, C. E. Molecular breeding for grain yield in barley: an evaluation of QTL effects in a spring barley cross. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 98, n. 5, p. 772-779, Apr. 1999.

ZHUANG, J. Y.; LIN, H. X.; LU, H. R.; QIAN, S.; HITTALMANI, S.; HUANG, N.; ZHENG, K. L. Analysis of QTL x environment interaction for yield components and plant height in rice. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 95, n. 5/6, p. 799-808, Oct. 1997.

## **CAPÍTULO 2**

### **ESCOLHA DE POPULAÇÕES SEGREGANTES DE FEIJOEIRO UTILIZANDO INFORMAÇÕES FENOTÍPICAS E MARCADORES DE QTLS**

## RESUMO

PEREIRA, Helton Santos. **Escolha de populações segregantes de feijoeiro utilizando informações fenotípicas e marcadores microssatélites de QTLs.** Lavras: UFLA, 2006, p. 50-83 (Tese – Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas).\*

A escolha de genitores e de populações segregantes é muito importante para o sucesso de um programa de melhoramento de feijão. A informação de polimorfismo entre os genitores para marcadores moleculares ligados a QTLs é o primeiro passo para utilização da seleção assistida por marcadores moleculares (SAM) para a produção de grãos. O objetivo do trabalho foi obter e selecionar populações segregantes promissoras de feijoeiro quanto à produção de grãos e com polimorfismo para marcadores microssatélites ligados a QTLs previamente identificados. Foram utilizadas 49 linhagens, avaliadas em dois experimentos em Lavras e Lambari, utilizando o delineamento látice triplo 7x7, com parcelas de duas linhas de três metros, na safra da “seca” de 2004. As características avaliadas foram a produção de grãos, a reação à mancha angular e o porte. Entre as linhagens avaliadas, sete foram selecionadas: RCI-10, Z-9, Talismã, MAI-18.13 e H-103 por estarem entre as mais produtivas, e Batatinha e B1 por serem de origem divergente das demais. As sete linhagens foram utilizadas para a obtenção de um dialelo e também genotipadas com 24 marcadores microssatélites ligados a QTLs relacionados com a produtividade de grãos previamente identificados. As populações obtidas no dialelo foram avaliadas quanto a produção de grãos em um experimento em DBC com três repetições e parcelas de duas linhas de três metros no município de Lavras e a avaliação mostrou a existência de diferenças entre as capacidades gerais de combinação (CGC) para os genitores e entre as capacidades específicas de combinação (CEC), sendo que o componente quadrático da CEC foi 1,4 vezes maior que o da CGC. As linhagens RCI-10 e Z-9 apresentaram os maiores valores positivos de CGC e Batatinha e B1 apresentaram valores negativos para CGC. Os maiores valores para CEC foram observados nas populações MAI-18.13 x Talismã e RCI-10 x Z-9. 25% dos marcadores SSR foram polimórficos para os genitores utilizados. Foram encontrados em média 2,5 alelos por marcador polimórfico e o maior número de marcadores polimórficos observado para uma população foi quatro. Diante do exposto, conclui-se que: as diferenças na produção de grãos foram explicadas pelos efeitos aditivos e não-aditivos, sendo os não-aditivos de maior importância; foi observado baixo polimorfismo entre os genitores, principalmente pelo baixo número de marcadores utilizados e foram selecionadas quatro populações, considerando em conjunto, a avaliação das



linhagens, a análise dialéctica e o polimorfismo para os marcadores SSR de QTLs previamente identificados.

---

\*Orientador: João Bosco dos Santos – UFLA

## ABSTRACT

PEREIRA, Helton Santos. **Choice of common bean segregant populations using phenotypic information and microsatellite QTL markers. Lavras: UFLA, 2006. p.50-83 (Tesis - Plant Genetics and Breeding Program)\***

The choice of parents and segregant populations is very important for the success of a common bean breeding program. The polymorphism information of the parents using QTL markers is the first step for the marker assisted selection (MAS). The objective of the research was to select promising segregant populations for grain yield and polymorphics for previously identified microsatellite QTL markers associated to grain yield. Fourty nine lines were evaluated in two field trials in Lavras and Lambari, using the triple 7x7 lattice design with plots of two 3m rows in dry season of 2004. Grain yield, angular leaf spot and plant architecture were evaluated. Seven lines were selected, being five (RCI-10, Z-9, Talismã, MAI-18.13 and H-103) with higher grain yield and two (Batatinha and B1) with of divergent origin. Those seven lines were intercrossed in a diallel scheme and genotyped with 24 previously identified single sequence repeat (SSR) markers associated to grain yield QTLs. The populations obtained were evaluated for grain yield in a field trial in RCB design with three replications and plots of two 3m rows in Lavras. Significant differences of the general and specific combining ability (GCA and SCA) were observed, being the quadratic component relative to SCA 1,4 higher than the GCA. The lines RCI-10 and Z-9 expressed the highest positive values for general combining ability (GCA) and Batatinha and B1 presented negative values for GCA. The highest values of SCA were observed for MAI-18.13 x Talismã and RCI-10 x Z-9 populations. 25% of the SSR markers were polymorphic between the parents, and 2,5 alleles per locus were observed. The highest number of polymorphic microsatellite marker in a population was four. Genetic differences among the grain yield of the crosses were due to the additive and non-aditive effect, being the non-aditives the most important. Low polymorphism were observed between the parents, mainly due to the low number of SSR primers available. Four populations were selected considering the lines evaluation, the diallelic analysis and the QTL SSR markers polymorphism.

---

\*Major Professor: João Bosco dos Santos – UFLA

## 1 INTRODUÇÃO

Dentre os métodos de melhoramento empregados na cultura do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), merece destaque o uso da hibridação. O objetivo da hibridação é combinar, em um mesmo indivíduo, dois ou mais alelos para fenótipos desejáveis que estejam em indivíduos diferentes.

Na condução de um programa de melhoramento utilizando a hibridação, um dos pontos mais importantes é a seleção de genitores. A escolha dos genitores pode ser considerada a etapa mais crítica, pois qualquer erro irá comprometer todo o processo, acarretando em perdas de recursos e, sobretudo, de tempo. Assim, para se ter sucesso na escolha dos genitores, os objetivos devem ser bem claros, pois a decisão depende dos caracteres a serem melhorados, do tipo de controle genético e da fonte de germoplasma disponível (Ramalho et al., 1993).

Existem diversas metodologias para a escolha de genitores e populações segregantes que são amplamente utilizadas no melhoramento do feijoeiro e classificadas em duas categorias: a primeira delas envolve os procedimentos que utilizam apenas as informações dos genitores, e a segunda utiliza informações sobre o comportamento das progênies oriundas do cruzamento (Baezinger & Peterson, 1991). Entre os métodos de escolha dos genitores utilizando o seu próprio desempenho, o mais empregado é a própria média do caráter em questão. Com relação aos métodos que utilizam a informação das progênies, os cruzamentos dialélicos têm sido o método de escolha de genitores mais empregado em várias espécies, inclusive no feijoeiro (Machado et al., 2002; Kurek et al., 2001; Mendonça et al., 2002).

A informação de divergência genética utilizando marcadores moleculares para seleção de genitores e populações de feijoeiro tem mostrado na

maioria dos casos pouca eficiência (Santos et al., 2000; Mendonça et al., 2002). Contudo, a informação de polimorfismo entre os genitores para marcadores moleculares ligados a QTLs da produção de grãos previamente identificados (Faleiro et al., 2003; Teixeira, 2004; Rodrigues, 2004; Blair et al., 2006a) é o primeiro passo para verificar a possibilidade de utilização da seleção assistida por marcadores moleculares para a seleção de famílias dentro das populações, assim como para a seleção de genitores.

A seleção de populações segregantes que apresentem alta produção de grãos e polimorfismo para marcadores de QTLs previamente identificados é importante para a utilização da seleção assistida por marcadores moleculares para a produção de grãos em populações com real potencial de utilização em programas de melhoramento visando a obtenção de linhagens mais produtivas.

Diante do exposto, o objetivo desse trabalho foi obter e selecionar populações promissoras quanto à produção de grãos, empregando a seleção fenotípica e o polimorfismo para marcadores moleculares ligados a QTLs.

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

As avaliações foram realizadas nos municípios de Lavras, no campo experimental da Universidade Federal de Lavras (UFLA), e de Lambari, na fazenda experimental da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG). A obtenção e avaliação do dialelo foi realizada no campo experimental da UFLA. As análises moleculares foram realizadas no Laboratório de Genética Molecular da UFLA.

### **2.1 Material utilizado**

Foram utilizadas 49 linhagens/cultivares com grãos do tipo Carioca (exceto a linhagem Batatinha), relacionadas a seguir: 24 linhagens obtidas e caracterizadas por Pereira & Santos (2004) e Pereira et al. (2004) (H-1, H-14, H-23, H-48, H-62, H-69, H-77, H-81, H-91, H-94, H-103, H-110, H-111, H-119, H-123, H-126, H-127, H-131, H-132, H-142, H-144, H-147, H-149, H-253); 10 linhagens obtidas por Couto et al. (2005) (M-2, M-4, M-6, M-9, M-11, M-14, M-19, M-29, M-31, M-32); cultivares Talismã (Abreu et al., 2004) e Pérola; quatro linhagens (B1, Batatinha, H4 e ESAL 501) do banco de germoplasma da UFLA; e nove linhagens elites obtidas em programas de seleção na UFLA (CV-45, CV-95, CV-55, RC1-10, CV-54, RC1-14, MAI-18.13, Z-6 e Z-9).

### **2.2 Avaliações preliminares**

As 49 linhagens/cultivares foram avaliadas na safra da “seca”, no ano de 2004, em Lavras e Lambari, em um delineamento látice triplo 7 x 7, com parcelas constituídas por duas linhas de três metros, com espaçamento de 50 cm

entre as linhas, sendo semeadas 15 sementes por metro linear.

Foi utilizada adubação no plantio com 300kg/ha de 8-28-16 (N, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, K<sub>2</sub>O) e realizada também adubação de cobertura 20 dias após a emergência, utilizando 150kg/ha de sulfato de amônio. Os demais tratamentos culturais foram os comuns à cultura do feijoeiro, incluindo irrigações complementares por aspersão quando necessário. Não foram aplicados fungicidas e inseticidas.

As características avaliadas foram produtividade de grãos, reação à mancha angular e porte. As avaliações da severidade da mancha angular foram realizadas utilizando-se um diagrama de notas de 1 (resistência completa) a 9 (suscetibilidade máxima) proposto por Bergamin Filho et al. (1995), com dois avaliadores. A avaliação de porte foi realizada por meio de um diagrama de notas semelhante ao de Collicchio et al. (1997), com notas variando de 1 (totalmente ereto) a 5 (totalmente prostrado), também por dois avaliadores. Utilizaram-se as médias dos avaliadores na análise de variância de cada caráter. A produção de grãos foi medida em g/parcela.

### 2.2.1 Análises estatísticas

As características avaliadas nos experimentos foram submetidas à análise individual de variância segundo o modelo estatístico:

$$Y_{ijk} = m + b_{k(j)} + r_j + t_i + e_{ijk} ,$$

em que:

$Y_{ijk}$ : observação referente ao tratamento  $i$  no bloco  $k$ , dentro da repetição  $j$ ,

sendo:  $i = 1, 2, 3, \dots, 49$ ;  $k = 1, 2, \dots, 7$ ; e  $j = 1, 2, 3$ ;

$m$ : efeito da média geral;

$b_{k(j)}$ : efeito aleatório do bloco  $k$ , na repetição  $j$ ;

$r_j$ : efeito fixo da repetição  $j$ ;  
 $t_i$ : efeito fixo do tratamento  $i$ ;  
 $e_{ijk}$  : efeito aleatório do erro experimental,  $e_{ijk} \cap N(0, \sigma^2)$ .

Para a análise conjunta foi considerado o seguinte modelo:

$$Y_{il} = m + a_l + t_i + (ta)_{il} + \bar{e}_{i(l)},$$

em que:

$Y_{il}$ : observação referente ao tratamento  $i$ , no local  $l$ , sendo:  $i = 1, 2, 3, \dots, 49$ ; e  $l = 1, 2$ ;

$m$ : efeito da média geral;

$a_l$ : efeito fixo do local  $l$ ;

$t_i$ : efeito fixo do tratamento  $i$ ;

$ta_{il}$ : efeito fixo da interação entre o tratamento  $i$  e o local  $l$ ;

$\bar{e}_{i(l)}$  : é o erro experimental médio,  $e_{ij(l)} \cap N(0, \sigma^2)$ .

As médias da análise conjunta foram agrupadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Foram selecionadas sete linhagens/cultivares para realização da próxima etapa, sendo cinco entre as mais produtivas e duas por serem de origens diferentes das demais.

TABELA 1. Esquema da análise de variância individual e conjunta.

Análise individual		
Fontes de Variação	QM	E (QM)
Repetições	Q <sub>1</sub>	-
Tratamentos	Q <sub>2</sub>	$\sigma_{e_l}^2 + r \sum_{i=1}^n \frac{T_{il}^2}{n-1}$
Erro efetivo	Q <sub>3</sub>	$\sigma_{e_l}^2$
Análise conjunta		
Locais (L)	Q <sub>4</sub>	$\sigma_e^2 + nr \frac{\sum_{k=1}^l L_k^2}{l-1}$
Tratamentos (T)	Q <sub>5</sub>	$\sigma_e^2 + lr \frac{\sum_{i=1}^n T_i^2}{n-1}$
T x L	Q <sub>6</sub>	$\sigma_e^2 + r \sum_{i=1}^n \sum_{k=1}^l \frac{(TL)_{ik}^2}{(l-1)(n-1)}$
Erro Médio	Q <sub>7</sub>	$\sigma_e^2$

r: número de repetições; l: número de locais; n: número de observações;  $\sigma_{e_l}^2$ : variância do erro no local l;  $T_{il}^2$ : componente associado aos tratamentos no local l;  $\sigma_e^2$ : variância do erro médio;  $L_k^2$ : componente associado a locais;  $T_i^2$ : componente associado aos tratamentos;  $(TL)_{ik}^2$ : componente associado a interação tratamentos x locais.

### 2.3 Obtenção e avaliação do dialelo

As sete linhagens/cultivares selecionadas (RC1-10, Z-9, Talismã, MAI-18.13, H-103, B1 e Batatinha) foram semeadas em vasos contendo terra estéril,



em um telado, e foram intercruzadas em esquema dialélico completo (Griffing, 1956). Os cruzamentos foram realizados conforme descrito por Ramalho et al. (1993). Não foram obtidas sementes de uma das 21 combinações híbridas possíveis. As sementes  $F_1$  foram semeadas em campo e avançadas até a geração  $F_2$ . A avaliação das 20 populações segregantes  $F_2$  obtidas foi realizada na safra da “seca” em Lavras, no ano de 2005, utilizando o delineamento de blocos casualizados com três repetições e parcelas constituídas de duas linhas de três metros. Os tratamentos culturais foram os mesmos relatados para as avaliações preliminares. Foi avaliada a característica produtividade de grãos (g/parcela).

### 2.3.1 Análise genética e estatística dos dados

Inicialmente foi realizada a análise de variância utilizando o programa MSTAT-C (1991) para a obtenção do quadrado médio do erro e das médias dos tratamentos. O modelo estatístico utilizado foi o seguinte:

$$Y_{ij} = m + t_i + b_j + e_{ij} ,$$

em que:

$Y_{ij}$ : valor observado no tratamento  $i$  na repetição  $j$ , sendo  $i = 1, 2, \dots, 20$  e  $j = 1, 2$  e 3;

$m$ : efeito da média geral;

$t_i$ : efeito fixo do tratamento  $i$ ;

$b_j$ : efeito aleatório do bloco  $j$ ;

$e_{ij}$ : efeito aleatório do erro experimental,  $e_{ij} \cap N(0, \sigma^2)$

Posteriormente foi realizada a análise dialélica, utilizando o método IV de Griffing (1956). O modelo utilizado foi o seguinte:

$$Y_{ij} = m + g_i + g_j + s_{ij} + e_{ij}$$

em que:

$Y_{ij}$ : valor médio do híbrido ij ( $i, j = 1, 2, \dots, 7, i < j$ );

$m$ : média geral;

$g_i, g_j$ : efeitos da capacidade geral de combinação do  $i$ -ésimo e  $j$ -ésimo genitor, respectivamente;

$s_{ij}$ : efeito da capacidade específica de combinação do cruzamento entre os genitores  $i$  e  $j$ ;

$e_{ij}$ : erro associado à estimativa da média dos cruzamentos,  $e_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$ .

Como uma das combinações híbridas não foi obtida, para a estimativa dos parâmetros do modelo foi necessário utilizar o método dos quadrados mínimos, conforme relatado por Ramalho et al. (2000).

Por meio deste procedimento foram estimados os efeitos da capacidade geral de combinação (CGC) e capacidade específica de combinação (CEC). Os erros associados a essas estimativas foram obtidos conforme relatado por Ramalho et al. (1993). Também foram estimados os componentes quadráticos que expressam a variabilidade dos genitores estudados referentes a CGC ( $\hat{\phi}_g$ ) e CEC ( $\hat{\phi}_s$ ) segundo Cruz & Regazzi (2001).

## 2.4 Análise molecular

Para verificar a existência de polimorfismo entre as sete linhagens/cultivares selecionadas para realização do dialelo, foi realizada a extração de DNA e reações de PCR com 24 marcadores microssatélites (SSR) (Tabela 1A).

