

# ESTABILIDADE DE QTLs PARA PESO DE SEMENTE DO FEIJOEIRO EM DIFERENTES AMBIENTES, UTILIZANDO REGRESSÃO LINEAR MÚLTIPLA

Leonardo Cunha Melo<sup>1</sup>, João Bosco dos Santos<sup>2</sup> e Daniel Furtado Ferreira<sup>3</sup>

**Palavras-chave:** *Phaseolus vulgaris*, peso de sementes, interação QTLs por ambientes, marcadores RAPD.

## INTRODUÇÃO

O peso de 100 sementes é uma característica que serve como indicador do tamanho da semente, sendo considerado um componente primário da produtividade de grãos. Essa característica é controlada por poucos genes, o que leva a uma menor influência do ambiente e, conseqüentemente, à uma maior herdabilidade e maior facilidade de seleção quando comparado com produtividade de grãos.

Uma grande contribuição para as metodologias de mapeamento foi o uso de linhagens endogâmicas recombinantes. Trabalhar com populações permanentes para análise molecular é a situação ideal, e a utilização das linhagens recombinantes é a melhor estratégia, pois a multiplicação de genótipos permite estudos de interação QTLs x ambientes. Em feijoeiro, existem trabalhos que relatam a existência de forte interação de genótipos por ambientes para as principais características utilizadas no melhoramento dessa espécie.

Os objetivos desse trabalho foram identificar, em diferentes épocas e locais de cultivo, marcadores RAPD ligados a QTLs controladores do peso de sementes do feijoeiro e avaliar a existência de interação QTLs por ambientes.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 196 famílias (linhagens recombinantes) do cruzamento entre os genitores Carioca (conjunto gênico 3) e Flor de Mayo (conjunto gênico 6). As famílias foram avaliadas em duas épocas tradicionais de cultivo do feijoeiro nos anos de 1996, 1997 e 1998, na área experimental do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras, em Lavras, MG e na fazenda experimental da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG), em Patos de Minas, MG.

---

<sup>1</sup>Engenheiro Agrônomo, Doutor, Embrapa Arroz e Feijão, Caixa Postal 179, CEP 75375-000 Santo Antônio de Goiás, GO, Brasil. E-mail: leonardo@cnpaf.embrapa.br.

<sup>2</sup>Engenheiro Agrônomo, Doutor, Universidade Federal de Lavras (UFLA) - Dept. de Biologia, Caixa Postal 37, CEP 37200-000 Lavras, MG. E-mail: jbsantos@ufla.br.

<sup>3</sup>Engenheiro Agrônomo, Doutor, UFLA, Dep. de Ciências Exatas. E-mail: danielff@ufla.br.

Para a avaliação fenotípica das famílias, foram conduzidos sete experimentos (2 no inverno em Lavras, 1 no inverno em Patos de Minas, 2 na seca em Lavras e 2 na seca em Patos de Minas). Em todos os experimentos foi utilizado o delineamento experimental em látice quadrado (14 x 14) parcialmente balanceado, com duas repetições. O peso de semente de cada parcela foi obtido por meio da pesagem de uma amostra aleatória de 100 grãos sadios, e expressa em gramas.

Foram realizadas análises de variâncias individuais e conjunta considerando os efeitos das famílias como sendo aleatório. A partir dessas esperanças dos quadrados médios, foram estimadas, as variâncias genéticas e fenotípicas e alguns parâmetros genéticos (herdabilidade no sentido amplo, coeficiente de variação genética e o coeficiente b) entre as famílias, segundo Vencovsky & Barriga (1992). Para a herdabilidade foram estimados os limites inferior e superior dos intervalos de confiança, com coeficiente de confiança  $1-\alpha = 0,95$  (Knapp et al., 1985).

Foram utilizados 42 “primers” RAPD que geraram pelo menos uma banda polimórfica entre as famílias. Esses 42 “primers” amplificaram 92 bandas polimórficas. O teste de qui-quadrado ( $\chi^2$ ) dos 92 marcadores mostrou que 20 marcadores não apresentaram segregação mendeliana, e portanto tiveram que ser descartados. Dos 72 marcadores (bandas) restantes, nove foram descartados por apresentarem muitas observações perdidas, restando 63 para serem analisados.

Foi realizada uma análise de regressão múltipla envolvendo todos os marcadores que apresentaram segregação mendeliana para cada experimento individualmente, e também com as médias de cada local e época de cultivo separadamente, além da análise envolvendo as médias de todos os experimentos.

