

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA

**MAPEAMENTO DE QTLs PARA TEOR DE PROTEÍNA
EM FEIJOEIRO-COMUM (*Phaseolus vulgaris* L.).**

ARIANE CASTRO MENDES LEÃO

Goiânia
2006

ARIANE CASTRO MENDES LEÃO

**MAPEAMENTO DE QTLs PARA TEOR DE PROTEÍNA
EM FEIJOEIRO-COMUM (*Phaseolus vulgaris* L.)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biologia, da Universidade Federal de Goiás, como requisito à obtenção do título de Mestre em Biologia Molecular e Celular.

Orientadora: **Profa. Dra. Monalisa Sampaio Carneiro**

Co-Orientador: **Dr. Leonardo Cunha Melo**

Goiânia
2006

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
GPT/BC/UFG

L576m Leão, Ariane Castro Mendes.
Mapeamento de QTLs para teor de proteína em feijoeiro-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) [manuscrito] / Ariane Castro Mendes Leão. - 2006.
99 f. : il., figs, tabs.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Monalisa Sampaio Carneiro; Co-orientador: Prof. Dr. Leonardo Cunha Melo.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás, Instituto de Ciências Biológicas, 2006.
Bibliografia.
Inclui lista de figuras e tabelas.
Anexos.

1. Melhoramento Genético 2. Feijoeiro-comum 3. QTLs – Proteína I. Título.

CDU: 633.35:631.528

Aos meus pais, José Wilson e Dinair Leão,

Aos meus irmãos, Janaina e Igor,

A minha sobrinha, Isis

Dedico

Aos meus avós, Cláudio e Rosair Castro,

A minha avó Olga Leão,

A Deus, por tudo

Ofereço

AGRADECIMENTOS

Ao PRODETAB, pelo financiamento do projeto;

À CAPES, pela bolsa de pesquisa;

À Universidade Federal de Goiás e à Embrapa Arroz e Feijão, pela estrutura de trabalho;

À Profa. Dr^a. Monalisa Sampaio Carneiro, pela orientação, paciência, amizade e exemplo de profissionalismo;

Ao Dr. Leonardo Cunha Melo, pela co-orientação e grande contribuição para a conclusão deste trabalho;

À Dr^a. Priscila Zackzuk Bassinello, pelo grande auxílio e apoio;

À Dr^a. Maria José Del Peloso, pela oportunidade;

Ao Prof. Dr. Sérgio Tadeu Sibov, pela colaboração e por ter sido sempre tão atencioso;

Ao Prof. Dr. Luiz Arthur Mendes Bataus, por contribuir com o aprimoramento deste trabalho;

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Biologia Molecular e Celular da UFG, pelo aprimoramento da minha formação acadêmica;

Aos funcionários da Escola de Agronomia e do Instituto de Ciências Biológicas, pelos auxílios prestados, em especial a Gleize e ao Wellington;

Aos colegas de curso, pelo convívio prazeroso;

Aos técnicos e colegas do Laboratório de Análises Físicas, Químicas e Tecnológicas da Embrapa Arroz e Feijão: Gláucia, Waldonete, Toninho, Silvio, Priscilla, Selma, Edmar, Gláucio e Suiane pelo auxílio sempre que precisei e agradável convivência;

Aos meus parceiros de pesquisa: Luciana, Fábio e Giselle, pela amizade, incentivo e apoio. Em especial a amiga Luciana por me ceder o mapa de ligação utilizado neste trabalho;

Às nobres amigas que conquistei durante as práticas do “nosso” Projeto Hubuntu;

A todos os meus amigos, pelo carinho, em especial à Bianca, Karine, Mayana e Mara Grisi;

Aos meus grandes amigos biólogos que me acompanharam nesta etapa, pela amizade e companheirismo, em especial ao Guilherme e Natália;

Ao amigo Leo Caetano pelos grandes auxílios em estatística;

À minha prima-irmã e cúmplice, Marcela Mendes, pelo companheirismo e sólida amizade em 25 anos;

À grande amiga “escravinha” Camila Chaves, por nunca me dizer não e ter me ajudado e incentivado sempre, inclusive nas madrugadas;

À toda minha família materna e paterna pela preocupação, torcida e amor;

Aos meus avós, Olga Leão, Rosair Castro e Cláudio Castro pelo carinho e cuidado;

Aos meus amados pais, José Wilson e Dinair Leão, aos meus queridos irmãos, Janaina e Igor, e a minha linda sobrinha Isis, pela inspiração, incentivo e torcida e oportunidade;

À todos que contribuíram de alguma forma para o êxito deste trabalho;

Sobretudo à Deus por ter colocado todas essas pessoas no meu caminho.

SUMÁRIO

Lista de Figuras	VI
Lista de Tabelas	VII
Resumo	VIII
Abstract	IX
1 INTRODUÇÃO	01
2 OBJETIVOS	04
2.1 OBJETIVOS GERAIS	04
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	04
3 REFERENCIAL TEÓRICO.....	05
3.1 FEIJOEIRO-COMUM.....	05
3.1.1 Importância Nutricional e Econômica.....	07
3.1.1.1 Produção.....	11
3.1.1.2 Consumo.....	13
3.1.1.3 Proteínas.....	16
3.1.2 Melhoramento Genético Molecular do Feijoeiro	20
3.2 CARACTERÍSTICAS QUANTITATIVAS	22
3.3 HERDABILIDADE	24
3.4 ABORDAGEM GERAL SOBRE DETECÇÃO DE QTLS.....	25
3.5 MÉTODOS DE ANÁLISE DE QTLS.....	31
3.5.1 Modelos Lineares	33
3.5.1.1 Análise de Variância para Mapeamento por Marcas Simples ...	34
3.5.2 Mapeamento por Intervalo (“Interval Mapping” ou “Flanking-marker Analysis”)	35
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	37
4.1 GERAÇÃO DE POPULAÇÕES SEGREGANTES E DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	37
4.2 AVALIAÇÕES FENOTÍPICAS	39
4.2.1 Preparo das Amostras.....	39
4.2.2 Análise Química para Teor de Proteína.....	39
4.3 ANÁLISES ESTATÍSTICAS DOS DADOS FENOTÍPICOS PARA A CARACTERÍSTICA PROTEÍNA.....	41

4.3.1 Estatística Descritiva e Histogramas de Distribuição de Frequência do Teor de Proteína.....	42
4.3.2 Herdabilidade no Sentido Amplo.....	43
4.3.3 QTL – Análise de Ligação.....	44
4.3.3.1 Análise de QTLs – Mapeamento por Marcas Simples.....	44
4.3.3.2 Análise de QTLs – Mapeamento por Intervalo.....	45
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	46
5.1 ESTATÍSTICA DESCRITIVA E HERDABILIDADE DO TEOR DE PROTEÍNA.....	46
5.2 QTL – ANÁLISE DE LIGAÇÃO.....	54
5.2.1 Análise de QTLs – Mapeamento por Marcas Simples.....	54
5.2.2 Análise de QTLs – Mapeamento por Intervalo.....	56
6 CONCLUSÃO.....	65
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	68
ANEXOS.....	84
Anexo A.....	85
Anexo B.....	90
Anexo C.....	94
Anexo D.....	98

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Histograma de distribuição da frequência de famílias da geração F_2 para teor de proteína (%) em feijoeiro-comum	47
Figura 2.	Histograma de distribuição da frequência de famílias da geração $F_{2:3}$ para teor de proteína (%) em feijoeiro-comum	50
Figura 3.	Mapeamento por intervalo de um QTL (<i>PROT1</i>) no grupo de ligação 1 do mapa estabelecido por Ferreira (2006) encontrado para teor de proteína para feijoeiro-comum na geração F_2 do cruzamento entre CNFC 7812 x CNFC 8056	59
Figura 4.	Mapeamento por intervalo de dois QTLs (<i>PROT2</i> e <i>PROT3</i>) na geração F_2 e um QTL (<i>PROT2*</i>) na geração $F_{2:3}$ no grupo de ligação 4 do mapa estabelecido por Ferreira (2006) encontrado para teor de proteína para feijoeiro-comum do cruzamento entre CNFC 7812 x CNFC 8056	60
Figura 5.	Mapeamento por intervalo de um QTL (<i>PROT4</i>) no grupo de ligação 7 do mapa estabelecido por Ferreira (2006) encontrado para teor de proteína para feijoeiro-comum na geração $F_{2:3}$ do cruzamento entre CNFC 7812 x CNFC 8056	62
Figura 6.	Mapeamento por intervalo de um QTL (<i>PROT5</i>) no grupo de ligação 11 do mapa estabelecido por Ferreira (2006) encontrado para teor de proteína para feijoeiro-comum na geração $F_{2:3}$ do cruzamento entre CNFC 7812 x CNFC 8056	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Composição nutricional aproximada de feijões e suas formas de utilização em 100 gramas de parte comestível (FAO, 2003)	09
Tabela 2.	Distribuição das frequências de classe da geração F_2 para teor de proteína (%) em feijoeiro-comum	46
Tabela 3.	Média, mediana, variância, desvio padrão e coeficiente de variação (C.V.) das famílias avaliadas na geração F_2 para a característica teor de proteína em feijoeiro-comum	47
Tabela 4.	Distribuição das frequências de classe da geração $F_{2:3}$ para teor de proteína (%) em feijoeiro-comum	49
Tabela 5.	Média, mediana, variância, desvio padrão e coeficiente de variação (C.V.) das famílias avaliadas na geração $F_{2:3}$ para a característica teor de proteína em feijoeiro-comum	49
Tabela 6.	Marcadores SSR e RAPDs detectados por meio de análise de variância ($P \leq 0,05$), que apresentaram associação significativa entre marcas e teor de proteína nas famílias da geração F_2 de feijoeiro-comum	54
Tabela 7.	Marcadores SSR e RAPDs detectados por meio de análise de variância ($P \leq 0,05$), que apresentaram associação significativa entre marcas e teor de proteína nas famílias da geração $F_{2:3}$ de feijoeiro-comum	55
Tabela 8.	Posição no mapa, critério de LOD, iterações e porcentagem da variância fenotípica explicada por cada loco dos grupos de ligação 1 e 4 do mapa estabelecido por Ferreira (2006) em feijoeiro-comum para a geração F_2	57
Tabela 9.	Posição no mapa, critério de LOD, iterações e porcentagem da variância fenotípica explicada por cada loco dos grupos de ligação 4, 7 e 11 do mapa estabelecido por Ferreira (2006) em feijoeiro-comum para a geração $F_{2:3}$	61

RESUMO

LEÃO, A. C. M. **Mapeamento de QTLs para teor de proteína em feijoeiro-comum (*Phaseolus vulgaris* L.)**. 2006. 99f. Dissertação (Mestrado em Biologia: Biologia Molecular e Celular) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2006. ¹

O feijão, além de se constituir um dos alimentos básicos da população brasileira, é um dos principais produtos fornecedores de proteína na dieta alimentar dos estratos sociais economicamente menos favorecidos. A identificação de marcadores moleculares ligados a genes controladores de teor de proteína em feijoeiro-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma importante ferramenta para auxiliar os programas de melhoramento, aumentando sua eficiência e agilidade. Desta forma, este trabalho foi realizado com os objetivos: a) mapear marcadores SSR e RAPD ligados aos locos gênicos (QTLs) controladores de teor de proteína em duas gerações de uma população segregante de feijoeiro-comum e b) comparar os processos de detecção dos marcadores ligados aos QTLs utilizando o método de ANOVA e o método de mapeamento por intervalo. Para tanto, foram utilizadas 94 famílias da geração F₂ e 90 famílias da geração F_{2:3} provenientes do cruzamento entre os genitores CNFC 7812 e CNFC 8056. Os resultados mostraram a possibilidade de identificar marcadores moleculares ligados ao teor de proteína em feijoeiro, utilizando ambos os métodos. O método de ANOVA identificou mais marcadores ligados a QTLs do que o processo de mapeamento por intervalo em ambas as gerações. Houve concordância entre os locos identificados pelos dois métodos para cada geração. Os locos que foram associados com o teor de proteína foram distintos para as gerações F₂ e F_{2:3}. Entretanto, houve uma detecção estável de uma região genômica do grupo de ligação 4, indicando um possível papel desta região do genoma do feijoeiro no controle do teor de proteína no grão. A proporção da variância fenotípica desta característica explicada pelos QTLs variou de 5,5% a 9,5%, considerando as duas gerações.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris* L., QTL, proteína bruta.