### 2.4.1 Extração de DNA

De cada linhagem foram coletadas cerca de 2g de folhas jovens para a extração de DNA, utilizando-se um procedimento modificado de Nienhuis et al. (1995). As folhas foram maceradas com nitrogênio líquido, juntamente com 10 ml de um tampão de extração pré-aquecido a 65<sup>o</sup>C (0,2g de brometo de cetiltrimetil-amônio; 1ml de Tris 1M, 0,4ml de EDTA 0,5M, 0,82g de NaCl, 0,1g de polivinilpirrolidona 40.000, 8,6ml de água pura) e 20µl de 2-β-mercaptoetanol. Em seguida, o macerado foi mantido em banho-maria a 65<sup>o</sup>C por 30-40 minutos, homogeneizando-se de 3 a 4 vezes. Após, foram adicionados 10 ml da solução 24 clorofórmio: 1 álcool isoamil e o material foi centrifugado durante 10 minutos, à velocidade de 5.000 rpm. O sobrenadante foi coletado, misturado com 30 ml da solução 6 álcool 95<sup>o</sup>: 1 acetato de amônio 7,5M e mantido no freezer por cerca de uma noite. Em seguida, foi coletado o precipitado com o DNA e foram adicionados de 200 – 300µl da solução Tris 1mM e EDTA 0,1mM, pH 8,0 (TE). Após o DNA ter se dissolvido, foi feita uma segunda extração com 200 – 300µl de clorofórmio/álcool isoamil. O sobrenadante foi coletado, adicionado o triplo do seu volume com a solução 20 álcool 95<sup>o</sup>: 1 acetato de sódio 3M e mantido no freezer por pelo menos uma hora, ou até ocorrer a precipitação do DNA. A solução de álcool-acetato foi eliminada e o DNA precipitado, dissolvido em 200 - 300 µl de TE. A operação seguinte consistiu em quantificar a concentração do DNA em fluorímetro (Hoefer Scientific). Para isso foram usados 2µl da solução de DNA em 2 ml de tampão (Tris 10mM, EDTA 1,0mM, NaCl 0,1M, pH 7,4), juntamente com 0,1µg/ml do corante H32258. Após, o DNA foi diluído com TE para a concentração de 10 ng/µl, que foi utilizada nas reações SSR.

#### 2.4.2 Análise com marcadores microssatélites - SSR

A genotipagem foi realizada com 24 marcadores SSR, identificados por *primers* publicados por Yu et al. (2000) e Gaitan-Sólis et al. (2002). Esses *primers* foram utilizados por Teixeira (2004) e Rodrigues (2004), que relatam sua ligação a QTLs que controlam a produtividade de grãos no feijoeiro (Tabela 1A). Os *primers* foram sintetizados pela Invitrogen Brasil. Na reação foram usados 20 ng de DNA genômico, 100 µM de cada um dos desoxirribonucleotídeos (dATD, dCTD, dGTD, dTTD), uma unidade da enzima taq DNA polimerase, 50 mM de Tris pH 8,3, 20 mM de KCl, 2 mM de MgCl<sub>2</sub>, 10 µg de BSA, 0,25% de Ficol 400, 10 mM de tartrazine e água, completando 12 µl. A amplificação foi realizada em termociclador modelo Mastercycler Eppendorf, em que foi empregado o seguinte programa: dois minutos a 95° C para desnaturação do DNA; nove ciclos, em que foram usados 20 segundos, à temperatura de 94° C para desnaturação; 20 segundos para anelamento do *primer*, cujas temperaturas variaram de 46 a 68° C de acordo com o *primer*; 20 segundos a 72° C para síntese de DNA; 25 ciclos a 20 segundos, à temperatura de 94° C para desnaturação do DNA; 20 segundos, para anelamento do *primer* a temperaturas que variaram de 46 a 60° C, de acordo com o *primer*; 20 segundos a 72° C para síntese de DNA; e uma extensão final por quatro minutos a 72° C.

Após a amplificação, os fragmentos de DNA foram separados em gel de agarose a 2,5% por três horas a 100 V e tratados com brometo de etídio. A visualização foi feita por meio de transiluminador de luz ultra-violeta Fotodyne e fotografias em câmera digital Kodak.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Avaliações preliminares

Na Tabela 2 encontra-se o resumo das análises de variância para a avaliação das linhagens para as características avaliadas nos dois locais. Como pode ser observado, para produtividade de grãos foram detectadas diferenças significativas entre as linhagens/cultivares nos dois locais.

Os valores do coeficiente de variação (CV) para a produtividade de grãos foram 19,4% e 18,4%, podendo ser considerados bons para o caráter, o que evidencia uma boa precisão nos experimentos (Matos, 2005).

O resumo da análise conjunta para as características avaliadas está mostrado na Tabela 3. Para produtividade de grãos foi detectada diferença significativa entre as linhagens/cultivares. Entretanto, como a interação tratamentos x locais também foi significativa, o comportamento das linhagens/cultivares não foi coincidente nos locais, certamente devido à alta sensibilidade dos genótipos às variações ambientais para o caráter. A precisão experimental pode ser considerada boa devido ao baixo valor do CV (14,0%).

Para o caráter reação à mancha angular, também foi detectada ampla variação genética ( $P \leq 0,01$ ) entre as linhagens/cultivares nos dois locais de cultivo e uma boa precisão experimental (Marques Júnior, 1997) (Tabela 2).

A análise conjunta confirmou a existência de variação genética entre as linhagens/cultivares e também da interação linhagens/cultivares x locais (Tabela 3). A interação pode significar a ocorrência de raças diferentes de *P. griseola* em Lavras e em Lambari, já que o patógeno exibe grande variabilidade patogênica e a sua composição racial varia com a região (Rava et al., 1994). Considerando a existência de variabilidade entre as linhagens/cultivares pode-se inferir sobre o

sucesso da seleção de linhagens/cultivares mais resistentes.

TABELA 2. Resumo das análises de variância individuais para produtividade de grãos (g/parcela), reação à mancha angular (notas de 1 a 9) e porte (notas de 1 a 5), avaliadas na safra das secas/2004 em Lavras e Lambari.

Estimativas	Produtividade		Mancha angular		Porte	
	Lavras	Lambari	Lavras	Lambari	Lavras	Lambari
QM Tratamentos	16.094**	18.622*	3,6**	3,2**	0,3*	0,7**
Média	482,1	605,1	7,0	6,2	2,7	2,6
CV (%)	19,4	18,4	8,9	16,5	11,1	12,9
Ef. látice (%)	100,1	100,3	103,9	100,1	103,8	100,3

\* e \*\* Significativo a 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente.

TABELA 3. Resumo das análises conjuntas de variância para os caracteres produtividade (g/parcela), reação à mancha angular (notas de 1 a 9) (MA) e porte (notas de 1 a 5).

Fontes de Variação	GL	QM		QM	
		Produtividade	GL	MA	Porte
Locais (L)	1	1.111.857,2***	1	38,9***	0,7***
Tratamentos (T)	48	17.447,1**	48	5,6***	0,7***
L X T	48	17.268,0**	48	1,2*	0,2**
Erro Médio	156	10.535,9	114	0,8	0,1
Média	-	543,6	-	6,6	2,7
CV (%)	-	14,0	-	10,7	9,7

\*, \*\*, \*\*\* Significativo a 10%, 5% e 1% de probabilidade pelo teste F, respectivamente.

As análises por local também mostraram a existência de diferenças significativas para o porte das linhagens/cultivares e boa precisão experimental (Tabela 2). Na análise conjunta (Tabela 3), conforme relatado para os caracteres anteriores, também foi detectada significância para as linhagens/cultivares e para a interação linhagens/cultivares x locais para o caráter porte. A estimativa da precisão experimental foi boa evidenciando a possibilidade de sucesso com a seleção.

As médias ajustadas para os caracteres avaliados estão expostas na Tabela 4. Com base nesses resultados foram selecionadas sete linhagens/cultivares, sendo cinco entre as mais produtivas (RC1-10, MAI-18.13, Talismã, Z-9 e H-103), uma por apresentar maior resistência à mancha angular e origem diversa das demais (Batatinha) e a linhagem B1, descendente da linhagem TO e da cultivar Carioca, sendo, portanto, de origem diversa das demais do tipo carioca. Provavelmente, essa linhagem é portadora de alelos diferentes dos alelos das demais linhagens para os caracteres agronômicos considerados, o que pode contribuir para uma alta capacidade de combinação com outros genótipos. Além disso, é um genótipo portador do alelo *Co.4* de resistência a *Colletotrichum lindemuthianum*, que confere resistência às principais raças presentes nas principais regiões produtoras de feijão. A linhagem H-103 é portadora do alelo *Co.4<sup>2</sup>*, que confere resistência a todas as raças de *C. lindemuthianum* presentes no Brasil. Essas linhagens foram então utilizadas para obtenção de um dialelo.

TABELA 4. Médias ajustadas da análise conjunta de produtividade de grãos (g/parcela), reação à mancha angular (notas de 1 a 5) (MA) e porte (notas de 1 a 5) das 49 linhagens/cultivares avaliadas<sup>1</sup>.

Linhagens/cultivares	Produtividade	MA	Porte
Z-9	659,8 a	6,9 b	3,1 c
RC1-10	648,8 a	3,5 a	2,1 a
Talismã	626,9 a	7,3 c	3,1 c
MAI-18.13	616,3 a	4,2 a	3,2 c
H-77	608,6 a	8,0 c	2,4 a
RC1-14	600,3 a	4,4 a	3,5 c
H-103	595,0 a	7,7 c	2,3 a
M-32	594,9 a	6,9 b	2,5 b
H-132	594,2 a	7,6 c	2,5 b
H-142	590,8 a	5,9 b	2,6 b
H-62	588,7 a	7,5 c	2,1 a
H4	586,8 a	8,1 c	2,9 c
H-123	585,1 a	7,0 c	2,3 a
M-4	583,3 a	6,7 b	2,7 b
H-149	578,0 a	6,8 b	2,6 b
H-1	575,3 a	6,6 b	2,4 a
M-11	574,4 a	6,9 b	2,8 c
CV-95	565,8 a	6,6 b	2,5 b
H-14	565,5 a	6,2 b	2,5 b
H-91	561,0 a	7,1 c	2,2 a
CV-55	553,9 a	3,9 a	3,2 c
CV-45	551,1 a	5,1 a	3,3 c
ESAL501	550,5 a	6,1 b	2,9 c
H-144	549,6 a	6,8 b	2,5 b
Batatinha	544,9 a	4,4 a	3,3 c
H-147	541,0 b	5,7 b	2,6 b
H-126	534,6 b	7,1 c	2,2 a
Pérola	533,7 b	5,8 b	3,2 c
Z-6	532,9 b	7,7 c	3,3 c
H-81	528,1 b	7,6 c	2,1 a
H-119	525,4 b	8,1 c	2,5 b
H-127	525,4 b	7,3 c	2,4 a
H-253	521,4 b	6,4 b	2,6 b
H-110	513,5 b	6,2 b	2,4 a
M-2	512,3 b	7,2 c	2,6 b

“... continua...”



“TABELA 5, Cont.”

Linhagens/cultivares	Produtividade	MA	Porte
M-9	510,6 b	6,6 b	3,2 c
H-111	506,6 b	6,7 b	2,5 b
CV-54	503,4 b	6,3 b	2,5 b
H-48	497,1 b	6,1 b	2,9 c
H-23	492,6 b	7,3 c	2,4 a
M-29	487,5 b	7,2 c	3,2 c
H-131	484,1 b	6,9 b	2,4 a
H-94	483,2 b	7,6 c	2,4 a
M-6	482,6 b	7,1 c	2,7 b
B1	479,9 b	8,1 c	3,3 c
H-69	476,1 b	6,5 b	2,1 a
M-19	474,9 b	6,5 b	2,7 b
M-14	458,5 b	6,5 b	2,9 c
M-31	381,0 b	6,7 b	2,9 c

<sup>1</sup>Médias seguidas da mesma letra são semelhantes (Scott-Knott,  $P \leq 0,05$ ).

### 3.2 Análise do dialelo

A análise de variância do dialelo para a produtividade de grãos evidenciou a presença de diferenças genéticas significativas entre as populações ( $P < 0,01$ ) (Tabela 5). A precisão experimental, medida por meio do coeficiente de variação (13,4%), pode ser considerada boa, pois está abaixo dos valores geralmente obtidos em experimentos com o feijão para esse caráter (Ramalho et al., 1993; Matos, 2005).

Os quadrados médios referentes à CGC e a CEC foram significativos a 1% de probabilidade, mostrando a existência de variabilidade tanto pela ação aditiva quanto pela não-aditiva dos genes. De acordo com esses resultados, o quadrado médio da CGC foi 2,9 vezes superior ao da CEC, indicando a predominância da ação gênica aditiva no controle da produção de grãos (Tabela 5). Porém, quando observamos os componentes quadráticos obtidos a partir dos

quadrados médios referentes a CGC ( $\hat{\phi}_g = 23.500,9$ ) e a CEC ( $\hat{\phi}_s = 33.713,1$ ) pode-se notar que o componente  $\hat{\phi}_s$  é cerca de 1,4 vezes maior do que o componente  $\hat{\phi}_g$ , o que indica a predominância de ação gênica não-aditiva no controle do caráter, embora os efeitos aditivos também estejam presentes.

Cruz & Regazzi (2001) comentam que a superioridade do componente quadrático associado a CGC tem sido verificada em dialelos nos quais os genitores não sofreram seleção prévia para o caráter em estudo. Quando os genitores forem submetidos à seleção prévia, como é o caso dos utilizados nesse trabalho, o diferencial para efeitos aditivos pode ser reduzido, e a importância dos efeitos não-aditivos, conseqüentemente pode aumentar.

A predominância da ação gênica aditiva no controle da produção de grãos foi relatada por Santos et al. (1985). Segundo Ramalho et al. (1993), nos programas de melhoramento, as seleções são praticadas em gerações segregantes avançadas visando à obtenção de um maior progresso genético, tendo em vista a presença de efeitos aditivos e a ocorrência de diversas linhas puras na população, esta é a razão pela qual a CGC é de maior importância para os melhoristas, já que depende da variância aditiva.

Ferreira (1993), em milho, verificou diferenças significativas somente para a CGC, não se constatando diferenças significativas para a CEC, considerando apenas um local. Porém, considerando três locais, foram verificadas diferenças significativas para CEC. No entanto, o autor relata que a detecção dessas pequenas diferenças foi atribuída ao grande número de graus de liberdade associados. Já Abreu et al. (1999), em feijão, observaram que houve efeito significativo tanto da CGC quanto da CEC. Os autores verificaram, também, que essas duas fontes de variação apresentaram magnitudes semelhantes dos quadrados médios, indicando que essas duas estimativas contribuíram igualmente para explicar a variação constatada no dialelo.

TABELA 5. Resumo da análise de variância da produtividade de grãos (g/parcela) com decomposição da fonte de variação populações em CGC e CEC.

Fontes de variação	Graus de liberdade	Quadrado médio
Repetição	2	7.237,0
Populações	19	71.344,9**
CGC	6	128.650,3**
CEC	13	44.858,6**
Erro	38	11.145,5
Total	59	

\*\* Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

Machado et al. (2002), em feijão, também verificaram diferenças significativas para CGC e CEC, sendo que a maior parte da variação foi explicada pela CEC. Já Kurek et al. (2001) relatam que na análise de um dialeto em feijão, os efeitos da CGC e da CEC foram significativos e a CGC foi mais importante para explicar a variação.

Segundo Griffing (1956), a CGC está associada aos efeitos aditivos dos genes e corresponde ao comportamento médio dos genitores em combinações híbridas. Sendo assim, pode-se afirmar que os genitores que apresentam as maiores estimativas de CGC deverão gerar populações com maiores médias. Maiores valores de CGC de dois genitores permitem também a identificação daqueles com alelos aditivos favoráveis de genes diferentes. Tais genitores podem até possuir desempenhos médios semelhantes, salientando o valor das elevadas magnitudes de CGC para a escolha daqueles capazes de gerar a população segregante em que há possibilidade de se formarem recombinantes superiores. Contudo, no processo de escolha de genitores, apenas a maior média

da população não é suficiente para a sua escolha, uma vez que se os genitores possuírem alelos favoráveis comuns, a população apresentará uma variabilidade restrita, reduzindo a chance de seleção de linhagens superiores. A CEC, por sua vez, está associada aos efeitos não aditivos dos genes, como a dominância e as interações epistáticas, e refere-se ao comportamento da população, proveniente de dois genitores, não explicado pelas CGC dos mesmos, ou seja, ela mede o grau de complementação alélica. No caso do feijão, em que se utilizam linhagens, há a possibilidade de se explorarem também os efeitos epistáticos do tipo aditivo x aditivo (Pulcinelli, 1997).

Nos programas de melhoramento em andamento, como é o presente caso do feijão, normalmente são inter cruzadas as linhagens superiores, selecionadas em programas anteriores, e também as melhores cultivares já em uso (Fehr, 1987). Entretanto, um problema dessa prática consiste no aumento do grau de parentesco entre os materiais superiores utilizados como genitores. A consequência do uso desses genitores é o fato de muitos cruzamentos mais aparentados gerarem populações segregantes com reduzida variabilidade.

Em algumas oportunidades, as informações sobre o grau de parentesco dos genitores têm permitido antever o nível de variabilidade a ser liberada nas populações segregantes (Baenziger & Peterson, 1991). No entanto, existem também situações em que o grau de parentesco não é um bom indicador da variabilidade que ocorre nas populações segregantes (Helms et al., 1997). Tal fato ocorre porque nem sempre se conhece suficientemente a genealogia dos genitores. Além disso, em razão de a maioria dos genitores serem cultivares ou linhagens melhoradas, e portanto selecionadas, o grau de parentesco nem sempre constitui um indicador eficiente dos seus genitores e da variabilidade a ser gerada na descendência dos mesmos, assim como o desempenho médio de cada um nem sempre é indicativo dos genitores ideais. Por essas razões é que informações de desempenho das progênes dos genitores são mais úteis para prever os seus

potenciais.

