

Caracterização de linhagens endogâmicas recombinantes e mapeamento de locos de características quantitativas associados a ciclo e produtividade do feijoeiro-comum⁽¹⁾

Fábio Gelape Faleiro⁽²⁾, Ivan Schuster⁽³⁾, Vilmar Antônio Ragagnin⁽⁴⁾, Cosme Damião Cruz⁽⁵⁾, Ronan Xavier Corrêa⁽⁶⁾, Maurílio Alves Moreira⁽⁷⁾ e Everaldo Gonçalves de Barros⁽⁴⁾

Resumo – O objetivo deste trabalho foi caracterizar 154 linhagens endogâmicas recombinantes por meio da avaliação de características quantitativas, morfológicas, moleculares e de resistência a doenças e mapear locos de características quantitativas associados a ciclo e produtividade do feijoeiro-comum. Adotando o valor do limite de detecção (LOD) de 4,0 e uma frequência máxima de recombinação de 0,40, foram mapeados 43 marcadores em nove grupos de ligação cobrindo uma distância de recombinação total de 247,8 cM. A distância entre marcadores adjacentes variou entre 0 e 28 cM, com média de 7,3 cM. Os grupos de ligação variaram em tamanho de 2,3 a 61,2 cM. Os genes de resistência à ferrugem e à antracnose ficaram localizados no mesmo grupo de ligação. Foram mapeados locos associados às oito características quantitativas estudadas, e a explicação da variância fenotípica pelos marcadores variou de 14,03% a 40,14%. Os resultados encontrados lançam bases para o desenvolvimento de mapas específicos saturados e de utilidade em programas de melhoramento do feijoeiro-comum.

Termos para indexação: *Phaseolus vulgaris*, QTL, mapa genético, progênie, marcador genético, método de melhoramento.

Characterization of recombinant inbred lines and QTL mapping associated to the cycle and yield of common bean

Abstract – The objectives of this work were to characterize 154 recombinant inbred lines of common bean by evaluation of quantitative, morphologic, molecular and disease resistance characteristics and to map quantitative trait loci (QTL) associated to the cycle and production of common bean. Using a LOD score of 4.0 and a recombination frequency of 0.40, 43 markers were mapped into nine linkage groups, covering a total recombination distance of 247.8 cM. The distance between adjacent markers varied between 0 and 28 cM with average of 7.3 cM. The linkage groups size varied between 2.3 and 61.2 cM. The anthracnose and rust resistance genes were mapped in the same linkage group. QTL associated to the eight quantitative characteristics were mapped. The phenotypic variance explained by the QTL varied between 14.03% and 40.14%. The results obtained are the basis for the development of specific saturated maps to be used in common bean programs.

Index terms: *Phaseolus vulgaris*, genetic maps, progeny, genetic markers, breeding methods.

⁽¹⁾ Aceito para publicação em 4 de setembro de 2003.

Extraído da tese de doutorado apresentada pelo primeiro autor à Universidade Federal de Viçosa (UFV), Viçosa, MG. Financiado por PADCT/Finep, Fapemig e Capes.

⁽²⁾ Embrapa-Centro de Pesquisa Agropecuária dos Cerrados, Caixa Postal 08223, CEP 73301-970 Planaltina, DF. E-mail: ffaleiro@cpac.embrapa.br

⁽³⁾ Cooperativa Central Agropecuária de Desenvolvimento Tecnológico e Econômico Ltda (Codetec), BR 467, km 98, CEP 85818-660 Cascavel, PR. E-mail: ivan@codetec.com.br

⁽⁴⁾ UFV, Instituto de Biotecnologia Aplicada à Agropecuária (Bioagro), Dep. de Biologia Geral, Avenida P.H. Rolfs, s/nº, CEP 36571-000 Viçosa, MG.

E-mail: ragagnin@alunos.ufv.br, ebarros@ufv.br

⁽⁵⁾ UFV, Dep. de Biologia Geral. E-mail: cdacruz@mail.ufv.br

⁽⁶⁾ Universidade Estadual de Santa Cruz, Dep. de Ciências Biológicas, Rodovia Ilhéus-Itabuna, km 16, CEP 45650-000 Ilhéus, BA. E-mail: ronanxc@uesc.br

⁽⁷⁾ UFV, Bioagro, Dep. de Bioquímica e Biologia Molecular. E-mail: moreira@mail.ufv.br

Introdução

O feijoeiro-comum, *Phaseolus vulgaris* L., é uma leguminosa diplóide ($2n = 2x = 22$) com genoma relativamente pequeno, contendo 0,66 picogramas de DNA por genoma haplóide, o que equivale a $6,33 \times 10^8$ pares de nucleotídeos (Arumuganathan & Earle, 1991). Os trabalhos de mapeamento genético do feijoeiro-comum tiveram início com o primeiro mapa de ligação publicado por Lamprecht (1961). A partir de então, numerosos trabalhos de ligação entre genes marcadores têm sido gerados. Bassett (1991) publicou um mapa de ligação revisado do feijoeiro-comum, constituído de 13 grupos de ligação incluindo genes que controlam características morfológicas e de pigmentação, tais como cor de flor e semente. Na última década, alguns marcadores isoenzimáticos têm sido usados para o mapeamento (Vallejos & Chase, 1991a, 1991b). O avanço das técnicas de biologia molecular e o desenvolvimento dos marcadores moleculares do DNA têm permitido a construção de mapas genéticos mais saturados para o feijoeiro-comum (Vallejos et al., 1992; Nodari et al., 1993; Miklas et al., 1998).

O desenvolvimento de mapas genéticos é considerado uma das aplicações de maior impacto da tecnologia de marcadores moleculares na análise genética de espécies e, potencialmente, no melhoramento de plantas. No contexto do melhoramento de plantas, os mapas genéticos possibilitam a cobertura e análise completa de genomas, a decomposição de características genéticas complexas nos seus componentes mendelianos, a localização de regiões genômicas que controlam caracteres de importância, a quantificação do efeito dessas regiões na característica estudada e a canalização de toda essa informação para uso em programas de melhoramento.

A construção de um mapa genético estimula a aquisição de informações importantes para o melhoramento genético de uma espécie. Tais informações variam desde a associação de marcadores com caracteres qualitativos e localização dos mesmos nos grupos de ligação, até a identificação de regiões genômicas associadas a caracteres quantitativos (Ferreira & Grattapaglia, 1995).