A análise de regressão linear múltipla dos marcadores foi realizada conforme procedimentos descritos por Edwards et al. (1987), que consideram os marcadores moleculares como variáveis independentes e as características fenotípicas como variáveis dependentes. Os marcadores de maior importância foram obtidos através de valores significativos do F parcial ( $p < 0,05$ ) e a porcentagem de variação explicada por eles foi estimada pelo coeficiente de determinação parcial.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **Avaliação fenotípica**

Devido à baixa variabilidade genética (Figura 1) da população para essa característica, as estimativas (Tabela 1) do coeficiente b e da herdabilidade no sentido amplo foram reduzidas em alguns experimentos (1, 3 e 7). Mas mesmo com a pequena divergência entre os genitores, e

consequentemente a baixa variabilidade da população, existiram situações (experimentos 2, 4 e 5) nas quais se observaram claras chances de sucesso com a seleção. Também pelo alto valor da estimativa da herdabilidade na análise conjunta (Tabela 2) ficou mais uma vez evidenciada a possibilidade de obter ganhos com a seleção.

A análise conjunta do peso de 100 sementes (Tabela 2) para épocas e locais de cultivo indicou existir interação significativa tanto para famílias x épocas quanto para famílias x locais. A correlação entre as médias das famílias nas duas épocas de cultivo foi de 0,70, e nos dois locais de 0,69, indicando que parte das interações para essa característica é do tipo complexa, mas que grande parte dessa interação é do tipo simples, ou seja, é devida às diferenças na magnitude de resposta e não no sentido da resposta das famílias à mudança de ambiente (Ramalho et al., 1993). No entanto, é importante que a avaliação das populações para essa característica seja realizada em vários locais e nas diferentes épocas de cultivo, pois algumas famílias podem apresentar comportamento específico para cada uma dessas situações.

Foi calculada a herdabilidade considerando todos os fatores do modelo como aleatórios, obtendo-se uma estimativa da herdabilidade (74,29%) totalmente livre do efeito da interação no cálculo da variância genética, o que evidenciou o grande efeito da interação na expressão fenotípica do peso de 100 sementes em feijoeiro.

Desta forma, em um trabalho de mapeamento de QTLs para essa característica deve-se procurar identificar tanto os QTLs que só se expressam em determinadas condições, quanto aqueles mais constantes, que se expressam na maioria dos ambientes

**Tabela 1.** Resumo das análises de variância e estimativas do coeficiente de variação genético (CVg), relação entre coeficiente de variação genético e ambiental (b) e herdabilidade no sentido amplo ( $h_a^2$ ) com seus limites inferior (LI) e superior (LS), para peso de 100 sementes (g) em sete experimentos.

Fontes de variação	QM							
	GL	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7
Trat. ajustado	195	14,61**	12,44**	13,55**	19,49**	17,07**	12,73**	20,57**
Erro efetivo	169	5,79	1,41	6,24	2,56	2,54	2,60	6,79
Média		24,88	22,61	20,53	27,85	25,50	25,56	26,70
CVe (%)		9,67	5,24	12,16	5,74	6,25	6,30	9,76
CVg (%)		8,44	10,04	9,30	10,44	10,57	8,80	9,83
b		0,88	1,91	0,76	1,82	1,69	1,40	1,01
$h_a^2$ (%)		60,37	88,66	53,95	86,86	85,12	79,58	66,99
LI ( $h_a^2$ )		47,00	84,84	38,41	82,43	80,10	72,69	55,86
LS ( $h_a^2$ )		70,46	91,55	65,67	90,21	88,91	84,77	75,39

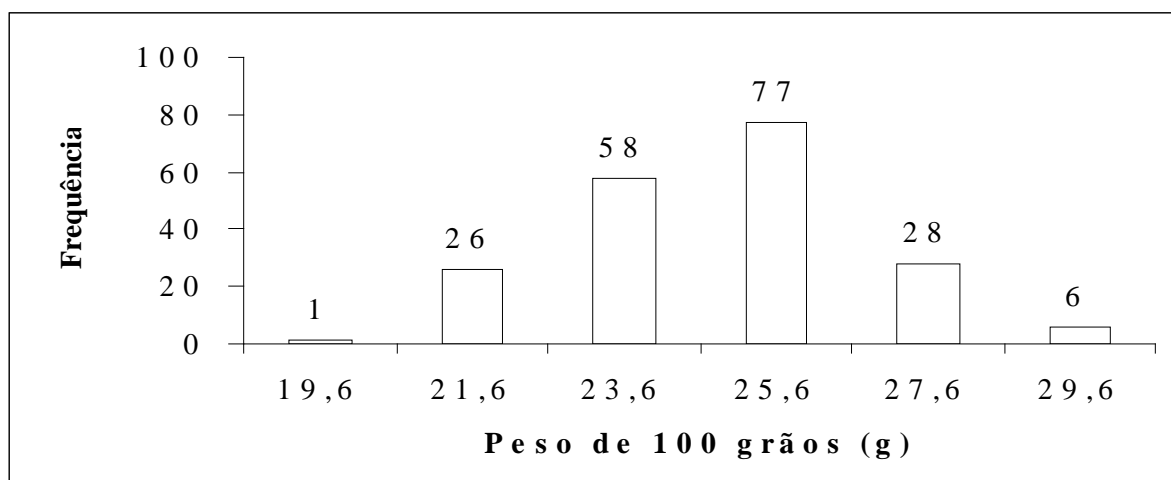
E1: experimento realizado em Lavras, geração F<sub>7</sub>, época de inverno, ano de 1996; E2: Lavras, F<sub>8</sub>, seca, 1997; E3: Patos de Minas, F<sub>8</sub>, seca, 1997; E4: Lavras, F<sub>9</sub>, inverno, 1997; E5: Patos de Minas, F<sub>9</sub>, inverno, 1997; E6: Lavras, F<sub>10</sub>, seca, 1998; E7: Patos de Minas, F<sub>10</sub>, seca, 1998. \*\*Significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F.