No presente estudo, em que a maioria dos genitores são do grupo Carioca, todos são representados por linhagens selecionadas ou cultivares em uso pelos agricultores. Portanto, com exceção da linhagem Batatinha, de sementes amarelas, e da linhagem B1, que possui cerca de 25% dos alelos da linhagem TO, é provável que o grau de parentesco dos mesmos seja elevado. Consequentemente, esta é a situação em que a escolha dos genitores e das populações segregantes promissoras deve assegurar maior sucesso do programa.

Embora as linhagens utilizadas sejam constituídas de genótipos selecionados em ensaios anteriores, a produção de grãos ainda exhibe considerável variabilidade aditiva e não-aditiva (Tabela 5). Depreende-se, assim, que métodos de melhoramento que tiram vantagem da variância aditiva poderão ser empregados na busca de maiores ganhos.

Deve-se considerar, também, que efeitos da interação de genótipos por ambientes não puderam ser estimados em virtude da pequena disponibilidade de sementes para a avaliação das populações em diferentes ambientes. Caso ocorra tal interação, ela pode alterar as estimativas dos parâmetros genéticos, uma vez que é incorporada aos efeitos das capacidades combinatórias (Ramalho et al., 1988). Não há dúvida de que a avaliação das populações em outros ambientes, em que se pratica a cultura, contribuirá para aumentar a eficiência na identificação daquelas mais promissoras.

As estimativas da CGC ( $\hat{g}_i$ ) para cada cultivar/linhagem genitora e os erros associados encontram-se na Tabela 6. Baixa estimativa de  $\hat{g}_i$  indica que o valor da CGC do cultivar/linhagem não difere muito da média geral dos cruzamentos dialélicos. Por outro lado, altas estimativas, positivas ou negativas, indicam que o genitor em questão é melhor ou pior que os demais cultivares/linhagens incluídos no dialelo, com relação ao comportamento médio dos cruzamentos (Griffing, 1956; Cruz & Regazzi, 2001). Esses valores

dependem da frequência de alelos aditivos dos genitores, favoráveis ou desfavoráveis para a produção de grãos. Conseqüentemente, os genitores com os maiores valores de  $\hat{g}_i$  devem gerar as populações segregantes com as maiores médias, das quais se pode selecionar linhagens também com alta produtividade de grãos. Conforme Miranda et al. (1988), os genitores com as maiores CGC são preferidos para constituir as novas populações, favorecendo a seleção de linhagens homozigóticas, no caso de plantas autógamas.

Verifica-se que as cultivares/linhagens RC1-10 e Z-9 apresentaram valores positivos de  $\hat{g}_i$ , sendo que RC1-10 apresentou o maior valor para CGC; portanto, estas são as mais promissoras para gerar populações com alta média (Tabela 6). Por outro lado, as linhagens/cultivares Batatinha e B1 apresentaram valores negativos para a CGC, sendo que a linhagem Batatinha apresentou o maior valor negativo. A linhagem B1 também apresentou altos valores negativos de  $\hat{g}_i$ , identificando que os alelos que ela herdou da linhagem TO, para produtividade de grãos, não são favoráveis. As demais linhagens apresentaram valores de  $\hat{g}_i$  que não diferem de zero.

Diante do exposto destacam-se, para maior produtividade, as linhagens RC1-10 e Z-9.

As estimativas da CEC ( $\hat{s}_{ij}$ ) e das médias, referentes às 20 populações, encontram-se na Tabela 7. Valores baixos de  $\hat{s}_{ij}$  indicam que as populações exibem produções de grãos previstas pela CGC. Contudo, valores altos (positivos ou negativos) de  $\hat{s}_{ij}$  indicam que o comportamento de um cruzamento particular é relativamente melhor ou pior do que o esperado, com base na CGC. Essas estimativas indicam presença de efeitos de dominância e/ou de epistasia (Griffing, 1956; Pulcinelli, 1997).

TABELA 6. Estimativas da capacidade geral de combinação ( $\hat{g}_i$ ) para as linhagens/cultivares avaliadas e erros associados.

Linhagem/cultivar	$\hat{g}_i$
RC1-10	137,3
Z-9	78,4
Talismã	15,3
MAI-18.13	9,9
H-103	-26,1
B1	-70,3
Batatinha	-143,3
$\hat{\sigma}_{(\hat{g}_i)} = 43,7 \quad \hat{\sigma}_{(\hat{g}_i - \hat{g}_j)} = 66,8$	

A população RCI-10 x Z-9 merece destaque porque acumula as características desejáveis em uma análise dialélica. Além de ser formada por genitores com alta CGC (Tabela 6), possui alta CEC e altas médias entre os cruzamentos avaliados (Tabela 7). Além disso, os genitores possuem grãos do tipo carioca, o que facilita significativamente a obtenção de linhagens com tipo de grãos aceitável pelo consumidor.

Entre as demais populações, envolvendo um dos genitores com valores positivos de  $\hat{g}_i$ , a população RC1-10 x MAI-18.13 exibiu elevada produtividade de grãos sendo, assim, também promissora para a seleção de linhagens. A população Batatinha x MAI-18.13 foi a que apresentou maior valor negativo de  $\hat{s}_{ij}$  (Tabela 7).

Observa-se, também, que as maiores produtividades médias foram apresentadas pelas populações em que os genitores apresentam efeito positivo da

CGC. Conforme relatam Cruz & Vencovsky (1989), o híbrido mais favorável é aquele de maior CEC, no qual pelo menos um dos genitores apresenta alta CGC.

### **3.3 Avaliação molecular**

Entre os 24 marcadores SSR ligados a QTLs de produtividade de grãos previamente identificados testados, apenas seis apresentaram polimorfismo para pelo menos um dos sete genitores.

Considerando os sete genitores avaliados, em cinco dos marcadores polimórficos foram encontrados apenas dois alelos, sendo que para o marcador BM-175, a linhagem Batatinha foi a única que apresentou um alelo diferente das demais e para o marcador U-77935, a linhagem Z-9 é que apresentou um alelo diferente das demais. O mesmo foi constatado com o marcador X-74919, porém com o alelo diferente vindo da linhagem MAI-18.13. Já com o marcador BM-143, as linhagens H-103 e B1 apresentaram um alelo diferente das demais linhagens e para o marcador BM-152 as linhagens Talismã e MAI-18.13 apresentaram o alelo diferente do encontrado nas demais.

Para o marcador BM-156 foram encontrados cinco alelos, sendo portanto o único caso de alelismo múltiplo para os genitores utilizados. Nas linhagens H-103, B1 e Z-9, o alelo para esse marcador foi o mesmo. Já para as linhagens Talismã, Batatinha, RCI-10 e MAI-18.13 foram identificados alelos diferentes do alelo das linhagens citadas acima e diferentes entre si.

Foram encontrados em média 2,5 alelos por marcador, considerando apenas os marcadores polimórficos. Blair et al. (2006b) encontraram 7,8 alelos em média por marcador, porém, vale lembrar que os autores utilizaram 44 linhagens de pools gênicos e de raças diferentes, sendo portanto muito divergentes e de origens muito diferentes, o que não acontece com as linhagens utilizadas no presente trabalho.



TABELA 7. Populações avaliadas no dialelo, estimativas de produtividade de grãos (g/parcela), capacidade específica de combinação ( $\hat{s}_{ij}$ ) e erros associados, número de marcadores SSR polimórficos (NMP) e marcadores SSR polimórficos (MP).

População	Produtividade <sup>1</sup>	$\hat{s}_{ij}$	NMP	MP
RC1-10 x Z-9	1.110 a	107,3	2	BM-156 U-77935
MAI-18.13 x Talismã	1.000 a	187,7	2	BM-156 X-74919
RC1-10 x MAI-18.13	983 a	48,7	3	BM-156 BM-152 X-74919
RC1-10 x Talismã	907 a	-32,7	2	BM-156 BM-152
Z-9 x H-103	890 a	50,7	2	U-77935 BM-143
RC1-10 x B1	867 a	12,9	2	BM-156 BM-143
MAI-18.13 x H-103	860 a	89,1	4	BM-156 BM-152 X-74919 BM-143
MAI-18.13 x Z-9	790 b	-85,3	4	BM-156 BM-152 X-74919 U-77935
RC1-10 x H-103	783 b	-115,3	2	BM-156 BM-143
Batatinha x Z-9	767 b	44,9	3	BM-156 BM-175 U-77935
Z-9 x Talismã	763 b	-117,7	3	BM-156 BM-152 U-77935
RC1-10 x Batatinha	760 b	-21,0	2	BM-156 BM-175
Batatinha x Talismã	753 b	93,9	3	BM-156 BM-175 BM-152
MAI-18.13 x B1	743 b	16,3	4	BM-156 BM-152 X-74919 BM-143
Batatinha x H-103	713 b	95,3	3	BM-156 BM-175 BM-143
B1 x Talismã	690 b	-42,1	3	BM-156 BM-152 BM-143
H-103 x Talismã	687 b	-89,3	3	BM-156 BM-152 BM-143
B1 x H-103	660 b	-30,7	0	-
Batatinha x B1	617 b	43,5	3	BM-156 BM-175 BM-143
Batatinha x MAI-18.13	397 c	-256,7	4	BM-156 BM-175 BM-152 X-74919
$\hat{\sigma}_{(\hat{s}_{ij})} = 86,2 \quad \hat{\sigma}_{(\hat{s}_{ij}-\hat{s}_{ik})} = 133,5 \quad \hat{\sigma}_{(\hat{s}_{ij}-\hat{s}_{kl})} = 115,6$				

<sup>1</sup>Médias seguidas da mesma letra são semelhantes (Scott-Knott,  $\alpha=0,05$ ).

Os autores relatam ainda que os marcadores BM-156, BM-152, BM-175 apresentaram 16 alelos diferentes e o marcador BM-143 apresentou 18 alelos entre as linhagens avaliadas.

A Tabela 7 mostra o número de marcadores polimórficos (NMP) identificados em cada população. O polimorfismo entre os genitores para esses marcadores é um indicativo de que as populações oriundas desse cruzamento irão segregar e, portanto, da possibilidade de realizar a seleção dos indivíduos recombinantes com base nesses marcadores.

De modo geral, foi encontrado um baixo número de marcadores polimórficos (25%). Esse baixo número não foi surpreendente, considerando-se que o feijão é uma espécie na qual geralmente não se encontra grande número de marcadores polimórficos, considerando também que o número de marcadores disponíveis foi pequeno e que a maioria das linhagens/cultivares são melhoradas e, portanto, não são genótipos tão divergentes. Blair et al. (2006b) relatam que em cruzamentos entre linhagens dentro de um mesmo pool gênico foi encontrado em média 37,9% de polimorfismo, contra 59,7% quando o cruzamento foi entre linhagens de diferentes pool gênicos. Já em cruzamentos dentro da raça mesoamericana encontrou-se 31,7% de polimorfismo.

As populações em que esses marcadores foram identificados como associados a QTLs foram formadas por cruzamentos entre linhagens não aparentadas e muito divergentes para diversos caracteres de importância no feijoeiro e mesmo assim, o polimorfismo encontrado não foi de magnitude muito elevada. O feijão é uma espécie na qual, naturalmente não é encontrado grande polimorfismo para marcadores SSR, mesmo quando se utilizam genitores muito divergentes (Faleiro et al., 2003; Teixeira, 2004; Blair et al., 2006b; Rodrigues et al., 2006).

Entre as populações avaliadas, MAI-18.13 x Z-9, Batatinha x MAI-18.13, MAI-18.13 x B1 e MAI-18.13 x H-103 foram as que apresentaram o

maior NMP, com quatro marcadores. Já para a população B1 x H-103, não foi encontrado nenhum marcador polimórfico (Tabela 7).

Considerando as quatro linhagens/cultivares mais promissoras com base na CGG, esperava-se maior polimorfismo entre os genitores para utilização dessa informação na identificação de populações promissoras. A linhagem MAI-18.13 foi a que apresentou maior polimorfismo, já que esta está presente nas quatro populações que apresentaram maior NMP (Tabela 7), indicando que esse polimorfismo pode contribuir para auxiliar na seleção de recombinantes para maior produtividade nas populações segregantes.

Os marcadores polimórficos para cada cruzamento também estão relatados na Tabela 7. Segundo Teixeira (2004) e Rodrigues et al. (2006), esses marcadores não explicaram grande parte da variação fenotípica, sendo, portanto, associados a QTLs de pequeno efeito ou com ligação não muito estreita com o QTL. O marcador BM-156, considerando seu efeito isoladamente dos demais, foi o que explicou maior porcentagem da variação fenotípica, 9,2%, e o marcador X-74919 foi o que explicou menor porcentagem da variação fenotípica, apenas 3,5%.

Considerando o pequeno efeito dos marcadores na explicação da variação fenotípica e o reduzido número de marcadores polimórficos obtido nas populações, pode-se concluir sobre a necessidade da utilização de um maior número de marcadores SSR, principalmente em populações de melhoramento, onde a divergência é menor.

#### 4 CONCLUSÕES

- 1- As diferenças de produtividade de grãos das populações foram explicadas tanto pelos efeitos aditivos quanto pelos efeitos não-aditivos dos genes, sendo que os efeitos não-aditivos foram mais pronunciados.
- 2- Foram selecionadas quatro populações (RCI-10 x Z-9, RCI-10 x Talismã, MAI-18.13 x Z-9 e Batatinha x B1), para utilização da seleção assistida por marcadores, considerando em conjunto, a avaliação das linhagens, a análise dialélica e o polimorfismo entre os marcadores moleculares SSR ligados a QTLs previamente identificados.
- 3- Considerando o reduzido número de marcadores SSR polimórficos obtidos nas populações, pode-se concluir sobre a necessidade de utilização de um maior número de marcadores SSR ligados a QTLs da produção de grãos previamente identificados, principalmente em populações de melhoramento úteis para obtenção de linhagens mais produtivas, onde a divergência é menor.

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, A. F. B.; RAMALHO, M. A. P.; CARNEIRO, J. E. S.; GONCALVES, F. M. A.; SANTOS, J. B.; PELOSO, M. J.; FARIA, L. C.; CARNEIRO, G. E. S.; A FILHO, I. BRSMG Talismã: common bean cultivar with Carioca grain type. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 4, n. 3, p. 372-374, July/Sept. 2004.

ABREU, A. F. B.; RAMALHO, M. A. P.; FERREIRA, D. F. Selection potential for seed yield from intra and inter racial populations in common bean. **Euphytica**, Wageningen, v. 108, n. 2, p. 121-127, 1999.

BAENZIGER, P. S.; PETERSON, C. J. Genetic variation: its origin and use for breeding self-pollinated species. In: STALKER, H. T.; MURPHY, J. P. (Ed.). **Plant Breeding in the 1990's**. Raleigh: North Carolina State University, 1991. p. 69-100.

BERGAMIM FILHO, A.; LOPES, D. B.; AMORIM, L.; GODOY, C. V.; BERGER, R. D. Avaliação de danos causados pôr Doenças de plantas. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 3, p. 133-184, 1995.

BLAIR, M. W.; GIRALDO, M. C.; BUENDÍA, H. F.; TOVAR, E.; DUQUE, M. C.; BEEBE, S. E. Microsatellite marker diversity in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 113, n. 1, p. 100-109, June 2006a.

BLAIR, M. W.; IRIARTE, G.; BEEBE, S. QTL analysis of yield in an advanced backcross population derived from a cultivated Andean x wild common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cross. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 112, n. 6, p. 1149-1163, Apr. 2006b.

COLLICCHIO, E.; RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B. Associação entre o porte da planta do feijoeiro e o tamanho dos grãos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 3, p. 297-304, mar. 1997.

COUTO, M. A.; SANTOS, J. B.; ABREU, A. F. B. Selection of Carioca type common bean lines with anthracnose and angular leaf spot- resistance. **Crop breeding and applied biotechnology**, Viçosa, v. 5, n. 3, p. 324-331, July/Sept. 2005.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 2001. 390 p.

CRUZ, C. D.; VENCOSKY, R. Comparação de alguns métodos de análise dialélica. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 12, n. 2, p. 425-438, jun. 1989.

FALEIRO, F. G.; SCHUSTER, I.; RAGAGNIN, V. A.; CRUZ, C. D.; CORRÊA, R. X.; MOREIRA, M. A.; BARROS, E. G. de. Caracterização de linhagens endogâmicas recombinantes e mapeamento de locos de características quantitativas associados a ciclo e produtividade do feijoeiro comum. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 12, p. 1387-1397, dez. 2003.

FEHR, W. R. **Principles of cultivar development**. London: Macmillan, 1987. v. 1, 536 p.

FERREIRA, D. F. **Métodos de avaliação da divergência genética em milho e suas relações com os cruzamentos dialélicos**. 1993. 72 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

GAITÁN-SÓLIS, E.; DUQUE, M. C.; EDWARDS, K. J.; TOHME, J. Microsatellite repeats in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Crop Science**, Madison, v. 42, n. 6, p. 2128-2136, Nov./Dec. 2002.

GRIFFING, J. B. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel systems. **Australian Journal of Biological Science**, Melbourne, v. 9, n. 3, p. 463-493, 1956.

HELMS, T.; ORF, J.; McCLEAN, P. Genetic variance, coefficient of parentage, and genetic distance of six soybean populations. **Theoretical Applied Genetics**, Berlin, v. 94, n. 1, p. 20-26, Jan. 1997.

KUREK, A. J.; CARVALHO, F. I. F. de; ASSMANN, I. C.; CRUZ, P. J. Capacidade combinatória como critério de eficiência na seleção de genitores em feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 4, p. 645-651, abr. 2001.

MACHADO, C. F.; SANTOS, J. B.; NUNES, G. H. de S.; RAMALHO, M. A. P. Choice of common bean parents based on combining ability estimates. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão preto, v. 25, n. 2, p. 179-183, June 2002.