Diferentes características têm sido utilizadas na construção dos mapas genéticos. Até meados da

década de 60, tais estudos utilizavam marcadores morfológicos, em geral fenótipos de fácil identificação visual, como cor de pétalas, de semente, de hipocótilo e morfologia floral e foliar. Esses marcadores contribuíram significativamente para o desenvolvimento teórico da análise de ligação gênica e para a construção das primeiras versões de mapas genéticos. Entretanto, em razão do seu número limitado, a probabilidade de se encontrar associações significativas entre esses marcadores e caracteres de importância econômica era reduzida. A revolução neste quadro iniciou-se com o desenvolvimento de marcadores isoenzimáticos, os quais dobraram o número de marcadores genéticos disponíveis. Com o advento das técnicas modernas de biologia molecular, surgiram diversos métodos de detecção de polimorfismo genético diretamente no DNA (Ferreira & Grattapaglia, 1995).

Objetivou-se neste trabalho caracterizar 154 linhagens endogâmicas recombinantes por meio da avaliação de características quantitativas, morfológicas, moleculares e de resistência a doenças e mapear locos de características quantitativas relacionadas ao ciclo e à produtividade do feijoeiro-comum, visando lançar bases para o desenvolvimento de mapas específicos saturados e de utilidade nos programas de melhoramento dessa cultura.

Material e Métodos

Material genético

A população segregante composta por 154 linhagens endogâmicas recombinantes (LER) de feijoeiro-comum foi originada do cruzamento entre a cultivar Ouro Negro e a cultivar Rudá, em casa de vegetação. A confirmação dos cruzamentos foi feita utilizando a cor da flor como gene marcador. Foram obtidas, aproximadamente, 40 sementes F_1 , as quais foram semeadas em casa de vegetação. Uma amostra de 160 sementes F_2 foi avançada até a geração F_7 , utilizando o método do descendente de uma única semente ou SSD (Single Seed Descent). Esse método é realizado tomando-se uma única semente de cada indivíduo de uma geração para estabelecer a geração subsequente (Brim, 1966). Conforme sugerido por Brim (1966), foram semeadas três sementes de cada planta F_2 para garantir a representatividade da população base. Após a emergência, uma única planta foi preservada. Tal procedimento foi repetido nas gerações seguintes até a geração F_7 , quando o nível de homozigose desejado foi obtido. Cada planta F_7

obtida a partir de uma planta F_2 foi considerada uma linhagem endogâmica recombinante e suas sementes foram multiplicadas em casa de vegetação para avaliar a segregação da resistência às doenças e as características quantitativas e morfológicas no ensaio de campo.

Avaliação da resistência a doenças e características morfológicas

Na avaliação da resistência das 154 linhagens à ferrugem, antracnose e mancha-angular, foram utilizadas raças fisiológicas que causavam reações diferenciais nos genitores Rudá e Ouro Negro. Uma semente de cada linhagem e genitor (Rudá e Ouro Negro) foi cultivada em casa de vegetação para avaliar a reação a cada raça fisiológica. As sementes foram pré-germinadas em papel germitex a 36°C e, após a emissão da radícula, transferidas para bandejas de plástico contendo mistura de solo e esterco curtido, na proporção de 4:1, adubada no momento do preparo com 5 kg do adubo 4-14-8 por m^3 de substrato. As plantas foram mantidas em casa de vegetação, antes da inoculação. As raças fisiológicas de *Uromyces appendiculatus*, *Colletotrichum lindemuthianum* e *Phaeoisariopsis griseola*, e os métodos de inoculação e avaliação de cada doença foram os mesmos relatados por Faleiro et al. (2003).

Foram avaliadas as seguintes características morfológicas: cor da flor, cor do hipocótilo, cor do cotilédone, cor da listra da semente, cor do tegumento, tipo de grão e hábito de crescimento. Testes de χ^2 foram usados para analisar a herança das características.

Obtenção dos marcadores moleculares

Amostras de DNA de folhas de cada uma das 154 linhagens e dos genitores Ouro Negro e Rudá foram extraídas de acordo com o método de Doyle & Doyle (1990). As amostras de DNA dos genitores foram amplificadas por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR) com 100 diferentes primers, incluindo decâmeros e SCARs, de acordo com Faleiro (2000). Os primers que revelaram polimorfismo entre os genitores foram usados para amplificar amostras de DNA das 154 linhagens. A partir dos produtos de amplificação do DNA, foi construída uma matriz de valores binários, considerando-se a presença (1) ou ausência (0) de bandas nos genitores e nas linhagens. Testes de χ^2 foram usados para confirmar a herança monogênica dos marcadores moleculares.

Análise das características quantitativas

A avaliação das características quantitativas foi feita com base em um ensaio de campo conduzido no período

de abril a julho de 1999, na estação Experimental de Coimbra da Universidade Federal de Viçosa. Foi utilizado o delineamento de blocos completos casualizados, com quatro repetições. Cada parcela experimental foi constituída por 10 sementes, distribuídas em uma fileira de 1 m de comprimento com espaços de 0,5 m entre si. Foi utilizada uma bordadura, contornando todo o experimento. Os tratos culturais foram os normalmente recomendados para a cultura do feijoeiro, sendo utilizada a irrigação quando necessária.

Foram avaliados os seguintes caracteres: número de dias até o florescimento (FLOR), contados a partir do plantio até que, pelo menos, 50% das plantas apresentassem uma flor aberta; número de dias até a maturação (MAT), decorridos do plantio até quando 90% das vagens estivessem secas; peso de 100 sementes (P100), amostradas em cada parcela; produção de grãos; número de vagens por planta (VAPLA); número de sementes por planta (SEPLA); número de sementes por vagem (SEVAG); produção média por planta (PRPLA) e produção média por vagem (PRVAG).

A análise de variância foi feita segundo o modelo estatístico:

$$Y_{ij} = \mu + G_i + B_j + \epsilon_{ij},$$

em que Y_{ij} é o valor da característica da i -ésima linhagem no j -ésimo bloco; μ é a média geral; G_i é o efeito da i -ésima linhagem ($i = 1, 2, \dots, g$); B_j é o efeito do j -ésimo bloco ($j = 1, 2, \dots, r$); ϵ_{ij} é o erro aleatório, $\epsilon_{ij} \sim \text{NID}(0, \sigma^2)$.