**Tabela 2.** Resumo da análise conjunta de variância e estimativas do coeficiente de variação genético (CVg), relação entre coeficiente de variação genético e ambiental (b) e

herdabilidade no sentido amplo ( $h_a^2$ ) com seus limites inferior (LI) e superior (LS) para peso de 100 sementes (g).

Fontes de variação	Graus de liberdade	QM
Locais (L)	1	646,20**
Épocas (E)	1	3339,3**
Famílias (F)	195	56,08**
F x L	195	10,80**
F x E	195	9,70**
F x L x E	195	6,08**
Erro médio	1183	3,99
Média		24,80
CVe (%)		8,05
CVg (%)		7,77
b		0,97
$h_a^2$ (%)		92,88 (74,29) <sup>a</sup>
LI ( $h_a^2$ )		91,11
LS ( $h_a^2$ )		94,21

\*\*Significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F. <sup>a</sup>Estimativa da herdabilidade considerando todos os fatores do modelo como aleatórios.



**Figura 1** Distribuição de frequência para o peso de 100 sementes das famílias do cruzamento Carioca x Flor de Mayo, na média de todos os experimentos.

### Análise de regressão linear múltipla

A análise de regressão conjunta (Tabela 3), considerando todos os experimentos, identificou três marcadores ligados a QTLs que controlam o peso de 100 sementes, todos no sentido de reduzir a expressão do caráter, e todos explicando menos de 4,5% da variação genética entre famílias. Os três marcadores em conjunto explicaram 9,79% dessa variação. O marcador (OPN-02<sup>1</sup>) novamente foi identificado como ligado a um QTL, indicando que realmente trata-se de uma ligação a QTL bastante estável, mas que possui pequeno efeito, ao contrário do, normalmente, relatado na literatura, que sugere que os QTLs de maiores efeitos são sempre os mais estáveis. No entanto, o critério de estabilidade

adotado por esse autor parece ser diferente do utilizado nesse trabalho, pois a autor considerou como estável, simplesmente, os QTLs que eram detectados nos diferentes ambientes e nesse estudo foram considerados estáveis os QTLs identificados em vários ambientes e que mantiveram seu efeito constante na maioria deles.

A interação observada de famílias com locais e com épocas de cultivo (Tabela 2), e também a pequena variabilidade (Figura 1) para esse caráter, explicam o pequeno número de marcadores estáveis e de grande efeito identificados nesse trabalho.

Considerando que o tamanho pequeno da semente é indesejável, a maioria dos QTLs identificados pelos marcadores não foi favorável para o melhoramento do peso de sementes, embora a seleção para ausência dos referidos marcadores possa auxiliar, apesar de com menor eficiência, na obtenção de genótipos com sementes maiores.

**Tabela 3.** Resumos das análises de regressões múltiplas para peso de 100 sementes utilizando o processo de Stepwise para seleção dos marcadores.