MARQUES JÚNIOR, O. G. **Eficiência de experimentos com a cultura do feijão**. 1997. 80 p Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

MATOS, J. W. de. **Análise crítica do programa de melhoramento genético do feijoeiro da UFLA no período de 1974 a 2004**. 2005. 116 p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

MENDONÇA, H. A. de; SANTOS, J. B. dos; RAMALHO, M. A. P. Selection of common bean segregation populations using genetic and phenotypic parameters and RAPD markers. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 2, n. 2, p. 219-226, Apr./June 2002.

MIRANDA, J. E. C. de; COSTA, C. P. da; CRUZ, C. D. Análise dialélica em pimentão, I. Capacidade Combinatória. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 11, n. 2, p. 431-440, jun. 1988.

MSTAT-C. **A software program for the design, management, and analysis of agronomic research experiments**. Michigan State University, USA, 1991.

NIENHUIS, J.; TIVANG, J.; SKROCH, P.; SANTOS, J. B. dos. Genetic relationships among cultivars and lines of lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) as measured by RAPD markers. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 120, n. 2, p. 300-306, Mar. 1995.

PEREIRA, H. S.; SANTOS, J. B. Genetic constitution of anthracnose-resistance in common bean lines. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 4, n. 4, p. 422-426, Oct./Dec. 2004.

PEREIRA, H. S.; SANTOS, J. B.; ABREU, A. F. B. Linhagens de feijoeiro com resistência à antracnose selecionadas quanto a características agronômicas desejáveis. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 39, n. 3, p. 209-216, 2004.

PULCINELLI, C. E. **Avaliação de cruzamentos dialélicos de soja em gerações avançadas de endogamia**. 1997. 165 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

RAMALHO, M. A. P.; FERREIRA, D. F.; OLIVEIRA, A. C. de. **Experimentação em genética e melhoramento de plantas**. Lavras: UFLA, 2000. 326 p.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B. dos.; PEREIRA FILHO, I. A. Choice of parents for dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) breeding. I. Interactions of mean components by generation and by location. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 11, n. 2, p. 391-400, 1988.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; ZIMMERMANN, M. J. de O. **Genética quantitativa em plantas autógamas – aplicações ao melhoramento do feijoeiro**. Goiânia: UFG, 1993. 271 p.

RAVA, C. A.; PURCHIO, A. F.; SARTORATO, A. Caracterização de patótipos de *Colletotrichum lindemuthianum* que ocorrem em algumas regiões produtoras de feijoeiro comum. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 19, n. 2, p. 167-173, jun. 1994.

RODRIGUES, T. B. **Efeito da seleção natural em alelos microssatélites (SSR) do feijoeiro e associação com QTLs de caracteres agronômicos**. 2004. 90 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

RODRIGUES, T. B.; SANTOS, J. B. dos.; RAMALHO, M. A. P.; AMORIN, E. P.; SILVA, N. O. Identificação de QTLs em feijoeiro por meio de marcadores SSR influenciados pela seleção natural. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, 2006. (aceito para publicação).

SANTOS, J. B. dos.; MACHADO, C. F.; NUNES, G. H. S.; DUARTE, J. M. Efficiency of genetic distance based on RAPD markers for choosing parents of common bean. **Journal of Genetics & Breeding**, Rome, v. 54, n. 4, p. 251-258, Dec. 2000.

SANTOS, J. B. dos.; VENCOVSKY, R.; RAMALHO, M. A. P. Controle genético da produção de grãos e seus componentes primários em feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 10, p. 1203-1211, out. 1985.

TEIXEIRA, F. F. **Mapeamento de QTLs para caracteres do feijoeiro por meio de microssatélites**. 2004. 189 p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

YU, K.; PARK, S. J.; POYSA, V.; GEPTS, P. Integration of simple sequence repeat (SSR) markers into a molecular linkage map of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of Heredity**, Oxford, v. 91, n. 6, p. 429-434, Dec. 2000.



## **CAPÍTULO 3**

### **SELEÇÃO DE FAMÍLIAS DE FEIJOEIRO BASEADA EM PRODUTIVIDADE DE GRÃOS E EM MARCADORES MICROSSATÉLITES DE QTLs**

## RESUMO

PEREIRA, Helton Santos. **Seleção de famílias de feijoeiro baseada em produtividade de grãos e em marcadores microssatélites de QTLs.** Lavras: UFLA, 2006, p. 84-130 (Tese – Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas).\*

A seleção de famílias segregantes promissoras pode ser realizada por meio de técnicas clássicas de melhoramento e também com o emprego de marcadores moleculares para a seleção assistida (SAM). Os objetivos desse trabalho foram selecionar famílias promissoras para a produtividade de grãos e verificar a eficiência da SAM em relação à seleção fenotípica (SF). Foram utilizadas 394 famílias derivadas de quatro populações e os seis genitores. As famílias foram avaliadas nas gerações  $F_{3:4}$  e  $F_{3:5}$  em campo no município de Lavras, em dois experimentos, sendo a geração  $F_{3:4}$  no primeiro experimento, na safra das “águas” 2005/06, em um látice simples 20 x 20 com parcelas de uma linha de um metro e a geração  $F_{3:5}$  no segundo experimento, na safra da “seca” de 2006, utilizando um látice 20 x 20 triplo com parcelas de uma linha de dois metros. Em ambos foi medida a produtividade de grãos. Foram estimados parâmetros genéticos e fenotípicos para auxiliar o processo de seleção das melhores famílias. Também foi realizada a genotipagem das famílias de três das quatro populações com marcadores SSR associados a QTLs relacionados com a produção de grãos previamente identificados. Com esses dados foram realizadas análises de associação por marcas simples entre os marcadores e a produção de grãos e o resultado foi utilizado para construção de um índice para realização da SAM. Constatou-se ampla variabilidade entre as famílias de cada população, que aliada às altas estimativas de herdabilidade, possibilitaram a obtenção de elevados ganhos com a seleção fenotípica. A população de maior produtividade média forneceu o maior número de famílias selecionadas no total (68%). Os marcadores explicaram pequena porcentagem da variação fenotípica e apresentaram alta interação QTLs x ambientes e QTLs x populações. A SAM também possibilitou a obtenção de ganhos; porém, de menor magnitude quando comparados aos ganhos com a SF, principalmente devido à pequena disponibilidade de marcadores de QTLs e aos pequenos efeitos desses QTLs. O número de famílias coincidentes entre as mais produtivas foi de 40% considerando as duas metodologias de seleção.

---

\*Orientador: João Bosco dos Santos - UFLA

## ABSTRACT

PEREIRA, Helton Santos. **Selection of common beans families based on grain yield and QTL microsatellite markers. Lavras: UFLA, 2006. p. 84-130 (Tesis – Plant Genetics and Breeding)\***

The selection of promising families for grain yield has been achieved realized with classical breeding techniques, and it is expected that QTL markers for assisted selection (MAS) may improve the gain. The objectives of the research were to select superior families for grain yield and check the efficiency of MAS comparing to phenotypic selection (PS). Three hundred and ninety four families were taken from four segregant populations. Those families were evaluated in  $F_{3:4}$  and  $F_{3:5}$  generations in two field trials in Lavras, being the  $F_{3:4}$  in the rainy season of 2005/2006 using a simple 20x20 lattice design with plots of one 1m row. The  $F_{3:5}$  families were evaluated in the dry season of 2006, using a triple 20x20 lattice design with plots of one 2m row. The grain yield was evaluated in both experiments. Genetics and phenotypics parameters were estimated for selecting the best families. The families of three of the four populations were genotyped with microsatellite QTL markers associated to the grain yield previously identified. Single factor analysis were set up for selecting the significant markers, which were used to construct an index for the MAS. The families of each population presented wide genetic variation for grain yield, as confirmed by higher estimates of heritabilities and genetic gains. Among all the selected families most of them (68%) came from the population with higher grain yield. The number of coincidents families in both selection methods was 40%. The SSR markers explained small part of the grain yield variation and presented high QTLs by environments and QTLs by populations interaction. The MAS also achived gains, although, in lower intensity, mainly due to the low number and effects of the available markers.

---

\*Major Professor: João Bosco dos Santos – UFLA

## 1 INTRODUÇÃO

Em um programa de melhoramento de feijoeiro, grande atenção deve ser dada à seleção de famílias segregantes promissoras. Se possível, ela deve ser realizada nas primeiras gerações segregantes, para possibilitar que os esforços estejam dirigidos na avaliação das melhores famílias, economizando-se assim, tempo e recursos.

O processo de seleção vem sendo realizado por meio de técnicas clássicas de melhoramento, com comprovada eficiência, refletida pelos contínuos ganhos genéticos em produtividade obtidos ao longo de vários anos e para várias culturas (Alliprandini et al., 1993; Arias & Ramalho, 1998; Atroch & Nunes, 2000). No feijão estima-se que esses ganhos sejam de 1,6% ao ano (Matos, 2005). Como o progresso genético é contínuo, o nível de produtividade vem aumentando e as diferenças a serem detectadas são cada vez menores. Com isso, novas ferramentas podem ser empregadas para aumentar a eficiência dos programas de melhoramento.

Os marcadores moleculares podem ser empregados para auxiliar programas de melhoramento e inúmeros trabalhos vêm sendo realizados com esse propósito (Hagiwara et al., 2001; Yousef & Juvick, 2001; Mendonça et al., 2002; Faleiro et al., 2003; Faleiro et al., 2004).

No processo de seleção para caracteres quantitativos como a produção de grãos, em que a influência do ambiente é maior, é esperada maior contribuição dos marcadores moleculares, dadas as dificuldades envolvidas no processo de seleção. Para que as informações de marcadores moleculares sejam úteis no processo seletivo, a primeira etapa é a identificação de marcadores associados aos QTLs (*Quantitative Trait Loci*) envolvidos no controle do caráter de interesse. Esses marcadores, associados aos QTLs, podem ser utilizados na

seleção assistida por marcadores (SAM) para seleção de genótipos superiores. Embora inúmeros QTLs já tenham sido identificados para vários caracteres na maioria das culturas de grande importância, inclusive alguns para a produção de grãos em feijão (Faleiro et al., 2003; Teixeira, 2004, Rodrigues, 2004; Melo et al., 2004; Blair et al., 2006a), são poucos os relatos de sucesso da incorporação dessas informações no processo seletivo e na obtenção de novas cultivares (Yousef & Juvick, 2001; Moreau et al., 2004).

Visando a incorporação de informações de marcadores moleculares em programas de melhoramento, devem ser realizados trabalhos com a seleção assistida por marcadores moleculares para seleção de famílias oriundas de populações com alta produtividade, obtidas a partir do cruzamento de linhagens e cultivares elites, já melhoradas, que é o que ocorre rotineiramente em um programa de melhoramento visando a obtenção de linhagens mais produtivas.

Com base no exposto, os objetivos desse trabalho foram: 1) Selecionar famílias de feijoeiro promissoras para a produtividade de grãos; 2) Verificar a eficiência da SAM, quando comparada com a seleção fenotípica para a produtividade de grãos.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

As avaliações foram realizadas no município de Lavras, no campo experimental da Universidade Federal de Lavras (UFLA) e no Laboratório de Genética Molecular da UFLA.

### 2.1 Material utilizado

Foram utilizadas sementes de quatro populações selecionadas, com base em uma análise dialélica e no polimorfismo de marcadores microsatélites ligados a QTLs nos genitores (Capítulo 2, Tabelas 6 e 7). A população 1 (RCI-10 x Z-9) foi selecionada por apresentar os dois genitores com maior capacidade geral de combinação e alta produtividade média e alta estimativa de CEC, já a população 2 (RCI-10 x Talismã) foi selecionada por possuir alta produtividade, um genitor com a maior capacidade geral de combinação e por possuir polimorfismo para os marcadores moleculares. A população 3 (MAI-18.13 x Z-9) foi selecionada por possuir o maior número de marcadores polimórficos, apresentar um genitor com alta capacidade geral de combinação e apresentar produtividade média. A população 4 (Batatinha x B1) foi selecionada por possuir alto polimorfismo entre os genitores para os marcadores avaliados e pelo fato de seus genitores serem genótipos de origens bem divergentes dos demais.

Na geração  $F_3$  coletaram-se sementes de 300 plantas por população. As sementes de cada planta deram origem a uma família, totalizando 1200 famílias  $F_{3:4}$ . Posteriormente foram eliminadas as famílias com grãos fora do padrão comercial “carioca”, restando 100 famílias da população RCI-10 x Z-9 (população 1), 100  $F_{3:4}$  da população RCI-10 x Talismã (população 2), 100 da população MAI-18.13 x Z-9 (população 3) e 94 da população Batatinha x B1

(população 4).

Os tratamentos utilizados nos experimentos foram constituídos pelas 394 famílias nas gerações  $F_{3:4}$  e  $F_{3:5}$  e pelos seis genitores envolvidos na obtenção dessas populações.

## **2.2 Avaliação das famílias**

As 394 famílias e os seis genitores foram avaliados em dois experimentos, o primeiro com famílias  $F_{3:4}$  na safra das águas no ano de 2005/2006, em um delineamento látice simples 20 x 20, com parcelas constituídas por uma linha de um metro e com espaçamento de 50cm entre as linhas, sendo semeadas 15 sementes por metro linear. O segundo experimento foi conduzido com famílias  $F_{3:5}$  na safra das secas no ano de 2006, em um delineamento látice triplo 20 x 20 com parcelas de uma linha de dois metros, espaçamento e quantidade de sementes por metro linear idênticas à primeira avaliação. Vale mencionar que quatro famílias utilizadas no primeiro experimento não produziram sementes suficientes para montar o segundo experimento, então, essas foram substituídas por quatro testemunhas (Pérola, Carioca, OPNS-331 e VC-3) para se utilizar o delineamento látice.

Foi utilizada adubação no plantio com 300kg/ha de 8-28-16 (N,  $P_2O_5$ ,  $K_2O$ ) e realizada também adubação de cobertura 20 dias após a emergência, utilizando 150kg/ha de sulfato de amônio. Os demais tratamentos culturais foram os comuns à cultura do feijoeiro, incluindo irrigações complementares por aspersão quando necessário. Não foram aplicados inseticidas e fungicidas.

A característica avaliada foi a produtividade de grãos, que foi medida em g/parcela; posteriormente foi realizada a transformação dos dados para kg/ha para padronização devido aos diferentes tamanhos de parcelas utilizados.

### 2.2.1 Análises estatísticas

Inicialmente os dados foram submetidos à análise de variância (ANAVA) por experimento, utilizando-se o programa MSTAT-C (1991), segundo o seguinte modelo estatístico:

$$Y_{ijk} = m + b_{k(j)} + r_j + t_i + e_{ijk} ,$$

em que:

$Y_{ijk}$ : observação referente ao tratamento  $i$  no bloco  $k$ , dentro da repetição  $j$ ,  
sendo  $i = 1, 2, 3, \dots, 400$ ;  $k = 1, 2, \dots, 20$ ;  $j = 1, 2, 3$ ;

$m$ : efeito fixo da média geral do ensaio;

$b_{k(j)}$ : efeito aleatório do bloco  $k$ , na repetição  $j$ ;

$r_j$ : efeito fixo da repetição  $j$ ;

$t_i$ : efeito aleatório do tratamento  $i$ ;

$e_{ijk}$ : efeito aleatório do erro experimental,  $e_{ijk} \cap N(0, \sigma^2)$ .

O modelo da ANAVA e as respectivas esperanças dos quadrados médios estão apresentados na Tabela 8.

A partir das esperanças matemáticas dos quadrados médios, obtidas conforme recomendações de Vencovsky & Barriga (1992) e Ramalho et al. (2000), foram estimados os componentes de variância e alguns parâmetros genéticos e fenotípicos.



TABELA 8. Esquema das análises de variância por safra com as respectivas esperanças dos quadrados médios - E(QM).

Fontes de Variação	QM	E (QM)
Famílias	$Q_{1ps}$	$\sigma_{e_s}^2 + r\sigma_{G_{0s}}^2$
Famílias da população 1	$Q_{1ps}$	$\sigma_{e_s}^2 + r\sigma_{G_{1s}}^2$
Famílias da população 2	$Q_{1ps}$	$\sigma_{e_s}^2 + r\sigma_{G_{2s}}^2$
Famílias da população 3	$Q_{1ps}$	$\sigma_{e_s}^2 + r\sigma_{G_{3s}}^2$
Famílias da população 4	$Q_{1ps}$	$\sigma_{e_s}^2 + r\sigma_{G_{4s}}^2$
Erro efetivo	$Q_{2s}$	$\sigma_{e_s}^2$

r: número de repetições;  $\sigma_{e_s}^2$ : variância do erro na safra s;  $\sigma_{G_{ps}}^2$ : variância genética entre famílias da população p na safra s.

- a) variância fenotípica entre todas as famílias (p=0), de famílias da população 1 (p=1), de famílias da população 2 (p=2), de famílias da população 3 (p=3) e de famílias da população 4 (p=4), na safra s ( $\hat{\sigma}_{F_{ps}}^2$ ):

$$\hat{\sigma}_{F_{ps}}^2 = \frac{Q_{1ps}}{r_s};$$

- b) variância genética entre todas as famílias (p=0), famílias da população 1 (p=1), famílias da população 2 (p=2), famílias da população 3 (p=3) e famílias da população 4 (p=4), na safra s ( $\hat{\sigma}_{G_{ps}}^2$ ):

$$\hat{\sigma}_{G_{ps}}^2 = \frac{Q_{1ps} - Q_{2s}}{r_s};$$

Foram também estimadas as herdabilidades no sentido amplo, com base na média das famílias de todas populações (p=0), das famílias da população 1 (p=1), das famílias da população 2 (p=2), das famílias da população 3 (p=3) e das famílias da população 4 (p=4), na safra s ( $\hat{h}_{ps}^2$ ):

$$\hat{h}_{ps}^2 = \frac{\hat{\sigma}_{G_{ps}}^2}{\hat{\sigma}_{F_{ps}}^2} \times 100.$$

As expressões para as estimativas dos intervalos de confiança da herdabilidade foram as desenvolvidas por Knapp et al. (1985):

$$\text{Limite inferior: } LI = \left\{ 1 - \frac{1}{\frac{Q_{1ps}}{Q_{2s}} F_{1-\frac{\alpha}{2}; GL_{Q_{2s}}; GL_{Q_{1ps}}}} \right\};$$

$$\text{Limite superior: } LS = \left\{ 1 - \frac{1}{\frac{Q_{1ps}}{Q_{2s}} F_{\frac{\alpha}{2}; GL_{Q_{2s}}; GL_{Q_{1ps}}}} \right\};$$

em que:

F: Quantil superior a  $(1-\alpha/2)$  e  $\alpha/2$  da distribuição F;

$Q_{1ps}$  e  $Q_{2s}$ : já definidos anteriormente;

$GL_{Q_{2s}}$  e  $GL_{Q_{1ps}}$ : graus de liberdade de  $Q_{2s}$  e  $Q_{1ps}$ , respectivamente.

