

**SELEÇÃO DE FAMÍLIAS DE FEIJOEIRO
BASEADA NA PRODUTIVIDADE E TIPO DE
GRÃOS E INFORMAÇÕES DE QTLs**

PAULA PEREIRA TORGA

2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

PAULA PEREIRA TORGA

**SELEÇÃO DE FAMÍLIAS DE FEIJOEIRO BASEADA NA
PRODUTIVIDADE E TIPO DE GRÃOS E INFORMAÇÕES DE QTLs**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de "Mestre".

Orientador

Prof. Dr. João Bosco dos Santos

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2008

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Torga, Paula Pereira.

Seleção de famílias de feijoeiro baseada na produtividade e tipo de grãos e informações de QTLs / Paula Pereira Torga-- Lavras : UFLA, 2008.

62 p. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2008.

Orientador: João Bosco dos Santos

Bibliografia.

1. *Phaseolus vulgaris*. 2. Linhagens. 3. Seleção fenotípica. 4. Seleção assistida. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.
CDD-635.652

PAULA PEREIRA TORGA

**SELEÇÃO DE FAMÍLIAS DE FEIJOEIRO BASEADA NA
PRODUTIVIDADE E TIPO DE GRÃOS E INFORMAÇÕES DE QTLs**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de "Mestre".

Aprovada em 25 de julho de 2008

Prof. Dr. Daniel Furtado Ferreira

UFLA

Prof. Dr. Luiz Antonio Augusto Gomes

UFLA

Prof. João Bosco dos Santos
Orientador

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

*Aos meus pais, Paulo e Fátima
e aos meus queridos irmãos, Júlia, Pedro e Marlon,*

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela constante presença em minha vida.

À Universidade Federal de Lavras, pela oportunidade de realizar o mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor Dr. João Bosco dos Santos, pela valiosa orientação, competência, tranquilidade, confiança e por todos os ensinamentos transmitidos durante o mestrado.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas da UFLA, pelos ensinamentos transmitidos e pela boa convivência durante o curso.

Ao professor Dr. Magno Antonio Patto Ramalho e à Dra. Ângela de Fátima Barbosa Abreu, pela amizade, colaboração na condução dos trabalhos e valiosas sugestões.

Ao professor Dr. Daniel Furtado Ferreira, pela colaboração na realização das análises, paciência, pela participação na banca de defesa e pelas valiosas sugestões.

Ao professor Dr. Luiz Antonio Augusto Gomes, pela amizade e pela participação na banca de defesa.

Ao laboratorista e amigo Lamartine, pela disposição, competência e por tornar as atividades do laboratório mais fáceis e prazerosas.

Aos funcionários do Departamento de Biologia, em especial Léo, Lindolfo e D. Ironдина, pela boa vontade e disposição.

A Elaine, pela amizade, paciência, competência e boa vontade.

Ao meu namorado, Helton, pelo carinho, paciência, indispensável ajuda na realização deste trabalho e pelo apoio em todos os momentos.

A todos os colegas da Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, Cristiana, Lidiane, Ranoel, Fabrício (Pira), José Luis, Marcus e Livia, pela prazerosa convivência e amizade.

Aos grandes amigos Marcelo (Jaca), Francine, Quélen, Jerônimo, Léo Bhering, Adriano Bruzi, Flavinha, Isabela e Alex pela amizade sincera, apoio e pelos ótimos momentos que passamos juntos.

Aos amigos do Laboratório de Genética Molecular, em especial a Monik e Flávia, pela ajuda na realização do trabalho.

A todos os meus familiares, pelo apoio, incentivo, amizade, carinho e por estarem sempre ao meu lado.

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

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	3
2.1 Métodos de melhoramento aplicados à cultura do feijoeiro.....	3
2.1.1 Melhoramento por hibridação na cultura do feijoeiro.....	3
2.1.2 Estimativas de parâmetros genéticos e fenotípicos.....	7
2.2 Marcadores de DNA.....	9
2.2.1 PCR.....	11
2.2.2 Microssatélites.....	12
2.2.3 Mapeamento e identificação de QTLs.....	14
2.2.4 Dificuldades na identificação de QTLs.....	18
2.2.5 Seleção assistida por marcadores moleculares.....	20
2.2.6 Seleção assistida no melhoramento de características quantitativas.....	21
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	28
3.1 Locais de condução dos experimentos.....	28
3.2 Material genético.....	28
3.3 Avaliação das linhagens no campo.....	29
3.4 Análises estatísticas.....	30
3.5 Análises com marcadores moleculares.....	33
3.5.1 Análises com marcadores microssatélites - SSR.....	33
3.5.2 Análises de regressão linear <i>backward</i> para identificação de QTLs.....	35
3.5.3 Seleção assistida por marcadores (SAM).....	35

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
4.1 Avaliação das famílias	36
4.2 Análises com marcadores moleculares	42
5 CONCLUSÕES	47
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	48
ANEXOS	57

RESUMO

TORGA, Paula Pereira. **Seleção de famílias de feijoeiro, baseada na produtividade e no tipo de grãos, e informações de QTLs.** 2008. 62p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas). – Universidade Federal de Lavras, Lavras.*

O feijão tipo carioca, atualmente, é o mais consumido e o mais cultivado no Brasil, sendo um padrão de comercialização do feijão brasileiro. Dessa forma, a seleção de famílias segregantes promissoras para a produtividade de grãos e com tipo de grão ideal é muito importante para o sucesso de um programa de melhoramento dessa cultura. Este trabalho foi realizado com os objetivos de selecionar famílias promissoras para a produtividade de grãos, utilizando informações fenotípicas e marcadores moleculares ligados a QTLs e de selecionar famílias com tipo de grão ideal. Foram utilizadas 100 famílias $F_{3:7}$, avaliadas em três safras, com dois experimentos/safra, totalizando seis experimentos. A primeira safra foi a da seca/2007, na qual conduziu-se um experimento em Lavras e o outro em Ijaci. Nas safras de inverno/2007 e águas 2007/2008, foram conduzidos, em cada uma, um experimento em Lavras e outro em Lambari. Em todos eles foi utilizado o delineamento látice triplo 10x10, com parcelas de duas linhas de dois metros. As famílias foram avaliadas pela sua produtividade de grãos. Em apenas um dos experimentos de cada safra foi avaliado o tipo de grão. Os dados foram submetidos à análise de variância individual e conjunta, por local e por safra. Cerca de 480 marcadores microssatélites foram testados nos genitores para verificar a existência de polimorfismo entre as famílias. Os oito marcadores polimórficos identificados foram utilizados para realizar a genotipagem das mesmas. Desses, cinco identificaram parte da variação da produção de grãos. Os marcadores explicaram pequena porcentagem da variação fenotípica e apresentaram alta interação QTLs x ambientes. O ganho com a seleção fenotípica para produtividade de grãos foi de 7,43% e de 9,58%, para tipo de grãos, com intensidade de seleção de 5%. Já a seleção assistida por marcadores foi de apenas 0,16%, porque apenas um marcador mais estável contribuiu para a seleção com base na média dos ambientes.

*Orientador: João Bosco dos Santos – UFLA

ABSTRACT

TORGA, Paula Pereira. **Selection of common bean families based on grain type and yield, and QTLs informations.** 2008. 62p Dissertation (Master's degree in Plant Genetics and Breeding)* – Federal University of Lavras, Lavras.

Nowadays the carioca type common bean is the most used in Brazil. The selection of superior families mainly on grain yield and grain type is very important for achieving success in the breeding program. The objectives of this research were selecting families with high grain yield based on yield itself and on molecular markers linked to the yield QTLs, and also families with better grain type. One hundred $F_{3;7}$ families were evaluated in three seasons, in two field experiments per season. Two experiments were set up in Lavras and Ijaci county in the dry season/2007, other four experiments were set up in Lavras and Lambari, two in the winter season/2007 and two in the rainy season 2007/2008. A 10x10 lattice design was used in all experiments, using 2m-long plots and rows 50cm apart. The families were evaluated based on grain yield in all experiments, and based on grain type in one experiment per season. Also, 480 microsattelite markers were tested in the parents. Eight markers were polymorphic and used for genotyping the families. Among them five explained part of the grain yield variability and presented high interaction by environments. Only one marker showed to be more stable and was used in the selection assuring a genetic gain of 0.16%, much smaller than the phenotypic gain of 7.43% on grain yield and 9.58% on grain type. The phenotypic selection intensity was 5%.

*Major professor: João Bosco dos Santos – UFLA

1 INTRODUÇÃO

O cultivo do feijoeiro na maioria das regiões produtoras do Brasil é realizado, predominantemente, com cultivares de grão tipo carioca. Estima-se que, anualmente, sejam cultivados mais de 2,5 milhões de hectares com feijões com esse tipo de grão (CNPAP, 2007). Por essa razão, nos programas de melhoramento de feijoeiro comum, grande atenção deve ser dada à seleção de famílias segregantes com esse tipo de grão, que darão origem às novas linhagens e cultivares.

O aumento de produtividade das espécies cultivadas mais importantes tem sido o principal responsável por atender à demanda crescente de alimentos e de outros produtos agrícolas, inclusive o feijoeiro comum. Vários fatores contribuíram para esse aumento, com destaque para o melhoramento genético (Vencovsky & Ramalho, 2000). A comprovada eficiência das técnicas clássicas de melhoramento resulta nos 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 seja de 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.

Os marcadores moleculares podem ser utilizados como uma ferramenta para auxiliar no processo seletivo. No estudo de caracteres quantitativos, como a produção de grãos, em que a influência do ambiente é maior, espera-se maior contribuição dos marcadores moleculares, pelas dificuldades envolvidas no processo de seleção (Ferreira & Grattapaglia, 1998).

Diante dessas informações, os objetivos para a realização deste trabalho foram: selecionar famílias superiores de feijão carioca, tanto em produtividade

quanto em tipo de grãos e avaliar a contribuição de marcadores de QTLs da produtividade de grãos, para auxiliar na seleção dessas famílias.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Métodos de melhoramento aplicados à cultura do feijoeiro

O melhoramento genético do feijoeiro no Brasil é realizado, principalmente por empresas públicas, concentrando-se nas regiões Sul, Sudeste, Nordeste 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).

As estratégias normalmente utilizadas no melhoramento genético do feijoeiro são, basicamente, as mesmas utilizadas para espécies autógamas em geral e se enquadram em três categorias principais: introdução de linhagens, seleção de linhas puras e hibridação (Ramalho et al., 2001).

O procedimento mais utilizado pelos melhoristas consiste na geração de variabilidade por meio de cruzamentos artificiais, possibilitando a recombinação da variabilidade existente, para produzir novas cultivares adaptadas às diversas finalidades (Ramalho et al., 1993).

2.1.1 Melhoramento por hibridação na cultura do feijoeiro

O melhoramento por hibridação tem a finalidade de combinar, em um mesmo indivíduo, dois ou mais fenótipos desejáveis que se encontram em indivíduos diferentes. Por meio do cruzamento entre esses indivíduos é gerada uma população com suficiente variabilidade genética, na qual será praticada a seleção visando à obtenção de uma ou mais linhagens que reúnam os fenótipos de interesse (Ramalho et al., 1993).