Considerando-se as análises de variância de cada característica, foram obtidas as estimativas da variância genotípica entre linhagens ($\hat{\sigma}_g^2$), da variância fenotípica ($\hat{\sigma}_f^2$) e da variância ambiental ($\hat{\sigma}^2$). Foram estimados coeficientes de correlações genotípicas e fenotípicas entre as oito características quantitativas. Para isso, foram obtidos os produtos médios entre os vários caracteres analisados utilizando o método relatado por Kempthorne (1966). A partir destas análises, foram obtidas as estimativas da covariância genotípica e fenotípica entre as características duas a duas e os coeficientes de correlação genotípica e fenotípica. Foi estimada, para cada característica, a herdabilidade (h^2), por meio da fórmula:

$$h^2 (\%) = 100 \hat{\sigma}_g^2 / (\text{QMg/r}).$$

Construção do mapa genético de ligação

O mapa genético foi construído com base em características morfológicas, moleculares e de resistência a doenças que segregaram de acordo com a proporção esperada de herança monogênica em cada linhagem, ou seja, 1:1. O cálculo da frequência de recombinação e das distâncias genéticas entre os diferentes marcadores genéticos, bem

como a determinação do posicionamento dos marcadores foram feitos com o auxílio do programa MAPMAKER (Lander et al., 1987; Lincoln et al., 1992). O agrupamento dos marcadores foi feito adotando um valor de limite de detecção (LOD) de 4,0 e uma frequência máxima de recombinação de 40 ($r = 0,40$). A conversão da frequência de recombinação para centiMorgans (cM) foi feita utilizando a distância de mapeamento de Kosambi (Kosambi, 1944).

Identificação e mapeamento dos QTL

A identificação de marcadores moleculares associados às características quantitativas foi feita por meio de análise de variância entre médias de cada característica quantitativa e os diferentes marcadores moleculares. A proporção da variância fenotípica explicada pela segregação do marcador ligado a um loco que controla uma característica quantitativa (QTL) foi determinada por análise de regressão simples e múltipla (Draper & Smith, 1981). As análises de regressão foram realizadas com auxílio do programa Jump 3.1.6.2 (SAS Institute, 1990), determinando-se a proporção da variância fenotípica de cada característica quantitativa explicada por marcador e pelo conjunto de marcadores que foram significativos na regressão múltipla a 5% de probabilidade.

A localização dos QTL nos grupos de ligação foi determinada com base nas informações do mapa de ligação por meio do mapeamento por intervalo composto (Zeng, 1993, 1994; Jansen, 1993), utilizando-se o programa QTL Cartographer (Basten et al., 2000). Este tipo de método diferencia-se do mapeamento por intervalo clássico, por isolar o efeito de outros QTL ligados no mesmo grupo de ligação.

O limite de detecção para o mapeamento de QTL foi obtido a partir da expressão $LOD = \chi^2(2)\alpha/2\ln(10)$, considerando a aproximação da razão de verossimilhança, representada por seu logaritmo natural, com o χ^2 . A significância de um QTL é atribuída pela razão de verossimilhança entre a hipótese de existência do QTL, e a hipótese de que nenhum QTL existe em determinada posição do mapa de ligação. No mapeamento por intervalo composto, o χ^2 possui dois graus de liberdade, pois o denominador da expressão de verossimilhança possui dois parâmetros a mais no denominador, em relação ao numerador.

Resultados e Discussão

Os resultados obtidos somente foram possíveis em virtude da utilização de uma população de linha-

gens endogâmicas recombinantes. As sucessivas autofecundações utilizadas para a obtenção desse tipo de população segregante fazem com que ocorra a fixação gênica, ou seja, a eliminação de locos em heterozigose de modo que, ao final do processo de obtenção, todos os genes, teoricamente, terão uma segregação de 1:1 (AA:aa) (Paterson, 1996). A estrutura da população de linhagens permitiu inoculações com diferentes raças fisiológicas de diferentes patógenos, além da montagem do experimento de campo, com repetições, para a avaliação das características quantitativas.

A análise de segregação das características foi feita considerando a hipótese monogênica (1:1) utilizando o teste do χ^2 ($P < 0,05$). Das 14 características de resistência a doenças, 10 segregaram de acordo com a segregação esperada, sendo cinco características de resistência à ferrugem, três à antracnose e duas à mancha-angular. Faleiro et al. (2003) analisaram a herança genética de cada uma das características de resistência.

Com relação às características morfológicas, apenas o hábito de crescimento segregou na proporção 1:1. As demais características morfológicas que não segregaram de acordo com a herança monogênica (Tabela 1) estão sujeitas aos efeitos de epistasia e pleiotropia, não podendo ser mapeadas em um cromossomo específico. Dados semelhantes foram obtidos por Bassett (1991), que publicou um mapa de ligação revisado do feijoeiro-comum, incluindo genes que controlam características morfológicas e de pigmentação da flor e da semente. Muitas dessas características apresentaram herança típica de epistasia e apenas o loco da proteína faseolina da semente e os locos do RNA ribossômico foram mapeados em cromossomos específicos.

As cores do hipocótilo, da flor, do cotilédone e da listra da semente parecem ser governadas pelos mesmos genes, os quais apresentam interações epistáticas (Leakey, 1988). A cor do grão apresentou um inter-relacionamento com as características morfológicas de pigmentação. As linhagens com grãos de cor preta e creme com listras pretas apresentaram pigmentação no hipocótilo, na flor e no cotilédone, o que não ocorreu com as plantas com grãos de cor creme com listras marrons (carioca) e bege.

Com relação aos marcadores moleculares, dos 100 primers testados, 30 produziram pelo menos um marcador polimórfico na população segregante, totalizando 49 marcadores moleculares. Dentre eles, 7 (14,3%) apresentaram desvio da segregação esperada pelo teste do χ^2 ($P < 0,05$).

Os valores F foram significativos a 1% de probabilidade para todas as características quantitativas (Tabela 2), indicando a existência de considerável variabilidade genética na população de linhagens, fundamental na identificação de QTL.