Também foi estimada a correlação de Pearson entre as médias das famílias no geral nas duas safras avaliadas utilizando o programa MSTAT-C (1991). Foram estimados os ganhos esperados com a seleção das melhores e

piores famílias no total (p=0), das famílias da população 1 (p=1), das famílias da população 2 (p=2), das famílias da população 3 (p=3) e das famílias da população 4 (p=4), na safra s ( $GS_{ps}$ ), conforme expressão apresentada por Ramalho et al. (1993):

$$GS_{ps} = ds_{ps} x \hat{h}_{ps}^2,$$

em que:

$ds_{ps}$ : diferencial de seleção, ou seja, a diferença entre a média das famílias selecionadas e a média geral das famílias, da população p na safra s;

$\hat{h}_{ps}^2$ : herdabilidade do caráter, na população p na safra s.

Posteriormente, foi realizada análise conjunta de variância, considerando o seguinte modelo:

$$Y_{is} = m + a_s + t_i + (ta)_{is} + \bar{e}_{i(s)},$$

em que:

$Y_{is}$ : observação referente ao tratamento i na safra s, sendo  $i = 1, 2, 3, \dots, 396$  e  $s = 1, 2$ ;

m: efeito da média geral;

$a_s$ : efeito fixo da safra s;

$t_i$ : efeito aleatório do tratamento i;

$ta_{is}$ : efeito aleatório da interação entre o tratamento i e a safra s;

$\bar{e}_{i(s)}$ : é o erro experimental médio,  $e_{ij(s)} \cap N(0, \sigma^2)$ .

As esperanças dos quadrados médios, E(QM), da análise de variância conjunta encontram-se na Tabela 9.

TABELA 9. Esquema das análises de variância conjunta dos experimentos com as respectivas esperanças dos quadrados médios - E(QM).

Fontes de Variação	QM	E (QM)
Famílias ( $G_0$ )	$Q_{30}$	$\sigma_e^2 + ar\sigma_{G_0}^2$
Famílias da população 1 ( $G_1$ )	$Q_{31}$	$\sigma_e^2 + ar\sigma_{G_1}^2$
Famílias da população 2 ( $G_2$ )	$Q_{32}$	$\sigma_e^2 + ar\sigma_{G_2}^2$
Famílias da população 3 ( $G_3$ )	$Q_{33}$	$\sigma_e^2 + ar\sigma_{G_3}^2$
Famílias da população 4 ( $G_4$ )	$Q_{34}$	$\sigma_e^2 + ar\sigma_{G_4}^2$
Famílias x safras	$Q_{40}$	$\sigma_e^2 + r\sigma_{G_0S}^2$
Famílias da população 1 x safras	$Q_{41}$	$\sigma_e^2 + r\sigma_{G_1S}^2$
Famílias da população 2 x safras	$Q_{42}$	$\sigma_e^2 + r\sigma_{G_2S}^2$
Famílias da população 3 x safras	$Q_{43}$	$\sigma_e^2 + r\sigma_{G_3S}^2$
Famílias da população 4 x safras	$Q_{44}$	$\sigma_e^2 + r\sigma_{G_4S}^2$
Erro efetivo médio	$Q_5$	$\sigma_e^2$

r: média harmônica do número de repetições; a: número de safras;  $\sigma_e^2$ : variância do erro;  $\sigma_{G_p}^2$ : variância genética entre famílias da população p;  $\sigma_{G_pS}^2$ : variância da interação entre as famílias da população p e as safras.

A partir das esperanças dos quadrados médios foram estimados os componentes de variância e alguns parâmetros genéticos e fenotípicos, conforme descritos a seguir:

- a) variância fenotípica entre as médias de todas as famílias (p=0), de famílias da população 1 (p=1), de famílias da população 2 (p=2), de famílias da população 3 (p=3) e de famílias da população 4 (p=4) ( $\hat{\sigma}_{F_p}^2$ ):

$$\hat{\sigma}_{F_p}^2 = \frac{Q_{3p}}{ar};$$

- b) variância da interação entre todas as famílias x safras (p=0), famílias da população 1 x safras (p=1), famílias da população 2 por safras (p=2), famílias da população 3 x safras (p=3) e famílias da população 4 por safras (p=4) ( $\sigma_{F_p S}^2$ ):

$$\hat{\sigma}_{G_p S}^2 = \frac{Q_{4p} - Q_5}{r}.$$

Também foi estimada a variância genética sem a presença da interação, entre todas as famílias (p=0), famílias da população 1 (p=1), famílias da população 2 (p=2), famílias da população 3 (p=3) e famílias da população 4 (p=4) ( $\sigma_{G_p}^2$ ):

$$COV_{ss'} = \frac{\sum x_s x_{s'} - \frac{(\sum x_s)(\sum x_{s'})}{n}}{n-1} = \hat{\sigma}_{G_p}^2;$$

em que:

$x_s$  e  $x_{s'}$ : médias das famílias da população p nas safras 1 e 2;

n: número de famílias.

Com base nas estimativas de covariância, obteve-se também a estimativa da herdabilidade com a variância genética sem a presença da interação, com base na média de todas as famílias (p=0), das famílias da população 1 (p=1), das

famílias da população 2 (p=2), das famílias da população 3 (p=3) e das famílias da população 4 (p=4) ( $\hat{h}_p^2$ ):

$$\hat{h}_p^2 = \frac{\hat{\sigma}_{G_p}^2}{\hat{\sigma}_{F_p}^2}.$$

Também foram estimados os ganhos esperados com a seleção das melhores e piores famílias no total (p=0), das famílias da população 1 (p=1), das famílias da população 2 (p=2), das famílias da população 3 (p=3) e das famílias da população 4 (p=4), ( $GS_p$ ), conforme expressão apresentada por Ramalho et al. (1993):

$$GS_p = ds_p x \hat{h}_p^2,$$

em que:

$ds_p$ : diferencial de seleção, ou seja, a diferença entre a média das famílias selecionadas e a média geral das famílias, da população p;

$\hat{h}_p^2$ : herdabilidade do caráter, na população p.

### 2.3 Análise com marcadores moleculares

Foi realizada a extração de DNA das famílias das populações 2, 3 e 4, num total de 294 famílias, e também reações de PCR com marcadores microsatélites (SSR) ligados a QTLs responsáveis pela produtividade de grãos (Teixeira, 2004; Rodrigues, 2004) e identificados no Capítulo 2 como polimórficos para cada população.

### 2.3.1 Extração de DNA

De cada família foram coletadas cerca de 2g de folhas jovens para a extração de DNA, utilizando-se um procedimento modificado de Nienhuis et al. (1995). As folhas foram maceradas com nitrogênio líquido, juntamente com 10 ml de um tampão de extração pré-aquecido a 65<sup>0</sup>C (0,2g de brometo de cetiltrimetil-amônio; 1ml de Tris 1M, 0,4ml de EDTA 0,5M, 0,82g de NaCl, 0,1g de polivinilpirrolidona 40.000, 8,6ml de água pura) e 20µl de 2-β-mercaptoetanol. Em seguida, o macerado foi mantido em banho-maria a 65<sup>0</sup>C por 30-40 minutos, homogeneizando-se de 3 a 4 vezes. Após, foram adicionados 10 ml da solução 24 clorofórmio: 1 álcool isoamil e o material foi centrifugado durante 10 minutos, à velocidade de 5.000 rpm. O sobrenadante foi coletado, misturado com 30 ml da solução 6 álcool 95<sup>0</sup> : 1 acetato de amônio 7,5M e mantido no freezer por cerca de uma noite. Em seguida, foi coletado o precipitado com o DNA e foram adicionados de 200 – 300µl da solução Tris 1mM e EDTA 0,1mM, pH 8,0 (TE). Após o DNA ter se dissolvido, foi feita uma segunda extração com 200 – 300µl de clorofórmio/álcool isoamil. O sobrenadante foi coletado, adicionado o triplo do seu volume com a solução 20 álcool 95<sup>0</sup>: 1 acetato de sódio 3M e mantido no freezer por pelo menos uma hora, ou até ocorrer a precipitação do DNA. A solução de álcool-acetato foi eliminada e o DNA precipitado, dissolvido em 200 - 300 µl de TE. A operação seguinte consistiu em quantificar a concentração do DNA em fluorímetro (Hoefer Scientific). Para isso foram usados 2µl da solução de DNA em 2 ml de tampão (Tris 10mM, EDTA 1,0mM, NaCl 0,1M, pH 7,4), juntamente com 0,1µg/ml do corante H32258. Após, o DNA foi diluído com TE para a concentração de 10 ng/µl, que foi utilizada nas reações SSR.

### **2.3.2 Análise com marcadores microssatélites - SSR**

A genotipagem foi realizada com dois *primers* na população 2 (BM-152 e BM-156), quatro na população 3 (BM-152, BM-156, U-77935 e X-74949) e três na população 4 (BM-143, BM-156 e BM-175). (Tabela 1A - Anexo A). Os *primers* foram sintetizados pela Invitrogen Brasil. Na reação foram usados 20 ng de DNA genômico, 100 µM de cada um dos desoxirribonucleotídeos (dATD, dCTD, dGTD, dTTD), uma unidade da enzima taq DNA polimerase, 50 mM de Tris pH 8,3, 20 mM de KCl, 2 mM de MgCl<sub>2</sub>, 10 µg de BSA, 0,25% de Ficol 400, 10 mM de tartrazine e água, completando 12 µl. A amplificação foi realizada em termociclador modelo Mastercycler Eppendorf, em que foi empregado o seguinte programa: dois minutos a 95° C para desnaturação do DNA; nove ciclos, em que foram usados 20 segundos, à temperatura de 94° C para desnaturação; 20 segundos para anelamento do *primer*, cujas temperaturas variaram de 46 a 68° C de acordo com o *primer*; 20 segundos a 72° C para síntese de DNA; 25 ciclos a 20 segundos, à temperatura de 94° C para desnaturação do DNA; 20 segundos, para anelamento do *primer* a temperaturas que variaram de 46 a 60° C, de acordo com o *primer*; 20 segundos a 72° C para síntese de DNA; e uma extensão final por quatro minutos a 72° C. Após a amplificação, os fragmentos de DNA foram separados em gel de agarose a 2,5% por três horas a 100 V e tratados com brometo de etídio. A visualização foi feita em transiluminador de luz ultra-violeta Fotodyne e fotografias em câmera digital Kodak.

### **2.3.3 Análises de associação por marcas simples**

Inicialmente foram realizadas análises de associação por marcas simples por meio de comparação entre médias para verificar se os marcadores utilizados



realmente estavam ligados aos QTLs controladores da produtividade de grãos nas populações, conforme relatado por Schuster & Cruz (2004). Assim, realizou-se a análise de variância da produtividade de grãos das famílias de cada população para cada marcador, conforme mostrado na Tabela 10.

Também foi estimado o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) a partir das somas de quadrados de genótipos e total.

$$R^2 = \frac{SQ_{genótipos}}{SQ_{Total}} \times 100,$$

em que:

$SQ_{genótipos}$  : soma de quadrado de genótipos para o marcador;

$SQ_{Total}$  : soma de quadrados total para o marcador.

TABELA 10. Análise de variância da produtividade de grãos das famílias de cada população para cada marcador utilizado.

Fontes de variação	Graus de liberdade	QM
Genótipos	2	
Aditivo	1	$(MM - mm)^2$
Dominante	1	$[Mm - (MM + mm)/2]^2$
Erro	N-3	
Total	N-1	

N: número de famílias da população; MM: genótipo homocigoto para um dos alelos do marcador; mm: genótipo para o segundo alelo do marcador; Mm: genótipo heterocigoto para o marcador.

#### 2.3.4 Seleção assistida por marcadores (SAM)

A partir das análises de associação por marcas simples por meio de comparação entre médias foi construído um índice de seleção. Esse índice para as famílias de cada população foi baseado na informação dos marcadores SSR polimórficos para aquela população e nas médias fenotípicas por genótipo de cada marcador, semelhante ao utilizado por Stromberg et al. (1994). Nesse índice, cada marcador foi considerado como se fosse uma característica em um índice de seleção convencional. O vetor com os valores do índice para cada uma das famílias (I) foi calculado da seguinte maneira:

$$I = MQ,$$

em que:

M: matriz com f (número de famílias) linhas e m (número de marcadores) colunas, em que o valor de uma família para um marcador foi a produção média de todos os indivíduos que possuíam o mesmo genótipo para este marcador;

Q: vetor com m (número de marcadores) linhas, em que cada valor é o valor do teste F para genótipos obtido na análise de associação por marcas simples.

Foram realizadas também análises de regressão múltipla *stepwise* para os marcadores de cada população utilizando o programa GQMOL versão 2005.6.1 (Cruz & Schuster, 2004), para obtenção das estimativas de  $R_m^2$  (coeficiente de determinação obtido na análise de regressão múltipla *stepwise*) para utilização na expressão de ganho esperado com a seleção.

Também foram estimados os ganhos esperados com a seleção das melhores e piores famílias da população 3 (p=3) e das famílias da população 4

( $p=4$ ), ( $GS_{pm}$ ), utilizando a informação molecular, para cada safra e para a análise conjunta, conforme expressão apresentada por Ramalho et al. (1993):

$$GS_{pm} = ds_{pm} \times R_m^2,$$

em que:

$ds_{pm}$ : diferencial de seleção, ou seja, a diferença entre a média das famílias selecionadas pelo índice dos marcadores e a média geral das famílias, da população  $p$ ;

$R_m^2$ : coeficiente de determinação obtido nas análises de regressão múltipla *stepwise*.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Avaliação das famílias

Utilizando famílias derivadas de plantas  $F_3$  foram avaliadas as gerações  $F_4$  e  $F_5$ , ou seja, famílias  $F_{3:4}$  na safra das águas 05/06 e famílias  $F_{3:5}$  na safra da “seca”/06. Os resumos das análises de variância por experimento, para produtividade de grãos, são apresentados nas Tabelas 11 e 12. A precisão experimental, avaliada pelo coeficiente de variação (CV), foi considerada de média a baixa, pois os valores foram de 23,0% e 33,5% (Ramalho et al., 1993). Vale ressaltar que o maior valor do CV para o experimento da safra das águas já era esperado, visto que o tamanho de parcela e também o número de repetições utilizado foram menores, o que certamente levou a uma menor precisão experimental. Também deve-se mencionar que na cultura do feijoeiro existem fatores pós-colheita, como o manuseio das parcelas, que levam à menor precisão experimental (Souza et al., 2000). A produtividade média obtida foi semelhante nos experimentos, sendo superior a 2.400 kg/ha nas duas safras. A eficiência do látice foi de 105,9% e 109,3% nos experimentos, mostrando que o delineamento foi eficiente.

Com relação à significância do teste F para cada experimento, verifica-se que essa foi muito semelhante para as diferentes fontes de variação (Tabelas 11 e 12). Assim, nas duas condições, foi detectada diferença significativa ( $P \leq 0,01$ ) entre as famílias. No desdobramento da fonte de variação famílias, nos dois experimentos foram detectadas diferenças significativas entre as famílias das quatro populações ( $P \leq 0,01$ ), mostrando a existência de variabilidade genética entre as famílias de cada população. Também foi encontrada diferença para os tipos de família ( $P \leq 0,01$ ), indicando que a média das famílias das quatro

populações diferem entre si, bem como os genitores também diferem entre si.

Na Tabela 13 são apresentados os resultados da análise de variância conjunta dos experimentos. Foi observada diferença significativa entre os genitores ( $P \leq 0,05$ ). A interação genitores x safras não foi significativa, evidenciando que o comportamento dos pais nos experimentos foi coincidente. Também foram detectadas diferenças significativas entre as famílias e entre as famílias de cada população ( $P \leq 0,01$ ), confirmando a existência de variabilidade genética. Como nas análises por experimento, as diferenças entre tipos de famílias também foram altamente significativas, mostrando que existe diferença entre as médias das famílias de populações diferentes ( $P \leq 0,01$ ).

TABELA 11. Resumo da análise de variância para a produtividade de grãos (kg/ha) no experimento da safra das águas.

Fontes de Variação	GL	QM
Repetição	1	58.564,0
Tratamentos	399	2.727.803,2**
Famílias	393	2.761.090,8**
Famílias da população 1	99	1.572.810,2**
Famílias da população 2	99	1.106.710,6**
Famílias da população 3	99	2.484.930,0**
Famílias da população 4	93	1.563.515,4**
Tipos de famílias	3	142.807.045,5**
Genitores	5	439.194,0**
Famílias vs. Genitores	1	1.088.803,0
Erro efetivo	361	696.560,4
CV		33,5
Média		2.493,9
Eficiência do látice (%)		105,9

\*\*significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

TABELA 12. Resumo da análise de variância para a produtividade de grãos (kg/ha) no experimento da safra da “seca”.