¹ Orientadora: Dr^a. Monalisa Sampaio Carneiro

ABSTRACT

LEÃO, A. C. M. **Mapping QTLs for protein content in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.)**. 2006. 99f. Dissertation (Master in Biology: Molecular and Celular Biology) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2006.¹

The common bean besides being one of the basic meals of brazilian's population, it is one of the main products that provide protein in the nutritional diet from the society share which is economically less favorable. The identification of molecular markers linked to controlling genes of the protein content in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) is a very important tool to help breeding programs, raising the efficiency and agility. This way, this work was made with two main goals: a) to map SSR and RAPD markers linked to loci (QTLs) that control protein content in two generations of a segregating population of common beans and b) to compare detection procedures of markers linked to QTLs using the ANOVA method and the process of interval mapping. For that reason, 94 families were taken from the F₂ generation and 90 families from the F_{2:3} generation derived from the cross of genitors CNFC 7812 e CNFC 8056. Results indicated that there is the possibility of identifying molecular markers related to protein content in common beans, utilizing both detection procedures. The ANOVA method identified a greater number of QTLs-linked markers than the process of interval mapping in both generations. There was coincidence between the identified loci obtained with the two methods for each generation. Loci that were associated with protein content were different for the F₂ and F_{2:3} generations. However, there was a stable detection of a genomic region of the linkage group 4, indicating a possible role of this region of the common bean genome in the control of seed protein content. The proportion of the trait's phenotypic variation explained by QTLs varied from 5,5% to 9,5%, considering both generation.

Key-words: *Phaseolus vulgaris* L., QTL, brute protein.

¹ Adviser: Dr^a. Monalisa Sampaio Carneiro

1. INTRODUÇÃO

O feijão é o legume comestível mais importante (Blair, 2003), representando 50% dos legumes cultivados e consumidos em todo o mundo (McClellan *et al.*, 2004). O Brasil é o segundo produtor mundial de feijoeiros do gênero *Phaseolus* e o primeiro na espécie *Phaseolus vulgaris*. A importância dessa produção deve-se a que o feijão, além de se constituir um dos alimentos básicos da população brasileira, é um dos principais produtos fornecedores de proteína na dieta alimentar dos estratos sociais economicamente menos favorecidos.

A obtenção de cultivares com características agronômicas desejáveis vem aumentando com o passar dos anos. Os programas brasileiros para o melhoramento genético do feijoeiro têm dado maior ênfase à obtenção de cultivares do grupo comercial Carioca pela grande demanda do mercado (Zimmermann *et al.*, 1996, citado por Lemos *et al.*, 2004).

O aumento da qualidade do feijão, em termos de aumento do teor de fibras e do teor de proteína, além da diminuição do tempo de cocção, fará com que haja um atrativo maior para seu consumo, remunerando melhor o pequeno agricultor, aumentando os investimentos em sua lavoura, e conseqüentemente aumentando a qualidade do feijão consumido em programas de merenda escolar e em programas de distribuição de cestas básicas, que atingem justamente a população brasileira mais carente. Como o Brasil é o principal produtor e consumidor mundial de feijão, o melhoramento genético desta cultura já vem tendo um importante impacto na cadeia produtiva, na distribuição de renda e na qualidade da alimentação da população, além de contribuir para a viabilização da

agricultura familiar (Embrapa, 2004). Estudos que visam o aumento do teor de proteína têm se tornado cada vez mais um dos principais objetivos no melhoramento da qualidade nutricional, pois o aumento na concentração de proteína no feijão irá agregar valor à cultura.

O melhoramento clássico tem sido responsável pelo aumento do potencial produtivo das cultivares modernas de feijão, através de programas para aumento da tolerância à seca e resistência à doenças. Entretanto, para atender de forma rápida e precisa às necessidades de aumento da qualidade de grão em feijão, necessita-se aprimorar as técnicas de melhoramento genético. Uma alternativa viável é a utilização de ferramentas moleculares que possibilitem a identificação das regiões genômicas que controlam estas características e fornecem a melhor estimativa da diversidade genética, pois são independentes de efeitos ambientais. Este conhecimento é extremamente importante para a orientação de cruzamentos nos programas de melhoramento, pois a introdução da variabilidade genética existente no gênero *Phaseolus* é fundamental para a obtenção de linhagens que sejam resistentes a amplo espectro de pragas e doenças, ao mesmo tempo em que haja o incremento da qualidade nutricional de grãos de variedades elite.

Entre as espécies reconhecidas como principais plantas cultivadas pela USDA (United States Department of Agriculture), o tamanho do genoma do *Phaseolus vulgaris* L. (450-650 MpB/genoma haplótipo – Bennett e Leitch, 1995, citado por Brondani *et al.*, 2005; 637 MpB - Arumuganathan & Earle, 1991, citado por Tar'an *et al.*, 2002) é pequeno e comparável ao do arroz (340 – 560 MpB/genoma haplótipo – Bennett *et al.*, 2000), o qual é geralmente considerado uma planta economicamente importante com o menor genoma (Broughton *et al.*,

2003). Citogeneticamente, o feijão ($2N=2X=22$) é um diplóide com 11 cromossomos (McClellan *et al.*, 2004).

Essas características facilitam a obtenção de marcadores moleculares distribuídos uniformemente ao longo dos cromossomos, o que aumentaria a possibilidade de detecção dos QTLs (*Quantitative Trait Loci*) que controlam os caracteres quantitativos, pois pode-se conseguir mapas genéticos altamente saturados (Melo *et al.*, 2002; Brondani *et al.*, 2005).

O desenvolvimento de mapas genéticos, seguido pela detecção de QTLs para o gênero *Phaseolus*, tem demonstrado a possibilidade de encontrar regiões envolvidas no controle tanto de caracteres de herança simples quanto complexa (Freire *et al.*, 2005; Tar'an *et al.*, 2002), possibilitando um maior entendimento do controle genético de caracteres de interesse e representando uma ferramenta para auxiliar na seleção de genótipos superiores (Melo, 2000; Grisi, 2006).

Este trabalho buscava mapear marcadores SSR (Simple Sequence Repeats, Litt & Luty, 1989; Weber & May, 1989) e marcadores RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*, Williams *et al.*, 1990) ligados a QTLs controladores de teor de proteína em duas gerações de uma população segregante de feijoeiro-comum, do grupo comercial Carioca, a partir de um mapa genético previamente desenvolvido (Ferreira, 2006).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivos Gerais

O objetivo deste trabalho foi mapear marcadores SSR (Simple Sequence Repeats, Litt & Luty, 1989; Weber & May, 1989) e RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*, Williams *et al.*, 1990) ligados a locos controladores da característica teor de proteína em duas gerações de uma população segregante de feijoeiro-comum, utilizando os métodos de mapeamento por marcas simples (ANOVA) e mapeamento por intervalo. Além disso, objetiva-se comparar estes métodos de detecção utilizados neste estudo.

2.2. Objetivos Específicos

- Representar complementos importantes a serem utilizados em programas de melhoramento desta espécie;
- Agregar valor ao produto;
- Fortalecer a cadeia produtiva do feijão;
- Complementar outros estudos promovendo uma ferramenta elaborada para os geneticistas de plantas para “desenhar” novas e melhoradas linhagens de feijão com maiores quantidades de aminoácidos essenciais;
- Melhorar a nutrição e saúde de pessoas de menor poder aquisitivo que consomem feijão.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. Feijoeiro-comum

O feijão faz parte da dieta de mais de 300 milhões de pessoas no mundo todo. É, portanto, uma leguminosa de grande importância econômica amplamente distribuída e cultivada no mundo todo, constituindo-se no alimento protéico básico na dieta diária do brasileiro (Barros *et al*, 2005). A quantidade equivalente a uma xícara de feijão fornece no mínimo metade da necessidade diária de ácido fólico, especialmente importante para gestantes. Também fornece 25 a 30% dos níveis recomendados de ferro, 25% de magnésio e cobre, e 15% de potássio e zinco (CIAT, 2001). O feijão é reconhecido como um alimento essencialmente vital para populações carentes, porque não existe fonte de proteína e calorias mais barata.

O feijoeiro-comum é uma leguminosa, autógama, com ciclo vegetativo variando de 61 a 110 dias e hábito de crescimento determinado ou indeterminado, pertencente ao gênero *Phaseolus* que compreende aproximadamente 55 espécies, das quais apenas cinco são cultivadas: o feijoeiro-comum (*Phaseolus vulgaris*); o feijão de lima (*Phaseolus lunatus*); o feijão Ayocote (*Phaseolus coccineus*); o feijão tepari (*Phaseolus acutifolius*); e o *Phaseolus polyanthus*. Todas essas espécies são diplóides com $2n = 22$. Entre essas espécies, o feijoeiro-comum é a mais cultivada no mundo (Da Silva *et al.*, 2006), ocupando mais de 85% da área total de cultivo das espécies do gênero *Phaseolus* no mundo (Singh, 2001, citado por Faria *et al.*, 2005). Os feijões silvestres apresentam variabilidades morfológicas, genéticas e fisiológicas, quando comparados com os feijões cultivados. Essas características são importantes na

busca de fontes de resistência ou tolerância a doenças, pragas e estresses abióticos.

Os relatos na literatura acusam a presença do feijão na mesa da humanidade desde os tempos mais remotos (Embrapa, 2005) e, até hoje, torna-se uma das fontes protéicas mais consumidas no mundo, principalmente na América Latina, Índia e África, onde as fontes de proteínas de origem animal são limitadas por razões econômicas, religiosas e culturais (Brigide, 2002). No Brasil, torna-se a leguminosa mais consumida por ser uma fonte rica em proteína, carboidratos, vitaminas, minerais e fibra (Lajolo *et al.*, 1996). A composição do feijão mostra que tanto o feijão carioca como o preto possuem qualidades nutritivas superiores, para a maioria dos nutrientes, em relação a outras leguminosas.

O feijoeiro foi domesticado há mais de 7.000 anos em dois centros de origem: Região Mesoamericana (México e América Central), e Região Andina (Gepts *et al.*, 1988; Chacón *et al.*, 2005; Blair *et al.*, 2006). Acredita-se que o feijão se desenvolveu, assim como o milho, provavelmente como invasor de campos cultivados com mandioca e batata doce na América Central. Há mil anos, os agricultores começaram o cultivo de misturas complexas de tipos de feijão, como uma salvaguarda à seca, doenças e ataques de insetos. Este processo produziu uma série genética quase ilimitada de feijões com uma variedade de cores, texturas e tamanho que atendem à demanda de condições de desenvolvimento e preferências de sabor em muitas regiões diferentes (CIAT, 2006).

Desde que foi domesticado, os produtores de feijão têm continuamente melhorado as variedades de feijoeiro através de um processo de seleção e troca

de materiais. O passo da mudança acelerou na década de 1930 quando o primeiro esforço organizado de melhoramento do feijão começou na Colômbia e no Brasil. Entre 1943 e 1961, foi executado o programa de modernização da agricultura mexicana que deu origem à chamada Revolução Verde (Benchimol, 1995). Na década de 1950, o México iniciou um dos programas de melhoramento regional mais fortes, com o apoio do Programa Agrícola da Fundação Rockefeller. Subsequentemente, muitos outros países, incluindo Chile, Peru e Guatemala estabeleceram programas de melhoramento (Johnson *et al.*, 2003).

3.1.1 Importância Nutricional e Econômica

As leguminosas constituem a terceira maior família de plantas superiores (Gepts *et al.*, 2005). Em conjunto com os cereais, foram responsáveis pela alimentação dos seres humanos por milhares de anos. Sabe-se que os grãos como lentilhas, grãos de bico, feijões e ervilhas faziam parte da dieta de civilizações antigas, como os egípcios, incas e astecas. Progressivamente, estas fontes de proteína foram sendo substituídas por produtos de origem animal, diminuindo sua participação na dieta dos povos, especialmente nos países industrializados.

A dieta de nível de subsistência de fazendeiros na África e América Latina freqüentemente contém carboidratos suficientes via ingestão de milho, arroz, etc., mas são pobres em proteínas. Dietas de proteínas podem ser obtidas de produtos animais (ovos, leite, carne, etc.), mas são geralmente derivadas de legumes, pois as fontes animais, consideradas melhores do ponto de vista de equilíbrio de aminoácidos e digestibilidade, são caras (Vieira, 1992).

Os legumes são vitais para a agricultura visto que formam associações simbióticas com bactérias formando nódulos e fixam nitrogênio atmosférico, que, posteriormente, com a decomposição da fitomassa se mineraliza (Mascarenhas *et al.* 1984, citado por Mascarenhas *et al.*, 1994). Esta característica possibilita à leguminosa, quando a sua semente é inoculada com a bactéria, uma situação de independência de adubação para suprir as exigências em nitrogênio (Mascarenhas *et al.* 1977, citado por Mascarenhas *et al.*, 1994), o mesmo não ocorrendo com a cana de açúcar (*Saccharum* spp.), gramínea que reage acentuadamente à aplicação do nitrogênio mineral (Espironelo *et al.* 1987, citado por Mascarenhas *et al.*, 1994). Efetivamente isto aumenta a fertilização do solo (sendo considerados adubos verdes) e é a principal razão dos legumes serem os mais ricos em proteínas que todas as outras plantas.

Existem centenas de espécies de legumes, mas os feijões são os mais consumidos. Em alguns países como México e Brasil, o feijão é a principal fonte de proteína na dieta humana (Jacinto-Hernandez *et al.*, 2003). Como metade dos grãos de leguminosas consumidos mundialmente é de feijão, este representa uma espécie que merece ênfase em estudos de melhoramento.