As estimativas dos coeficientes de correlações genotípica e fenotípica mostram que houve uma concordância de sinais entre as mesmas (Tabela 3). Com relação às magnitudes, de modo geral, as correlações genotípicas foram maiores que as fenotípicas. Tal superioridade não foi observada nas correlações dos caracteres MAT, VAPLA, SEPLA, SEVAG, PRVAG com a produção por planta, indicando que a expressão fenotípica da associação destes caracteres com a produção por planta é aumentada por efeitos do ambiente.

Os caracteres relacionados ao ciclo da cultura, FLOR e MAT, apresentaram correlações fenotípicas e genotípicas altas e positivas entre si, ou seja, as plantas que floriram mais tarde, atingiram a maturação

mais tarde. Os caracteres VAPLA e SEPLA foram os que apresentaram maiores correlações genotípicas com a produção por planta. As correlações fenotípicas desses dois caracteres com a produção por planta foram ainda maiores. Os caracteres P100, SEVAG e PRVAG, também considerados componentes primários da produção, não apresentaram altas correlações genotípicas com a produção por planta.

As estimativas da herdabilidade no sentido amplo, calculadas a partir de médias, foram superiores a 70% em cinco dos oito caracteres avaliados (Tabela 2). A menor estimativa da herdabilidade foi obtida para a produção por planta (37,25%). Os caracteres VAPLA, P100 e SEVAG, considerados componentes primários da produção, apresentaram estimativas de herdabilidade relativamente altas, 51,00%, 91,26% e 70,77%, respectivamente. Estas estimativas altas de herdabilidade possibilitam maior eficiência no processo seletivo. O material genético utilizado apresenta nível de homozigose elevado, em virtude das sete gerações de autofecundação, o que possibilita dizer que praticamente toda herdabilidade ocorre em virtude de efeitos aditivos.

As dez características de resistência a doenças, o hábito de crescimento e os 42 marcadores moleculares que segregaram na proporção 1:1

Tabela 1. Análise da segregação de características morfológicas em 154 linhagens endogâmicas recombinantes de feijoeiro-comum.

| Característica morfológica | Fenótipo | | Relação observada | χ^2 ⁽¹⁾ | Prob. (%) |
|---------------------------------|-------------|---------|-------------------|-------------------------|-----------|
| | Ouro Negro | Rudá | | | |
| Cor do hipocótilo | Roxo | Verde | 94:57 | 9,07 | 0,26 |
| Cor da flor | Roxa | Branca | 94:57 | 9,07 | 0,26 |
| Cor do cotilédone | Arroxeadado | Verde | 94:57 | 9,07 | 0,26 |
| Cor da listra da semente | Preta | Marrom | 94:57 | 9,07 | 0,26 |
| Hábito de crescimento | IIIb | IIB | 77:76 | 0,006 | 93,55 |
| Cor do tegumento ⁽²⁾ | Preto | Creme | - | - | - |
| Cor do grão ⁽²⁾ | Preto | Carioca | - | - | - |

⁽¹⁾Hipótese testada: monogênica (1:1). ⁽²⁾Características com mais de duas classes fenotípicas.

Tabela 2. Análise de variância, médias e herdabilidade de características quantitativas em 154 linhagens endogâmicas recombinantes (LER) de feijoeiro-comum.

| Característica quantitativa ⁽¹⁾ | Médias | | | QMg | Herdabilidade (%) |
|--|------------|-------|-------|----------|-------------------|
| | Ouro Negro | Rudá | LER | | |
| FLOR | 40,50 | 45,75 | 42,15 | 12,19** | 91,62 |
| MAT | 92,75 | 99,50 | 95,64 | 17,23** | 86,39 |
| VAPLA | 14,41 | 18,09 | 16,48 | 28,82** | 51,00 |
| P100 | 20,61 | 18,47 | 19,06 | 13,59** | 91,26 |
| SEPLA | 70,14 | 94,73 | 80,54 | 787,52** | 49,45 |
| SEVAG | 4,85 | 5,22 | 4,90 | 0,35** | 70,77 |
| PRPLA | 14,51 | 17,45 | 15,31 | 27,33** | 37,25 |
| PRVAG | 1,00 | 0,96 | 0,93 | 0,035** | 83,05 |

⁽¹⁾FLOR: número de dias até o florescimento; MAT: número de dias até a maturação; VAPLA: número médio de vagens por planta; P100: peso de 100 sementes; SEPLA: número médio de sementes por planta; SEVAG: número médio de sementes por vagem; PRPLA: produção média por planta e PRVAG: produção média por vagem. **Significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

a $P > 0,05$ foram utilizados na construção do mapa de ligação (Figura 1). Adotando um valor de LOD de 4,0 e uma frequência máxima de recombinação de 0,40, dos 53 locos estudados foram mapeados 43 em nove grupos de ligação.

A distribuição dos intervalos entre dois marcadores adjacentes variou entre 0 e 28 cM, com média de 7,3 cM. A maioria dos intervalos (82%) correspondeu a intervalos menores que 10 cM. Os 43 locos mapeados cobriram uma distância de recombinação total de 247,8 cM. Essa distância é menor que a encontrada em outros mapas genéticos já construídos por causa do número reduzido de marcadores. Vallejos et al. (1992), Nodari et al. (1993) e Miklas et al. (1998) construíram mapas de feijoeiro-comum com distância de recombinação total de 960, 827 e 924 cM, respectivamente. Os nove grupos de ligação variaram em tamanho de 2,3 a 61,2 cM. O grupo 1 de 41,4 cM é o que apresenta maior número de marcadores, sendo o grupo em que estão concentrados todos os genes de resistência à ferrugem e à antracnose (Figura 1).

Foram identificados marcadores associados às oito características quantitativas estudadas (Tabela 4). Os marcadores associados a cada característica, em conjunto, explicaram 39,79% de FLOR, 40,14% de MAT, 28,99% de VAPLA, 36,07% de P100, 14,03% de SEPLA, 23,62% de SEVAG, 19,20% de PRPLA e 17,13% de PRVAG. No caso de FLOR, os três marcadores advindos do genitor Rudá apresentaram um efeito positivo sobre a característica e os

três marcadores advindos do Ouro Negro apresentaram um efeito negativo. Nas demais características quantitativas, tal observação não foi verificada.