Na condução de um programa de melhoramento por hibridação, há algumas importantes decisões a serem tomadas em determinadas etapas, como a

escolha dos genitores a serem cruzados, a obtenção das populações segregantes e o modo como estas serão conduzidas.

Escolha dos genitores

A decisão mais importante do melhorista é a escolha dos genitores para o programa de hibridação, porque o sucesso do programa está diretamente relacionado com a escolha criteriosa do material a ser cruzado. Entre outros fatores, essa decisão depende dos caracteres a serem melhorados, do tipo de herança dos caracteres e da fonte de germoplasma disponível (Fehr, 1987).

A escolha de genitores é facilitada quando o caráter a ser melhorado for de herança simples, isto é, controlado por poucos genes e pouco influenciado pelo ambiente. Neste caso, basta ter um dos genitores com boa adaptação e o outro portador do alelo de interesse. Entretanto, quando se trata de caracteres de herança complexa, como a produtividade de grãos, a escolha dos genitores é dificultada, pois estes devem ser escolhidos de modo a gerar populações segregantes que associem média alta e grande variabilidade genética (Abreu, 1997). Nesse sentido, alguns procedimentos podem auxiliar o melhorista (Baenziger & Peterson, 1991; Abreu, 1997), tais como: a) desempenho “per se” dos pais (média dos experimentos de avaliação de cultivares), b) divergência genética entre os pais (coeficiente de parentesco, técnicas multivariadas, marcadores moleculares) e c) comportamento das progênies oriundas dos cruzamentos (cruzamentos dialélicos, estimativa de $m+a$ e d e possibilidade de um cruzamento gerar linhagens superiores a um padrão) (Jinks & Pooni, 1976). A cultura do feijoeiro é, provavelmente, a que mais tem utilizado esses procedimentos na escolha das populações segregantes (Oliveira et al., 1996; Outubo et al., 1996; Abreu, 1997; Mendonça, 2001; Carneiro, 2002).

Obtenção da população segregante

Uma vez escolhidos os genitores, o passo seguinte é definir como será formada a população híbrida. Em outras palavras, deve-se definir qual a proporção desejada dos alelos de cada um dos genitores. Se estiverem envolvidos apenas dois genitores, deve-se optar pelo caso mais comumente usado, que é o denominado cruzamento biparental. Neste caso, a população resultante apresentará 50% dos alelos de cada um dos genitores. Quando um dos genitores é mais adaptado, pode-se desejar obter uma população com maior frequência dos alelos desse genitor. Nessa situação, realiza-se um ou mais retrocruzamentos, tendo como recorrente o genitor mais adaptado (Ramalho et al., 1993).

Quando estão envolvidos três genitores, pode-se fazer um híbrido triplo, como, por exemplo, $(P_1 \times P_2) \times P_3$. Um híbrido duplo poderá ser obtido quando se dispõe de quatro genitores. Os cruzamentos envolvendo mais de quatro genitores para formar a população são denominados múltiplos ou complexos (Carneiro, 2002).

Neste tópico, outro aspecto a ser considerado é o número de hibridações a serem feitas. Nos programas de melhoramento, pode-se executar uma ou poucas hibridações e avaliar-se um grande número de progênies, de modo a explorar, do melhor modo possível, as combinações genotípicas obtidas; por outro lado, pode-se optar por executar um maior volume de hibridações, com um maior grupo de genitores e proceder à seleção entre hibridações, para, posteriormente, avaliar as progênies das populações segregantes que forem selecionadas (Ramalho et al., 2001).

Fouilloux & Bannerot (1988) utilizaram simulação para obter informações a esse respeito e concluíram que, na maioria das situações, é preferível utilizar menor número de famílias, criando condições de se avaliar maior número de cruzamentos. Entretanto, no caso dos genitores terem sido

escolhidos de maneira mais criteriosa, pode-se utilizar apenas uma ou poucas populações segregantes e avaliar mais progênies de cada, conforme realizado por Pereira et al. (2007).

Métodos de condução da população segregante

O objetivo do melhoramento de plantas autógamias é obter, na geração F_{∞} , linhagens – genótipos homocigóticos – com alelos favoráveis no maior número de locos. Os métodos de condução das populações segregantes podem ser incluídos em duas categorias: a primeira é aquela que não separa as fases de endogamia e de seleção; na segunda, estão os métodos que separam essas duas fases, isto é, a seleção só é iniciada após a maioria dos locos estarem em homocigose (Ramalho et al., 2001).

Na primeira categoria estão incluídos, principalmente, os métodos massal e o genealógico, nos quais, a partir da F_2 , quando já existe variabilidade, inicia-se a seleção que continua no decorrer das sucessivas gerações de endogamia. Na segunda categoria estão os métodos da população – bulk, descendência de uma única semente e o método do bulk dentro de famílias.

Entre os métodos de condução que envolvem a seleção após atingir a homocigose está o método do bulk dentro de famílias F_2 ou F_3 . Proposto, inicialmente, por Frey (1954), seu princípio consiste na colheita de plantas individuais nas gerações F_2 ou F_3 , em que cada planta originará uma família. As sementes provenientes de cada família são misturadas e utilizadas para a obtenção da geração seguinte. A partir da geração $F_{2:3}$ ou $F_{3:4}$, as famílias são avaliadas em experimentos com repetição. Esse processo é repetido por algumas gerações, sendo, então, identificadas as melhores famílias, tendo como referência a performance média das famílias nessas gerações. Quando a obtenção é realizada em F_3 , explora-se $1,5 \sigma^2_A$, o que, evidentemente, é muito mais vantajoso e deveria ser a estratégia preferida. Neste caso, o número de

famílias avaliadas deverá ser maior (Ramalho et al., 2001). A principal vantagem desse método é poder reduzir as perdas por amostragem, pois os descendentes de todas as plantas F_2 ou F_3 são mantidos. Variações desse método vêm sendo também utilizadas, eliminando-se as piores famílias nas primeiras gerações segregantes, geralmente com base em caracteres de maior herdabilidade, e mantendo-se apenas as mais promissoras até as gerações mais avançadas, apresentando a vantagem de poder utilizar maiores parcelas, número de repetições e, principalmente, mais locais na avaliação dessas famílias (Silva, 2005; Silva, 2007).

2.1.2 Estimativa de parâmetros genéticos e fenotípicos

As estimativas dos parâmetros genéticos e fenotípicos auxiliam os melhoristas no momento de tomar as decisões a respeito da escolha do método de melhoramento, do modo de condução e de seleção das populações segregantes. A obtenção dessas estimativas contribui para que o melhoramento de plantas não seja apenas uma arte, mas também uma ciência, de modo a permitir aos melhoristas anteverem as possibilidades de sucesso no programa de melhoramento.

Essas estimativas podem ser obtidas utilizando-se componentes de médias e ou variâncias. O emprego da variância é preferido, uma vez que o uso de médias pode conduzir a conclusões errôneas, pois, 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. Por isso, 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 (σ^2_A) e de dominância (σ^2_D). 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 Júnior, 1989).

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; Pereira et al., 2007).

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 é esperada em função das diferentes condições ambientais em que as estimativas são obtidas, da variabilidade genética presente nos materiais utilizados e também do método utilizado para a obtenção da estimativa (Ramalho et al., 1993; Carneiro, 2002).

A amplitude de variação das estimativas de herdabilidade obtidas em trabalhos na Universidade Federal de Lavras (UFLA) foi semelhante às relatadas em outros estudos. A herdabilidade no sentido amplo para a produção de grãos variou de 4% a 71%, enquanto, para seus componentes primários, a variação foi de 0,4% a 88% para o número de vagens por plantas, de 3% a 90% para o número de sementes por vagem e de 29% a 99% para peso de 100 sementes (Teixeira, 2004).

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 o principal componente da variância genética (Carneiro, 2002).

2.2 Marcadores de DNA

O homem vem praticando a seleção de plantas desde o início da agricultura, porém, até o final do século XIX, esta seleção era realizada empiricamente. Com os avanços da genética no século XX, o melhoramento de plantas tornou-se uma ciência, resultando em ganhos mais efetivos em relação aos que haviam sido atingidos até então (Teixeira, 2004).

A partir da década de 1980, com o surgimento dos marcadores de DNA, inúmeros trabalhos foram feitos visando utilizá-los para auxiliar no melhoramento. Isso ocorreu, basicamente, porque, até então, o melhoramento somente vinha sendo realizado com base nas avaliações fenotípicas e, como se sabe, o efeito do ambiente pode representar a maior parcela do fenótipo em vários caracteres de interesse. Assim, o emprego dos marcadores sempre foi prometido como uma forma de “etiquetar” os alelos de interesse e auxiliar na seleção dos mesmos, quando a seleção fenotípica fosse ineficiente (Santos, 2005).

Os diferentes tipos de marcadores moleculares disponíveis atualmente e as amplas possibilidades de conversão das informações de seqüências em marcadores de DNA permitem uma excelente amostragem do genoma. Os marcadores possibilitaram grandes avanços no mapeamento de genes e de regiões genômicas que controlam características de importância agrônômica, na caracterização molecular de genótipos e no estudo da diversidade genética (Borém & Caixeta, 2006).

No melhoramento genético de plantas, tem-se buscado, cada vez mais, a manipulação assistida por marcadores moleculares, visando obter maior eficiência na transferência de fatores genéticos. Marcadores moleculares ligados a alelos de diferentes características de importância econômica têm sido desenvolvidos, permitindo a seleção indireta de fenótipos desejáveis em gerações segregantes precoces. Esta estratégia reduz tempo e energias necessários não só para evitar desenvolver grandes populações segregantes por várias gerações, mas também para estimar parâmetros usados na seleção indireta (Borém & Caixeta, 2006). Porém, segundo Ferreira & Grattapaglia (1998), a integração efetiva de metodologias moleculares ao processo de melhoramento ainda representa o principal desafio dessa área do conhecimento.

Atualmente, existe grande variedade de marcadores moleculares disponíveis para diferentes espécies vegetais. Embora grande número de trabalhos já tenha sido feito empregando os marcadores, tanto no estudo de diversidade entre genótipos 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 auxiliarem no melhoramento (Santos, 2002).

2.2.1 PCR

Em meados da década de 1980, o pesquisador britânico Kery Mullis descobriu um processo simples e eficiente de multiplicar, *in vitro*, em escala exponencial, a quantidade de DNA de certa amostra. Trata-se da reação da polimerase em cadeia, ou PCR (Borém & Caixeta, 2006). Desde sua concepção, esta tecnologia causou uma verdadeira revolução na biologia, tanto na pesquisa visando ao entendimento de processos biológicos fundamentais como nas áreas aplicadas envolvendo diagnósticos e melhoramento genético de plantas e animais domésticos. O impacto da PCR e dos métodos dela derivados levou Kary Mullis a ganhar o prêmio Nobel da medicina, no início da década de 1990 (Ferreira & Grattapaglia, 1998).

A facilidade, a rapidez, a versatilidade e a sensibilidade da PCR a tornam particularmente poderosa para estudos genético-moleculares envolvendo grande número de indivíduos de qualquer organismo vivo. A PCR é uma técnica poderosa, que envolve a síntese enzimática *in vitro* de milhões de cópias de um

segmento específico de DNA na presença da enzima Taq DNA polimerase. A reação se baseia no anelamento e na extensão enzimática de um par de oligonucleotídeos utilizados como iniciadores, que delimitam a seqüência de DNA de fita dupla alvo da amplificação.