De acordo com a bromatologia (ciência que estuda os alimentos), o feijão comum fornece de 10 a 20% de uma série de nutrientes que um adulto necessita. Cada 100g de feijão contém cerca de 350 Kcal; os estudos nutricionais realizados pelos pesquisadores da Embrapa Arroz e Feijão mostraram a influência do feijão como importante fonte básica de energia e proteínas. São incluídas também outras substâncias nutritivas como minerais, vitaminas, ferro, fósforo, magnésio, manganês e, em menor grau, zinco, cobre, cálcio e fibras alimentares, além de

baixa quantidade de gordura e outras substâncias funcionais, ainda pouco conhecidas e estudadas (Embrapa, 2006).

Devido a sua composição (Tabela 1), o feijão proporciona vários benefícios à saúde, sendo indicado na prevenção de várias doenças que vão desde o controle de obesidade até câncer, suprimindo as principais recomendações dietéticas para a boa saúde (Brigide, 2002, Luthria *et al.*, 2005, 2006).

Por conta de todos estes fatores, o Ministério da Saúde aconselha comer feijão quatro vezes por semana. Cozido, ele é considerado uma das melhores fontes vegetais de vitaminas do complexo B, em especial o ácido fólico que contribui na revitalização celular, além de combater à anemia e à insuficiência cardiovascular (Embrapa, 2006).

Tabela 1. Composição nutricional aproximativa de feijões e suas formas de utilização em 100g de parte comestível (FAO, 2003).

Feijão	Água (%)	Energia (kcal)	Proteínas (g)	Gorduras (g)	Ca (mg)	Fe (mg)
Feijão, seco	12	320	22	1,5	120	8,2
Feijão-congo, seco	10	310	20	1,3	160	5
Feijão-frade, grão seco	11	320	23	1,4	80	5
Feijão-frade, grão fresco, cru	89	39	3,7	0,6	54	1,4
Feijão, rebentos crus	64	130	13	0,8	110	8,2
Feijão-frade, folha fresca, crua	85	45	4,7	0,3	255	5,7
Feijã-frade, folha seca, crua	10	270	28	1,8	1500	35

O feijoeiro (*Phaseolus spp.*) é a cultivar mais antiga do novo mundo. Junto com o milho, foi à base da alimentação primitiva dos povos incas, astecas e maias

e assim têm sido um produto básico dominante em baixas e médias altitudes das Américas por milênios. O feijoeiro é extremamente diverso em termos de métodos de cultivo, uso, de vários ambientes que se adaptou, e variabilidade morfológica. É encontrado do nível do mar até 3000 m acima deste nível, é cultivado em monocultura, em associações, ou em rotações. O feijoeiro é consumido desde grãos maduros, como sementes imaturas, assim como folhas e vagens. Suas fontes genéticas existem como um complexo arranjo de pools gênicos, raças e tipos intermediários, com introgressão ocasional entre tipos domesticados (Broughton *et al.*, 2003).

Os feijões são ricos em fibras solúveis, as quais têm sido comprovadamente responsáveis por reduzir os níveis de colesterol e de açúcar no sangue em seres humanos, e auxiliam na prevenção do câncer de cólon. Além dos carboidratos componentes da fibra e dos carboidratos digeríveis (amido e sacarose), encontram-se no feijão alguns oligossacarídeos (rafinose, estaquiose, verbascose), os quais são os principais responsáveis pela produção de gases e flatulência nas pessoas (Bassinello, 2005).

Apesar do feijão ser um dos alimentos tradicionais da dieta do brasileiro, é um produto que perde rapidamente o valor comercial após a colheita, por causa, principalmente, da diminuição da capacidade de reidratação, do aumento do tempo necessário de cozimento e do escurecimento do tegumento (Sawazaki *et al.*, 1985; Bressani, 1989; Iadaroza *et al.*, 1989, citados por Lemos *et al.*, 2004). Por esta razão, é importante avaliar características agrônômicas (como produtividade de grãos, índice relativo de produtividade de grãos, número de vagens/planta, número de grãos/vagem e massa de 100 grãos) e tecnológicas

(como teor de proteína bruta, tempo de cozimento, capacidade de hidratação) em estudos de melhoramento genético do feijoeiro (Lemos *et al.*, 2004).

3.1.1.1 Produção

Atualmente, a cultura de leguminosas é, depois dos cereais, a mais importante na agricultura mundial em relação à área cultivada e à produção total (Gepts *et al.*, 2005). Em 2004, de acordo com os dados da FAO (Food and Agriculture Organization), mais de 300 milhões de toneladas de grãos de leguminosas foram produzidos em 190 milhões de hectares (ou 13% do total de terras cultivadas) (Gepts *et al.*, 2005).

Segundo dados da FAO, a produção mundial de feijão comum foi de aproximadamente 19 milhões de toneladas no ano de 2005, sendo que cerca de 6 milhões de toneladas foram produzidas na América Latina e Caribe. E de acordo com os dados do IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística), a produção brasileira em 2005 foi pouco mais de 3 milhões de toneladas de feijão comum em uma área cultivada de aproximadamente 4 milhões de hectares, sendo que o crescimento anual da produção de feijão comum está estimado em 58,3 milhões de kg de grãos por ano (Ribeiro *et al.*, 2003).

A produtividade média do feijoeiro-comum é de 804 Kg/ha (IBGE, 2006), estando acima desta estimativa em áreas de produção altamente tecnificadas, com irrigação artificial, submetidas à correção de solo e adubação, com alta produtividade e, abaixo da média normalmente em áreas localizadas em pequenas propriedades, onde não há irrigação e que possuem solos com baixo

pH, pobres em fósforo e com toxidez de alumínio, sem nenhum controle de pragas e doenças, o que resulta em baixa produtividade (Peloso *et al.*, 2000; Embrapa, 2004, citado por Grisi, 2006).

A produção do feijoeiro é quase duas vezes o do grão-de-bico, que é o segundo grão de leguminosa mais importante. Fatores sociais e restrições ecológicas determinam se os feijões irão crescer em uma região particular. Como a agricultura e os sistemas sociais se desenvolveram juntos, o estado atual dos sistemas de cultivo é o resultado de uma interação de fatores climáticos, edáficos, bióticos e social (Broughton *et al.*, 2003).

Uma grande parte da produção do feijão na América Latina ocorre em fazendas pequenas estendendo-se de 1 a 10 ha, muitas vezes em terras de declive de baixa fertilidade. Algumas estimativas sugerem que cerca de 80% da área plantada com feijões na América Latina são encontradas em encostas. Além disso, estas pequenas propriedades estão dispersas, tornando difícil definir as áreas principais de produção. No Brasil, o feijão é cultivado tanto por pequenos agricultores, que utilizam baixo nível tecnológico no processo produtivo, quanto por empresários rurais altamente tecnicados (IBGE, 2005; 2006).

Dependendo da região, o plantio de feijão no Brasil é feito ao longo do ano, em três épocas. A primeira, também conhecida como safra das “águas”, ocorre de agosto a dezembro e concentra-se mais nos Estados da Região Sul; a segunda safra, ou da “seca”, abrange todos os Estados brasileiros e ocorre de janeiro a abril; a terceira safra, ou de “inverno”, concentra-se na região tropical e é realizada de maio até junho ou agosto, dependendo do estado. Desta forma, durante todo o ano, em alguma região do país sempre haverá produção de feijão, o que contribui para a melhoria do abastecimento interno (Yokoyama, 2002). Em

geral, a safra das “águas” responde por 1/3 da oferta anual e serve de balizamento de mercado para a segunda safra. A safra da “seca” representa hoje 50% do total anual de feijão. E a terceira safra, a de “inverno”, é plantada sempre sob sistema irrigado com pivô-central atingindo alta produtividade e abastecendo o mercado entre o final da comercialização da segunda safra e o início da primavera (Pessôa, 2005).

3.1.1.2 Consumo

No Brasil, o consumo atual de feijão ultrapassa 16 kg/hab/ano (IBGE, 2003; 2005), existindo preferências de cor, tipo de melhor qualidade associada às mudanças de hábito alimentar tem mostrado uma preferência de grão e qualidade culinária em algumas regiões do País (Embrapa, 2004).

O consumo per capita de feijão vem diminuindo ao longo dos últimos 40 anos (Ferreira *et al.*, 2002). O consumo médio *per capita* de feijão na década de 1960 foi de 23 kg/habitante/ano, enquanto nas décadas de 1970 e 1980 foi, respectivamente de, 20 e pouco mais de 16 (Wander e Ferreira, 2006). Este consumo médio passou para 16 kg/hab/ano no final dos anos 90, representando uma redução de 1,3% ao ano, enquanto a população cresceu 2,2% (Yokoyama *et al.*, 1996; Ferreira *et al.*, 2002, citados por Lemos *et al.*, 2004). Isto permite evidenciar que o feijão perdeu um pouco sua importância na dieta dos brasileiros. Por outro lado, não é errôneo afirmar que esta leguminosa constitui e constituirá importante alternativa de suprimentos de proteínas, principalmente para as classes de menor poder aquisitivo (Minas Gerais, 1995).

É comum acreditar que a demanda para feijão tem rendimento inelástico, e que o consumo cai com o aumento dos níveis econômicos. A produção do feijão na América Latina tem aumentado em 3% por ano durante a década passada. Como virtualmente toda a produção de feijão é consumida dentro da região, isso sugere que o consumo per capita tenha modestamente aumentado. Documentações de consumo mostram que este continua sendo alto em países que tradicionalmente consomem feijões. Por exemplo, no Brasil, as duas regiões com o consumo mais alto são o Nordeste (20,8 kg/ano) e o Sudeste (18,2 kg/ano), que são respectivamente as regiões menos e mais desenvolvidas. Os poucos casos em que o consumo foi enfraquecido por rendas familiares mostram que o consumo em estratos de rendas mais baixas é 20% maior que a média. Neste sentido, os feijões são a “carne do homem pobre” e possuem uma importância particular na dieta dos menos privilegiados (Broughton *et al.*, 2003).

Os feijões são os principais produtos básicos no oeste e sudeste da África. Nestas áreas, o consumo dos feijões é mais alto que na América Latina chegando a 66 kg por pessoa em algumas áreas rurais do Quênia. As estatísticas da Ruanda e Burundi mostram que a média de consumo nacional excede 40 kg por pessoa por ano. Os feijões são cotados a serem a segunda maior fonte de dieta de proteína e a terceira maior fonte de calorias na região. O alto conteúdo de minerais do feijão, especialmente o ferro e o zinco, são vantajosos em regiões onde há uma alta predominância de deficiências de micronutrientes como a anemia por deficiência de ferro (Broughton *et al.*, 2003).

Mattos & Martins (2000) avaliando a dieta do brasileiro, constataram que a principal fonte de fibra alimentar advém da ingestão de feijão, o que é preocupante já que o consumo de feijão vem diminuindo significativamente nos

últimos anos. Essa queda tem sido atribuída a problemas de produção, atraso tecnológico e principalmente à urbanização, entre outros. Um agravante adicional à diminuição do consumo dessa leguminosa é representado pela tendência generalizada da menor contribuição dos carboidratos no consumo calórico total e sua substituição por gorduras. Além dos aspectos apontados, é possível somar ainda as facilidades atualmente encontradas para a aquisição de alimentos (pré-preparados, prontos e congelados) disponíveis no mercado, bem como as inúmeras opções oferecidas por restaurantes *fast food* e *self-service* como favorecedores dessas mudanças. Nesse sentido, é possível que o consumo de fibras alimentares também tenha diminuído com a modernização (Mattos & Martins, 2000).

Com base nos levantamentos de despesas monetárias com orçamento familiar (ENDEF – Estudo Nacional da Despesa Familiar – 1974-75 e POF – Pesquisa de Orçamentos Familiares – 1987-88, 1995-96 e 2002-03), realizados pelo IBGE, o consumo de feijão nas principais áreas metropolitanas do país foi reduzido (Martins, 1998, citado por Ferreira *et al.*, 2002). Contudo, de acordo com Pinheiro (2005), as estimativas baseadas no suprimento e tamanho da população apontam uma queda menos acentuada, explicada em parte pelo fato de que o POF leva em conta apenas às aquisições domésticas dos produtos, deixando de considerar não só alimentos preparados contendo feijão, bem como o consumo deste fora do domicílio, bastante ampliado desde o início da pesquisa. Divergências à parte, o fato é que o consumo de feijão diminuiu. Outras fontes de pesquisas indicam que o feijão é mais apreciado em população madura que pelo segmento jovem. A crescente presença da mulher no mercado de trabalho, a

necessidade de agilizar o preparo de alimentos, além da propagação de noções errôneas de nutrição, fazem com que o arroz com feijão esteja sendo substituído.

Visto que o feijão é considerado um alimento relevante pelos seus aspectos econômico, social, nutricional e cultural, este produto é merecedor de especial atenção dos governantes, da pesquisa e de toda sua cadeia produtiva.