Marcadores	Estimativas dos Parâmetros	R <sup>2</sup> parcial	Erro padrão	Teste de t*
1 - LAVRAS - F7 – INVERNO – 1996				
Intercepto	24,88		0,63	39,80
OPE-20 <sup>1</sup> (1585 pb)	0,85	0,0362	0,38	2,22
OPM-06 <sup>1</sup> (1096 pb)	1,39	0,1254	0,39	3,55
OPN-07 <sup>3</sup> (1698 pb)	-1,39	0,06	0,42	-3,33
OPR-02 <sup>1</sup> (1230 pb)	0,92	0,0204	0,39	2,35
OPG-04 (1259 pb)	-1,25	0,0296	0,41	-3,06
OPN-02 <sup>2</sup> (436 pb)	-1,01	0,0337	0,40	-2,56
OPS-16 (640 pb)	0,88	0,0236	0,39	2,24
2 - LAVRAS, F8, SECA, 1997				
Intercepto	23,56		0,35	66,90
OPE-15 <sup>1</sup> (851 pb)	-1,00	0,0279	0,42	-2,41
OPO-19 <sup>1</sup> (1636 pb)	-0,85	0,0271	0,42	-2,05
3 - PATOS DE MINAS, F8, SECA, 1997				
Intercepto	21,90		0,43	50,48
OPE-20 <sup>2</sup> (891 pb)	-1,20	0,0312	0,46	-2,63
OPM-06 <sup>1</sup> (1096 pb)	-0,89	0,0393	0,43	-2,09
OPO-12 (1412 pb)	-1,56	0,0783	0,51	-3,05
OPH-03 <sup>3</sup> (1112 pb)	1,10	0,0272	0,50	2,19
4 - LAVRAS, F9, INVERNO, 1997				
Intercepto	58,11		0,50	116,57
OPE-20 <sup>2</sup> (891 pb)	-0,89	0,0271	0,43	-2,09
OPN-07 <sup>2</sup> (1445 pb)	1,07	0,0294	0,42	2,56
OPO-13 <sup>2</sup> (1318 pb)	-1,30	0,0361	0,44	-2,97
5 - PATOS DE MINAS, F9, INVERNO, 1997 - NENHUM MARCADOR IDENTIFICADO				
6 - LAVRAS, F10, SECA, 1998				
Intercepto	27,12		0,47	57,10
OPI-07 (631 pb)	-0,87	0,0254	0,44	-2,00
OPN-02 <sup>1</sup> (1445 pb)	-1,12	0,042	0,43	-2,62
continua...				
...continuação				
7 - PATOS DE MINAS, F <sub>10</sub> , SECA, 1998				
Intercepto	29,58		0,69	42,79
OPN-07 <sup>3</sup> (1072 pb)	-1,08	0,024	0,54	-1,99

OPD-08 (759 pb)	-1,31	0,0408	0,53	-2,47
OPN-02 <sup>1</sup> (1445 pb)	-1,24	0,0259	0,56	-2,23
OPS-13 <sup>2</sup> (1122 pb)	-1,60	0,0357	0,54	-2,99
MÉDIA – LAVRAS				
Intercepto	33,79		0,25	133,02
OPE-20 <sup>2</sup> (891 pb)	-0,47	0,037	0,22	-2,17
OPN-07 <sup>3</sup> (1072 pb)	-0,76	0,0726	0,22	-3,46
OPN-02 <sup>1</sup> (1445 pb)	-0,49	0,0265	0,23	-2,12
MÉDIA - PATOS DE MINAS				
Intercepto	25,90		0,45	57,39
OPN-02 <sup>1</sup> (1445 pb)	-0,69	0,028	0,41	-1,67
OPN-02 <sup>2</sup> (436 pb)	-1,23	0,0262	0,41	-2,97
OPS-13 <sup>2</sup> (1122 pb)	-1,12	0,0433	0,42	-2,65
MÉDIA - INVERNO				
Intercepto	36,14		0,27	136,29
OPM-06 <sup>1</sup> (1096 pb)	0,58	0,0317	0,25	2,29
OPN-07 <sup>3</sup> (1072 pb)	-0,75	0,0823	0,25	-2,96
MÉDIA - SECA				
Intercepto	24,60		0,32	77,23
OPN-02 <sup>1</sup> (1445 pb)	-0,95	0,0395	0,38	-2,47
MÉDIA - GERAL				
Intercepto	30,18		0,30	101,27
OPE-20 <sup>2</sup> (891 pb)	-0,51	0,0429	0,25	-2,01
OPN-07 <sup>3</sup> (1072 pb)	-0,56	0,0298	0,26	-2,20
OPN-02 <sup>1</sup> (1445 pb)	-0,64	0,0252	0,27	-2,34

\*significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de t.

## CONCLUSÕES

1. A interação de QTLs por ambientes é expressiva, mas existem QTLs de peso de 100 sementes com estabilidade em diferentes ambientes.
2. O marcador OPN-02 (1445 pb) é estável e promissor para utilização na seleção assistida por marcadores.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

EDWARDS, M.D.; STUBER, C.W.; WENDEL, J.F. Molecular-marker-facilitated investigations of quantitative trait loci in maize: Numbers, genomic distribution and types of gene action. **Genetics**, Bethesda, v.116, p.13-125, 1987.

KANAPP, 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, 1985.

RAMALHO, M.A.P.; SANTOS, J.B.; ZIMMERMANN, M.J. **Genética quantitativa em plantas autógamas**. Goiânia: UFG, 1993. 271p.

VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. **Genética biométrica aplicada no fitomelhoramento**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1992. 496p.