Um ciclo de PCR envolve três etapas: desnaturação, anelamento e extensão. A fita dupla do DNA alvo é desnaturada por meio da elevação da temperatura para 92°C a 95°C. Na etapa de anelamento, a temperatura é rapidamente reduzida para 35°C a 60°C, dependendo, essencialmente, do tamanho e da seqüência do *primer* utilizado, permitindo a hibridização DNA-DNA de cada *primer* com as seqüências complementares que flanqueiam a região alvo. Em seguida, a temperatura é elevada para 72°C, para que a enzima DNA polimerase realize a extensão. Este ciclo é repetido por algumas dezenas de vezes e, a cada ciclo, a quantidade de DNA da seqüência alvo dobra. A amplificação segue uma progressão geométrica, de maneira que, depois de apenas 20 ciclos, é produzida mais de um milhão de vezes a quantidade inicial da seqüência alvo. Esta escala de amplificação permite, portanto, iniciar com quantidades mínimas de DNA e terminar a reação com grandes quantidades de DNA de uma seqüência específica de interesse.

Com o advento da PCR, diversos marcadores foram desenvolvidos baseados nesta técnica.

2.2.2 Microssatélites

Diferentes experimentos no início dos anos 1980 demonstraram que os genomas eucariotos são densamente povoados por diferentes classes de seqüências repetidas, umas mais complexas e outras mais simples. Seqüências simples repetidas (SSR), mais tarde denominadas também de “microssatélites”, consistem de pequenas seqüências com 1 a 6 nucleotídeos de comprimento, repetidas em tandem (Ferreira & Grattapaglia, 1998).

As seqüências de DNA que flanqueiam os microssatélites são, geralmente, conservadas entre os indivíduos de uma mesma espécie, permitindo seleção de *primers* específicos que amplifiquem, via PCR, fragmentos contendo o DNA repetitivo em todos os genótipos (Borém & Caixeta, 2006). A detecção das seqüências amplificadas é feita em gel de poliacrilamida ou agarose de alta resolução e 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 tratamento com brometo de etídio, usando prata ou também a auto-radiografia, quando se utilizam *primers* marcados com radioisótopos na reação de PCR. Cada loco 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. Neste método de genotipagem, denominado multiplex, emprega-se mais de um par de *primers* específicos na reação de PCR (Teixeira, 2004).

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 a discriminação de genótipos e para estudos de genética de populações.

A maior limitação do uso de microssatélites é o desenvolvimento dos marcadores, pois se trata 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 (Yu et al., 2000; Gaitán-Solís et al., 2002; Blair et al., 2003; Yaish et al., 2003), o que torna possível a sua utilização para a espécie.

2.2.3 Mapeamento e identificação de QTLs

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 se encontram 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.

Um aspecto importante na detecção de QTLs por meio de marcadores genéticos é a necessidade de que a população sob estudo esteja em desequilíbrio de ligação, para que se possa verificar se há ocorrência de ligação genética entre marcadores e QTLs. Caso contrário, os alelos dos locos marcadores e dos poligenes ocorrem em combinações aleatórias e os poligenes não são detectados. Tanksley (1993) comenta que, por essa razão, é necessária a geração de populações especiais, como retrocruzamentos, F_2 , F_3 e linhagens recombinantes. O problema é que, no caso das autofecundações sucessivas (linhagens recombinantes), existe menor desequilíbrio de ligação, devido à maior oportunidade de recombinação meiótica (Burr & Burr, 1991). No entanto, Bearzoti (2000) comenta que, em espécies autógamas, o desequilíbrio de ligação dissipa-se com uma taxa lenta, tendo um limite diferente de zero. Apesar de haver menos desequilíbrio de ligação, tem-se maior vantagem pelo fato de as linhagens endogâmicas poderem ser multiplicadas e retestadas, obtendo-se médias mais precisas da característica quantitativa (Tanksley, 1993). Este aspecto pode constituir uma vantagem no tocante à utilização de populações compostas de linhagens recombinantes, bem como à utilização de marcadores moleculares no melhoramento de plantas autógamas (Schuster & Cruz, 2004).

A neutralidade fenotípica dos marcadores moleculares não só facilita a detecção de ligação entre o marcador segregante e o poligene mas também constitui uma maneira não tendenciosa de se estimar os efeitos fenotípicos de cada poligene, sem interferência do loco marcador (Tanksley, 1993).

Antes de se iniciar um estudo de mapeamento e identificação de QTLs para um dado caráter, é necessário planejar o estudo, no intuito de definir os genitores, a geração utilizada, o tamanho da população segregante, o marcador

empregado, o grau de saturação do mapa, a metodologia para mapeamento e identificação de QTLs e, ainda, como será avaliada a característica quantitativa.

A capacidade de detectar um QTL é uma função da magnitude do seu efeito sobre a característica, do tamanho da população segregante avaliada, da frequência de recombinação entre o marcador e QTL, bem como da herdabilidade da característica e da interação genótipos x ambientes. Evidentemente, quanto maior o efeito, o tamanho da população e a herdabilidade, e mais próximo o marcador e o QTL, mais fácil será a sua detecção (Ferreira & Grattapaglia, 1998; Lanza et al., 2000; Schuster & Cruz, 2004).

Segundo Tanksley (1993), QTLs de pequeno efeito podem ser detectados por marcadores moleculares, porém, devem ser considerados o percentual de recombinação entre o marcador e o gene de interesse, o tamanho da população, a herdabilidade do caráter e o critério de probabilidade para declarar a sua existência. Uma vez usada alta probabilidade, diminui não só a chance de detectar QTLs que não existam, mas também daqueles de pequeno efeito.

A associação entre marcador e QTL pode ser avaliada utilizando-se uma, duas ou mais marcas simultaneamente. Na análise de marca simples, a distribuição dos valores do caráter é examinada separadamente para cada loco marcador. Assim, cada teste é realizado independente da informação dos outros locos e, desse modo, um cromossomo com t marcas provê t testes de marcas simples. Esse tipo de análise é, geralmente, uma boa opção quando o objetivo é simplesmente a detecção de QTLs ligados à marca em detrimento da estimação da posição e dos efeitos do mesmo (Schuster & Cruz, 2004).

No mapeamento por intervalo, proposto por Lander & Botstein (1989), as análises são realizadas considerando cada par de marcas adjacentes, resultando, então, em $t-1$ testes de associação QTL-marcador por cromossomos

com t marcas (um para cada intervalo). Essa metodologia de mapeamento oferece um incremento no poder de detecção de QTLs e estimativas mais precisas da posição e dos efeitos do mesmo.

Tanto o mapeamento por intervalo quanto as análises de marcas simples são viesadas quando múltiplos QTLs estão ligados ao intervalo/marca considerado. Em vista disso, Jansen (1993) e Zeng (1994) propuseram a técnica denominada mapeamento por intervalo composto que combina, em um único modelo, as técnicas de mapeamento por intervalo e regressão múltipla, no intuito de eliminar as influências de outros QTLs sobre o intervalo considerado (Silva, 2001).

Existe também a metodologia do intervalo composto expandido para múltiplos ambientes, que permite estimar a interação QTLs x ambientes. Essa interação ocorre quando há uma expressão diferencial dos QTLs em relação às mudanças ambientais ou quando há ausência de expressão do QTL em alguns dos ambientes avaliados (Santos, 2008). A interação QTLs x ambientes tem sido relatada em vários trabalhos para grande número de espécies, principalmente para caracteres quantitativos (Melo et al., 2004; Teixeira, 2004; Bento, 2006; Santos, 2008).

O método da análise de regressão linear apresenta aumento na probabilidade de detectar falsos QTLs (erro tipo I), que podem ser minimizados se for aumentado o nível de significância, reduzindo-se, porém, o poder de detecção (aumento do erro tipo II). Outra desvantagem desta metodologia, ressaltada por Ferreira & Grattapaglia (1998) e Lanza et al. (2000), é a dificuldade de discernimento entre a magnitude do efeito do QTL e o percentual de recombinação entre marca e QTL, isto é, um QTL de pequeno efeito e fortemente ligado ao marcador e um de grande efeito com alto percentual de recombinação com a marca não podem ser adequadamente discernidos.

Em estudos de simulação feitos por Ferreira (1995), ficou evidenciado

que a análise de regressão linear múltipla, utilizando-se o processo de seleção de marcadores (*backward*), foi o método mais eficiente para a estimação dos efeitos genotípicos associados aos marcadores e mapeamento dos QTLs.

Foram comentados aqui somente os principais métodos de mapeamento de QTLs, existindo, ainda, outros métodos que são utilizados em menor frequência.

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 deles 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 característica já estão fixados.

Outro problema é o fato de a maioria dos QTLs explicar pequena parcela da variação fenotípica. Em um levantamento feito por Bernardo (2002), 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.

Certamente, a principal causa dessa dificuldade é a forte interação QTLs por ambientes, que corresponde a uma expressão diferencial dos QTLs em relação às mudanças ambientais ou quando há uma ausência de expressão do QTL em alguns dos ambientes avaliados, relatada em várias espécies (Melo et al., 2004; Teixeira, 2004; Bento, 2006; Santos, 2008).

Resultados sobre a detecção do efeito da interação QTLs x ambientes são controversos na literatura. Beavis et al. (1991) encontraram poucos QTLs em comum entre quatro populações de milho diferentes. Por outro lado, Lee et al. (1991) encontraram 7 QTLs para resistência à broca do milho, dos quais quatro mapearam em regiões previamente identificadas em experimentos independentes. Stuber et al. (1992) encontraram pouca evidência de interação QTLs x ambientes para a produtividade de milho, uma característica que, geralmente, apresenta interação significativa. Por outro lado, Paterson et al. (1991) identificaram 29 QTLs associados a uma série de características quantitativas avaliadas em 3 ambientes. Destes, apenas 4 eram comuns aos 3 ambientes, 10 em dois ambientes e os outros 15 se expressaram especificamente em cada ambiente.

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

Santos et al. (2008) mapearam QTLs para duas populações de testecrosses (TC1 e TC2) de milho em diferentes níveis de acidez do solo, na primeira população foram encontrados 20 e, na segunda, 39 QTLs para a produção de grãos. Do total de QTLs mapeados, 80% (16 QTLs) nos TC1 e

84,62% (33 QTLs) nos TC2 apresentaram interação QTLs x solos significativa, indicando que houve grande número de QTLs que interagiram com solos, mostrando novamente a interação entre QTLs e ambientes.

Em feijão, também existem alguns relatos da ocorrência da interação QTLs x ambientes, incluindo o peso de 100 sementes e, principalmente, a produtividade de grãos (Melo et al., 2002, 2004; Teixeira, 2004).

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, a interação não é problema exclusivo da seleção com marcadores e, sim, deve ser considerada sob qualquer forma de seleção artificial (Ferreira & Grattapaglia, 1998).

2.2.5 Seleção assistida por marcadores moleculares

Um método para integrar a genética molecular com a seleção artificial, com o objetivo de aumentar a eficiência do melhoramento, é conhecido como seleção assistida por marcadores (SAM), ou seja, a associação da seleção fenotípica com informações de marcadores (Lande & Thompson, 1990).