3.1.1.3 Proteínas

Os grãos de legumes fornecem um terço de toda dieta de nitrogênio protéico e um terço do óleo vegetal processado para o consumo humano (Graham & Vance, 2003, citado por Gepts *et al.*, 2005). O feijão comum é considerado a primeira fonte de proteína na dieta alimentar dos estratos sociais economicamente menos favorecidos de alguns países subdesenvolvidos como México e Brasil, sendo considerado pelos nutricionistas um alimento quase perfeito devido ao alto conteúdo protéico e boa quantidade de carboidratos complexos, fibras, oligossacarídeos e fitoquímicos (Marchioni, 2005).

Os feijões promovem as dietas protéicas que têm um papel essencial na nutrição humana por complementarem outros alimentos (por exemplo, o milho na América Latina e o arroz no Brasil) que são fontes primárias de carboidratos (Ma & Bliss, 1978 citado por Bassinello 2005). Suas sementes são ricas em proteínas, porém o valor biológico é baixo, quando consumido isoladamente. Isso se deve tanto à baixa digestibilidade quanto ao reduzido teor e biodisponibilidade (aproveitamento biológico) de aminoácidos sulfurados. As proteínas do feijão, como as de outras leguminosas, são ricas em lisina e limitadas em aminoácidos sulfurados (metionina, cisteína e cistina). A concentração elevada de lisina é

considerada de grande valor na complementação das proteínas de cereais, que são pobres nesse aminoácido e ricos em metionina. A digestibilidade da proteína é maior em feijões brancos e menor nos vermelhos. Normalmente, a digestibilidade é aumentada após o processamento térmico, especialmente pelo calor úmido, já que ocorre a desnaturação de fatores antinutricionais de natureza protéica. O cozimento não destrói os taninos, mas boa parte é removida com o caldo do cozimento (Bassinello, 2005).

Os teores de proteína encontrados na literatura em grãos de feijão variam de 18% a 31%, dependendo do genótipo avaliado (Mutscher & Bliss, 1981; Hosfield *et al.*, 1984; Antunes *et al.*, 1995; Lemos *et al.*, 1996; Escribano *et al.*, 1997; Ramos Júnior & Lemos, 2002; Ramos Júnior *et al.*, 2002; Dalla Corte *et al.*, 2003; citados por Ribeiro *et al.*, 2005). Há indicativos de que grãos de feijão preto apresentam maior teor médio de proteína bruta do que grãos de feijão carioca (Ramos Júnior & Lemos, 2002; Ramos Júnior *et al.*, 2002, citados por Ribeiro *et al.*, 2005). Pesquisadores do IAPAR conseguiram criar variedades de feijoeiro com teor médio de proteína de 22%.

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (1985) o metabolismo protéico requer uma quantidade relativamente maior de determinados aminoácidos, entre os quais lisina e triptofano, quanto menor for a idade do indivíduo. Essas necessidades podem ser supridas com a ingestão de proteínas de origem vegetal desde que haja um equilíbrio entre os aminoácidos (complementação aminoacídica) das fontes consumidas (Young & Pellett, 1994 citados por Naves *et al.*, 2004).

Estima-se que 75% destas proteínas dos grãos de feijão correspondem a globulinas e albuminas que são solúveis. Nota-se uma variação entre o conteúdo

de cada fração que variam de 33,5 - 81% para as globulinas e de 12 – 52,4% para as albuminas, sendo essa mais heterogênea e apresentando diversos componentes como glicoproteínas e inibidores de proteases (Lajolo *et al.*, 1996). Essa variação nos teores de proteínas também ocorre de acordo com as cultivares (Durigan *et al.*, 1987). Os autores encontraram um gradiente que vai de 33,4 – 52,9% para globulinas e 9,2 – 20,1 % para albuminas.

Muitas dessas proteínas são faseolinas, que são as maiores proteínas de reserva das sementes do feijoeiro, e são a maior determinante de quantidade e qualidade nutricional em sementes de feijão (Gepts & Bliss, 1984). Como outras proteínas de sementes da família de leguminosas, a faseolina é deficiente em aminoácidos sulfurados como metionina. As proteínas de sementes de cereais geralmente contêm aminoácidos sulfurados suficientes, mas são deficientes em outros aminoácidos essenciais como a lisina. O consumo combinado de cereais e leguminosas geralmente alivia estas deficiências mútuas garantindo uma dieta balanceada quando os cereais e as leguminosas são consumidos em uma razão de 2:1 (Bressani, 1983). Essa combinação ocorre em diversas refeições do mundo, pois, se consumidos em uma mesma refeição o organismo é capaz de aproveitar parte das proteínas (aminoácidos) destes dois alimentos. Como os aminoácidos das leguminosas são diferentes dos presentes nos cereais, juntos eles se complementam, daí a importância nutricional desta combinação tipicamente brasileira: 'arroz com feijão'.

O feijão comum também é uma importante fonte de ferro, fósforo, magnésio, manganês, e em escala menor de zinco, cobre e cálcio, podendo ser consumido na forma de grãos maduros, sementes imaturas, folhas e vagens (Broughton *et al.*, 2003). Assim, o aumento nas produções de leguminosas tem

importantes repercussões no melhoramento da nutrição e saúde de centenas de milhares de consumidores de feijão no mundo, especialmente nos países em desenvolvimento.

O arroz, o milho, o trigo e outros cereais normalmente produzem mais, por unidade de área, que as leguminosas de grão. Porém, o conteúdo de proteína em seus grãos varia, aproximadamente, de 7% a 13%. Os cereais podem oferecer calorias para a produção de energia, mas não podem fornecer, de modo equilibrado, elementos nutritivos vitais, particularmente proteína. Quando produtos amiláceos como mandioca, banana ou inhame constituem base alimentar, o papel de leguminosas de grão torna-se crítico. A mandioca tem somente 1,6% de proteína, a banana, 1,1%, e o inhame, 2,4%. Na mistura desses alimentos com grãos de leguminosas, estes podem fornecer mais proteína, mas falham no aumento da qualidade, por causa da deficiência de aminoácidos sulfurados em ambos os componentes da mistura. Este problema ocorre em algumas áreas rurais do Nordeste brasileiro, onde a mandioca é alimento básico (Vieira, 1992).

Acredita-se que o teor de proteína de grãos é altamente influenciado pelas condições ambientais como, por exemplo, nível de fertilização do solo (Perez *et al.*, 1996, citado por Hu *et al.*, 2004). Vários trabalhos têm demonstrado a existência da interação genótipos e ambientes, ocorrendo diferenças no comportamento das linhagens e das cultivares em locais, nos anos agrícolas e nas épocas de semeadura (Ramalho *et al.*, 1993; Duarte e Zimmermann, 1994; Piana *et al.*, 1999; Carbonell e Pompeu, 2000, citados por Ramos Junior *et al.*, 2005).

A adubação feita com nitrogênio, por exemplo, tem expressiva influência no teor de proteína do grão em soja (Filho *et al.*, 1999) e feijoeiro (Soratto, *et al.*,

2005). Andrade *et al.* (2004) trabalharam com três cultivares de feijão do grupo carioca e mostraram que a adubação com N₃ (adubação para produtividade esperada acima de 2500 kg/ha), seguida pelas adubações N₂ (adubação para produtividade esperada de até 1200 kg/ha) e N₁ (não adubado) proporcionaram aumento significativo no teor de proteína nos grãos. Ou seja, a adubação influencia aumentando a porcentagem de proteína contida nos grãos de feijão.

Gomes Junior *et al.* (2005) mostraram que o teor de proteína nos grãos de feijão variou em função das doses e épocas de aplicação do nitrogênio em cobertura, havendo um aumento significativo no teor de proteína bruta e solúvel em grãos de feijão em função do aumento da dose de nitrogênio em cobertura.

Da Silva *et al.* (2006), com o objetivo de avaliar o efeito da adubação com nitrogênio e molibdênio nas características tecnológicas dos grãos de feijão de cultivar, concluíram que o N em cobertura e o molibdênio via foliar interferem nas características tecnológicas dos grãos de feijão.

Na cultura do feijoeiro, existem relatos do teor de proteína bruta ser influenciado negativamente pela produtividade de grãos (Sgarbieri, 1987; Bressani, 1989; Pompeu, 1993, citados por Ramos Junior *et al.*, 2005 e Farinelli & Lemos, 2005).

3.1.2. Melhoramento Genético Molecular do Feijoeiro

Nas décadas de 60 e 70, vários programas de pesquisa de feijoeiro-comum foram iniciados em vários estados do país, inclusive o programa do Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão, da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa). Nesse mesmo período, o Projeto Nacional de Feijão, a

partir de um convênio entre o Ministério da Agricultura e a *U.S. Agency for International Development*, definiu as pesquisas consideradas prioritárias no melhoramento genético que, de um modo geral e com diferentes níveis de prioridade em função dos avanços obtidos ao longo dos anos, são válidos até os dias atuais e incluem o melhoramento para resistência a doenças, produtividade de grãos, arquitetura de planta e qualidade do grão (culinária e aspectos nutricionais) (Grisi, 2006).

A utilização de ferramentas moleculares e genômicas apresenta-se como uma estratégia complementar aos programas de melhoramento genético clássico do feijoeiro-comum, por possibilitarem um conhecimento mais detalhado do germoplasma e, conseqüentemente, o seu uso adequado e manuseio dentro dos programas de melhoramento genético (Brondani & Brondani, 2004).

A partir da década de 90, mapas genéticos para feijoeiro tornaram-se acessíveis, baseados na combinação de diferentes classes de marcadores moleculares. O primeiro mapa de ligação foi desenvolvido com a maioria dos marcadores sendo morfológicos e alguns marcadores izoenzimáticos (Basset, 1991, citado por Melo, 2000). A partir daí, vários mapas baseados em marcadores RFLP - *Restriction Fragment Length Polymorphism* (Botstein *et al.*, 1980) - (Vallejos *et al.*, 1992, Nodari *et al.*, 1993) e diferentes grupos de marcadores (Nodari *et al.*, 1993) foram desenvolvidos, inclusive o mapa integrado baseado em RFLP e SSR (Freyre *et al.*, 1998; Blair *et al.*, 2003), e mapas contendo um grande número de marcadores dominantes RAPD (Adam-Blondon *et al.*, 1994).

O maior mapa genético desenvolvido para feijão integrou informações de mapeamento de populações distintas através do mapeamento dos marcadores em uma população comum (BAT 93 x Jalo EEP558), reunindo dados de

segregação de 563 marcadores, com uma cobertura de 1226 cM (Freyre *et al.*, 1998).

3.2. Características Quantitativas

Apesar de um importante número de características nas espécies vegetais ser de natureza qualitativa, a maioria das características com interesse econômico, que os geneticistas e melhoristas normalmente trabalham, é controlada por genes quantitativos, ou seja, resulta da ação conjunta de vários locos gênicos (Collard *et al.*, 2005). Estes locos são denominados de locos controladores de características quantitativas (*Quantitative Trait Loci* - QTL). Essas características governadas por QTLs são chamadas de características quantitativas e, em geral, são pronunciadamente afetadas por fatores ambientais. Pode ocorrer de um gene apresentar um efeito maior na expressão de um caráter (Bearzoti *et al.*, 2000).

O estudo dos caracteres quantitativos é feito através de análises e inferências estatísticas, já que os fenótipos observados são obtidos por mensurações, não havendo possibilidade de se identificar classes fenotípicas distintas, como no caso dos caracteres qualitativos. Desse modo, os estudos genéticos são realizados a partir das estimativas das médias, variâncias, coeficientes de regressão e correlação, etc (Ramalho *et al.*, 2000). Neste tipo de característica a variação fenotípica apresenta uma distribuição contínua, ou seja entre os tipos mais extremos aparecem fenótipos intermediários.

Assim como ocorre com os caracteres qualitativos, os caracteres quantitativos também apresentam interações alélicas que podem ser aditiva, dominante e sobredominante (Ramalho *et al.*, 2000).

Na interação alélica aditiva cada alelo contribui com um pequeno efeito fenotípico o qual é somado ao efeito dos demais alelos. Neste caso, a média da geração F_1 é igual à média dos genitores e à média de F_2 . Outra característica é que a descendência de qualquer indivíduo ou grupo de indivíduos tem média igual à deste indivíduo ou igual à média do grupo. Essa última observação é de fundamental importância no melhoramento, pois a seleção de um indivíduo ou de um grupo de indivíduos superiores produzirá uma descendência também superior. Neste tipo de interação, a distribuição em F_2 é simétrica e se assemelha a uma curva normal, já que cada alelo contribui com um pequeno efeito fenotípico, o qual é somado aos efeitos dos demais alelos. Quando aparecem em F_2 indivíduos com desempenho fora do limite dos pais, diz-se que ocorreu segregação transgressiva. Este tipo de segregação permite que sejam selecionados indivíduos com número de alelos efetivos superior ao dos pais (Ramalho *et al.*, 2000).