Na verdade, a média fenotípica dos genitores nem sempre reflete os efeitos que os marcadores terão sobre a característica. Bressan-Smith (1998), por exemplo, detectou marcadores que contribuem para o aumento da média de vários caracteres agrônômicos no feijoeiro-comum, advindos do genitor com média fenotípica inferior. A utilização de marcadores moleculares para detectar alelos favoráveis em genótipos com médias fenotípicas inferiores e, posteriormente, combinar com alelos favoráveis de genótipos superiores constitui uma estratégia interessante para acelerar e aumentar os ganhos de seleção no melhoramento de características quantitativas.

Na Figura 2, estão ilustrados os QTL associados às diferentes características quantitativas ao longo dos nove grupos de ligação. O limite de significância para o mapeamento de QTL no genoma completo foi de LOD igual a 2,0, sendo mapeados QTL em todas as características quantitativas avaliadas. Para FLOR foram mapeados cinco QTL nos grupos de ligação 2, 3, 5, 7 e 9. A característica MAT também apresentou QTL nos grupos de ligação 2, 3 e 9. Esta coincidência de QTL pode ser explicada pela alta correlação genotípica ($r_g = 0,862$) entre tais características. Paterson et al. (1991) relatam que algumas características correlacionadas podem demonstrar os mesmos marcadores associados a cada uma das características. Tal observação foi verificada também entre as características VAPLA e SEPLA e P100 e PRVAG.

Algumas características correlacionadas negativamente demonstraram QTL ligados no mesmo gru-

Tabela 3. Estimativas dos coeficientes de correlação genotípica e fenotípica entre oito características em 154 linhagens endogâmicas de feijoeiro-comum⁽¹⁾.

| Característica | FLOR | MAT | VAPLA | P100 | SEPLA | SEVAG | PRPLA | PRVAG |
|----------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| FLOR | 1,000 | 0,862 | 0,240 | -0,574 | 0,431 | 0,3939 | -0,035 | -0,329 |
| MAT | 0,816 | 1,000 | 0,355 | -0,396 | 0,453 | 0,212 | 0,151 | -0,246 |
| VAPLA | 0,164 | 0,342 | 1,000 | -0,387 | 0,883 | -0,204 | 0,6411 | -0,499 |
| P100 | -0,528 | -0,337 | -0,209 | 1,000 | -0,535 | -0,305 | 0,284 | 0,800 |
| SEPLA | 0,288 | 0,393 | 0,925 | -0,306 | 1,000 | 0,244 | 0,642 | -0,346 |
| SEVAG | 0,314 | 0,157 | -0,077 | -0,244 | 0,265 | 1,000 | -0,005 | 0,248 |
| PRPLA | -0,024 | 0,191 | 0,805 | 0,2672 | 0,825 | 0,125 | 1,000 | 0,333 |
| PRVAG | -0,292 | -0,200 | -0,243 | 0,784 | -0,094 | 0,323 | 0,365 | 1,000 |

⁽¹⁾Os coeficientes acima da diagonal correspondem às correlações genotípicas (r_g) e os abaixo da diagonal às correlações fenotípicas (r_f) significativas pelo teste t a 1% de probabilidade entre as características quantitativas FLOR: número de dias até o florescimento; MAT: número de dias até a maturação; VAPLA: número médio de vagens por planta; P100: peso de 100 sementes; SEPLA: número médio de sementes por planta; SEVAG: número médio de sementes por vagem; PRPLA: produção média por planta e PRVAG: produção média por vagem.

po de ligação. Por exemplo, P100 e SEPLA ($r_g = -0,535$) apresentaram QTL nos grupos de ligação 2 e 7. Contudo, os marcadores presentes nestes grupos que explicam essas duas características têm efeitos