No melhoramento assistido por marcadores moleculares, existem inúmeros trabalhos abordando a seleção de genitores, a predição de heterose em cruzamentos, a alocação de genótipos em grupos heteróticos e a seleção assistida. Os resultados variam de concretos e positivos a controversos e pouco significativos, em termos de ganhos genéticos, econômicos e de eficiência, quando comparados com a seleção fenotípica.

Na implementação da seleção assistida, deve-se considerar que o gene/QTL que controla a característica de interesse já foi previamente identificado, ou mapeado, e que existem marcadores que permitem monitorar a presença dos alelos favoráveis. Além disso, alguns aspectos devem ser levados em conta, como a natureza genética da característica (quantitativa ou

qualitativa), o modo de ação gênica (aditividade, dominância ou recessividade), o efeito do gene na expressão do fenótipo, a complexidade da avaliação fenotípica e a eficiência com que o marcador discrimina a característica (Morris et al., 2003). Assim, podem ser listadas algumas situações em que a seleção assistida torna-se particularmente estratégica: quando a determinação do fenótipo é complexa e ou possui custos elevados, em situações que requerem a destruição da planta (resistência de nematóide-de-cisto em raiz), que requerem quarentena ou quando se objetiva introduzir várias características simultaneamente. Além disso, em situações em que a análise fenotípica necessita ser realizada em fase vegetativa avançada (grãos e frutos), a seleção assistida em fases juvenis pode resultar em redução significativa de tempo. Como a seleção fenotípica dos caracteres de baixa herdabilidade somente se torna eficiente em gerações mais avançadas porque requer maior número de indivíduos para serem avaliados, a SAM pode contribuir para aumentar o ganho. Também, quando a característica é expressa em somente um sexo, a seleção assistida pode ser realizada em ambos os sexos, maximizando os ganhos com a seleção.

2.2.6 Seleção assistida no melhoramento de características quantitativas

Potencialmente, o maior impacto da seleção assistida por marcadores é esperado para características quantitativas. Seleção indireta com base em marcadores deve ser avaliada considerando-se, simultaneamente, intensidade de seleção, herdabilidade, correlações genéticas, duração de uma geração de melhoramento (seleção e recombinação) e o custo de cada alternativa, caso a caso (Ferreira & Grattapaglia, 1998). No caso de características quantitativas, o sucesso da seleção assistida depende da precisão na detecção dos QTLs e da proporção da variância explicada pelos marcadores.

Características quantitativas são controladas por grande número de genes e sofrem grande influência do ambiente. Por esse motivo, para que um

programa de seleção assistida por marcadores possa ser executado, é necessário obter um mapa de ligação saturado, em que os QTLs estejam identificados com elevada probabilidade estatística. A eficiência de seleção será tanto maior quanto mais próxima for a ligação entre os marcadores moleculares e os QTLs. A seleção utilizando marcadores flanqueando o QTL também é mais eficiente do que a seleção utilizando um único marcador. Edwards e Page (1994) utilizando simulação, obtiveram ganhos de seleção 38% superiores quando utilizaram marcadores flanqueando o QTL, em relação à seleção baseada em um único marcador e relativamente distante do QTL (20% de recombinação). Com 5% de recombinação entre os marcadores e o QTL, a vantagem foi de 11%.

Quando se utiliza um único marcador associado a um QTL, a eficiência de seleção é menor, pois um único evento de recombinação é suficiente para que plantas selecionadas pelo marcador não possuam o QTL. No caso de seleção utilizando os dois marcadores que flanqueiam o QTL, a probabilidade de selecionar uma planta que não possua o QTL é muito menor.

Dentre os efeitos que afetam a eficiência da SAM, a herdabilidade da característica-alvo talvez seja o mais importante, devendo, assim, nortear as decisões quanto ao uso da seleção assistida frente aos métodos tradicionais de melhoramento. Lande & Thompson (1990) modelaram a eficiência da SAM no melhoramento de uma característica única, em comparação aos métodos tradicionais de melhoramento. Observou-se que, para uma característica com h^2 igual a 1 (situação teórica em que toda a variância fenotípica deve-se a efeitos genéticos – efeito ambiental nulo), o fenótipo de um indivíduo prediz exatamente o seu valor genético, não havendo vantagem alguma em se utilizar a SAM em detrimento do melhoramento convencional. E, em valores mais baixos de h^2 , a eficiência da SAM pode superar aquela do melhoramento convencional, principalmente na situação em que uma fração significativa da variância aditiva é explicada pelos marcadores.

Novamente em um cenário teórico, quando toda a variância genética aditiva é explicada pelos marcadores, a eficiência da SAM passa a depender tão somente dos valores de herdabilidade, variando inversamente com eles. No entanto, deve-se notar que, quanto menores forem os valores de herdabilidade para uma dada característica, maior será a influência ambiental na variação fenotípica, reduzindo a precisão no mapeamento dos QTLs associados a ela. Assim, a estabilidade desses QTLs em diferentes ambientes passa a ser uma questão de grande significado prático. Ainda é importante notar que, para que os marcadores moleculares sejam altamente eficientes na seleção de características com herdabilidade baixa, tamanhos de população muitas vezes proibitivos podem ser necessários. Finalmente, em termos gerais, os autores sugerem que, quando a proporção da variância aditiva explicada pelos marcadores excede a herdabilidade da característica, as vantagens da SAM podem superar aquelas do melhoramento tradicional.

Para avaliar a eficiência da SAM para características quantitativas, vários autores têm utilizado modelos matemáticos baseados em escores moleculares que, para um dado indivíduo, correspondem à soma dos efeitos aditivos da característica associada aos marcadores (Moreau et al., 2004; Hospital et al., 1997; Lande & Thompson, 1990). Lande & Thompson (1990) 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 no âmbito 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 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, alta proporção da variação pode ser explicada pelos

marcadores (Lande & Thompson, 1990).

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).

Vários trabalhos foram realizados com o objetivo de comparar a eficiência da seleção assistida por marcadores moleculares (SAM) com a seleção fenotípica (SF).

Ferreira (1995), em estudos de simulação, observou que a eficiência da SAM reduziu com o avanço dos ciclos seletivos e, conseqüentemente, com a redução do desequilíbrio de ligação. Porém, quando foi considerado o ganho médio por ano, a resposta a SAM foi superior em 1,85 a 3,17 vezes ao ganho da seleção recorrente fenotípica, considerando todos os modelos genéticos simulados.

A SAM é mais efetiva em gerações iniciais de seleção entre progênies de cruzamentos derivados de linhas endogâmicas (Stromberg et al., 1994). Nessas gerações, a herdabilidade é baixa por causa do limitado número de repetições e o desequilíbrio de ligação é alto (Falconer, 1987).

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 predizer 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.

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_4 foi mais eficiente do que a seleção baseada no comportamento de testecross de S_2 .

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.

Moreau et al. (2004) compararam a SAM com a SF em três ciclos de seleção assistida e não encontraram eficiência da seleção assistida em relação à fenotípica. Os autores relataram que os QTLs selecionados no primeiro ciclo de seleção podem não ter se expressado nos ciclos posteriores de seleção devido à alta interação QTL x ambiente. Concluiu-se, então, que um melhor entendimento da arquitetura dos caracteres quantitativos é necessário antes de se praticar a seleção assistida por marcadores moleculares.

Yu et al. (2000) relatam que vários QTLs foram identificados para resistência ao crestamento bacteriano comum em feijoeiro. 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 BC420₉₀₀) 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 do da seleção convencional.

Liu et al. (2004), utilizando simulação de diferentes estratégias de seleção, observaram que a SAM não só permitiu elevados ganhos genéticos, mas também aumentou muito a frequência de genótipos superiores, quando comparada com a seleção fenotípica. A SAM foi eficiente ao longo de todas as

gerações, embora suas vantagens tenham diminuído com o avanço das gerações de autofecundação. Isso é esperado, pois, com o avanço das gerações de autofecundação, os locos vão sendo fixados, aumentando a eficiência da seleção fenotípica. Assim, combinando SAM nas gerações segregantes iniciais e seleção fenotípica nas gerações mais avançadas, pode-se obter maior eficiência nos programas de melhoramento.

Pereira (2006) comenta que as duas metodologias de seleção (SF e SAM) foram eficientes, sendo obtidos ganhos com a seleção nas duas situações. Porém, as estimativas de ganho com a seleção fenotípica (GSF) foram, na maioria dos casos, muito maiores do que as estimativas de ganho com a seleção assistida (GSAM), indicando 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. O autor concluiu que a eficiência da SF foi maior quando comparada à SAM para a produtividade de grãos, principalmente em função da pequena disponibilidade de marcadores de QTLs. Aumentando o número de marcadores, 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 a avaliação fenotípica mais precisa.

Como a interação QTLs x ambientes é o principal fator que afeta a SAM, Bernardo (2002) sugeriu três formas de utilizar os marcadores quando esse tipo de interação ocorrer: a interação QTLs x ambientes pode ser ignorada considerando apenas os QTLs estáveis nos diversos ambientes no melhoramento; a interação QTLs x ambientes pode ser reduzida dividindo-se os ambientes em subgrupos menos heterogêneos quanto às condições ambientais e, subsequentemente, estimar os QTLs específicos para cada subgrupo e a interação QTLs x ambientes pode ser explorada por meio da identificação de QTLs para somente um determinado ambiente. A primeira estratégia seria ideal

para os programas de melhoramento, visto que os QTLs mapeados poderiam ser utilizados em diversos ambientes simultaneamente. Porém, como visto anteriormente nos diversos trabalhos, a interação QTLs x ambientes é acentuada, principalmente em regiões tropicais. Assim, a segunda e a terceira estratégia podem ser as que permitirão maior resposta à seleção assistida por marcadores moleculares em regiões tropicais.

A escolha entre a seleção assistida ou convencional é uma decisão difícil em qualquer programa de melhoramento, uma vez que os parâmetros a serem avaliados, muitas vezes, não são facilmente comparáveis. Dentre os critérios a serem considerados estão a relação custo-benefício de cada estratégia e a disponibilidade de recursos técnico-financeiros para a execução delas. Portanto, a decisão acerca da adoção da SAM deve ser tomada com base nas peculiaridades genéticas e práticas de cada situação (Borém & Caixeta, 2006).

Os diversos exemplos apresentados confirmam os ganhos em vários aspectos da aplicação de marcadores moleculares em diferentes fases e processos do melhoramento genético. Certamente, existe igual proporção de trabalhos na literatura que apresentam resultados não-expressivos ou com ganhos inferiores da seleção assistida por marcadores. No entanto, esses resultados têm contribuições importantes para se levantar as causas do insucesso da metodologia aplicada e sugerir correções. Deve-se notar, entretanto, que a seleção assistida por marcadores e a seleção fenotípica tradicional não são estratégias excludentes e que a maior eficiência dos programas de melhoramento deverá ser atingida mediante uma combinação das duas estratégias.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Locais de condução dos experimentos

Os trabalhos foram conduzidos em três municípios (Lavras, Lambari e Ijaci) da região Sul de Minas Gerais. Em Lavras, foram na área experimental do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA) e na Fazenda Experimental da Fundação de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Extensão (FAEPE), ou fazenda Vitorinha, a 919m de altitude, nas coordenadas 21°15'S de latitude e 45°00'W de longitude. Em Lambari, os experimentos foram conduzidos na Fazenda Experimental da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (Epamig), a cerca de 887m de altitude, nas coordenadas 21°58' S de latitude e 45°21' W de longitude. Em Ijaci, foram conduzidos na Fazenda Experimental da FAEPE, a 832m de altitude, nas coordenadas 21°10' S de latitude e 44°55' W de longitude.