Na interação alélica dominante é utilizada a contribuição de cada loco e não de cada alelo. A média da geração F_1 pode ser igual ao valor de um dos pais, porém será diferente da média desses pais e a média da geração F_2 é diferente da média da geração F_1 . Neste caso, a seleção de indivíduos superiores não leva, necessariamente, à produção de uma descendência semelhante ao indivíduo selecionado. No caso de dominância, a distribuição em F_2 apesar de ser contínua não é simétrica e mostra uma inclinação para o lado do fenótipo conferido pelos alelos dominantes (Ramalho *et al.*, 2000).

No caso de interação alélica de sobredominância a média da geração F_1 é também diferente da média da geração F_2 , da média dos pais e superior à do pai com maior média (Ramalho *et al.*, 2000).

Para o desenvolvimento de um programa de melhoramento genético eficaz há necessidade de conhecer a herança e o tipo de ação gênica envolvida nos caracteres estudados, bem com a natureza de associação entre eles (Ibrahim 1983, citado por Camargo *et al.*, 1998).

3.3. Herdabilidade

A estimativa da herdabilidade é um parâmetro de grande utilidade para os melhoristas, pois permite antever a possibilidade de sucesso com a seleção. Esta estimativa reflete a proporção da variação fenotípica que pode ser herdada, ou seja, é uma indicação do sucesso do melhorista. Em outras palavras, ela mede a confiabilidade do valor fenotípico como indicador do valor reprodutivo (Ramalho *et al.*, 2000). A eficácia do trabalho de melhoramento é maior quando se conhece a magnitude do coeficiente de herdabilidade para o caráter em estudo, por auxiliar na definição das estratégias de seleção e na predição do ganho (Fehr, 1987). No entanto, a herdabilidade não é um valor constante referente a um caráter, mas, sim, uma propriedade deste, sendo função da população e das circunstâncias do ambiente nas quais os indivíduos são avaliados (Dudley & Moll, 1969; Falconer, 1987; Fehr, 1987, Azevedo Filho, 1998).

Pode-se estimar dois tipos de herdabilidade: herdabilidade no sentido amplo (h^2_a) e a herdabilidade no sentido restrito (h^2_r). Esses dois tipos de h^2 são obtidos a partir das expressões que utilizam a geração F_2 como referência:

$$h_a^2(\%) = \frac{\sigma_G^2}{\sigma_{F_2}^2} \times 100$$

$$h_r^2(\%) = \frac{\sigma_A^2}{\sigma_{F_2}^2} \times 100$$

A herdabilidade no sentido restrito considera apenas a variância genética aditiva aquela que é fixada pela seleção sendo na maioria dos casos, a mais importante para os melhoristas. A estimativa da herdabilidade no sentido amplo que envolve toda a variância genética - $(\sigma_A^2 + \sigma_D^2)$ - tem importância em caso de plantas que apresentam propagação vegetativa pois, neste caso, o genótipo é integralmente herdado (Ramalho *et al.*, 2000).

As estimativas de herdabilidade variam com: i) a característica, ii) o método de estimação, iii) a diversidade na população, iv) o nível de endogamia da população, v) o tamanho da amostra avaliada, e vi) a precisão na condução do experimento e da coleta dos dados. De acordo com Stansfield (1995), citado por Jacinto-Hernandez *et al.* (2003), características com valor de herdabilidade maior que 50% são consideradas terem alta herdabilidade.

3.4. Abordagem Geral sobre Detecção de QTLs

Uma vez que o efeito individual de cada um dos QTL não pode ser observado diretamente nos indivíduos de uma população, faz-se a sua identificação de forma indireta através da utilização de genes de manifestação distinguível (qualitativa) que estejam ligados aos QTLs, ou seja mesmo cromossomo ou em posição próxima. Assim, esses genes (chamados de marcadores) irão segregar juntos com o QTL (Bearzoti 2000). Neste sentido, é

importante na detecção de QTLs por meio de marcadores genéticos que a população sob estudo esteja em desequilíbrio gamético de ligação decorrente da redução da frequência de recombinação entre genes situados em regiões próximas entre si ao longo de determinado cromossomo. Caso contrário, os alelos dos locos marcadores e dos QTLs não serão detectados (Coelho 2000).

Esta técnica possibilita mensurar o número de locos quantitativos envolvidos na herança complexa, bem como suas localizações cromossômicas, modo de ação gênica (aditividade, dominância, heterose e epistasia), além de possibilitar a decomposição da interação genótipos por ambientes ao nível de cada QTL. A capacidade de detecção de um QTL é função da magnitude do seu efeito sobre a característica, do tamanho da população segregante avaliada, da frequência de recombinação entre o marcador e o QTL, bem como da herdabilidade da característica (Carneiro & Vieira, 2002). A identificação dos QTLs por meio dos marcadores moleculares permite também auxiliar na seleção de genótipos superiores, beneficiando os programas de melhoramento genético (Brondani *et al.*, 2005).

De acordo com Tanksley (1993), em virtude disso é necessária a geração de populações especiais, como retrocruzamentos, F_2 , F_3 , linhagens recombinantes, entre outras. O problema é que nos casos das autofecundações sucessivas (linhagens recombinantes), existe um menor desequilíbrio de ligação devido à maior oportunidade de recombinação meiótica (Burr & Burr, 1991). No entanto, Bearzoti e Vencovsky (1998) comentam que em espécies autógamas o desequilíbrio de ligação dissipa-se com uma taxa lenta, tendo um limite diferente de zero. 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 autógamias.

A maioria das estratégias de mapeamento de QTLs está baseada no uso de populações segregantes com grande variabilidade, oriundas do cruzamento de duas linhagens puras, geneticamente divergentes e fenotipicamente extremas em relação às características quantitativas de interesse. Com o cruzamento dessas linhagens, homocigotas para alelos alternativos nos QTLs e polimórficas com relação a marcadores moleculares, é gerada uma população segregantes que pode ser uma F_2 , retrocruzamento, linhagens puras recombinantes ou linhagem dihaplóides. Um certo número de indivíduos desta população segregante é avaliado para as características quantitativas de interesse e genotipado por marcadores moleculares distribuídos em intervalos regulares ao longo do genoma (Ferreira e Grattapaglia, 1996).

Para garantir o polimorfismo na população a ser utilizada no estudo, normalmente o mapeamento de espécies autógamias necessita de genitores os mais divergentes. A análise dos possíveis genitores com vários tipos de marcadores moleculares pode ser uma boa alternativa para se escolher aqueles com maior potencial de gerar populações altamente polimórficas, principalmente quando se tratar de cruzamentos intraespecíficos (Young, 1994, citado por Melo, 2000).

O tamanho da amostra da população a ser trabalhada também é de fundamental importância na consistência das informações geradas no mapeamento. Desta forma, a resolução do mapa e a capacidade de se determinar a seqüência dos marcadores estão diretamente relacionadas com o tamanho da amostra da população. No entanto, muitas vezes o tamanho da amostra fica

limitado pela quantidade de sementes disponíveis para análise ou pela quantidade de amostras de DNA que podem ser efetivamente processadas em um laboratório. Mas é certo que a amostra da população deve ter o tamanho possível dentro da capacidade de trabalho da equipe envolvida. As amostras com menos de 50 indivíduos muito provavelmente terão uma baixa resolução de mapeamento, principalmente na detecção de QTLs de pequeno efeito (Young, 1994, citado Melo, 2000).

A principal dificuldade no mapeamento de QTLs é o fato de vários fatores genéticos e ambientais afetarem a expressão final do fenótipo. Assim, os delineamentos experimentais devem envolver a medição e genotipagem de um grande número de indivíduos ou famílias para permitir a precisão necessária à identificação do QTL (Ferreira e Grattapaglia, 1996; Paterson, 1998). Agora, na utilização de marcadores moleculares para seleção deve-se considerar a consistência da informação de ligação entre marcador e QTL em diferentes populações, a interação entre QTLs e ambientes, e também a possibilidade de seleção simultânea para várias características. Desta forma, os marcadores constituem uma ferramenta que poderá contribuir para aumentar a eficiência do processo seletivo e, conseqüentemente, maximizar os ganhos com a seleção.

Normalmente, nos programas de melhoramento em feijoeiro, não é comum encontrar uma mesma variedade com locos que segreguem para várias características de interesse econômico simultaneamente. Desta forma, genes para estes traços estão sendo localizados em mapas desenvolvidos para diferentes populações segregantes (Kelly *et al*, 2003).

O fato do feijoeiro possuir um pequeno genoma e este ser composto de seqüências de cópia simples (Talbot *et al.*, 1984; citado por Melo, 2000) facilita a

obtenção de marcadores moleculares distribuídos uniformemente por todos os cromossomos, o que aumenta a possibilidade de detecção dos QTLs que participam do controle genético dos caracteres quantitativos, pois pode-se conseguir mapas genéticos altamente saturados (Melo, 2000). É importante, ressaltar que, em feijoeiro, cruzamentos intraespecíficos e que utilizem genitores do mesmo tipo de grão tendem a exigir um maior número de marcadores moleculares testados para construção do mapa de ligação, e posterior, mapeamento de QTLs (Ferreira, 2006).

Segundo Ferreira e Grattapaglia (1996), a tendência geral do melhoramento genético de plantas é a integração das técnicas clássicas com aquelas mais modernas da biotecnologia, levando-se em consideração as vantagens e limitações de cada uma delas.

Atualmente, existem diferentes tipos de marcadores que diferem quanto a natureza genética predominante (codominantes e dominantes) e quanto ao nível de polimorfismo detectado (baixo, médio, alto e muito alto). Os marcadores de maior nível de polimorfismo foram obtidos graças ao uso da técnica de amplificação de DNA: PCR (reação em cadeia da enzima polimerase).

No presente trabalho, a análise de QTL foi feita utilizando-se em um mapa de ligação (Ferreira, 2006) construído baseado em marcadores RAPD e SSR. A técnica de RAPD tem baixo custo, poucas etapas e se pode obter os resultados mais rapidamente comparada as demais técnicas. Além disso, é uma técnica fácil de ser implementada. Porém, tem a desvantagem de ser de baixa repetibilidade e pouco consistente de um laboratório para o outro, o que dificulta a comparação de dados obtidos em diferentes locais. Os SSR envolvem o desenvolvimento de *primers* específicos, o que é um processo elaborado e caro. Das classes de

marcadores moleculares existentes, os SSR são os que mais se aproximam do marcador ideal para os estudos de mapeamento genético de locos de caracteres quantitativos (QTLs) e os de caracterização e exploração de variabilidade genética em bancos de germoplasma.

Com o estabelecimento da estratégia de análise de QTL usando marcadores de DNA, características como resistência a doenças e pragas, tolerância ao estresse, síndrome da domesticação (Li *et al.*, 2006) e qualidade do grão, têm sido estudados no desenvolvimento de mapas de populações segregantes. Um grande número de QTLs que afetam características de importância agrônômica em diferentes culturas já foi identificado, como em eucalipto (Juenger, 2000), em arroz (Septiningsih *et al.*, 2003; Thomson *et al.*, 2003; Aluko *et al.*, 2004; Lannes *et al.*, 2004; Zhong-Li *et al.*, 2004; MacMillan *et al.*, 2006), em pimenta (Zygier *et al.*, 2005), em trigo (Börner *et al.*, 2002; Marza *et al.*, 2005; Quarrie *et al.*, 2006), em cevada (Borém, 1999), em cereja (Wang *et al.*, 2000), em milho (Bento, 2006), em soja (Zhang *et al.*, 2004; Panthee *et al.*, 2006), em tomate (Carmeille *et al.*, 2006; Chai *et al.*, 2006) e em feijão (Faleiro *et al.*, 2003; Blair *et al.*, 2006).

Hu *et al.* (2004), em estudo de mapeamento de QTL através de marcadores RFLP em arroz, encontraram cinco QTLs para teor de proteína que explicam 74% da variação fenotípica e três QTLs para teor de gordura que explicam 44% da variação fenotípica.

Dentre os grãos de legume, muitos dos quais são importantes para os países em desenvolvimento devido sua capacidade de fixação de nitrogênio e valorosa fonte de proteínas, os marcadores SSR estão agora disponíveis para soja (Cregan *et al.*, 1999b), grão de bico (Huttel *et al.*, 1999), amendoim (Hopkins

et al., 1999) e feijoeiro-comum (Yu *et al.*, 1999, 2000). No entanto, com exceção da soja, o número de SSR para a maioria das leguminosas permanece pequeno, especialmente quando comparado a gramíneas, tornando difícil conduzir estudos de mapeamento (Blair, 2003). Ou seja, não existem ainda marcadores SSR que possibilitem cobertura total do genoma de feijão e, conseqüentemente, a identificação de genes de interesse para se efetuar a busca por variabilidade alélica a estes genes, principalmente quando os genitores utilizados no cruzamento apresentam uma baixa divergência genética (Ferreira, 2006).

Frei e colaboradores (2005), utilizando um mapa baseado em marcadores SSR e RAPD usando linhagens recombinantes F_{5:7}, identificaram um QTL de maior efeito de resistência à praga *Thrips palmi* Karny do feijoeiro-comum. QTLs para danos da praga e adaptação reprodutiva foram localizados baseados nas análises de mapeamento por intervalo simples e de mapeamento por intervalo composto usando um mapa genético construído com marcadores SSR e RAPD.