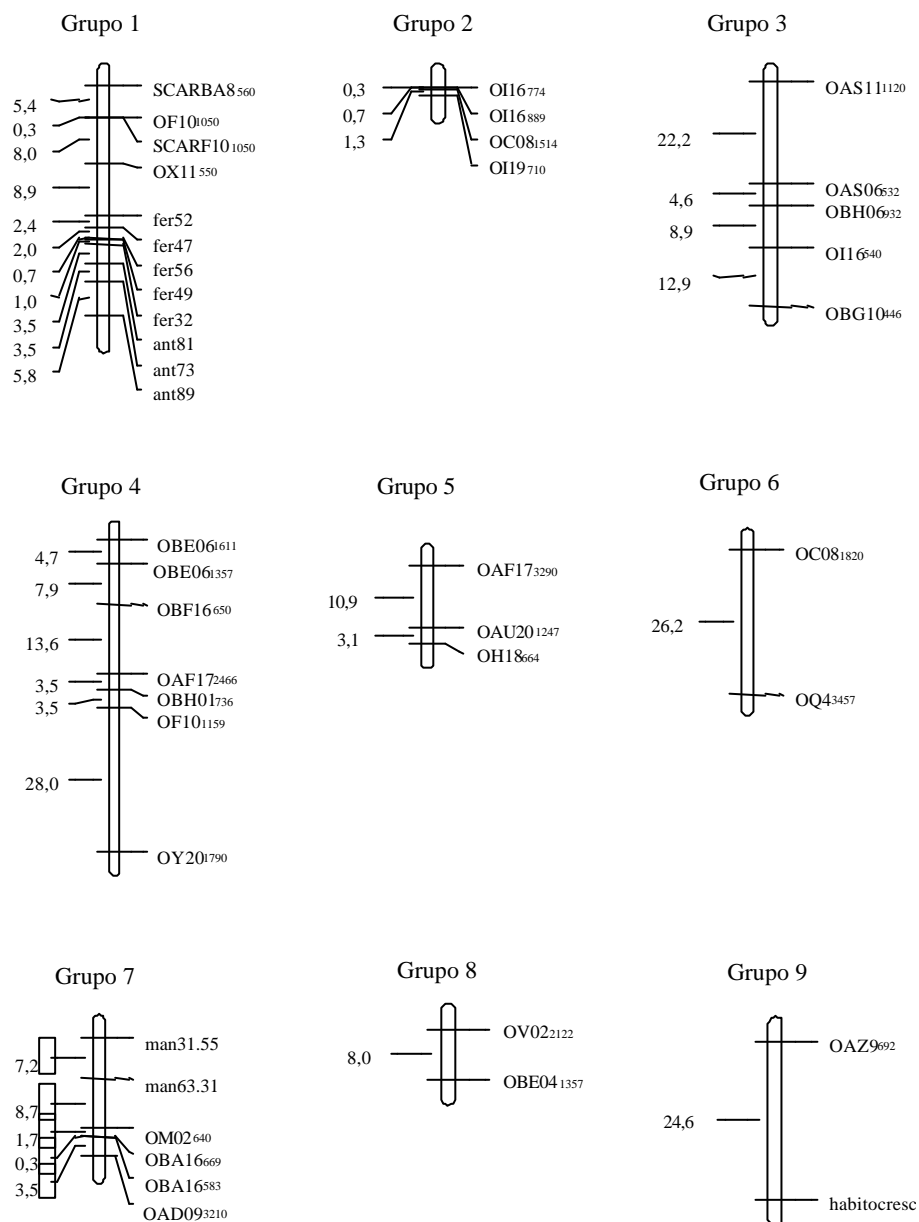


Figura 1. Mapa parcial de ligação genética do feijoeiro-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) baseado na análise de segregação de dez características de resistência a doenças, do hábito de crescimento e de 42 marcadores moleculares RAPD e SCAR. O mapa foi construído com limite de detecção (LOD) igual a 4,0 e máxima frequência de recombinação de 0,40.

contrários sobre elas (Tabela 4). Tal observação foi verificada também entre as características P100 e VAPLA, P100 e SEVAG e VAPLA e PRVAG. Da mesma forma, QTL comuns ligados às características positivamente correlacionadas, por exemplo VAPLA e SEPLA, apresentaram a mesma direção de efeito. Resultados semelhantes foram encontrados por Bressan-Smith (1998) e Pereira et al. (1995), trabalhando com características relacionadas com componentes de produtividade

em feijão e em sorgo, respectivamente.

A característica PRPLA revelou apenas um QTL no grupo de ligação 6, estando o marcador rOC08₁₈₂₀ associado a esse QTL. A observação de apenas um QTL significativo na PRPLA pode ser explicada pelo fato de essa característica possuir baixa herdabilidade, o que significa baixa precisão na medição dos valores fenotípicos, em virtude dos efeitos ambientais. Contudo, o marcador oOC08₁₈₂₀ tem um efeito positivo também na característica VAPLA,

Tabela 4. Associação entre os marcadores e as características quantitativas detectada por meio da regressão simples e da regressão múltipla, utilizando o limite de significância de $P < 0,05$ para a regressão múltipla.

| Característica quantitativa ⁽¹⁾ | Marcador ⁽²⁾ | Grupo de ligação | F | Prob. | R ² (%) simples | Efeito | R ² (%) múltipla |
|--|-------------------------|-----------------------|--------|--------|----------------------------|--------|-----------------------------|
| FLOR | rOAD09 ₃₂₁₀ | 7 | 7,078 | 0,0088 | 11,81 | + | 39,79 |
| | rOAU20 ₁₂₄₇ | 5 | 17,634 | 0,0001 | 11,57 | + | |
| | oOAJ18 ₅₀₉ | N ⁽³⁾ | 6,200 | 0,0142 | 5,82 | - | |
| | oOAJ18 ₉₃₄ | N | 10,416 | 0,0016 | 2,29 | - | |
| | oOBG10 ₄₄₆ | 3 | 13,193 | 0,0004 | 5,71 | - | |
| | rHábito IIIa | 9 | 12,496 | 0,0006 | 8,40 | + | |
| MAT | oOX11 ₁₀₀₀ | N | 7,662 | 0,0066 | 5,64 | + | 40,14 |
| | oOF10 ₁₀₅₀ | 1 | 5,291 | 0,0232 | 0,12 | - | |
| | rOC08 ₁₈₂₀ | 6 | 8,312 | 0,0047 | 1,34 | + | |
| | oOAD12 ₉₂₁ | N | 8,314 | 0,0047 | 6,05 | + | |
| | oOH18 ₉₉₂ | 5 | 12,568 | 0,0006 | 7,10 | + | |
| | oOI19 ₇₁₀ | 2 | 10,946 | 0,0012 | 6,47 | + | |
| | oOBG10 ₄₄₆ | 3 | 14,451 | 0,0002 | 5,49 | - | |
| | rHábito IIIa | 9 | 20,575 | 0,0000 | 3,61 | + | |
| | VAPLA | oOF10 ₁₀₅₀ | 1 | 5,678 | 0,0188 | 3,70 | |
| rOC08 ₁₈₂₀ | | 6 | 9,435 | 0,0026 | 5,85 | + | |
| oOC08 ₁₅₁₄ | | 2 | 12,492 | 0,0006 | 11,96 | + | |
| rOAD12 ₉₂₁ | | N | 5,279 | 0,0233 | 6,39 | + | |
| oOM02 ₁₉₆₇ | | N | 3,995 | 0,0479 | 0,81 | - | |
| oOM02 ₆₄₀ | | 7 | 5,292 | 0,0231 | 4,25 | - | |
| P100 | | oOI16 ₅₄₀ | 3 | 5,609 | 0,0195 | 2,43 | - |
| | rOAU20 ₁₂₄₇ | 5 | 21,270 | 0,0000 | 8,48 | - | |
| | oOAF17 ₃₂₉₀ | 5 | 6,535 | 0,0118 | 0,03 | - | |
| | rOH18 ₁₅₃₇ | N | 4,041 | 0,0467 | 0,62 | + | |
| | oOI19 ₇₁₀ | 2 | 13,342 | 0,0004 | 7,49 | - | |
| | oOM02 ₆₄₀ | 7 | 6,877 | 0,0099 | 6,83 | + | |
| | rHábito IIIa | 9 | 6,083 | 0,0151 | 7,84 | - | |
| | SEPLA | oOC08 ₁₅₁₄ | 2 | 12,166 | 0,0007 | 9,17 | + |
| oOM02 ₆₄₀ | | 7 | 6,947 | 0,0095 | 5,52 | - | |
| SEVAG | oOF10 ₁₀₅₀ | 1 | 5,170 | 0,0247 | 11,10 | + | 23,62 |
| | rOAU20 ₁₂₄₇ | 5 | 12,068 | 0,0007 | 12,23 | + | |
| | rHábito IIIa | 9 | 6,438 | 0,0124 | 11,08 | + | |
| PRPLA | rOC08 ₁₈₂₀ | 6 | 12,177 | 0,0007 | 3,14 | + | 19,20 |
| | rOQ04 ₃₄₅₇ | 6 | 7,117 | 0,0087 | 3,15 | - | |
| | oOH18 ₈₆₄ | 5 | 8,865 | 0,0035 | 4,95 | + | |
| | oOAS06 ₆₃₂ | 3 | 6,799 | 0,0103 | 3,77 | - | |
| PRVAG | oOI16 ₅₄₀ | 3 | 5,246 | 0,0237 | 3,47 | - | 17,13 |
| | oOC08 ₁₅₁₄ | 2 | 11,744 | 0,0008 | 7,03 | - | |
| | rOQ04 ₃₄₅₇ | 6 | 4,249 | 0,0414 | 1,51 | - | |
| | oOM02 ₆₄₀ | 7 | 5,958 | 0,0161 | 3,53 | + | |