Fontes de Variação	GL	QM
Repetição	2	20.086.128,1**
Tratamentos	399	1.284.911,0**
Famílias	389	1.273.088,4**
Famílias da população 1	99	664.910,1**
Famílias da população 2	99	593.069,1**
Famílias da população 3	99	573.062,1**
Famílias da população 4	89	1.027.197,9**
Tipos de famílias	3	74.179.226,6**
Genitores	5	1.808.321,4**
Famílias vs. Genitores	1	403.581,6
Testemunhas	3	1.704.168,9**
Famílias vs. Testemunhas	1	2.890.488,9**
Erro efetivo	741	355.478,6
CV		23,0
Média		2.595,1
Eficiência do látice (%)		109,3

\*\*significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

A interação famílias x safras e famílias de cada população x safras foram todas significativas, evidenciando a não coincidência do comportamento das famílias nas duas safras. Embora os experimentos tenham sido conduzidos no mesmo local, este fato já era esperado, já que as condições ambientais das duas safras são bastante diferentes, principalmente no que se refere a quantidade de água disponível, temperatura e ocorrência de doenças.

A Tabela 14 apresenta as médias dos genitores e das famílias em cada experimento e na análise conjunta. Observando as médias da análise conjunta nota-se que os genitores se comportaram de maneira semelhante à relatada nas avaliações preliminares do Capítulo 2 (Tabela 4), sendo que os genitores Z-9 e Talismã apresentaram alta produtividade, porém a linhagem RCI-10 apresentou baixa produtividade, ao contrário do que tinha sido demonstrado inicialmente.

TABELA 13. Resumo da análise de variância conjunta para a produtividade de grãos (kg/ha).

Fontes de Variação	GL	QM
Safras	1	2.530.414,1**
Tratamentos	395	3.274.088,0**
Famílias	389	3.308.006,9**
Famílias da população 1	99	1.534.604,9**
Famílias da população 2	99	1.163.795,5**
Famílias da população 3	99	2.336.873,3**
Famílias da população 4	89	1.955.620,6**
Tipos de famílias	3	204.757.453,2**
Genitores	5	1.245.936,7*
Famílias vs. genitores	1	220.487,3
Tratamentos x safras	395	923.528,4**
Famílias x safras	389	924.252,0**
Famílias da população 1 x safras	99	884.695,4**
Famílias da população 2 x safras	99	638.712,7*
Famílias da população 3 x safras	99	1.103.493,4**
Famílias da população 4 x safras	89	698.007,8**
Tipos de família x safras	3	12.449.359,9**
Genitores x safras	5	727.752,2
(Famílias vs. Genitores) x safras	1	1.620.928,8
Erro efetivo médio	1.102	467.212,3
CV (%)		24,3
Média		2.553,8

\*\* e \*: significativo a 1% e 5% de probabilidade pelo teste F, respectivamente.

TABELA 14. Médias de produtividade de grãos (kg/ha) para os genitores e para as famílias de cada população na safras das águas, secas e na análise conjunta.

Genitores/ Famílias	Produtividade		
	Águas	Seca	Conjunta
RCI-10	1978A <sup>1</sup>	1976B	1977B
Z-9	2621A	3834A	3228A
Talismã	2924A	2760A	2842A
MAI-18.13	1735A	3255A	2495B
Batatinha	1882A	2846A	2364B
B1	2029A	1762B	1895B
Média dos genitores	2195	2739	2467
Média das Famílias	2522	2588	2555
Famílias da população 1	2909b	2743b	2826b
Famílias da população 2	2555c	2631b	2593c
Famílias da população 3	3207a	3057a	3132a
Famílias da população 4	1290d	1840c	1565d

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra na vertical não diferem entre si (Scott e Knott,  $\alpha=0,05$ ).

Outro ponto interessante é que não houve mudança no ranqueamento das médias das famílias de cada população. Pode-se observar que as famílias da população 3 foram sempre as mais produtivas, seguidas pelas famílias da população 1 e 2. Nesse caso, mesmo com a significância da interação tipos de famílias x safras (Tabela 13), a maior parte dessa interação deve ser de natureza simples, o que não altera a classificação dos genótipos. Esse fato pode ser reforçado considerando a estimativa de correlação de Pearson entre as famílias no geral nas duas safras avaliadas (0,66).



Ainda com relação à Tabela 14, nota-se que a média das famílias da população 3 foi superior à média das famílias das outras populações. É interessante mencionar que essa população foi utilizada por possuir, além de um genitor com alta capacidade geral de combinação, maior polimorfismo entre os marcadores moleculares de QTLs (capítulo 2).

Como o objetivo dos melhoristas é selecionar genótipos superiores, uma informação que favorece a seleção de famílias superiores é o fato de que a média das famílias com exceção das famílias da população 4 apresentaram média superior à média dos genitores que deram origem a cada população. A média das famílias das populações 1, 2 e 3 foram, respectivamente, 8,6%, 7,6% e 9,5% superiores à média dos genitores que deram origem a cada população. Entretanto, o genitor Z-9 foi superior à média das famílias de todas as populações (Tabela 14).

Outro comentário pertinente é que, quando se observam os limites superiores de variação da produtividade de grãos das famílias (Tabela 15) e a média dos genitores (Tabela 14), nota-se a existência de famílias que superam a média dos respectivos genitores em todas as populações.

A existência de variabilidade entre as famílias de cada população, detectada pelas análises de variância (Tabelas 11, 12 e 13), fica bem evidenciada na Tabela 16, em que são apresentadas as estimativas de variância genética e da herdabilidade, e na Tabela 15, pela amplitude de variação apresentada para a produtividade de grãos para as famílias no total e para as famílias de cada população.

As estimativas de herdabilidade e da variância genética foram muito elevadas considerando as famílias no geral (Tabela 16), o que demonstra a grande possibilidade de seleção de famílias superiores. Para as famílias de cada população os valores de herdabilidade variaram de 37,1% a 72%, podendo ser considerados elevados.

TABELA 15. Limite inferior (LI), limite superior (LS) e amplitude de variação (AV) da produtividade de grãos (kg/ha) das famílias na safra das águas, da “seca” e na análise conjunta.

Famílias	Águas			Seca			Conjunta		
	LI	LS	AV	LI	LS	AV	LI	LS	AV
Famílias	116	5999	5988	481	4323	3842	457	5075	4811
Fam. 1	686	5211	4525	1518	4116	2598	1611	4126	2515
Fam. 2	1088	4272	3184	1334	3760	2426	1615	3901	2286
Fam. 3	624	5999	5375	1904	4323	2419	1548	5075	3527
Fam. 4	116	4312	4301	481	3578	3097	457	3463	3199

TABELA 16. Estimativas de variância genética ( $\sigma_G^2$ ), herdabilidade ( $h^2$ ) e variância da interação famílias x safras  $\sigma_{G_pS}^2$  relativas à produtividade de grãos (kg/ha) de famílias no geral e de famílias de cada população na safra das águas, da seca e na análise conjunta.

Famílias	Águas		Secas		Conjunta		
	$\sigma_G^2$	$h^2$	$\sigma_G^2$	$h^2$	$\sigma_G^2$	$h^2$	$\sigma_{G_pS}^2$
Famílias	1032265	74,8 (69,1-79,4) <sup>1</sup>	305870	72,1 (66,9-73,4)	496615	72,1	190433
Fam. 1	438124	55,7 (40,1-68,2)	103143	46,5 (29,2-55,7)	135398	42,4	173951
Fam. 2	205075	37,1 (14,9-54,8)	79196	40,1 (20,6-50,3)	109392	45,1	71458
Fam. 3	894184	72,0 (62,1-79,9)	72527	38,0 (17,9-48,6)	256954	52,8	265117
Fam. 4	433477	55,4 (39,3-68,3)	223906	65,4 (53,5-71,9)	262002	64,3	96164

<sup>1</sup>Limites inferior e superior para a herdabilidade ( $\alpha=0,05$ ).

As estimativas de herdabilidade na análise conjunta variaram de 42,4% para as famílias da população 1 a 64,3% para as famílias da população 4. Vale ressaltar que esses valores de herdabilidade foram estimados com base na variância genética sem a variância da interação, o que aumenta a chance de seleção de famílias superiores.

Como comentado anteriormente, as interações de famílias por ambientes foram todas significativas (Tabela 13). As estimativas da variância da interação famílias de cada população x safras foram muito variáveis, e a sua relação com a variância genética também ( $\sigma_{G,S}^2/\sigma_G^2$ ), sendo mais altas para as famílias das populações 1 e 3 (1,28 e 1,03, respectivamente) e mais baixas para as famílias no geral e para as famílias das populações 2 e 4 (0,38, 0,65 e 0,37, respectivamente). Vale mencionar que mesmo os valores altos para a relação entre a variância da interação e a variância genética não foram tão elevados quando comparados aos relatados na literatura (Carneiro, 2002).

Como foi verificada a presença da interação, foi estimado o ganho com a seleção das dez melhores famílias por local e na média dos locais (Tabela 17). Observa-se que os ganhos foram sempre maiores na safra das águas do que nas secas, apesar de as médias das famílias serem semelhantes nas duas safras. Como as estimativas de herdabilidade foram semelhantes nas duas safras para as famílias de todas as populações, com excessão para as famílias da população 3 (Tabela 16), os maiores ganhos podem ser explicados quando se observa a Tabela 15, em que fica evidenciada a maior amplitude de variação ocorrida na safra das águas para as famílias de todas as populações, e também os maiores valores de limite superior de produtividade obtidos nessa safra quando comparadas com a safra das secas. Isto também pode ser observado comparando a média das famílias selecionadas, que foi bem maior na referida safra. Esses maiores valores levaram a um alto valor para o diferencial de seleção, o que levou a ganhos mais elevados nessa safra.

Entretanto, uma ressalva a ser considerada sobre o pequeno tamanho de parcela e o menor número de repetições utilizadas nessa safra é que estes fatores, com certeza, afetaram mais a produtividade de grãos das famílias.

Considerando a seleção de famílias, com base nas médias das famílias na análise conjunta, de maneira geral os ganhos foram bastante elevados, com destaque para o ganho com a seleção das famílias da população 4 (52,2%). É conveniente mencionar que embora essa população tenha apresentado alto ganho com a seleção, o valor da média para as famílias dessa população e da média das dez melhores famílias selecionadas é inferior quando comparado com a média das famílias das outras populações (Tabelas 14 e 17). Sendo assim, as famílias selecionadas nessa população não devem apresentar desempenho comparável ao das famílias selecionadas nas outras populações. Esse fato pode ser confirmado por meio do número de famílias dessa população entre as 50 melhores famílias selecionadas considerando todas as famílias em conjunto. Como se pode observar, nenhuma das 50 melhores famílias selecionadas foi obtida da população 4. As 50 famílias mais produtivas nas safras das águas, das secas e da análise conjunta estão apresentadas na Tabela 1B (Anexo B), com as respectivas médias de produtividade e população de origem.

As estimativas de ganhos com a seleção na média das safras para as famílias das populações 1, 2 e 3 foram semelhantes (16,2%, 14,5% e 18,7%), o que indica que a seleção de famílias nas três populações deve ser eficiente. Entretanto, merece destaque a seleção das famílias da população 3, já que essa população apresenta a maior média entre as populações avaliadas (Tabela 14), as dez melhores famílias selecionadas também apresentam a maior média e a herdabilidade para as famílias dessa população foi ligeiramente superior à das demais (Tabela 16). Isto pode ser confirmado observando-se que 68% (34) das 50 famílias mais produtivas no geral foram originadas da população 3.

TABELA 17. Média das dez famílias mais produtivas (10+) (kg/ha), ganho esperado com a seleção [GS (%)] dessas famílias e número de famílias entre as 50 mais produtivas [NF (50+)], para as famílias das populações nas safras das águas, seca e na análise conjunta.

Famílias	Águas			Seca			Conjunta		
	Média (10+)	GS (%)	NF (50+)	Média (10+)	GS (%)	NF (50+)	Média (10+)	GS (%)	NF (50+)
Famílias	5204	79,5	50	3883	36,1	50	4276	45,8	50
Fam. 1	4638	33,1	14	3538	13,5	11	3908	16,2	13
Fam. 2	3869	19,1	5	3387	11,5	8	3429	14,5	3
Fam. 3	5018	40,7	29	3796	9,2	29	4244	18,7	34
Fam. 4	3147	79,1	2	2857	35,8	2	2846	52,2	0

### 3.2 Análises com marcadores moleculares

#### 3.2.1 Análises de associação por marcas simples

Com o resultado da genotipagem e com a informação fenotípica de produtividade de grãos, foram realizadas as análises de associação por marcas simples, conforme descrito anteriormente. É interessante mencionar que para as análises só foram utilizadas as famílias das quais foram obtidos dados fenotípicos e moleculares. Também é necessário comentar que para algumas combinações entre marcadores e famílias a informação molecular não foi obtida, nesse caso as análises foram realizadas com diferente número de famílias.

Os resultados das análises para as famílias da população 2 estão demonstrados na Tabela 18. Como pode ser observado, os valores-P obtidos para genótipos foram muito altos; consequentemente, a probabilidade de esses marcadores estarem ligados a QTLs foi baixa. Esse fato pode ser devido a

interação QTLs x populações, já que os QTLs foram mapeados em populações completamente diferentes das utilizadas nesse trabalho (Teixeira, 2004 e Rodrigues, 2004) e, portanto, seus alelos nessa população podem não estar se expressando. A Tabela 19 apresenta os valores do coeficiente de determinação ( $R^2$ ) obtidos para os marcadores. Observa-se que esses valores foram baixos para a população 2, na análise conjunta, 2,3% para o marcador BM-152 e 3,7% para o marcador BM-156, indicando que esses marcadores explicaram pouco da variação fenotípica observada, e conseqüentemente, não devem ser úteis para a seleção assistida por marcadores.

TABELA 18. Resumo das análises de associação por marcas simples por meio de comparação entre médias para os marcadores (M) nas safras das águas, seca e na análise conjunta para as famílias da população 2.

M	FV	GL	Águas		Seca		Conjunta	
			QM	P	QM	P	QM	P
BM-152	Genótipos	2	636462	0,321	95836	0,626	266363	0,341
	Aditivo	1	463680	0,362	6320	0,863	90431	0,544
	Dominante	1	809245	0,230	185352	0,343	442295	0,182
	Erro	90	552450	-	203072	-	252311	-
BM-156	Genótipos	2	1246567	0,124	140783	0,504	418351	0,196
	Aditivo	1	811048	0,242	93840	0,499	88282	0,556
	Dominante	1	1682086	0,093	187726	0,340	748420	0,088
	Erro	87	582211	-	204584	-	252311	-

P: nível de significância do teste F.

TABELA 19. Valores do coeficiente de determinação ( $R^2$ ) para os marcadores utilizados nas famílias das populações 2, 3 e 4 nas safras das águas (Ag), seca (Sec) e na análise conjunta (Conj).

Marcadores	Coeficiente de determinação ( $R^2$ )								
	Famílias da pop.2			Famílias da pop. 3			Famílias da pop. 4		
	Ag	Sec	Conj	Ag	Sec	Conj	Ag	Sec	Conj
BM-152	2,5	1,0	2,3	6,3	6,5	7,7	-	-	-
BM-156	4,7	1,6	3,7	8,0	10,4	8,1	0,7	2,1	1,1
X-74949	-	-	-	9,2	10,0	8,1	-	-	-
U-77935	-	-	-	6,2	2,9	6,0	-	-	-
BM-143	-	-	-	-	-	-	33,3	6,0	29,2
BM-175	-	-	-	-	-	-	3,2	2,5	3,2

- O marcador não foi utilizado na população.

Na Tabela 20 são apresentados os resultados das análise de associação por marcas simples para as famílias da população 3. Como se pode observar, os valores-P para genótipos, que indicam a probabilidade de associação do marcador a um QTL, foram variáveis entre os marcadores utilizados, indicando que existem diferenças entre esses marcadores, com relação à ligação com QTLs.

Considerando um mesmo marcador nas diferentes safras, os valores também foram variáveis, o que indica a presença da interação QTLs por ambientes, já que o grau de associação do marcador com o QTL variou com a safra. Este fato pode ser observado com o marcador U-77935, que na safra das águas apresentou alta probabilidade de estar associado a um QTL ( $P=0,065$ ) e na safra da seca mostrou baixa probabilidade ( $P=0,283$ ). Esse resultado já era esperado e é frequentemente relatado (Melo et al., 2004; Teixeira, 2004; Rumin, 2005; Bento, 2006), já que a produtividade de grãos é controlada por muitos

genes com pequeno efeito e grande influência do ambiente, como pode ser observado pela presença da interação famílias x safras (Tabela 13). Então, conseqüentemente os QTLs que controlam essa característica também devem sofrer grande influência do ambiente (Bernardo, 2002).

TABELA 20. Resumo das análises de associação por marcas simples por meio de comparação entre médias para os marcadores (M) nas safras das águas, seca e na análise conjunta para as famílias da população 3.

M	Fontes de variação	GL	Águas		Seca		Conjunta	
			QM	P	QM	P	QM	P
BM-156	Genótipos	2	5209337	0,025	1749232	0,008	1894917	0,016
	Aditivo	1	6004076	0,038	1384814	0,046	3288969	0,007
	Dominante	1	4414597	0,074	2113650	0,014	500865	0,285
	Erro	89	1351368	-	339126	-	438314	-
X-74949	Genótipos	2	6033852	0,015	1658486	0,010	1719671	0,026
	Aditivo	1	1998014	0,230	125550	0,544	781316	0,191
	Dominante	1	10069691	0,008	3191423	0,003	2658026	0,017
	Erro	87	1365497	-	341574	-	450096	-
BM-152	Genótipos	2	3059620	0,071	474877	0,066	1477788	0,039
	Aditivo	1	4507238	0,048	548674	0,075	2050268	0,033
	Dominante	1	1612001	0,234	401080	0,128	905309	0,154
	Erro	81	1119699	-	168884	-	437440	-
U-77935	Genótipos	2	3277667	0,065	228141	0,283	1229599	0,070
	Aditivo	1	127473	0,741	214235	0,276	168055	0,545
	Dominante	1	6427861	0,021	242046	0,247	2291144	0,026
	Erro	85	1163458	-	178389	-	449286	-

P: nível de significância do teste F.