Recentemente, Blair *et al* (2006) identificaram QTLs relacionados à produtividade em feijoeiro-comum a partir de um mapa genético baseado em marcadores SSR.

Não há estudos com mapeamento de locos controladores do teor de proteína em feijoeiro-comum. Assim sendo, o presente trabalho é pioneiro na identificação de genes relacionados ao teor de proteína no grão.

3.5. Métodos de Análise de QTLs

Diversos delineamentos genéticos podem ser utilizados para o desequilíbrio de ligação possa ser detectado com o maior poder possível e de

modo a permitir o mapeamento genético dos locos de interesse (Coelho, 2000). Os métodos de análise são classificados de acordo com o número de marcadores utilizados para se detectar um QTL.

De acordo com Carneiro e Vieira (2002), dentre os métodos propostos para a localização de QTLs encontram-se os modelos lineares (ANOVA e Regressão Linear), mapeamento por intervalo (“interval mapping” ou “flanking-marker analysis”), mapeamento por intervalo composto (“composite interval mapping”) (Zeng, 1993; 1994; Jansen, 1993) e mapeamento multiponto (“multipoint mapping”) (Kearsey e Hyne, 1994).

Segundo Tanksley (1993) existem vários procedimentos estatísticos para determinar se um QTL está ligado a um loco marcador. Um desses procedimentos consiste em dividir a população em diferentes classes genóticas baseado nos genótipos do marcador e então usar a correlação estatística para determinar se os indivíduos de um genótipo diferem significativamente comparados com os indivíduos com genótipos com respeito ao caráter medido. Se os fenótipos diferirem significativamente então se conclui que os genes que afetam o caráter estão ligados ao loco marcador usado para caracterizar a população. O procedimento é então repetido para os outros locos marcadores distribuídos por todo o genoma para detectar os QTLs possíveis.

Normalmente, não é possível determinar se o efeito detectado com um marcador é devido a um ou mais genes ligados que afetam um caráter. Por esta razão, o termo loco de caráter quantitativo (QTL) foi usado para descrever a região do cromossomo (usualmente definida por ligação ao gene marcador) que tem um efeito significativo em um caráter quantitativo. Determinar se um QTL é

devido a um ou mais genes é um dos mais difíceis aspectos da genética quantitativa (Tanksley, 1993).

3.5.1. Modelos Lineares

Os procedimentos mais simples para detecção de QTLs são os modelos lineares que analisam, separadamente, a diferença entre os valores fenotípicos médios para cada marcador (Edwards *et al.*, 1987), não sendo necessária a construção de mapas de ligação. Isso é considerado vantagem já que economiza tempo e recursos na análise dos marcadores. Como limitação, há o fato de quanto maior for a distância entre o QTL e o marcador, menor será a probabilidade de detectá-lo estatisticamente, em vista da possibilidade de recombinação entre o gene marcador e o QTL. Além disso, a magnitude do QTL, pelo mesmo motivo, é normalmente subestimada. Outro inconveniente é que não é possível determinar a posição do QTL no genoma (Lynch e Walsh, 1998; Carneiro & Vieira, 2002).

Segundo Tanksley (1993), as limitações deste modelo são minimizadas utilizando um grande número de marcadores segregantes de forma a cobrir todo o genoma (geralmente em intervalos menores do que 15cM). Assim qualquer QTL potencial estaria ligado fortemente a pelo menos um marcador genético (Coelho 2000).

A associação entre o marcador e o QTL pode ser feita por meio de teste de comparação de médias através da análise de variância, por meio de regressão linear ou ainda por meio da máxima verossimilhança (Schuster & Cruz, 2004).

3.5.1.1. Análise de Variância para Mapeamento por Marcas Simples

Para constatar a ligação entre marcas e locos controladores de características quantitativas, é testada a hipótese (Schuster e Cruz, 2004):

$$H_0: \mu_{MM} = \mu_{Mm} = \mu_{mm}$$

$$H_a: \mu_{MM} \neq \mu_{Mm}; \text{ OU}$$

$$\mu_{MM} \neq \mu_{mm}; \text{ OU}$$

$$\mu_{Mm} \neq \mu_{mm}.$$

Sendo:

μ_{MM} – média do homozigoto dominante;

μ_{Mm} – média do heterozigoto;

μ_{mm} – média do homozigoto recessivo.

Ou seja, faz-se uma comparação estatística do valor médio do caráter mensurado para as distintas classes genotípicas. A existência de diferenças significativas entre as médias é evidenciada da ligação fatorial entre a marca molecular e a característica em questão. Entretanto, a igualdade entre as médias pode ocorrer em duas situações:

1) Se o QTL não estiver ligado ao marcador ($r=0,5$), as três médias serão iguais, e terão o valor de $\frac{1}{2} d$ (ou $u + \frac{1}{2} d$, para valores não-codificados), que é a expressão média da geração F_2 .

2) Se a e d forem iguais a zero (ausência de efeito), as médias serão iguais a zero (ou u , para valores não-codificados).

Sendo:

r – frequência de recombinação;

d – efeito de dominância;

a – efeito aditivo.

Portanto, a não-rejeição da hipótese implica haver evidência de independência entre o marcador e o QTL, ou que não foi detectado efeito para o possível QTL.

Essa ferramenta possui algumas desvantagens no sentido de perder dados no caso de genótipos faltantes, e ter um menor poder quando a ligação entre o marcador e o QTL é fraca. Porém, é uma técnica muito simples e que não requer um mapa dos marcadores previamente. A ANOVA tem se mostrado uma ferramenta eficiente como método de detecção (Stuber *et al.*, 1992 citado por Brummer *et al.*, 1997).

3.5.2. Mapeamento por Intervalo (“Interval Mapping” ou “Flanking-marker Analysis”)

O mapeamento por meio da análise por intervalo (Lander e Botstein 1986a, 1986b, 1989) é uma estratégia para detectar QTLs sob delineamentos genéticos envolvendo cruzamentos controlados (Melo *et al.*, 2002). Neste caso, conjuntos de marcadores genéticos ligados entre si são analisados simultaneamente com respeito aos seus efeitos sobre caracteres quantitativos. Pelo uso de marcadores ligados na análise, aumenta-se o poder de detecção de QTLs ao longo do genoma e torna-se possível estimar o efeito sobre a expressão do caráter, bem

como sua distância aproximada dos marcadores (Coelho, 2000, Carneiro & Vieira, 2002). Este método tem como base informações de segregação de pares de marcadores adjacentes como unidades de análise, utilizando o método de máxima verossimilhança para estimar a frequência de recombinantes e a magnitude do efeito do QTL no intervalo entre dois marcadores ligados (Lynch & Walsh, 1998).

Este método traz como inconveniente o fato de que os outros QTLs fora do intervalo são ignorados, o que pode resultar em duas consequências principais. Toda a variação genética devida a esses outros QTLs é residual, o que pode diminuir a precisão das estimativas e o poder dos testes. Além disso, eventuais que estejam ligados ao intervalo em questão interferem no processo de estimação, levando em extremos, a declarar falsos positivos em regiões adjacentes a regiões que contêm QTLs (Doerge, 1993, citado por Bearzoti, 2000, Carneiro & Vieira, 2002).

4. MATERIAL E MÉTODOS

As avaliações do teor de proteína foram conduzidas no Laboratório de Análises Físicas, Químicas e Tecnológicas da Embrapa Arroz e Feijão (CNPAF), Santo Antônio de Goiás/GO. As análises de QTL foram realizadas no Laboratório de Biologia Molecular de Plantas na Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás/Campus Samambaia/GO.

4. 1. Geração das Populações Segregantes e Delineamento Experimental

A população aqui avaliada foi proveniente de um cruzamento controlado, realizado na Embrapa Arroz e Feijão, entre as linhagens elites CNFC 7812 e CNFC 8056. Estas linhagens, pertencentes ao programa de melhoramento genético da Embrapa Arroz e Feijão, apresentam a seguinte genealogia: CNFC 7812 = BZ3836-1//FEB166/AN910523 e CNFC 8056 = MA720943/CB733860//AN512545/RH20-414. Ambos os genitores foram provenientes do mesmo centro de domesticação Mesoamericano, tipo de grão carioca, possuem grãos com padrão comercial, alta produtividade, arquitetura de plantas semi-prostrada e reação intermediária as principais doenças que acometem o feijoeiro-comum. Os genitores CNFC 7812 e 8056 foram contrastantes para o teor de proteína, com respectivamente 24 e 19%.

A partir do cruzamento entre as linhagens CNFC 7812 e CNFC 8056 foi obtida a geração F_1 . Após a autofecundação dos indivíduos F_1 foi obtida a geração F_2 constituída de 140 indivíduos que foram colhidos individualmente. Cada um destes indivíduos deu origem a uma família, sendo que as sementes de

cada família foram misturadas e utilizadas para a obtenção da geração $F_{2:3}$, conforme proposto por Frey (1954). Em novembro de 2004, as 140 famílias F_2 foram semeadas em vasos contendo terra vegetal e aproximadamente 2,2g de adubo formulado (5 % N, 30% P e 15% K), sendo mantidos em telado. Após três meses, foi realizada a colheita manual de sementes de cada genótipo obtendo-se 134 famílias $F_{2:3}$.

Do total de 140 genótipos F_2 inicialmente obtidos, algumas famílias das gerações subseqüentes não apresentaram quantidades suficientes de grão para serem realizadas as análises de teor de proteína, a saber: 34 famílias na geração F_2 e 6 famílias na geração $F_{2:3}$. Portanto as análises foram realizadas em 106 famílias F_2 e 134 famílias $F_{2:3}$ (Tabela 1). Nas duas gerações, as sementes foram colhidas manualmente e armazenadas em sacos plásticos devidamente identificados. Foi realizada uma seleção das sementes em cada um dos sacos, de forma que, nas análises de teor de proteína, só foram utilizados grãos livres de insetos, fungos e podridões ou de danos mecânicos de qualquer natureza. As amostras foram constituídas na geração F_2 por 15 grãos por família e na geração $F_{2:3}$ por 75 grãos por família. Estes grãos selecionados foram guardados em estufa a 50°C em envelopes de papel pardos cuidadosamente identificados com os números das famílias referentes.

Os valores médios do teor de proteína dos genitores foram obtidos a partir de 5 vasos de cada genitor (CNFC 7812 e CNFC 8056), sendo três sementes por vaso, totalizando quinze repetições. Cada amostra dos genitores foi composta de 12 grãos por repetição.

4.2. Avaliações Fenotípicas

4.2.1 Preparo das Amostras

Cada amostra dos genitores e das gerações F₂ e F_{2:3} foi moída utilizando-se um moinho analítico de laboratório, marca IKA Works, modelo A-11 por aproximadamente um minuto. Ao final da trituração de cada amostra foram realizadas limpezas no moinho evitando qualquer tipo de mistura entre as amostras. Após a moagem, fez-se a tamisação empregando-se peneira (BERTEL Indústria Metalúrgica Ltda, Caieiras-SP) com o seguinte grau de granulometria: abertura em mm/um – 212 ABNT/ASTM – 70, TYLER/MESH – 65. O pó assim obtido foi acondicionado em sacos de papel cuidadosamente identificados. As amostras foram armazenadas em temperatura ambiente até a execução das análises laboratoriais.

4.2.2 Análise Química para Teor de Proteína

Para as determinações da proteína total foi estimado o teor de nitrogênio utilizando o método de micro-Kjedahl proposto pela AOAC “Association of Official Methods of Analysis” (1995). As estimativas dos teores de proteína de cada amostra foram obtidas a partir de três mensurações da quantidade de N.

Numa balança analítica pesou-se 200mg de cada amostra e esta porção foi colocada em um tubo digestor juntamente com 1g da mistura catalisadora (100g sulfato de potássio, 10g sulfato de cobre e 10g selênio negro) e 3mL de ácido sulfúrico concentrado. A mistura catalisadora foi adicionada a fim de aumentar o

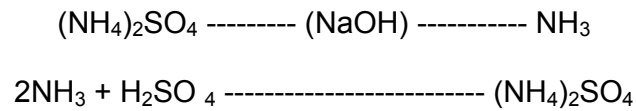
ponto de ebulição do ácido sulfúrico acelerando a digestão da matéria orgânica. Como controle negativo (ausência de nitrogênio) foi utilizado tubos contendo apenas a mistura catalisadora e ácido sulfúrico concentrado.

As amostras foram aquecidas em bloco digestor por cinco horas seguidas (1h a 100°C, 1h a 200°C e 3h a 300°C) para a digestão, até que o carbono e hidrogênio sejam oxidados. Com este procedimento, o nitrogênio da proteína e compostos nitrogenados é reduzido e transformado em sulfato de amônia. Após este período, os tubos foram retirados do digestor e deixados em capela para resfriar. A amostra digerida foi transferida para um balão volumétrico, sendo que neste processo os tubos foram lavados com 20mL de água destilada para garantir que não houvesse desperdício de amostra nas paredes do tubo.