⁽¹⁾FLOR: número de dias até o florescimento; MAT: número de dias até a maturação; VAPLA: número médio de vagens por planta; P100: peso de 100 sementes; SEPLA: número médio de sementes por planta; SEVAG: número médio de sementes por vagem; PRPLA: produção média por planta e PRVAG: produção média por vagem; ⁽²⁾Os marcadores com iniciais o e r são provenientes dos genitores Ouro Negro e Rudá, respectivamente. ⁽³⁾Não ligado.

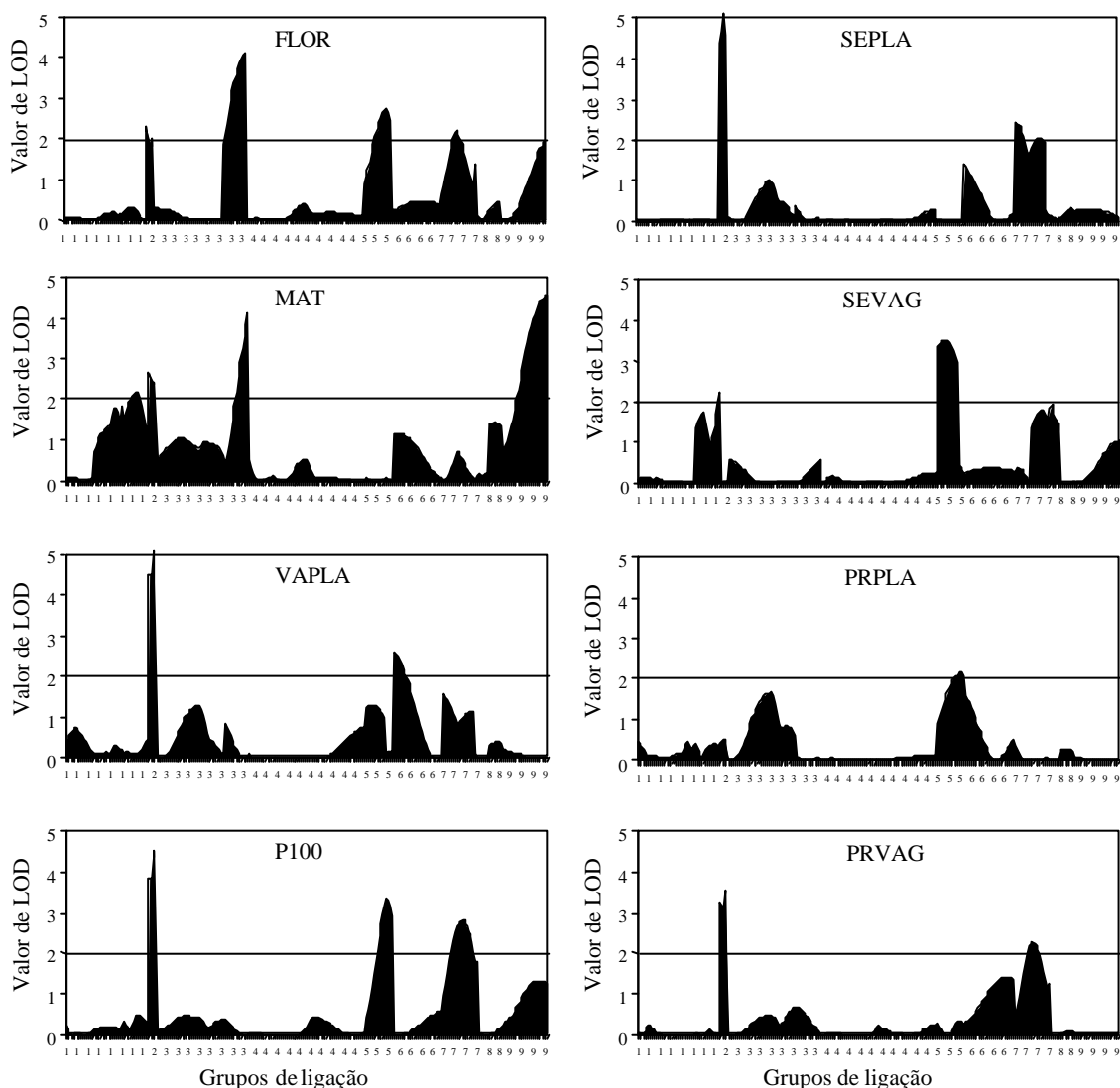


Figura 2. Valores do limite de detecção (LOD) associados ao número de dias até o florescimento (FLOR), número de dias até a maturação (MAT), número médio de vagens por planta (VAPLA), peso de 100 sementes (P100), número médio de sementes por planta (SEPLA), número médio de sementes por vagem (SEVAG), produção média por planta (PRPLA) e produção média por vagem (PRVAG), identificados ao longo dos nove grupos de ligação.

que é um dos componentes primários da produção. A combinação das informações deste marcador com outros marcadores ligados a outros componentes primários como o oOC08₁₅₁₄ sobre SEPLA, rOAU20₁₂₄₇ sobre SEVAG e oOM02₆₄₀ sobre P100 pode aumentar os ganhos de seleção no melhora-

mento visando ao aumento da produtividade do feijoeiro-comum

Conclusões

1. O mapa de ligação construído com base nas características que segregaram na proporção 1:1 apre-

senta o grupo 1 contendo todos os genes de resistência à ferrugem e à antracnose advindos do genitor Ouro Negro.