De maneira geral, os valores-P foram elevados, o que indica que a ligação dos marcadores aos QTLs não foi muito estreita. O marcador BM-156 apresentou os menores valores-P, e conseqüentemente é o que teve maior probabilidade de estar ligado a um QTL. Os valores de  $R^2$  obtidos para a população 3 foram também baixos, porém relativamente maiores do que os encontrados para a população 2 (Tabela 19), mostrando novamente a presença da interação QTLs x populações. Cada um dos quatro marcadores explicou isoladamente de 6,0% a 10,4% da variação fenotípica e por apresentarem valores de  $R^2$  mais elevados esses marcadores foram utilizados para realizar a seleção assistida por marcadores.

Foram detectados efeitos aditivos e de dominância para os marcadores, sendo que para os marcadores BM-152 e BM-156 detectou-se a predominância de efeitos aditivos, já para os marcadores X-74949 e U-77935 os efeitos de dominância foram mais destacados.

Considerando que no melhoramento do feijoeiro o interesse é por linhagens de alta produtividade, essas devem possuir alelos com os efeitos aditivos mais favoráveis para o caráter. Nesse aspecto, os marcadores BM-152 e BM-156 são mais eficientes pois estão explicando parte da variação da produção devida a diferenças entre as médias dos genótipos homozigotos para os marcadores, correspondente aos desvios aditivos. Os outros dois marcadores, e principalmente o X-74949, explicam a parcela da produção devida à diferença do genótipo heterozigoto do marcador em relação à média dos homozigotos, isto é, os efeitos de dominância. Esses desvios aditivos e dominantes são relativos aos genótipos dos marcadores. Porém, como esses estão ligados aos QTLs de produção de grãos, os desvios aditivos e dominantes dos marcadores são correspondentes aos desvios equivalentes dos QTLs.

Observando a Tabela 21, percebe-se que na população 4, os marcadores BM-156 e BM-175 obtiveram valores-P altos para genótipos e, portanto,

mostraram baixa probabilidade de estarem ligados a QTLs. Já o marcador BM-143 apresentou valores-P muito baixos, o que indica que esse marcador tem alta probabilidade de estar ligado a um QTL. Para esse marcador, os efeitos aditivos foram predominantes. Vale ressaltar também a diferença nos valores-P para esse marcador nas diferentes safras, mostrando mais uma vez a forte presença da interação QTLs x ambientes. Os valores de  $R^2$  apresentados na Tabela 19 reforçam o que foi comentado, já que foram baixos para os marcadores BM-156 e BM-175 e elevados para o marcador BM-143.

TABELA 21. Resumo das análises de associação por marcas simples por meio de comparação entre médias para os marcadores (M) nas safras das águas, secas e na análise conjunta nas famílias da população 4.

M	FV	GL	Águas		Seca		Conjunta	
			QM	P	QM	P	QM	P
BM-156	Genótipos	2	224542	0,742	287887	0,356	183820	0,627
	Aditivo	1	4240	0,921	417972	0,267	84504	0,811
	Dominante	1	444845	0,045	157802	0,495	283136	0,399
	Erro	81	760362	-	333895	-	394114	-
BM-143	Genótipos	2	11090476	0,000	896787	0,103	4517284	0,000
	Aditivo	1	19121810	0,000	1771061	0,023	8132938	0,000
	Dominante	1	3059143	0,018	22512	0,792	901629	0,064
	Erro	85	522851	-	329529	-	257252	-
BM-175	Genótipos	2	1039906	0,262	372688	0,348	555464	0,265
	Aditivo	1	1681246	0,142	626861	0,182	1090327	0,107
	Dominante	1	398567	0,473	118514	0,561	20601	0,824
	Erro	83	762591	-	347283	-	410115	-

P: nível de significância do teste F.

Vale mencionar que os valores de  $R^2$  obtidos para os marcadores nos trabalhos de Rodrigues (2004) e Teixeira (2004) variaram de 3,2% a 3,8% para o marcador BM-152, de 4,0% a 6,4% para o marcador BM-175 e de 7,6% a 8,7% para o marcador BM-143. Já para os marcadores BM-156, U-77935 e X-74919 os  $R^2$  foram 9,2%, 6,4% e 3,5%. Observando-se a Tabela 19 pode-se fazer uma comparação com os  $R^2$  obtidos no presente trabalho, nota-se que os valores foram bastante variáveis e mais elevados para alguns marcadores como o X-74919 (8,1% a 10,0%) e o BM-143 (6,0% a 33,3%). Já para o marcador BM-175 os valores de  $R^2$  (2,5% a 3,2%) foram menores do que os relatados por Rodrigues (2004) e Teixeira (2004). Esse fato é um claro indicativo da presença da interação QTLs x populações.

### **3.2.2 Considerações gerais sobre as análises de marcas simples**

Vale ressaltar que os marcadores SSR de QTLs utilizados já haviam sido previamente identificados por Teixeira et al., (2004) e Rodrigues (2004).

É interessante mencionar que o marcador BM-156 foi utilizado nas três populações, e só mostrou alta probabilidade de estar ligado a um QTL para produtividade de grãos na população 3, o que indica que provavelmente o QTL se expressou somente naquela população, mostrando a presença da interação QTLs x populações, já que as populações são de origem diferentes (Tabelas 18, 20 e 21). Conforme comentado no capítulo 2, o alelo desse marcador presente nas linhagens Z-9 e B1 foi o mesmo, enquanto que os alelos das linhagens RCI-10, Talismã, MAI-18.13 e Batatinha foram diferentes entre si e também diferentes do alelo de Z-9 e B1. Isso implica que os alelos para o QTL identificado na população 3 (MAI-18.13 x Z-9) se expressaram de maneira diferente, enquanto os alelos desse QTL presentes nas populações 2 (RCI-10 x Talismã) e 4 (Batatinha x B1), embora sendo diferentes, se expressaram de

maneira semelhante com relação ao fenótipo produzido.

O mesmo pode ser observado com o marcador BM-152, que teve alta probabilidade de estar ligado a um QTL na população 3 e baixa probabilidade na população 2. Os valores de  $R^2$  encontrados para esses marcadores também variaram de acordo com a população utilizada, o que confirma a presença da interação QTLs x populações. Vale ressaltar que conforme comentado no capítulo 2, para esse marcador o alelo encontrado nas linhagens RCI-10 e Z-9 foi o mesmo e nas linhagens Talismã e MAI-18.13 também foi encontrado um mesmo alelo, porém diferente do presente nas linhagens RCI-10 e Z-9. Embora os alelos presentes nas populações 2 e 3 fossem os mesmos, na população 3 eles se expressaram de maneira diferente com relação ao fenótipo produzido, explicando maior proporção da variação fenotípica, diferentemente do que aconteceu na população 2, na qual esse marcador explicou uma proporção muito baixa da variação (Tabelas 18, 19 e 20).

De modo geral, considerando um mesmo marcador e uma mesma população e as diferentes safras, a interação QTLs x safras também se mostrou presente, já que foram encontradas altas probabilidades de um marcador estar ligado a um QTL em uma safra e na outra, não e valores de  $R^2$  altos em uma safra e baixo na outra.

Nos estudos em que esses marcadores foram identificados como ligados a QTLs (Teixeira, 2004 e Rodrigues, 2004) as autoras verificaram que os QTLs identificados por esses marcadores eram muito influenciados pelo ambiente, pois foram mapeados em alguns ambientes e em outros não. Além disso, a porcentagem da variação explicada pelos marcadores identificada nos estudos de Teixeira (2004) e Rodrigues (2004) foi pequena e, portanto, esses QTLs possuíam pequenos efeitos ou não estavam intimamente ligados com o marcador.

Vale mencionar que Rodrigues et al. (2006) comentam que o marcador BM-156 esteve entre os mais estáveis nos ambientes avaliados. Os resultados

obtidos no presente trabalho mostram que esse marcador também esteve entre os mais estáveis, confirmando a menor interação QTLs x safras para o QTL identificado por esse marcador.

Os resultados obtidos pelas análises realizadas nesse trabalho confirmam o relatado pelas autoras e também o relatado por Bernardo (2002), que comenta que para características complexas, como a produtividade de grãos, a maioria dos QTLs explicam pequena porcentagem da variação fenotípica.

### **3.2.3 Seleção assistida por marcadores (SAM)**

Com o resultado das análises de associação por marcas simples por meio de comparação entre médias foi calculado um índice para cada família. Esse índice foi utilizado para seleção de famílias com base na informação dos marcadores. O índice foi construído somente para as famílias das populações 3 e 4. É interessante mencionar que para as famílias da população 2, o índice não foi calculado, já que os marcadores mostraram baixa probabilidade de associação com QTLs (Tabela 18).

Com base no valor do índice obtido para cada família, foi feito o ranqueamento das famílias para cada população e foi estimado o ganho com a seleção assistida pelos marcadores [GSAM (%)] nas safras avaliadas e na análise conjunta (Tabela 22). Também são apresentadas as estimativas de ganho com a seleção fenotípica [GSF (%)] para as famílias considerando apenas as famílias em que se dispunha das informações moleculares e fenotípicas.

Observando a Tabela 22, nota-se que tanto a seleção fenotípica quanto a seleção assistida por marcadores foram eficientes para seleção de famílias, tanto para aquelas de maior produtividade quanto para as de menor. Os ganhos obtidos pela seleção fenotípica foram elevados e sempre maiores na safra das águas do que na safra da seca pelas razões já discutidas anteriormente. Já os ganhos

obtidos com a SAM foram de menor magnitude. Para as famílias da população 3 os ganhos com a seleção das piores famílias foram superiores aos ganhos obtidos com a seleção das melhores famílias.

De modo geral as estimativas de GSF foram sempre maiores do que as estimativas de GSAM, indicando uma maior eficiência da SF. Vale mencionar que a situação em que o GSAM foram mais altos ocorreu com a seleção das melhores famílias da população 4 na safra das águas, em que o experimento obteve menor precisão e as famílias apresentaram grande amplitude de variação nos valores de produtividade e uma média bastante baixa, o que seria um indicativo da possibilidade de utilização da SAM nessa situação, porém esse fato não se repetiu com a seleção das piores famílias.

As análises de regressão múltipla stepwise mostraram no modelo final apenas um marcador em todas as safras, sendo o BM-156 para a população 3 e o BM-143 para a população 4. As estimativas de  $R^2$  para as famílias da população 3 foram de 9,8% na safra das águas, 8,8% na safra da seca e 11,6% na análise conjunta. Já para as famílias da população 4 as estimativas de  $R^2$  foram 44,5% na safra das águas, 8,5% na safra da seca e 35,9% na análise conjunta. Comparando-se essas estimativas dos  $R^2$  obtidos com as herdabilidades (Tabela 16), pode-se concluir que os GSAM superaram as expectativas, já que as estimativas de herdabilidade foram sempre maiores que as estimativas do  $R^2$ . Além disso, outro fato que contribuiu para os maiores ganhos com a seleção fenotípica é que o diferencial de seleção também foi sempre maior para a seleção fenotípica do que para a seleção assistida por marcadores, como já esperado. A menor eficiência da SAM já era esperada considerando o pequeno número de marcadores SSR de QTLs utilizado e a pequena contribuição de cada um para explicar a variação fenotípica. Vale ressaltar que a disponibilidade de maior número de marcadores de QTLs e de marcadores com maiores efeitos deve contribuir para aumentar a eficiência da SAM, como ocorreu nas famílias da população 4 (Tabelas 19 e 22).

TABELA 22. Ganhos obtidos (%) com a seleção fenotípica (SF) e com a seleção assistida por marcadores (SAM) para famílias das populações 3 e 4 nas safras das águas, secas e na análise conjunta.

Métodos de seleção	Ganhos com a seleção (%) de 10 famílias					
	Famílias 3			Famílias 4		
	Águas	Secas	Conjunta	Águas	Secas	Conjunta
SF+	38,6	8,0	17,1	80,6	36,1	54,6
SAM+	0,6	0,6	0,5	48,5	2,4	22,4
SF-	-44,5	-9,9	-21,4	-43,6	-35,0	-35,7
SAM-	-3,6	-1,2	-2,1	-8,4	-0,7	-6,3

+ e - Ganhos obtidos na média das dez famílias mais e menos produtivas, respectivamente.

Outro ponto interessante é que comparando os GS das melhores famílias com os GS das piores famílias, nota-se que para as famílias da população 3, os GS das melhores famílias foram menores do que os GS das piores famílias, e com as famílias da população 4 ocorreu o inverso, ou seja, os GS com as melhores famílias foram maiores do que os ganhos com as piores famílias.

Com base na média dos ambientes foram selecionadas as 10 melhores famílias para cada população e foi obtido o ganho GS para essas 10 famílias nas safras das águas e das secas (Tabela 23). Como pode ser observado, os valores de GS foram bem semelhantes aos obtidos na Tabela 22, com a seleção das melhores famílias diretamente em cada safra, o que mostra que a interação famílias de cada população x safras, apesar de estar presente e ser significativa (Tabela 13), não foi de magnitude muito elevada.

Observando o número de famílias que foram selecionadas pela análise conjunta e que estavam entre as 20 melhores em cada safra, independentemente do método de seleção aplicado, pode-se confirmar esse resultado, já que esse

número foi elevado, em média 85% na safra das águas e 69% na safra das secas (Tabela 23).

A Tabela 24 apresenta o número de famílias entre as 20 melhores e piores que foram selecionadas tanto na pela SF quanto pela SAM. Essa coincidência entre as famílias selecionadas pela SF e pela SAM variou de 20% a 60%. A coincidência variou entre as famílias de cada população e também quando a seleção foi realizada para as melhores e piores famílias. Para as famílias da população 3, com a seleção das 20 melhores famílias, a média de coincidência foi de 21%, e para a seleção das 20 piores famílias, a média de coincidência foi maior, 47%. Já para as famílias da população 4 aconteceu o inverso, a média de coincidência foi maior com a seleção das 20 melhores famílias (53%), e menor para a seleção das 20 piores famílias (23%). Comparando esses dados com os GS apresentados na Tabela 23, fica claro que os GS foram maiores onde a média de famílias coincidentes foi também maior.

TABELA 23. Estimativas de ganhos com a seleção (%) (GS) nas safras, com as famílias selecionadas na análise conjunta e número de famílias (NF) nas safras, que foram selecionadas na conjunta para as famílias das populações 3 e 4.

Métodos de seleção	Famílias 3				Famílias 4			
	GS (10)		NF (20)		GS (10)		NF (20)	
	Águas	Secas	Águas	Secas	Águas	Secas	Águas	Secas
SF+	37,4	4,5	17	20	74,2	29,0	17	14
SAM+	0,2	0,5	17	12	48,5	2,4	19	17
SF-	-41,8	-7,7	17	13	-39,3	-32,2	13	14
SAM-	-2,5	-0,8	18	15	-13,3	-0,8	19	20

20 e 10: número de famílias selecionadas; + e -: seleção de famílias superiores e inferiores; SF e SAM: seleção fenotípica e seleção assistida por marcadores.



TABELA 24. Número de famílias (NF) que coincidiram na seleção fenotípica e na seleção assistida por marcadores, entre as 20 mais (20+) e 20 menos (20-) produtivas, nas safras das águas, secas e na análise conjunta para as famílias das populações 3 e 4.

NF selecionadas	NF de famílias coincidentes					
	Famílias 3			Famílias 4		
	Águas	Secas	Conjunta	Águas	Secas	Conjunta
20+	4	5	4	12	8	12
20-	10	10	8	4	5	5

A média geral de coincidência de famílias foi de 40% para a seleção de famílias mais produtivas e de 33% para a seleção de famílias menos produtivas, com base nas análises conjuntas, o que confirma a diferença nos ganhos obtidos entre a SF e a SAM. As médias das 20 famílias mais produtivas selecionas pela SF e pela SAM e as famílias coincidentes nos dois métodos de seleção estão apresentadas na Tabela 2B.

### 3.2.4 Considerações gerais sobre a SF e SAM

Inicialmente vale mencionar que os marcadores utilizados são previamente identificados e ligados a QTLs (Rodrigues, 2004 e Teixeira, 2004) e alguns deles foram confirmados como associados a QTLs também nas populações avaliadas. Conseqüentemente, esses podem ser utilizados para a seleção baseada somente nos marcadores nas gerações iniciais, em geração  $F_2$  por exemplo, eliminando-se assim os indivíduos que provavelmente são inferiores, antes da avaliação fenotípica. Levando-se em conta um número determinado de famílias que podem ser avaliadas em experimentos no campo, certamente, a eliminação das famílias inferiores antes dessa avaliação levará a

um aumento na possibilidade de seleção de famílias superiores, já que as famílias avaliadas em campo já terão passado por um processo seletivo.

É interessante comentar que as duas metodologias de seleção (SF e SAM) foram eficientes, sendo obtidos ganhos com a seleção nas duas situações. Porém, as estimativas de GSF foram na maioria dos casos, muito maiores do que as estimativas de GSAM, indicando uma maior eficiência da SF. A coincidência entre as famílias selecionadas pelas duas metodologias de seleção foi mediana (40%), o que reforça o fato da maior eficiência da SF.