Em seguida, adicionou-se as amostras 10mL de NaOH a 50%. Em seqüência, as amostras foram então levadas ao destilador já aquecido a 100°C para a liberação da amônia que foi recebida em um volume conhecido (10mL) de uma solução de ácido bórico (indicador) em erlenmeyer, até atingir um volume final de 50mL, formando borato de amônia. Esta reação mudou a cor da solução indicadora de vermelha para verde.

O borato de amônia formado foi dosado com uma solução ácida (HCl) padronizada, conforme descrito por Cecchi (1999). Esta titulação ocorre com solução de ácido clorídrico diluída até mudança de coloração verde para rosado, semelhante à solução indicadora inicial. A titulação foi determinada pela quantidade de "N" que, multiplicando-se por um fator baseado na principal proteína de reserva do feijão (6,25), forneceu a quantidade de proteína presente na amostra (Vieira, 1994).

Reação química envolvida:



Cálculos:

$$\% \text{ proteína} = \frac{\text{mL HCl} \times \text{N} \times 14 \times 100}{\text{g ou mL da amostra} \times 1000} \times \text{F} \quad (1)$$

Onde:

mL HCl – volume de HCl gasto na titulação;

N – concentração do HCl;

F – fator de conversão de porcentagem de nitrogênio para porcentagem de proteína (6,25 – para feijão).

4.3. Análises Estatísticas dos Dados Fenotípicos para a Característica Proteína

Com os dados obtidos de teor de proteína nas duas gerações (F₂ e F_{2:3}) foram realizadas:

- 1) análise exploratória dos dados, através da estatística descritiva e histogramas de distribuição de frequências;
- 2) cálculo da herdabilidade no sentido amplo;
- 3) análises de QTLs, conforme descrito a seguir.

4.3.1 Estatística Descritiva e Histogramas de Distribuição de Frequência do Teor de Proteína

De posse dos dados das avaliações fenotípicas foram obtidas para o teor de proteína as médias, medianas, variância, desvio padrão e coeficiente de variação de cada geração e dos genitores. Com a finalidade de avaliar a normalidade dos dados foi realizado o teste de Lilliefors, a um nível de 1% de probabilidade.

Os histogramas de frequência das gerações foram construídos para a realização de uma análise exploratória dos dados, com o intuito de visualizar o comportamento das médias e da distribuição do teor de proteína nas diferentes gerações.

Os intervalos de classe foram obtidos baseados nas fórmulas:

$$i = \frac{A}{k} \quad (2)$$

$$k = \sqrt{n} \quad (3)$$

Onde:

i – intervalo de classe;

A – amplitude da variação entre o mínimo e máximo;

k – número de classe;

n – número de observações.

4.3.2 Herdabilidade no Sentido Amplo

A herdabilidade no sentido amplo, que envolve toda a variância genética, com base na geração F_2 , foi calculada a partir dos componentes de variância de acordo com a fórmula de Ramalho *et al.* (2001). A estimativa da herdabilidade em sentido amplo, h^2_a (%), foi obtida com base nas proporções entre a variância genética e a variância fenotípica:

$$h^2_a (\%) = \frac{\sigma_G^2}{\sigma_{F_2}^2} \times 100 \quad (4)$$

Sendo:

$$\sigma_G^2 = \sigma_F^2 - \sigma_E^2 \quad (5)$$

Onde:

h^2_a – herdabilidade em sentido amplo;

σ_G^2 – variância genotípica;

$\sigma_{F_2}^2$ – variância fenotípica da geração F_2 .

A variância ambiental foi obtida a partir dos dados fenotípicos das repetições dos genitores. Neste caso, não há variância genética, assim, a variância entre plantas dos genitores é toda ambiental.

4.3.3 QTL – Análise de Ligação

Os locos de característica quantitativa foram identificados usando o mapa de ligação (ANEXO D) previamente construído para esta população (Ferreira, 2006) e os dados fenotípicos relativo ao teor de proteína obtidos no presente trabalho. A população de mapeamento foi composta de 94 famílias da geração F_2 e de 90 famílias da geração $F_{2:3}$. Os QTLs candidatos foram identificados com base no mapeamento por marcas simples utilizando o procedimento da análise de variância e no mapeamento de intervalo propostos por Lander e Botstein (1989) para as gerações F_2 e $F_{2:3}$.

4.3.3.1 Análise de QTLs – Mapeamento por Marcas Simples

Os dados utilizados do mapa de ligação (Ferreira, 2006) consistem em dados genotípicos dos 101 marcadores moleculares (41 SSR e 60 RAPDs) para cada indivíduo utilizado na construção do mapa. Estes dados genotípicos foram relacionados com os valores fenotípicos dos teores de proteína obtidos nas famílias das gerações F_2 e $F_{2:3}$.

A análise de associação entre o marcador e o QTL foi testada por meio de comparação entre médias. A existência de diferenças significativas entre as médias foi evidência da ligação fatorial entre a marca molecular e a característica.

Para tanto, foi realizada uma análise de variância (Schuster e Cruz, 2004), considerando o delineamento como inteiramente ao acaso, com três tratamentos (genótipos A, H e B) no caso dos marcadores SSR, e dois tratamentos (1 e 0) no

caso dos marcadores RAPD. O critério de significância utilizado para indicar associação significativa entre a marcador e QTLs foi $P \leq 0,05$.

Foram estimadas as porcentagens de recombinação, utilizando-se o valor de F obtido na ANOVA, por meio da seguinte expressão:

$$r^2 - r + \frac{k}{4(k + F)} = 0 \quad (6)$$

Onde:

r – estimativa de porcentagem de recombinação;

k – número médio de indivíduos por tratamento.

4.3.3.2 Análise de QTLs – Mapeamento por Intervalo

A partir das informações geradas no mapa de ligação (ANEXO D) desenvolvido por Ferreira (2006), juntamente com os dados fenotípicos da característica foram obtidos QTLs com base no método de mapeamento por intervalo (Lander e Botstein, 1989), utilizando o programa computacional MapQTL (versão 4.0) (Van Ooijen et al., 2000). O número máximo de iterações foi de 200, sendo que foi considerado o máximo de três marcas vizinhas de cada marcador.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Estatística Descritiva e Herdabilidade do Teor de Proteína

O teor médio de proteína obtido nos genótipos da geração F₂ foi de 21,6%, entretanto, foram encontrados teores que variaram de 13,8% até 29,2% nas famílias avaliadas. Os intervalos contendo as frequências de classe podem ser observados na Tabela 2. O coeficiente de variação do experimento foi de 9,2% (Tabela 3). A média dos genótipos da geração F₂ foi semelhante à média dos genitores CNFC 7812 e CNFC 8056 (21,5%). Cerca de 39% das famílias F₂ apresentaram indivíduos transgressivos, ou seja, teores de proteínas acima da média dos pais. Esses resultados sugerem que, provavelmente, uma interação alélica aditiva seja predominante para teor de proteína em feijoeiro-comum.

Tabela 2. Distribuição das frequências de classe da geração F₂ para teor de proteína (%) em feijoeiro-comum.

Classe	Frequência Absoluta	Frequência Relativa
13,60 -15,10	3	2,83
15,10 -16,60	2	1,89
16,60 -18,10	9	8,49
18,10 -19,70	15	14,15
19,70 -21,20	18	16,98
21,20 -22,70	15	14,15
22,70 -24,20	15	14,15
24,20 -25,70	12	11,32
25,70 -27,30	6	5,66
27,30 -28,80	7	6,60
28,80 -30,30	4	3,77

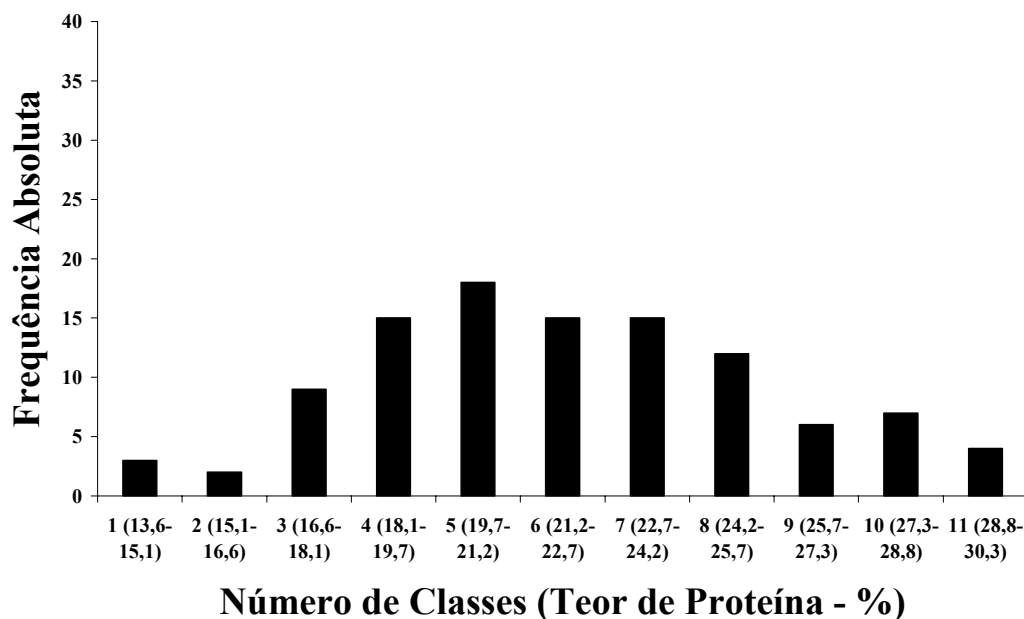


Figura 1. Histograma de distribuição da frequência de famílias da geração F_2 para teor de proteína (%) em feijoeiro-comum.

Tabela 3. Média, mediana, variância, desvio padrão, coeficiente de variação (C.V.) valor máximo e valor mínimo das famílias avaliadas na geração F_2 para a característica teor de proteína em feijoeiro-comum.

	Média	Mediana	Variância	Desvio Padrão	C.V (%)	Mín.	Máx.
F_2	21,6	21,5	12,5	3,5	9,2	13,6	29,2

A interação alélica aditiva facilita a seleção porque o indivíduo ou grupo de indivíduos superiores quando selecionados produzirão uma descendência também superior, ou seja, indica um grande potencial para melhoramento de proteína nesta população (Mittelmann *et al*, 2003). Além disso, esse tipo de segregação é que os melhoristas estão normalmente procurando por meio dos cruzamentos, pois permitem que sejam selecionados indivíduos com número de alelos efetivos superiores ao dos pais.

De acordo com o Teste de Lilliefors, a um nível de 1% de probabilidade, os dados do teor de proteína tenderam a distribuição normal, apresentando um histograma moderadamente simétrico (Figura 1). Este aspecto da curva contribui para reforçar a suposição de que teor de proteína em feijeiro-comum apresente interação alélica aditiva.

Para a confirmação da interação alélica aditiva como predominante seria necessária a obtenção dos dados da geração F_1 para uma comparação com a média dos indivíduos da geração F_2 e com a média dos pais.

O teor médio de proteína obtido nos genótipos da geração $F_{2:3}$ foi de 20,7%, entretanto, foram observados teores desde de 14,9% até 28,8%. Os intervalos contendo as frequências de classe podem ser observados na Tabela 4. O coeficiente de variação do experimento foi de 7,9% (Tabela 5).

A média das famílias da geração $F_{2:3}$ apresentou uma pequena variação (0,77%) em relação a média dos genitores. Aproximadamente 24% das famílias $F_{2:3}$ apresentaram desempenho fora do limite dos pais, ou seja, indivíduos transgressivos.

Tabela 4. Distribuição das frequências de classe da geração F_{2:3} para teor de proteína (%) em feijoeiro-comum.

Classe	Frequência Absoluta	Frequência Relativa
14,90 -16,10	5	3,73
16,10 -17,30	11	8,21
17,30 -18,50	10	7,46
18,50 -19,70	22	16,42
19,70 -20,90	21	15,67
20,90 -22,10	27	20,15
22,10 -23,30	16	11,94
23,30 -24,50	8	5,97
24,50 -25,70	7	5,22
25,70 -26,90	4	2,99
26,90 -28,10	1	0,75
28,10 -29,30	2	1,49

Tabela 5. Média, mediana, variância, desvio padrão e coeficiente de variação (C.V.) das famílias avaliadas na geração F_{2:3} para a característica teor de proteína em feijoeiro-comum.

	Média	Mediana	Variância	Desvio Padrão	C.V (%)	Mín.	Máx.
F_{2:3}	20,7	20,6	8,9	3,0	7,9	14,9	28,8

De acordo com o Teste de Lilliefors, a um nível de 1% de probabilidade, os dados apresentam uma distribuição normal. A análise exploratória dos dados feita através de histogramas de distribuição de frequências que pode ser observado na Figura 2.