2. A detecção de marcadores moleculares de ambos os genitores que contribuem para o aumento da média dos vários caracteres agronômicos no feijoeiro-comum mostra a possibilidade de combinar os diferentes alelos favoráveis.

3. Os resultados deste trabalho lançam bases para o desenvolvimento de mapas específicos saturados e de utilidade em programas de melhoramento do feijoeiro-comum.

Referências

- ARUMUGANATHAN, K.; EARLE, E. D. Nuclear DNA content of some important plant species. **Plant Molecular Biology Report**, Tucson, v. 9, p. 208-218, 1991.
- BASSETT, M. J. A revised linkage map of common bean. **HortScience**, Alexandria, v. 26, p. 834-836, 1991.
- BASTEN, C. J.; WEIR, B. S.; ZENG, Z. B. **QTL cartographer**: version 1.14. Raleigh: North Carolina State University, 2000. 139 p.
- BRESSAN-SMITH, R. E. **Mapeamento de locos de características quantitativas associados com a morfologia, a fotossíntese e o rendimento do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)**. 1998. 86 f. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, 1998.
- BRIM, C. A. A modified pedigree method of selection in soybeans. **Crop Science**, Madison, v. 6, p. 220, 1966.
- DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, Gaithersburg, v. 12, p. 13-15, 1990.
- DRAPER, N. R.; SMITH, H. **Applied regression analysis**. New York: J. Wiley, 1981. 709 p.
- FALEIRO, F. G. **Melhoramento e mapeamento genético do feijoeiro-comum**: análise de características quantitativas, morfológicas, moleculares e de resistência a doenças. 2000. 177 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2000.
- FALEIRO, F. G.; RAGAGNIN, V. A.; SHUSTER, I.; CORRÊA, R. X.; GOOD-GOD, P. I.; BROMMONSHENKEL, S. H.; MOREIRA, M. A.; BARROS, E. G. Mapeamento de genes de resistência do feijoeiro-comum à ferrugem, antracnose e mancha-angular com o auxílio de marcadores RAPD. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, p. 59-66, 2003.
- FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética**. Brasília: Embrapa-Cenargen, 1995. 220 p.
- JANSEN, R. C. Maximum likelihood in a generalized linear finite mixture model by using the EM algorithm. **Biometrics**, Washington, v. 49, p. 227-231, 1993.
- KEMPTHORNE, O. **An introduction to the genetic statistics**. New York: J. Wiley, 1966. 545 p.
- KOSAMBI, D. D. The estimation of map distances from recombination values. **Annals of Eugenics**, Cambridge, Inglaterra, v. 12, p. 172-175, 1944.
- LAMPRECHT, H. Weitere kopplungsstudien an *Phaseolus vulgaris* mitt einer übersicht über die Koppelungsgruppen. **Agri Hortique Genetica**, Landskrona, v. 19, p. 319-332, 1961.
- LANDER, E.; GREEN, P.; ABRAHAMSON, J.; BARLON, A.; DALEY, M.; LINCOLN, S.; NEWBURG, L. MAPMAKER: an interactive computer package for constructing primary genetic linkages maps of experimental and natural populations. **Genomics**, Paris, v. 1, p. 174-181, 1987.
- LEAKEY, C. L. A. Genotypic and phenotypic markers in common bean. In: GEPTS, P. (Ed.). **Genetic resources of *Phaseolus* beans**. Dordrecht: Kluwer Academic, 1988. p. 245-327.
- LINCOLN, S.; DALY, M.; LANDER, E. **Constructing genetic maps with MAPMAKER/EXP 3.0**. 3rd ed. Cambridge, Inglaterra: Whitehead Institute, 1992. (Technical Report).
- MIKLAS, P. N.; DELORME, R.; STONE, V.; URREA, C. A.; BEAVER, J. S.; STEADMAN, J. R. A RAPD map of disease resistance traits in common bean. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, Gemena, v. 41, p. 93-94, 1998.
- NODARI, R. O.; TSAI, S. M.; GILBERTSON, R. L.; GEPTS, P. Towards an integrated linkage map of common

- bean – 2: development of a RFLP-based linkage map. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 85, p. 513-520, 1993.
- PATERSON, A. H. **Genome mapping in plants**. San Diego: Academic, 1996. 330 p.
- PATERSON, A. H.; DAMN, S.; JAD, J. D.; ZAMIR, D.; RABINOWITCH, H. D.; LINCOHN, S. E.; LANDER, E.; TANKSLEY, S. D. Mendelian factors underlying quantitative traits in tomato: comparison across species, generations, and environments. **Genetics**, Bethesda, v. 127, p. 181-197, 1991.
- PEREIRA, M. G.; AHNERT, D.; LEE, M.; KLIER, K. Genetic mapping of quantitative trait loci for panicle characteristics and seed weight in sorghum. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 18, p. 249-257, 1995.
- SAS INSTITUTE. **SAS/STAT User's Guide**. Version 6.04. 4th ed. Cary, NC: SAS Institute Inc, 1990.
- VALLEJOS, C. E.; CHASE, C. D. Extended linkage map for the phaseolin linkage group of *Phaseolus vulgaris* L. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 82, p. 353-357, 1991a.
- VALLEJOS, C. E.; CHASE, C. D. Linkage between isozyme markers and a locus affecting seed size in *Phaseolus vulgaris* L. **Theoretical and Applied Genetics**, New York, v. 81, p. 413-419, 1991b.
- VALLEJOS, C. E.; SAKIYAMA, N. S.; CHASE, C. D. A molecular marker-based linkage map of *Phaseolus vulgaris* L. **Genetics**, Bethesda, v. 131, p. 733-740, 1992.
- ZENG, Z. B. Precision mapping of quantitative trait loci. **Genetics**, Bethesda, v. 136, p. 1457-1468, 1994.
- ZENG, Z. B. Theoretical basis for separation of multiple linked gene effects in mapping quantitative trait loci. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 90, p. 10972-10976, 1993.