3.2 Material genético

Foram utilizadas 100 famílias $F_{3:7}$, obtidas por Pereira (2006) a partir do cruzamento envolvendo os genitores MAI 18.13 e Z-9. A linhagem MAI 18.13 tem grão tipo carioca, hábito de crescimento tipo III e resistência a algumas raças de *Pseudocercospora griseola*. A linhagem Z-9 possui grão tipo carioca, hábito de crescimento tipo III e é resistente às raças 81 e 89 de *Colletotrichum lindemuthianum*. A população foi selecionada para a obtenção de famílias porque os genitores possuem alta capacidade geral de combinação para produtividade de grãos, maior quantidade de marcadores polimórficos de QTLs da produção de grãos, grãos com padrão carioca e alta produtividade média.

3.3 Avaliação das linhagens no campo

As famílias foram avaliadas em seis experimentos, nos quais foi utilizado o delineamento látice triplo 10x10, com parcelas de duas linhas de dois metros. Em todos os experimentos foi avaliada a produtividade de grãos e em “Vitorinha”, na seca 2007 (F_{3:7}); em Lavras, no inverno 2007 (F_{3:8}) e em Lambari, nas águas 2007/2008 (F_{3:9}), foi avaliado o tipo de grão.

Em cada safra foram conduzidos experimentos em dois locais. Na safra da seca/2007, os locais foram Lavras e Ijaci, ambos em fazendas experimentais da FAEPE. Nas safras de inverno/2007 e águas 2007/2008, os locais foram Lavras, na área experimental do Departamento de Biologia da UFLA e Lambari, na fazenda experimental da Epamig.

Todos os experimentos foram conduzidos no sistema convencional de plantio e tiveram densidade de semeadura de 15 sementes por metro e o espaçamento entre linhas foi de 0,5m. Foi utilizada adubação na semeadura com 300kg/ha de 8-28-16 (N, P₂O₅, K₂O) e realizada também adubação de cobertura 20 dias após a emergência, utilizando 150kg/ha de sulfato de amônio. Os demais tratos culturais foram os comuns à cultura do feijoeiro, incluindo irrigações complementares por aspersão quando necessário.

Foram avaliadas as características tipo de grão e produção de grãos.

O caráter tipo de grão foi mensurado, por dois avaliadores, em apenas um dos experimentos de cada safra. As avaliações foram realizadas adotando-se uma escala descritiva de notas (Tabela 1), semelhante à proposta por Marques Júnior (1997), sendo 1 (tipo de grão mais aceito pelo mercado) e 5 (grão fora do padrão).

TABELA 1. Escala descritiva de notas utilizada para avaliação do tipo de grão, adaptada de Marques Júnior (1997).

Nota	Descrição
1	Grão com fundo de coloração creme-clara, sem halo, não achatado, tamanho médio (peso de 100 sementes aproximadamente de 25g)
2	Grão que difere do tipo 1 em apenas um dos aspectos
3	Grão que difere do tipo 1 em dois dos aspectos
4	Grão que difere do tipo 1 em três dos aspectos
5	Grão que difere do tipo 1 em todos os aspectos, portanto, fora do padrão

A produção de grãos foi mensurada em g/parcela e, posteriormente, foi realizada a transformação para kg/ha.

3.4 Análises estatísticas

As características avaliadas nos experimentos foram submetidas à análise individual de variância (ANAVA), 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 $i = 1, 2, 3, \dots, 100$; $k = 1, 2, \dots, 10$; $j = 1, 2, 3$;

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 considerado aleatório do tratamento i ;

e_{ijk} : efeito aleatório do erro experimental, da parcela que recebeu o tratamento i , no bloco k , dentro da repetição j , assumindo-se que os erros são independentes e normalmente distribuídos, com média zero e variância σ^2 .

As análises conjuntas por ambientes foram realizadas utilizando-se o programa SAS, versão 8.0, licenciado para o Departamento de Ciências Exatas da UFLA. Foi aplicado o teste de homogeneidade de variância de Bartlett, para certificar se os quadrados médios de erro efetivo das análises individuais eram homogêneos (Ramalho et al., 2005). O modelo considerado para análise conjunta foi o seguinte:

$$Y_{ijkl} = m + a_s + t_i + r_{l(s)} + b_{j(l)} + (ta)_{is} + e_{ijl(s)},$$

em que:

Y_{ijkl} : observação referente ao tratamento i no ambiente s , sendo $i = 1, 2, 3, \dots, 100$ e $s = 1, 2, \dots, S$

m : efeito da média geral;

a_s : efeito fixo do ambiente s ;

t_i : efeito aleatório do tratamento i ;

$r_{l(s)}$: efeito fixo da repetição l dentro do ambiente s ;

$b_{j(l)}$: efeito aleatório do bloco j dentro da repetição l e do ambiente s ;

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

$e_{ijl(s)}$: é o erro experimental, $e_{ijl(s)} \cap N(0, \sigma^2)$.

As estimativas dos componentes de variância dos caracteres foram obtidas utilizando-se as esperanças dos quadrados médios do tipo III, relacionadas na Tabela 2.

TABELA 2. Esperanças dos quadrados médios (EQM) para as análises conjuntas por local, por safra e na conjunta, envolvendo todos os ambientes (conjunta geral), feitas no SAS.

FV	E(QM) conjunta/local e E(QM) conjunta/safra	E(QM) conjunta geral
Tratamento	$\sigma_e^2 + 2,7273\sigma_{at}^2 + 5,4545\sigma_t^2$	$\sigma_e^2 + 2,7273\sigma_{at}^2 + 16,364\sigma_t^2$
Ambientes	$\sigma_e^2 + 3\sigma_{at}^2 + 10\sigma_{b/a/r}^2 + \sigma_{r/a}^2 + \sigma_a^2$	$\sigma_e^2 + 3\sigma_{at}^2 + 10\sigma_{b/a/r}^2 + \sigma_{r/a}^2 + \sigma_a^2$
Rep. (Ambientes)	$\sigma_e^2 + 10\sigma_{b/a/r}^2 + \sigma_{r/a}^2$	$\sigma_e^2 + 10\sigma_{b/a/r}^2 + \sigma_{r/a}^2$
Bloco (Amb x Rep)	$\sigma_e^2 + 6,6667\sigma_{b/a/r}^2$	$\sigma_e^2 + 6,6667\sigma_{b/a/r}^2$
Amb. x Trat.	$\sigma_e^2 + 2,7273\sigma_{at}^2$	$\sigma_e^2 + 2,7273\sigma_{at}^2$
Erro	σ_e^2	σ_e^2

σ_e^2 : variância do erro; σ_t^2 : variância entre os tratamentos; σ_{at}^2 : variância da interação entre os ambientes e os tratamentos; $\sigma_{b/a/r}^2$: variância dos blocos dentro das repetições e dentro dos ambientes; σ_a^2 : componente quadrático de ambientes; $\sigma_{r/a}^2$: componente quadrático da repetição dentro de ambientes .

Como o efeito de tratamentos foi considerado aleatório nas análises individuais realizadas para produtividade de grãos e tipo de grão, foi possível estimar a herdabilidade e seus respectivos intervalos de confiança e ganho com a seleção.

As estimativas da herdabilidade, para as análises de variância individuais, foram obtidas por meio das expressões:

$$h^2 = (QM_{tratamentos} - QM_{erro\ efetivo}) / QM_{tratamentos}$$

Os estimadores para o cálculo dos limites inferior (LI) e superior (LS) de herdabilidade foram, segundo Knapp, Stroup & Ross (1985), os seguintes:

$$LI = \{1 - [(QM_{tratamentos} / QM_{erro\ efetivo}) F_{1-\alpha/2; GL\ Erro; GL\ Tratamentos}]^{-1}\}$$

$$LS = \{1 - [(QM_{tratamentos} / QM_{erro\ efetivo}) F_{\alpha/2; GL\ Erro; GL\ Tratamentos}]^{-1}\}$$

em que:

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

A estimativa da herdabilidade e seus respectivos intervalos de confiança nas análises conjuntas foram obtidos de forma semelhante às análises individuais. Apenas foram substituídos, nas expressões, o quadrado médio (QM) do erro efetivo pelo QM da interação ambientes x tratamentos e os graus de liberdade do resíduo pelos graus de liberdade da interação (Tabela 2).

O ganho esperado com a seleção foi estimado por meio da seguinte expressão:

$$GS (\%) = ds \times h^2$$

em que:

ds: diferencial de seleção, sendo a diferença entre a média das famílias selecionadas, considerando-se uma intensidade de seleção de 5%, e a média geral do experimento;

h^2 : herdabilidade do caráter.

3.5 Análises com marcadores moleculares

A extração de DNA das 100 famílias foi realizada por Pereira (2006). Para verificar a existência de polimorfismo entre as famílias, foram realizadas reações de PCR, utilizando-se os genitores do cruzamento, com 480 marcadores microssatélites (SSR) disponíveis em (Bean Improvement Cooperative – BIC, 2008).

3.5.1 Análises com marcadores microssatélites - SSR

A genotipagem das 100 famílias $F_{3:7}$ foi realizada com oito marcadores SSR (Tabela 3), que apresentaram polimorfismo entre os genitores. Os *primers* foram sintetizados pela Invitrogen do Brasil. Na reação, foram usados 20 ng de DNA genômico, 100 μ M 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 $MgCl_2$, 10 μ g de BSA, 0,25% de Ficoll

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°C a 68°C de acordo com o *primer*; 1 minuto a 72°C para extensão de DNA; 25 ciclos que diferiram dos primeiros apenas na temperatura de anelamento de 52°C a 65°C 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 ultravioleta Fotodyne e fotografias em câmera digital Kodak. Foi utilizado também o gel de poliacrilamida a 6% para os fragmentos que não se separaram bem na agarose. Esses géis foram corados com prata e, em seguida, realizou-se a anotação de polimorfismo nas famílias, em que os *primers* codominantes receberam as numerações 1, 2 e 3, sendo 1 e 3 para cada um dos genótipos homozigotos e 2 para o genótipo heterozigoto. Para os *primers* dominantes foi dada a anotação 1 e 0, respectivamente presença e ausência de bandas.

TABELA 3. Marcadores polimórficos utilizados na genotipagem das famílias e suas respectivas temperaturas de anelamento (°C).