Esse fato pode ser explicado levando-se em conta alguns fatores: 1) O número de marcadores SSR ligados a QTLs que foram utilizados para a seleção assistida foi pequeno. Como comentado no Capítulo 2, poucos marcadores foram polimórficos entre os genitores utilizados (dos 24 marcadores ligados a QTLs testados, somente seis foram polimórficos para pelo menos um dos genitores), mesmo sendo utilizados marcadores SSR, que são considerados muito polimórficos. Esse baixo polimorfismo pode ser explicado pelo fato de os genitores utilizados serem linhagens ou cultivares melhorados, todos com grãos do tipo carioca, o que reduz naturalmente a variabilidade e principalmente pelo fato do feijão ser uma espécie na qual naturalmente não se encontra grande polimorfismo, mesmo quando são utilizados genitores muito contrastantes (Faleiro et al., 2003; Teixeira et al., 2005; Rodrigues et al., 2006; Blair et al., 2006b). Assim, esse resultado sugere a necessidade de se utilizar maior número de marcadores de QTLs, aumentando a chance de se encontrarem mais marcadores polimórficos em populações geneticamente mais homogêneas; 2) As probabilidades estimadas de esses marcadores estarem ligados aos QTLs não foram muito elevadas, indicando que a ligação entre esses não foi muito estreita; 3) Também foi verificado que esses QTLs explicam pouco da variação fenotípica, ou pela grande distância entre o marcador e o QTL, ou pelo pequeno efeito desses QTLs nas populações utilizadas, o que já havia sido relatado nos

trabalhos de mapeamento por Teixeira (2004) e Rodrigues (2004). Considerando que os genitores são linhagens/cultivares melhoradas e com mesmo tipo de grãos, é razoável assumir que alguns QTLs estão fixados, principalmente os de maiores efeitos (Bernardo, 2002).

Desse modo conclui-se sobre a maior eficiência da SF quando comparada à SAM para a produtividade de grãos, principalmente em função da pequena disponibilidade de marcadores de QTLs. Aumentando esse número, a expectativa é também aumentar a eficiência da SAM, que compensará ser utilizada principalmente na primeira geração de famílias ( $F_{3:4}$ ), quando, em geral, não se têm sementes suficientes para avaliação fenotípica mais precisa.

#### 4 CONCLUSÕES

- 1- Existe grande variabilidade entre as famílias de cada população para a produtividade de grãos.
- 2- A população MAI-18.13 x Z-9 apresentou o maior número de famílias superiores, sendo, portanto, a de melhor desempenho.
- 3- Tanto a seleção fenotípica quanto a seleção assistida por marcadores foram eficientes para obtenção de famílias superiores em produtividade de grãos.
- 4- A seleção fenotípica mostrou-se mais eficiente do que a seleção assistida por marcadores nas condições avaliadas, principalmente devido à pequena disponibilidade de marcadores SSR de QTLs e aos seus pequenos efeitos.

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLIPRANDINI, L. F.; TOLEDO, J. F. F.; FONSECA JÚNIOR, L.; KIHLE, R. A. S. E.; ALMEIDA, L. A. Ganho genético em soja no estado do Paraná, via melhoramento, no período de 1985/86 a 1989/90. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 4, p. 489-497, abr. 1993.

ARIAS, E. R. A.; RAMALHO, M. A. P. Progresso genético em milho no estado do Mato Grosso do Sul, no período de 1986/87 a 1993/94. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 9, p. 1549-1554, set. 1998.

ATROCH, A. L.; NUNES, G. H. S. Progresso genético em arroz de várzea úmida no estado do Amapá. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 4, p. 767-771, abr. 2000.

BENTO, D. A. V. **Mapeamento de QTLs para produção de grãos e seus componentes em uma população de milho tropical**. 2006. 133 p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

BERNARDO, R. **Breeding for quantitative traits in plants**. Minnessota: Stema Press, 2002. 369 p.

BLAIR, M. W.; GIRALDO, M. C.; BUENDÍA, H. F.; TOVAR, E.; DUQUE, M. C.; BEEBE, S. E. Microsatellite marker diversity in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 113, n. 1, p. 100-109, June 2006a.

BLAIR, M. W.; IRIARTE, G.; BEEBE, S. QTL analysis of yield in an advanced backcross population derived from a cultivated Andean x wild common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cross. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 112, n. 6, p. 1149-1163, Apr. 2006b.

CARNEIRO, J. E. de S. **Alternativas para obtenção e escolha de populações segregantes no feijoeiro**. 2002. 134 p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

CRUZ, C. D.; SCHUSTER, I. **GQMOL - Aplicativo computacional para análise de dados moleculares e suas associações com caracteres quantitativos**, versão 2005. 6. 1. Viçosa: UFV, 2004.

FALEIRO, F. G.; RAGAGNIN, V. A.; MOREIRA, M. A.; BARROS, E. G. de. Use of molecular markers to accelerate the breeding of common bean lines resistant to rust and anthracnose. **Euphytica**, Wageningen, v. 138, p. 213-218, 2004.

FALEIRO, F. G.; SCHUSTER, I.; RAGAGNIN, V. A.; CRUZ, C. D.; CORRÊA, R. X.; MOREIRA, M. A.; BARROS, E. G. de. Caracterização de linhagens endogâmicas recombinantes e mapeamento de locos de características quantitativas associados a ciclo e produtividade do feijoeiro comum. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 38, n. 12, p. 1387-1397, dez. 2003.

HAGIWARA, W. E.; SANTOS, J. B.; CARMO, S. L. Use of RAPD to aid selection in common bean backcross breeding programs. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 1, n. 4, p. 355-362, Oct./Dec. 2001.

KNAPP, S. J.; STROUP, W. W.; ROSS, W. M. Exact intervals for heritability on a progeny mean basis. **Crop Science**, Madison, v. 25, n. 1, p. 192-194, Jan./Feb. 1985.

MATOS, J. W. de. **Análise crítica do programa de melhoramento genético do feijoeiro da UFLA no período de 1974 a 2004**. 2005. 116 p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

MELO, L. C.; SANTOS, J. B. dos; FERREIRA, D. F. QTL mapping for common bean yield in different environments. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 4, n. 2, p. 135-144, June 2004.

MENDONÇA, H. A. de; SANTOS, J. B. dos; RAMALHO, M. A. P. Selection of common bean segregation populations using genetic and phenotypic parameters and RAPD markers. **Crop breeding and applied biotechnology**, Londrina, v. 2, n. 2, p. 219-226, Apr./June 2002.

MOREAU, L.; CHARCOSSET, A.; GALLAIS, A. Experimental evaluation for several cycles of marker-assisted selection in maize. **Euphytica**, Wageningen, v. 137, n. 1, p. 111-118, 2004.

MSTAT-C. **A software program for the design, management, and analysis of agronomic research experiments**. Michigan: Michigan State University, USA, 1991.

NIENHUIS, J.; TIVANG, J.; SKROCH, P.; SANTOS, J. B. dos. Genetic relationships among cultivars and lines of lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) as measured by RAPD markers. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 120, n. 2, p. 300-306, Mar. 1995.

RAMALHO, M. A. P.; FERREIRA, D. F.; OLIVEIRA, A. C. de. **Experimentação em Genética e Melhoramento de Plantas**. Lavras: UFLA, 2000. 326 p.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; ZIMMERMANN, M. J. de O. **Genética quantitativa em plantas autógamas – aplicações ao melhoramento do feijoeiro**. Goiânia: UFG, 1993. 271 p.

RODRIGUES, T. B. **Efeito da seleção natural em alelos microssatélites (SSR) do feijoeiro e associação com QTLs de caracteres agronômicos**. 2004. 90 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

RODRIGUES, T. B.; SANTOS, J. B. dos; RAMALHO, M. A. P.; AMORIN, E. P.; SILVA, N. O. Identificação de QTLs em feijoeiro por meio de marcadores SSR influenciados pela seleção natural. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, 2006. (aceito para publicação).

RUMÍN, G. C. R. **Análise da interação genótipo x ambientes assistida por marcadores moleculares em milho (*Zea Mays* L.)**. 2005. 212 p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

SCHUSTER, I.; CRUZ, C. D. **Estatística genômica aplicada a populações derivadas de cruzamentos controlados**. Viçosa: UFV, 2004. 568p.

SOUZA, E. A.; GERALDI, I. O.; RAMALHO, M. A. P. Alternativas experimentais na avaliação de famílias em programas de melhoramento genético do feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 9, p. 1765-1771, set. 2000.

STROMBERG, L. D.; DUDLEY, J. W.; REFENER, G. K. Comparing conventional early generation selection with molecular marker assisted selection in maize. **Crop Science**, Madison, v. 34, n. 5, p. 1221-1225, Sept./Oct. 1994.

TEIXEIRA, F. F. **Mapeamento de QTLs para caracteres do feijoeiro por meio de microssatélites**. 2004. 189 p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

TEIXEIRA, F. F.; SANTOS, J. B. dos; RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. de F. B.; GUIMARÃES, C. T.; OLIVEIRA, A. C. de. QTL mapping for angular leaf spot in common bean using microsatellite markers. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 5, n. 3, p. 272-278, Sept. 2005.

VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. **Genética biométrica no fitomelhoramento**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1992. 486 p.

YOUSEF, G. G.; JUVIK, J. A. Comparison of phenotypic and marker-assisted selection for quantitative traits in sweet-corn. **Crop Science**, Madison, v. 41, n. 3, p. 645-653, May/June 2001.



## ANEXOS

### ANEXO A

TABELA 1A	<i>Primers</i> SSR utilizados, temperaturas de anelamento, (TA) padrão de bandas encontrado (PB) e referências da identificação dos <i>primers</i> e de QTLs ligados à produtividade.....	132
-----------	---	-----

### ANEXO B

TABELA 1B	Média das 50 famílias mais produtivas (kg/ha) nas safras das águas, secas e na análise conjunta e população de origem de cada família (PO). .....	133
TABELA 2B	Média das 20 famílias (kg/ha) selecionadas para maior produtividade pela Seleção Fenotípica (SF) e pela Seleção Assistida por Marcadores (SAM) na análise conjunta para as populações 3 e 4, ordenadas por maior produtividade.....	135

TABELA 1A. *Primers* SSR utilizados, temperaturas de anelamento (TA), padrão de bandas (PB) encontrado e referências da identificação dos *primers* e de QTLs ligados à produtividade.

Primers	TA (°C)	PB	Ref. primer	Ref. QTLs
BM143	55-55	P	Gaitán-Sólis et al., 2002	Rodrigues, 2004
BM149	55-55	M	Gaitán-Sólis et al., 2002	Teixeira, 2004
BM152	58-60	P	Gaitán-Sólis et al., 2002	Rodrigues, 2004
BM154	55-55	M	Gaitán-Sólis et al., 2002	Rodrigues, 2004
BM156	58-60	P	Gaitán-Sólis et al., 2002	Rodrigues, 2004
BM157	58-60	M	Gaitán-Sólis et al., 2002	Rodrigues, 2004
BM160	58-60	M	Gaitán-Sólis et al., 2002	Teixeira, 2004
BM165	58-60	M	Gaitán-Sólis et al., 2002	Rodrigues, 2004
BM175	58-60	P	Gaitán-Sólis et al., 2002	Teixeira, 2004
BM201	58-60	M	Gaitán-Sólis et al., 2002	Rodrigues, 2004
BM210	68-60	M	Gaitán-Sólis et al., 2002	Rodrigues, 2004;Teixeira, 2004
JO1263	58-60	M	Yu et al., 2000	Rodrigues, 2004
U77935	58-60	P	Yu et al., 2000	Rodrigues, 2004
X74919	58-60	P	Yu et al., 2000	Teixeira, 2004
X63525	58-60	M	Yu et al., 2000	Teixeira, 2004
U54703	46-46	M	Yu et al., 2000	Teixeira, 2004
Z30347	58-60	M	Yu et al., 2000	Teixeira, 2004
Z30347*	55-55	M	Yu et al., 2000	Teixeira, 2004
X80051	55-55	M	Yu et al., 2000	Teixeira, 2004
X13329	58-60	M	Yu et al., 2000	Teixeira, 2004
BM212	58-60	M	Gaitán-Sólis et al., 2002	Teixeira, 2004
BM181	58-60	M	Gaitán-Sólis et al., 2002	Teixeira, 2004
BM140	46-46	M	Gaitán-Sólis et al., 2002	Teixeira, 2004
BM202	58-60	M	Gaitán-Sólis et al., 2002	Teixeira, 2004

\*M – Monomórfico; P – Polimórfico em pelo menos um dos genitores utilizados.

TABELA 1B. Média das 50 famílias mais produtivas (kg/ha) nas safras das águas, seca e na análise conjunta e população de origem de cada família (PO).

Águas			Seca			Conjunta		
Família	Média	PO	Família	Média	PO	Família	Média	PO
233	5999	3	<b>226</b>	4323	3	<b>226</b>	5075	3
<b>226</b>	5828	3	64	4116	1	233	4615	3
<b>264</b>	5517	3	230	4040	3	<b>264</b>	4443	3
76	5211	1	247	4008	3	<b>239</b>	4173	3
43	5178	1	<b>26</b>	3842	1	<b>24</b>	4126	1
300	5136	3	<b>210</b>	3782	3	43	4090	1
<b>239</b>	4887	3	<b>148</b>	3760	1	<b>244</b>	4088	3
86	4831	1	294	3664	3	<b>273</b>	4067	3
<b>24</b>	4820	1	<b>244</b>	3649	3	<b>210</b>	4048	3
289	4633	3	241	3643	3	<b>26</b>	4026	1
<b>273</b>	4580	3	211	3634	3	76	4021	1
<b>71</b>	4578	1	274	3612	3	230	3980	3
<b>267</b>	4546	3	254	3609	3	<b>223</b>	3977	3
<b>223</b>	4528	3	<b>231</b>	3590	3	<b>267</b>	3971	3
<b>244</b>	4528	3	59	3587	1	<b>71</b>	3952	1
66	4513	1	342	3578	4	300	3913	3
27	4449	1	<b>273</b>	3555	3	<b>148</b>	3901	2
251	4384	3	116	3550	2	<b>257</b>	3892	3
<b>257</b>	4370	3	285	3544	3	<b>97</b>	3887	1
<b>210</b>	4315	3	269	3516	3	<b>231</b>	3866	3
373	4312	4	324	3513	4	289	3838	3
11	4302	1	212	3501	3	251	3823	3
<b>97</b>	4282	1	209	3499	3	64	3819	1
160	4272	2	<b>97</b>	3492	1	204	3815	3

“...continua...”

“TABELA 1B. Cont.”

Águas			Seca			Conjunta		
Família	Média	PO	Família	Média	PO	Família	Média	PO
225	4261	3	<b>239</b>	3460	3	254	3812	3
297	4231	3	204	3449	3	299	3794	3
<b>26</b>	4211	1	<b>24</b>	3433	1	209	3762	3
299	4189	3	<b>223</b>	3426	3	5	3743	1
204	4182	3	70	3419	1	86	3730	1
259	4178	3	5	3417	1	225	3719	3
52	4160	1	<b>257</b>	3415	3	160	3699	2
381	4157	4	299	3400	3	253	3695	3
<b>231</b>	4143	3	<b>267</b>	3397	3	70	3687	1
298	4091	3	161	3377	2	66	3664	1
253	4090	3	245	3377	3	255	3658	3
218	4085	3	268	3374	3	265	3626	3
5	4070	1	118	3373	2	247	3607	3
179	4052	2	<b>264</b>	3370	3	268	3604	3
213	4044	3	130	3363	2	259	3602	3
<b>148</b>	4042	2	265	3360	3	27	3590	1
190	4035	2	19	3358	1	213	3583	3
221	4028	3	99	3357	1	298	3567	3
209	4026	3	57	3356	1	285	3528	3
255	4023	3	124	3333	2	207	3522	3
254	4016	3	<b>71</b>	3326	1	295	3518	3
34	4009	1	292	3325	3	297	3514	3
260	3975	3	106	3307	2	269	3513	3
70	3955	1	193	3302	2	179	3505	2
172	3925	2	253	3300	3	218	3481	3
230	3920	3	280	3299	3	11	3475	1

Em negrito, famílias coincidentes entre as 20 mais produtivas na análise conjunta.

TABELA 2B. Média das 20 famílias (kg/ha) selecionadas para maior produtividade pela seleção fenotípica (SF) e pela seleção assistida por marcadores (SAM) na análise conjunta para as populações 3 e 4, ordenadas por maior produtividade.

População 3				População 4			
SF		SAM		SF		SAM	
Família	Média	Família	Média	Família	Média	Família	Média
233	4615	<b>244</b>	4089	<b>377</b>	3463	<b>377</b>	3463
264	4443	<b>257</b>	3893	<b>385</b>	3202	<b>385</b>	3203
239	4173	<b>251</b>	3824	<b>319</b>	2993	<b>319</b>	2994
<b>244</b>	4088	<b>225</b>	3719	<b>321</b>	2755	<b>321</b>	2756
273	4067	255	3659	<b>326</b>	2727	<b>326</b>	2728
210	4048	247	3608	<b>349</b>	2717	<b>349</b>	2718
223	3977	268	3604	<b>337</b>	2708	<b>337</b>	2708
267	3971	213	3583	367	2691	<b>379</b>	2281
300	3913	295	3518	333	2680	<b>343</b>	2203
<b>257</b>	3892	292	3444	327	2305	<b>387</b>	2100
231	3866	212	3428	<b>379</b>	2280	<b>315</b>	2050
289	3838	250	3198	371	2266	<b>382</b>	2047
<b>251</b>	3823	258	3144	317	2255	354	1913
204	3815	242	3072	<b>343</b>	2202	314	1761
254	3812	274	3059	346	2168	380	1689
299	3794	256	2993	<b>387</b>	2100	363	1520
209	3762	224	2961	394	2075	309	1270
<b>225</b>	3719	220	2934	344	2053	311	1132
253	3695	243	2858	<b>315</b>	2050	370	948
255	3658	248	2803	<b>382</b>	2047	366	265

Em negrito, famílias coincidentes na SF e na SAM.