Sigla do marcador	<i>Primer</i>	T °C de anelamento
M1	X74919	60-58
M2	BM-156	58-60
M3	U77937	58-60
M4	BMd-28	60-58
M5	AZ301561.1	60-58
M6	PVM03TC116	65-52
M7	BM-152	58-60
M8	BMd-19	60-60

3.5.2 Análises de regressão linear *backward* para identificação de QTLs

Foram realizadas análises de regressão individuais e *backward*, para cada um dos oito marcadores, em cada experimento individualmente, por safra, por local e também para a análise envolvendo todos os experimentos (conjunta geral). As análises foram desenvolvidas utilizando-se o programa SAS, versão 8.0, licenciado para o Departamento de Ciências Exatas (DEX) da UFLA. No processo de *backward*, inicialmente, todos os marcadores foram colocados no modelo. O marcador de menor F parcial e que não apresentou significância ($P < 0,05$) foi eliminado. Os marcadores remanescentes constituíram um novo modelo, no qual o processo de eliminação de variáveis foi novamente realizado. O processo continuou até que todos os marcadores do modelo apresentaram F parcial significativo (Ferreira, 1995). Foram obtidas as estimativas de R^2_m (coeficiente de determinação obtido na análise de regressão múltipla *backward*) para utilização na expressão de ganho esperado com a seleção.

3.5.3 Seleção assistida por marcadores (SAM)

A partir da análise de regressão linear múltipla *backward*, envolvendo todos os experimentos, foi obtido um único marcador estável, que foi utilizado para realizar a seleção assistida por marcadores (SAM). O estimador do índice (I) para a seleção assistida foi calculado pela expressão (Lande & Thompson 1990):

$$I = b_z z + b_m m$$

em que:

b_z : herdabilidade da produtividade de grãos;

z : produtividade média de grãos de cada família;

b_m : coeficiente de determinação do marcador;

m : código do genótipo marcador para cada família.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Avaliação das famílias

Os resumos das análises de variância individuais relativos ao tipo de grão avaliado na safra da seca de 2007, inverno de 2007 e águas de 2007/2008, e análise conjunta, estão apresentados nas Tabelas 4 e 5, respectivamente. Os coeficientes de variação foram relativamente baixos, variando de 10,56% a 19,75%, o que indica boa precisão experimental, sendo semelhantes aos valores encontrados na literatura (Marques Júnior, 1997; Pereira, 2003; Silva, 2005; Silva, 2007).

Observa-se a existência de diferenças genéticas significativas ($P \leq 0,01$) entre as famílias em todas as safras, indicando a possibilidade de sucesso com a seleção para essa característica.

As estimativas de herdabilidade, com base nos dados de cada safra e na análise conjunta (Tabelas 4 e 5), assumiram valores intermediários, o que indica que o caráter sofre, relativamente, pouca influência não controlável, ocorrendo, assim, uma situação favorável para realizar a seleção. Além disso, em razão dos genitores possuírem tipos de grãos próximos do ideal, é provável que a população tenha menos variação genética. Um detalhe importante é que os intervalos de confiança da herdabilidade foram sempre positivos, indicando que os valores encontrados para herdabilidade não são nulos, com 95% de confiança (Ramalho et al., 2005). Como as famílias avaliadas já se encontram em uma geração mais avançada, $F_{3:7}$, $F_{3:8}$ e $F_{3:9}$, elas apresentam, aproximadamente, 100% dos locos em homozigose, sendo consideradas uma mistura de linhagens. Com isso, a herdabilidade estimada equivale à herdabilidade no sentido restrito. Nesse caso, considera-se apenas a variância genética aditiva, aquela que é fixada

pela seleção, sendo, na maioria dos casos, a mais importante para os melhoristas (Ramalho et al., 2000).

A análise conjunta foi realizada, considerando-se as análises por safra, para que fosse estimado o ganho com a seleção. É importante lembrar que a estimativa do ganho com a seleção recebeu valor negativo devido à escala descritiva utilizada na avaliação, em que o melhor tipo de grão recebe a menor nota. O ganho com a seleção foi de -9,58%, mostrando que o tipo de grão pode ser melhorado com a seleção, obtendo-se ganhos expressivos. Vale ressaltar que os genitores já possuem tipos de grãos superiores, havendo, assim, a possibilidade de seleção de famílias com grandes chances de terem aceitação no mercado.

A interação ambientes x famílias foi não significativa, indicando que o comportamento das famílias foi coincidente nos ambientes avaliados, não havendo alteração da classificação das mesmas. Essa é uma situação favorável para a seleção e tem sido normalmente observada para tipo de grãos, que é pouco influenciado pelo ambiente (Silva, 2007). É importante lembrar, ainda, que, na análise conjunta envolvendo famílias e avaliadores, a interação foi não significativa.

Os resumos das análises de variância individuais para a produção estão apresentados na Tabela 6. Em todos os ensaios observaram-se diferenças significativas entre as famílias, mostrando a existência de variabilidade genética entre as famílias desta população.

Verificou-se também que, embora fosse avaliado um grande número de famílias em todos os experimentos, a eficiência do látice foi relativamente pequena, tendo sido superior a 10% em apenas um dos ambientes. Segundo Ramalho (2005), o delineamento em látice funciona como um seguro, se não for detectada eficiência, esse pode ser analisado como blocos casualizados. Então, a estratégia mais adequada é planejar o experimento adotando-se a estrutura látice.

TABELA 4. Resumo das análises de variância individuais para tipo de grão (nota de 1 a 5), nas safras da seca/2007, inverno/2007 e águas 2007/2008 e estimativas da herdabilidade no sentido amplo (h^2_a).

Fontes de variação	GL	QM					
		Seca/2007		Inverno/2007		Águas 2007/2008	
		Avaliador 1	Avaliador 2	Avaliador 1	Avaliador 2	Avaliador 1	Avaliador 2
Famílias	99	0,242**	0,325**	0,193**	0,229**	0,185**	0,180**
Erro	171	0,147	0,193	0,115	0,103	0,079	0,055
Média		2,51	2,23	2,10	2,35	2,41	2,22
CV (%)		15,23	19,75	16,10	14,38	11,63	10,56
h^2_a (%)		39,00	40,80	40,40	55,00	57,30	69,40
		(14,4 ^a -57,6 ^b)	(16,3 ^a -58,6 ^b)	(16,9 ^a -58,1 ^b)	(37,3 ^a -68,4 ^b)	(36,6 ^a -71,3 ^b)	(54,6 ^a -79,4 ^b)

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

^{a, b} Limite inferior (LI) e superior (LS) da herdabilidade, respectivamente, a 5% de probabilidade.

TABELA 5. Resumo da análise conjunta para tipo de grão, considerando-se as análises por safra, estimativa da herdabilidade e do ganho com a seleção (GS).

FV	GL	QM
Ambientes	2	1,082 **
Famílias	99	0,111 **
Ambientes*Famílias	198	0,042 ^{ns}
Erro	298	0,1153
Média		2,28
CV (%)		14,86
h ²		62,2 (47,3 ^a -73,4 ^b)
GS (%)		-9,58

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

^{a, b} Limite inferior (LI) e superior (LS) da herdabilidade, respectivamente, a 5% de probabilidade.

A precisão experimental, avaliada pelo coeficiente de variação (CV), foi considerada de média a baixa, variando de 15,84%, na avaliação realizada em Ijaci, na seca de 2007, a 33,73%, em Lavras, no inverno de 2007, apresentando um CV médio de 25,66% (Tabela 6). Deve-se mencionar que, na cultura do feijoeiro, além dos vários fatores experimentais, existem também os pós-colheita, como o manuseio das parcelas, que levam à menor precisão experimental (Souza et al., 2000).

Com relação às estimativas de herdabilidade no sentido amplo (h²_a) para a produção de grãos, elas foram altas quando comparadas com as estimativas normalmente relatadas para a cultura (Moreto, 2005; Parrela, 2006). Entretanto, as oscilações de magnitude foram também muito altas, refletindo os problemas de precisão dos dados e também da interação famílias por ambientes. Considerando a diversidade dos genitores, certamente uma parcela considerável das estimativas deve-se à variância genética entre famílias.

A produtividade média de grãos das famílias se manteve mais ou menos constante, com exceção do experimento de Ijaci, na safra da seca de 2007. Esse

fato já era esperado, uma vez que os experimentos conduzidos em Ijaci são irrigados por um pivô central, o que contribui sobremaneira para o aumento da produtividade, para maior uniformidade e precisão experimental, indicando a diversidade genética da produtividade das famílias.

O resumo da análise de variância conjunta para a produtividade de grãos está mostrado na Tabela 7. Foi constatada diferença significativa entre as famílias. Entretanto, como a interação famílias x ambientes também foi significativa, o comportamento das famílias não foi coincidente nos ambientes, certamente devido à alta sensibilidade dos genótipos às variações ambientais para o caráter. As interações famílias x locais e famílias x safras foram igualmente de elevada magnitude, representando, em vários casos, a maior parcela da variação da produção de grãos (Tabela 2A).

A estimativa da herdabilidade foi média e seu intervalo está compreendido entre valores positivos, indicando que as estimativas obtidas não são nulas, com 95% de confiança, revelando sucesso com a seleção das linhagens superiores para esse caráter.

Como visto para os caracteres tipo de grão e produção de grãos, foram obtidas estimativas do ganho com a seleção de, respectivamente, -9,58% e 7,43%, considerando-se uma intensidade de seleção de 5%. Porém, quando se realiza a seleção das cinco famílias superiores apenas para tipo de grão, o ganho indireto para produção reduz para 0,798%. E, quando se seleciona apenas para produção, o ganho indireto em tipo de grão reduz para -1,64%. Esses resultados podem acontecer quando a variação dos dois caracteres ocorre em sentido não desejado. A correlação fenotípica entre as médias dos dois caracteres foi -0,026. Como ela foi não significativa, há a possibilidade de seleção de famílias com fenótipos ideais para os dois caracteres. A seleção considerando ambos os caracteres é a decisão que deve ser tomada visando obter famílias com chances de virem a ser aceitas como cultivares.

TABELA 6. Resumo das análises de variância individuais para a produção de grãos (kg/ha), nas safras da seca/2007, inverno/2007 e águas 2007/2008, e estimativas de herdabilidade no sentido amplo (h^2_a).

Fontes de Variação	GL	QM					
		Seca/2007		Inverno/2007		Águas 2007/2008	
		Vitorinha	Ijaci	Lavras	Lambari	Lavras	Lambari
Famílias	99	4222506*	668018**	1438509**	456035*	1473410**	617043**
Erro	171	307764	269534	658076	332854	298645	380347
Média		2247,83	3276,85	2404,77	2089,75	2129,05	2331,60
ER (%) ¹		4,01	29,57	0,14	1,04	5,21	9,48
CV (%)		24,68	15,84	33,73	27,61	25,67	26,45
h^2_a		27,16	59,65	54,25	27,01	79,73	38,36
		(-2,7-49,2)	(43,1-71,8)	(35,5-68,1)	(-2,9-49,1)	(71,4-85,9)	(8,4-58,5)

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

^{a, b} Limite inferior (LI) e superior (LS) da herdabilidade, respectivamente, a 5% de probabilidade.

¹ Eficiência relativa do látex.

TABELA 7. Resumo da análise conjunta de variância para a produção de grãos (kg/ha) envolvendo todos os ambientes, estimativa da Herdabilidade no sentido amplo (h^2_a) e do ganho com a seleção (GS).

Fontes de variação	GL	QM
Famílias	99	1146088 **
Ambientes	5	57920034 **
Ambientes*famílias	495	699783 **
Erro	1026	356765
Média	2413,21	
CV (%)		24,75
h^2_a		38,94 (18,3 ^a -55,8 ^b)
GS (%)		7,43

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

^{a, b} Limite inferior (LI) e superior (LS) da herdabilidade, estimados a 5% de probabilidade.

Assim, uma das alternativas é escolher os cinco melhores tipos de grãos entre as dez famílias mais produtivas ou as cinco famílias mais produtivas entre os dez melhores tipos de grãos. No primeiro caso, o GS esperado para produção seria de 6,75% e o GS para tipo de grão de -3,83%. Considerando a alta exigência por cultivares com grãos tipo carioca, de cor bege e listras, ambos o mais claro possível, optou-se pela segunda opção. Nesse caso, os ganhos esperados com a seleção são de -8,20% para tipo de grão, e de 1,55% para a produção de grãos. As famílias selecionadas foram: 55, 60, 54, 49 e 81 (Tabela 1A).

4.2 Análise com marcadores moleculares

Foram testados cerca de 480 marcadores microssatélites, com os genitores do cruzamento, dos quais somente oito foram polimórficos. Essa baixa taxa de polimorfismo já era esperada, uma vez que, nos programas de melhoramento, como no presente caso, normalmente, são cruzadas linhagens superiores, selecionadas em programas anteriores, e também as melhores

cultivares já em uso (Fehr, 1987). Com essa prática, aumenta-se o grau de parentesco entre os materiais superiores utilizados como genitores e, como consequência, muitos desses cruzamentos geram populações segregantes com reduzida variabilidade. Além disso, o feijão é 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; Blair et al., 2006; Pereira et al., 2007).

Com os resultados da genotipagem da população, utilizando os marcadores polimórficos, realizaram-se as análises de regressão linear simples e regressão linear múltipla *backward*. Os resultados das análises de regressão linear simples para cada marcador e regressão linear múltipla com seleção de modelos pelo método *backward*, para a produção de grãos, se encontram nas Tabelas 8 e 9, respectivamente.

TABELA 8. Resumo das análises de regressão linear simples, considerando cada marcador separadamente, para produção de grãos, estimativa do coeficiente de determinação (R^2) e do efeito de uma substituição alélica (B_1).

Análise	Marcador	F	Pr>F	R^2	B_1
Seca/07 Ijaci	M1	10,32	0,0018	0,0999	174,64037
	M2	7,23	0,0085	0,0722	156,42185
	M5	5,20	0,0249	0,0529	133,01736
Conj Seca/07	M1	4,48	0,0369	0,0460	74,59743
	M2	11,29	0,0011	0,1082	120,58654
Inv/07 Lavras	M6	9,26	0,0030	0,0905	-246,02826
Conj Lavras	M6	4,67	0,0333	0,0478	-131,95185
Conjunta geral	M2	7,13	0,0089	0,0712	84,27443
	M3	5,35	0,0229	0,0442	81,98906

TABELA 9. Resumo das análises de regressão linear múltipla com seleção de modelo pelo método “*backward*” para produção de grãos, estimativas dos coeficientes de determinação (R^2) e do efeito de uma substituição alélica (B_1).

Análise	Marcador	F	Pr>F	R^2	B_1
Seca/07 Ijaci	M1 e M2	9,61	0,0002	0,1548	175,32788 e 157,27296
Conj Seca/07	M1 e M2	8,43	0,0004	0,1365	75,12616 e 120,95123
Conjunta geral	M2	7,13	0,0089	0,0712	84,27443

Os valores dos coeficientes de determinação (R^2) obtidos para os marcadores foram baixos, variando de 0,0442, para o marcador M3 na análise conjunta envolvendo todos os ambientes (conjunta geral), a 0,1548 na análise da seca de 2007 em Ijaci, considerando-se os marcadores M1 e M2 simultaneamente. Esses marcadores explicam uma parcela reduzida da variação fenotípica observada. Bernardo (2002) relatou que 72% dos QTLs mapeados em diversos estudos para caracteres quantitativos, como produção de grãos, explicaram menos de 10% da variação fenotípica.

Houve forte interação dos QTLs com os ambientes, o que pode ser verificado observando-se as análises de regressão individuais e *backward* (Tabelas 8 e 9). Em alguns locais não foi encontrado nenhum marcador explicando a variação na produção de grãos, como foi o caso das análises da seca de 2007 na “Vitorinha” e inverno de 2007 em Lavras. Entretanto, no inverno de 2007 em Lavras, a precisão experimental foi a menor (Tabela 6). Na safra das águas de 2007/2008 não foi encontrado, em nenhum dos locais, marcadores que explicassem a variação na produção de grãos. Esse fato pode ser explicado pela elevada interação QTLs x ambientes (Tabela 2A).

As magnitudes e as instabilidades dos QTL detectados estão de acordo com as observações de Melo et al. (2002), Teixeira (2004), Câmara (2006) e

Santos (2008) de que é relativamente muito difícil identificar um marcador estável para a produtividade de grãos que sofre grandes influências ambientais.

A análise de regressão múltipla com método de seleção de modelo *backward* mostrou no modelo final, da análise envolvendo todos os ambientes, apenas um marcador, o M2, que corresponde ao *primer* BM-156. Esse marcador foi utilizado na obtenção do índice para se realizar a seleção assistida.

A média das famílias selecionadas com base na seleção assistida foi 2837 kg/ha. Enquanto a média das famílias selecionadas com base na produção de grãos foi 2874 kg/ha. A diferença entre essas médias certamente ocorreu porque não foi obtido o DNA da família 8, o que impossibilitou sua participação na seleção assistida. Provavelmente essa família apresentaria o genótipo marcador para o alelo favorável, visto que ela apresentou a maior produtividade. Entre as cinco famílias selecionadas pela SAM (23, 16, 20, 13 e 66), as quatro primeiras apresentaram o genótipo marcador homozigoto para o alelo favorável e foram também as melhores famílias considerando-se a seleção para a produção de grãos (Tabela 1A).

Se tivesse realizado a seleção somente com base no marcador BM156, a estimativa do GS_{SAM} seria de 0,16%, obtido à semelhança do ganho fenotípico, apenas substituindo-se a h^2 pelo coeficiente de determinação desse marcador. Esse baixo valor pode ser explicado pelos seguintes fatores: 1) a estimativa do ganho com a seleção por marcadores seria obtida considerando-se apenas o marcador estável na análise conjunta envolvendo todos os ambientes. Consequentemente, cerca de 50% das famílias que o apresentaram seriam selecionadas e a intensidade de seleção seria de 50%. 2) foi verificado, ainda, que o QTL explica pouco da variação fenotípica, que pode ser devido à grande distância entre a marca e o QTL, ou pelo pequeno efeito do QTL na população utilizada, o que já havia sido relatado nos trabalhos feitos por Teixeira (2004), Rodrigues (2004) e Pereira (2006).

Visto que esses autores também identificaram o marcador BM156 ligado à QTL da produção de grãos, e que, no presente trabalho, ele foi identificado em mais de um ambiente (Tabelas 8 e 9) e utilizando-se uma população em geração mais avançada de autofecundação, quando o desequilíbrio de ligação tende a ser menor, há a possibilidade de o marcador estar mais próximo do QTL.

Vale ressaltar que entre as cinco famílias selecionadas com base na produção e tipo de grãos, quatro (54, 55, 60 e 81) apresentaram o alelo favorável do marcador.

5 CONCLUSÕES

Mesmo utilizando genitores já selecionados, houve variabilidade genética suficiente para se obter ganhos com a seleção.

A seleção fenotípica e a seleção assistida por marcadores foram equivalentes para a obtenção de famílias superiores em produtividade de grãos, pelo fato de ter sido utilizado apenas um marcador.

Houve acentuada interação de QTLs por ambientes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ABREU, A. de F. B. **Predição do potencial genético de populações segregantes do feijoeiro utilizando genitores inter-raciais**. 1997. 95p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

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.

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.

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.

BEAN IMPROVEMENT COOPERATIVE – BIC. **Genetics - Bean SSR Primers 2007**. Disponível em: <<http://www.css.msu.edu/bic>>. Acesso em: jul. 2008.

BEARZOTI, E. Mapeamento de QTL In: PINHEIRO, J. B.; CARNEIRO, I. F. (Orgs.) **Análise de QTL no melhoramento de plantas**. Goiânia: FUNAPE, 2000. p. 63-224.

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.

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.

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

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. **Hibridação Artificial de Plantas**. Viçosa: UFV, 1999. 546p.

BORÉM, A.; CAIXETA, E. T. **Marcadores Moleculares**. Viçosa, 2006, 374p.

BURR, B.; BURR, F. A.; Recombinant inbreds for molecular mapping in maize: Theoretical and practical considerations. **Trends in Genetics**, Oxford, v.7, n.2, p.55-60, Feb.1991.

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

CÂMARA, T. M. M. **Mapeamento de QTLs de caracteres relacionados à tolerância ao estresse hídrico em milho tropical**. 2006, 177 p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

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.

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, Jan.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. D.; PAGE, N. J. Evaluation of marker-assisted selection through computer simulation. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 88, n.3-4, p. 376-382, 1994.

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

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: Macmillian, 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.

FERREIRA, D. F. **Eficiência de métodos de mapeamento de locos quantitativos (QTLs) e da seleção assistida por marcadores moleculares através de simulação**. 1995. 210p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

FOUILLOUX, G.; BANNEROT, H. Selection methods in the common bean (*Phaseolus vulgaris*). In: GEPTS, P. (Ed.). **Genetic Resources of Phaseolus Beans: their maintenance, domestication, evolution and utilization**. Netherlands: Kluwer Academic, 1988. p.503-542.

- GAITÁN-SOLÍS, 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.
- HOSPITAL, F.; MOREAU, L.; LACOUDRE, F.; CHARCOSSET, A.; GALLAIS, A. More on the efficiency of marker-assisted selection. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 95, n. 8, p. 1181-1189, Dec. 1997.
- JANSEN, R. C. Interval mapping of multiple quantitative trait loci. **Genetics**, Bethesda, v. 135, n.1, p. 205-211, Sept. 1993.
- JINKS, J. L.; POONI, H. S. Predicting the properties of recombinant inbred lines derived by single seed descent. **Heredity**, Edinburgh, v. 36, n. 2, p. 253-266, Feb. 1976.
- 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.
- KNAPP, S. J.; STROUP, W. W.; ROSS, W. M. Exact confidence intervals for heritability on a progeny mean basis. **Crop Science**, Madison, v.25, n.1, p.192-194, Jan./Feb. 1985.
- 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.
- LANDER, E. S.; BOTATEIN, D. Mapping Mendelian factors underlying quantitative trait using RFLP linkage maps. **Genetics**, Bethesda, v. 121, n. 1, p. 185-199, Jan.1989.
- LANZA, M. A.; GUIMARÃES, C. T.; SHUSTER, I. Aplicação de marcadores moleculares no melhoramento genético. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 21, n. 204, p. 97-108, maio/jun. 2000.
- 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 SCHOOL, 27., 1991, Champaign, Il. **Proceedings...** . Champaign, 1991.

LIU, P. Y.; ZHU, J.; LU, Y. Marker assisted selection in segregating generations of self-fertilizing crops. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 109, n. 2, p. 370-376, July 2004.

MARQUES JÚNIOR, O. G. **Eficiência de experimentos com a cultura do feijão**. 1997. 180 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

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. 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. 2002.

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. 100p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

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.

MORETO, A. L. **Componentes de variância fenotípica em feijoeiro utilizando o método genealógico**. 2005. 75p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

MORRIS, M.; DREHER, K.; RIBAUT, J. M. Money matters (II): costs of maize inbred line conversion schemes at CIMMYT using conventional and marker-assisted selection. **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 11, n. 3, p. 235-247, Apr. 2003.

MSTAT-C. **Microcomputer statistical program**. Michigan: Michigam State University, 1983.

OLIVEIRA, L. B. de; RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. de F. B.; FERREIRA, D. F. 1996. Alternative procedures for parent choice em 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.

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.

PARRELLA, N. N. L. D. **Seleção de famílias de feijão com resistência à antracnose produtividade e tipo de grão carioca**. 2006. 50p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

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. 9-10, p. 987-993, set./out. 1987.

PEREIRA, H. S. **Seleção de linhagens de feijão tipo carioca com pirâmides de alelos de resistência à antracnose e outros fenótipos favoráveis**. 2003. 78p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

PEREIRA, H. S. **Seleção assistida por marcadores microssatélites para produtividade de grãos em feijoeiro**. 2006. 135p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

PEREIRA, H. S.; SANTOS, J. B. dos; ABREU, A. de F. B.; COUTO, K. R. Informações fenotípicas e marcadores microssatélites de QTL na escolha de populações segregantes de feijoeiro. **Pesquisa e Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.42, n.5, p.707-713, maio 2007.

RAMALHO, M. A. P.; FERREIRA, D. F.; OLIVEIRA, A. C. de.
Experimentação em genética e melhoramento de plantas. 2. ed. Lavras:
UFLA, 2005. 322p.

RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. de F. B.; SANTOS, J. B. dos.
Melhoramento de espécies autógamas. In: NASS, L.L.; VALOIS, A. C. C.;
MELO, I. S. de; VALADARES-INGLIS, M. C. (Ed.). **Recursos genéticos e
melhoramento:** plantas. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. p. 201-230.

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

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B. dos; SANTA CECÍLIA, F. C.;
ANDRADE, C. A. Seleção de progênes 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. dos; ZIMMERMANN, M. J. de O.
Genética quantitativa em plantas autógamas: aplicações ao melhoramento do
feijoeiro. Goiânia: UFG, 1993. 271 p.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B. dos; PINTO, C. A. B. P. **Genética na
agropecuária.** Lavras: UFLA, 2000. 472p.

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.

SANTOS, M. F. **Mapeamento de QTLs em testecrosses de milho com
diferentes testadores e níveis de acidez do solo.** 2008. 167p. Tese (Doutorado)
- Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

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, J. B. dos. Marcadores de DNA no melhoramento do feijoeiro. In: CONGRESSO NACIONAL DE FEIJÃO. “OPORTUNIDADES E DESAFIOS NA CADEIA PRODUTIVA DO FEIJÃO”, 8., 2005, Goiânia. **Anais...** Santo Antônio de Goiás, 2005. v.1, p. 1216-1222.

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

SILVA, D. V. F. **Seleção de Linhagens de feijoeiro tipo rosinha resistentes à antracnose, à mancha angular e de boa cocção.** 2007. 71 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SILVA, H. D. **Aspectos biométricos da detecção de QTL's (“Quantitative Trait Loci”) em espécies cultivadas.** 2001. 166p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

SILVA, M. G. de M. **Seleção de famílias superiores de feijoeiro com resistência à antracnose e mancha angular.** 2005. 80 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

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.

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

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. Biochemical and molecular markers in plant breeding. In: DUDLEY, J. W.; HALLAUER, A. R.; RYDER, M. (Org.) **Plant breeding reviews.** New York: J. Wiley, 1992.

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...** [S.l.]: American Seed Trade Association, 1986. p. 40-83.

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. Mapping polygenes. **Annual Reviews of Genetics**, Palo Alto, v. 27, p. 205-233, 1993.

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 em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

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.

YAISH, M. W. F.; VEGA, M. P. Isolation of (GA)_n 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.

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.

ZENG, Z. B. Precision mapping of quantitative trait loci. **Genetics**, Bethesda, v. 136, n. 4, p. 1457-1468, Apr. 1994.

ANEXOS

Página

TABELA 1A. Médias da produção de grãos (kg/ha) e do tipo de grão da análise conjunta envolvendo todos os ambientes.	58
TABELA 2A. Resultado das análises conjuntas por local e por safras.....	61

TABELA 1A. Médias da produção de grãos (kg/ha) e do tipo de grão da análise conjunta envolvendo todos os ambientes.

Tratamento	Produção	Tratamento	Tipo grão
17	1588,571	97	2,849
88	1769,897	74	2,789
86	1899,611	75	2,715
78	1945,893	27	2,670
91	1950,613	96	2,654
50	1953,915	94	2,623
3	1996,901	3	2,575
74	2055,69	67	2,552
40	2064,817	17	2,549
61	2067,249	22	2,542
11	2077,969	37	2,542
93	2083,661	95	2,511
21	2106,563	46	2,509
12	2112,749	44	2,507
62	2133,238	77	2,500
19	2142,09	35	2,473
70	2152,847	50	2,463
28	2160,101	14	2,460
82	2178,447	78	2,449
52	2178,758	18	2,437
83	2191,481	29	2,434
63	2198,006	8	2,429
87	2205,293	63	2,419
51	2205,714	85	2,418
34	2216,983	58	2,415
90	2223,531	6	2,378
27	2227,89	26	2,375
15	2243,188	73	2,375
4	2249,528	21	2,371
85	2275,644	43	2,363
7	2277,432	31	2,361
76	2289,818	79	2,361
72	2300,501	34	2,359

“...Continua...”

“TABELA 1A. Cont.”

77	2319,947	82	2,358
24	2329,639	66	2,357
32	2335,583	69	2,351
39	2338,301	62	2,338
44	2345,653	93	2,337
100	2347,65	100	2,319
79	2348,026	20	2,318
38	2350,744	84	2,317
92	2375,715	70	2,313
81	2387,697	59	2,311
75	2388,185	24	2,308
36	2399,354	42	2,307
42	2401,431	76	2,307
53	2403,944	90	2,294
43	2409,839	10	2,285
46	2426,589	64	2,282
60	2430,022	98	2,279
2	2430,214	9	2,274
10	2438,583	25	2,273
73	2451,353	2	2,270
6	2455,168	12	2,269
48	2468,078	45	2,269
67	2470,363	71	2,264
35	2473,553	33	2,256
18	2476,31	5	2,255
37	2480,129	19	2,241
49	2498,928	39	2,220
94	2499,097	51	2,217
45	2509,214	89	2,209
65	2520,033	57	2,206
95	2528,201	52	2,201
57	2530,071	47	2,198
1	2538,815	1	2,190
84	2546,124	23	2,186
22	2547	30	2,178

“...Continua...”

“TABELA 1A. Cont.”

64	2554,761	99	2,168
58	2563,868	65	2,165
89	2585,244	86	2,164
68	2585,706	53	2,161
29	2595,131	41	2,151
98	2595,589	15	2,145
54	2604,756	32	2,141
26	2616,639	28	2,134
55	2625,864	87	2,132
31	2636,593	38	2,126
33	2644,828	40	2,126
71	2650,219	11	2,124
59	2674,075	56	2,117
41	2674,829	83	2,117
5	2675,258	13	2,113
56	2679,397	68	2,105
80	2687,878	80	2,089
96	2689,361	36	2,078
69	2696,376	16	2,077
25	2699,913	91	2,076
97	2706,821	48	2,071
47	2719,494	61	2,068
14	2721,989	72	2,064
9	2782,703	81	2,055
99	2787,094	49	2,048
66	2790,558	4	2,045
30	2793,508	88	2,012
13	2810,371	54	2,010
20	2812,968	7	1,996
16	2867,39	60	1,923
23	2900,586	55	1,882
8	2977,033	92	1,854

TABELA 2A. Resultado das análises conjuntas por local e por safras.

Conjunta seca/2007						
Fontes de variação	GL		QM		F	
	FV	Testador	FV	Testador		
Locais	1	57,578	158832324	1261123	125,95	**
Repetição(Ambientes)	4	41,968	1431752	1005295	1,42	ns
Bloco(Amb*Rep)	54	342	759398	267605	2,84	**
Ambientes*Tratamento	99	342	500176	267605	1,87	**
Tratamento	99	99	492059	500176	0,98	ns
Erro	342		267605			
Média			2762,34			
CV (%)			18,73			
Conjunta inverno/2007						
Fontes de variação	GL		QM		F	
	FV	Testador	FV	Testador		
Locais	1	40,632	14885640	978308	15,22	**
Repetição(Ambientes)	4	27,441	2722884	616436	4,42	**
Bloco(Amb*Rep)	54	342	572887	485790	1,18	ns
Ambientes*Tratamento	99	342	814765	485790	1,68	**
Tratamento	99	99	909746	814765	1,12	ns
Erro	342		485790			
Média			2247,26			
CV (%)			31,02			
Conjunta águas 2007/2008						
Fontes de variação	GL		QM		F	
	FV	Testador	FV	Testador		
Locais	1	60,052	6153975	1219917	5,04	*
Repetição(Ambientes)	4	38,204	4923573	849243	5,8	**
Bloco(Amb*Rep)	54	342	671795	316898	2,12	**
Ambientes*Tratamento	99	342	653875	316898	2,06	**
Tratamento	99	99	1274381	653875	1,95	**
Erro	342		316898			
Média			2230,33			
CV (%)			25,24			

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

^{ns} Não significativo, a 5% de probabilidade, pelo teste de F.

“...Continua...”

“TABELA 2A. Cont.”

Conjunta Lavras						
Fontes de variação	GL		QM		F	
	FV	Testador	FV	Testador		
Safras	1	63,831	11403228	1493327	7,64	**
Repetição(Ambientes)	4	30,156	4184559	701226	5,97	**
Bloco(Amb*Rep)	54	342	622531	465139	1,34	0,066
Ambientes*Tratamento	99	342	1185230	465139	2,55	**
Tratamento	99	99	1495295	1185230	1,26	ns
Erro	342		465139			
Média			2266,91			
CV (%)			30,08			
Conjunta Lambari						
Fontes de variação	GL		QM		F	
	FV	Testador	FV	Testador		
Safras	1	48,441	8773713	1001964	8,76	**
Repetição(Ambientes)	4	36,048	3461897	764452	4,53	**
Bloco(Amb*Rep)	54	342	622151	337550	1,84	**
Ambientes*Tratamento	99	342	553469	337550	1,64	**
Tratamento	99	99	418772	553469	0,76	ns
Erro	342		337550			
Média			2210,68			
CV (%)			26,28			
Conjunta geral						
Fontes de variação	GL		QM		F	
	FV	Testador	FV	Testador		
Ambientes	5	187,01	57920034	1200978	48,23	**
Repetição(Ambientes)	12	108,91	3026069	823658	3,67	**
Bloco(Amb*Rep)	162	1026	668027	356765	1,87	**
Ambientes*Tratamento	495	1026	699783	356765	1,96	**
Tratamento	99	495	1146088	699783	1,64	**
Erro	1026		356765			
Média			2413,309			
CV (%)			24,75			

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)