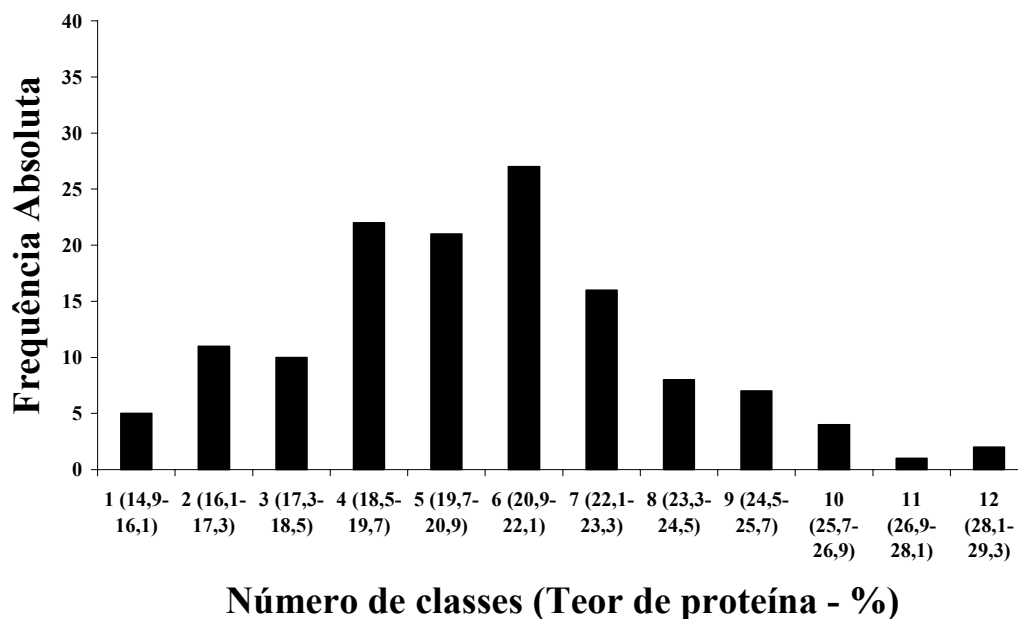


Figura 2. Histograma de distribuição da frequência de famílias da geração F_{2:3} para teor de proteína (%) em feijoeiro-comum.

Lemos *et al.* (2004) avaliaram o comportamento de 29 genótipos de feijão do grupo comercial Carioca quanto a características agrônômicas e tecnológicas nos anos de 2001 e 2002. O teor de proteína bruta foi determinado através do método de Kjeldahl. O teor protéico encontrado variou de 18,6% (Rudá) a 23,8% (Porto Real e EL 49) em 2001 e de 17,0% (CNFC 8007 e CNFC 8011) a 21,8% (EL 49) em 2002. Somente os genótipos Carioca, CNFC 8005 e EL 49 apresentaram teor de proteína bruta médio acima de 20,0% nos dois anos. Então, considerando o desempenho destes 29 genótipos nos dois anos avaliados, os teores protéicos foram semelhantes aos obtidos por Párraga *et al.* (1981, citado por Lemos *et al.*, 2004), inferiores as obtidos por Pimentel *et al.* (1988, citado por Lemos *et al.*, 2004) e diferem dos resultados obtidos neste trabalho.

Ramos Junior *et al.* (2005), analisando o teor de proteína através do método de micro-Kjedahl em 15 cultivares de feijoeiro do tipo de grão carioca, observaram uma variação de 19,1% (Carioca Precoce) a 21,4% (Carioca), com teor médio de 20,5%. O teor médio encontrado no estudo de Ramos Junior *et al.* (2005) foi inferior aos valores 22,7% e 25,4%, verificados respectivamente por Párraga *et al.* (1981, citado por Ramos Junior *et al.*, 2005) e Pimentel *et al.* (1988, citado por Ramos Junior *et al.*, 2005) em duzentas cultivares e em vinte linhagens de feijão e os resultados diferem dos apresentados no presente trabalho.

Da Silva *et al.* (2006) avaliaram o efeito da adubação nitrogenada e molíbdica na produtividade e nas características tecnológicas, compreendidas pelo teor de proteína bruta, tempo de cozimento, presença de grãos de casca dura que não hidratam, relação de hidratação e tempo necessário que ocorra a máxima hidratação dos grãos de feijão, cultivar Pérola. Para determinar o teor de proteína bruta, utilizaram também o método de Kjedahl, encontraram teor médio de proteína de 21,5% sem adubação de nitrogênio em cobertura e 24,5% com adubação (120 kg/ha). Bordin *et al.* (2003), citado por Da Silva *et al.*, (2006), obtiveram um resultado semelhante ao obtido por Da Silva *et al.*, (2006) com adubação de 24% de proteína bruta em feijoeiro, com aplicação de uma dose menor de nitrogênio em cobertura (75kg/ha). Os resultados sem adubação nitrogenada foram semelhantes aos obtidos no presente trabalho, que também não se utilizou deste tipo de adubação. Esse resultado corrobora essa interferência da cobertura nitrogenada no teor de proteína do grão.

Com base nos relatos da literatura para teor de proteína em feijão, pode-se perceber uma ampla variação nestes dados e isso corrobora Lajolo *et al.* (1996),

que afirmaram haver variações no conteúdo protéico em razão do local de cultivo, de fatores ambientais, e principalmente, do fator cultivar.

O feijão é constituído de 20% a 25% de teor de proteínas (Ribeiro *et al.*, 2005). Esses valores são superiores ao teor médio encontrado em milho, que possui cerca de 10% (Mendes, 1972 e Tosello, 1987, citados por Oliveira *et al.*, 2004 e Fufa *et al.*, 2003 citados por Naves *et al.*, 2004) e em arroz, com média de 10,96% (Hu *et al.*, 2004), entretanto inferiores a soja, com média de 40% de proteína (Moraes *et al.*, 2006).

Naves *et al.* (2004), através do método de Kjeldahl (AOAC, 1990), encontraram valores de 8,5% a 10,5% em populações de milho, enquanto Oliveira *et al.* (2004), pelo mesmo método, encontraram uma média geral, envolvendo todos os genitores e cruzamentos, de 11,61% de teor protéico. Estes resultados aproximam-se dos valores frequentemente relatados para milho na literatura (Mendes, 1972 e Mittelman, 2001, citados por Oliveira *et al.*, 2004; Fufa *et al.*, 2003, citados por Naves *et al.*, 2004). Estes resultados mostram que o conteúdo médio de proteína em feijão é superior ao conteúdo médio em milho.

Araújo *et al.* (2003) avaliaram 33 cultivares de arroz e encontraram três grupos de acordo com o seu teor de proteína bruta: baixo (6-7%), intermediário (7-8%) e elevado (superior a 8%), sendo que a variedade Manteiga foi a que apresentou maior acúmulo de proteína com 10,48%.

A soja, que é uma das principais fontes de proteína para o homem (Panthee *et al.*, 2006) possui um teor médio de proteínas em torno de 40% (Embrapa, 2006; Moraes *et al.*, 2006). Moraes *et al.*, (2006), a fim de avaliarem duas linhagens com alto teor de proteína, obtiveram valores de até 47,8% em soja.

Nas famílias da geração F_2 do presente trabalho observou-se que a herdabilidade no sentido amplo foi de 58% para teor de proteína. Acredita-se que dois ou quatro genes de maior efeito estejam envolvidos no controle genético do teor de proteína em feijão e estimativas de herdabilidade no sentido amplo variando de 30% a 64% foram encontradas, indicando forte efeito da variância ambiental (Leleji *et al.*, 1972, citado por Ribeiro *et al.*, 2005).

Jacinto-Hernandez *et al.* (2003) trabalharam com a característica tempo de cocção em feijoeiro-comum e encontraram um alto valor de herdabilidade no sentido restrito (74%).

Nos esforços de Camargo *et al.* (1998) em trigo foram estimados os valores de herdabilidade no sentido restrito referentes a quatro características agrônomicas. Para a característica número de espiguetas por espiga foram obtidas estimativas médias e altas para herdabilidade, indicando que a seleção para esse caráter poderia ser feita nas primeiras gerações segregantes. Já para as demais características foram obtidas herdabilidades médias e baixas sugerindo que a seleção para estes caracteres poderia ser realizada nas gerações mais avançadas.

No trabalho desenvolvido por Faleiro *et al.* (2003) as estimativas da herdabilidade no sentido amplo, foram calculadas a partir de médias, e foram superiores a 70% em cinco (número de dias até o florescimento, número de dias até a maturação, número médio de vagens por planta, peso de 100 sementes, número médio de sementes por planta, número médio de sementes por vagem, produção média por planta e produção média por vagem) dos oito caracteres avaliados.

Panthee *et al.*, (2006) estudaram teor de metionina em grãos de soja a partir de 101 linhagens recombinantes F₆ e encontraram uma herdabilidade no sentido restrito de 57%.

5.2. QTL – Análise de Ligação

5.2.1. Análise de QTLs – Mapeamento por Marcas Simples

De acordo com o método de mapeamento por marcas simples na geração F₂, cinco locos apresentaram associações significativas entre a marca e a característica teor de proteína: BM154, OPA08_1460, OPAE18_524, OPAF14_1900 e OPW06_836, indicando uma possível detecção de QTL ligado a eles. Esses cinco locos considerados significativos e os seus respectivos valores de recombinação (*r*) foram apresentados na Tabelas 6.

Tabela 6. Marcadores SSR e RAPDs detectados por meio de análise de variância ($P \leq 0,05$), que apresentaram associação significativa entre marcas e teor de proteína nas famílias da geração F₂ de feijoeiro-comum.

Locos	F	P-valor	F crítico	r	Grupos de ligação estabelecidos por Ferreira, (2006)
BM154	4,3	0,016	3,0	0,32	não ligado
OPA08 - 1460	5,8	0,017	3,9	0,33	1
OPAE18 - 524	3,8	0,053	3,9	0,36	4
OPAF14 – 1900	7,9	0,006	3,9	0,31	4
OPW06 - 836	6,6	0,012	3,9	0,32	13*

*Este marcador apresentou distorção na segregação

Na geração F_{2:3}, quatro locos apresentaram associações significativas entre a marca e a característica teor de proteína: OPAB04_1248, OPH01_545, OPP01_400 e PVM50 (Tabela 7).

Tabela 7. Marcadores SSR e RAPDs detectados por meio de análise de variância ($P \leq 0,05$), que apresentaram associação significativa entre marcas e teor de proteína nas famílias da geração F_{2:3} de feijoeiro-comum.

Locos	F	P-valor	F crítico	r	Grupos de ligação estabelecidos por Ferreira, (2006)
PVM50	3,9	0,022	3,1	0,33	7
OPAB04_1248	5,4	0,022	3,9	0,33	11
OPH01_545	3,8	0,053	3,9	0,34	não ligado
OPP01_400	5,0	0,027	3,9	0,34	4

Com base nos resultados das análises por marcas simples, considerando as duas gerações (Tabelas 6 e 7), um total de 9 locos foi associado à variável teor de proteína. Os locos identificados foram distintos para cada geração analisada (F₂ e F_{2:3}), sugerindo a existência de uma interação ambiental entre as análises de cada geração ou um efeito de recombinação genética entre o alelo do marcador e alelo do QTL. No entanto, observa-se que os marcadores OPAE18 – 524, OPAF14 – 1900 e OPP01_400 alocados no grupo de ligação 4 do mapa desenvolvido por Ferreira (2006) apresentam uma associação com os dados fenotípicos de teor de proteína, indicando, possivelmente, a presença de um QTL nessa região genômica. Tal informação deve ser avaliada nas análises de mapeamento por intervalo.

Apesar de ser recomendado como a primeira análise a ser realizada na avaliação de QTL, o mapeamento por marca simples não revela o efeito do QTL,

pois a presença de um QTL de pequeno efeito próximo ao marcador ou de um QTL de grande efeito longe do marcador, não podem ser discriminadas. Não há como associar uma marca de maior valor de significância com o possível local do QTL, pois o que deve ser analisado é efeito dessas marcas em presença das demais dentro do grupo de ligação devidamente construído.

A aplicação desta metodologia de mapeamento por marcas simples pode ser evidenciada na literatura. Brummer *et al.* (1997) utilizaram análise de marcas simples baseando-se na análise de variância para detectar associações significativas entre marcas e teor de proteína e óleo em oito populações de soja. Neste trabalho, os autores conseguiram identificar QTLs ambientalmente estáveis para ambas as características.

5.2.2. Análise de QTLs – Mapeamento por Intervalo

As análises de ligação implementadas no MapQTL versão 4.0 (Van Ooijen *et al.*, 2000), utilizando um LOD mínimo de 1,0 para declarar QTL, resultaram no mapeamento de três marcas (OPAO8_1460, OPAF14_1900 e OPAE18_524) ligadas ao teor de proteína em feijoeiro na geração F₂. Esses foram distribuídos nos grupos de ligação 1 e 4 estabelecidos por Ferreira (2006) (Tabela 8; Figura 3 e 4).

Tabela 8. Posição no mapa, critério de LOD, iterações e porcentagem da variância fenotípica explicada por cada loco dos grupos de ligação 1 e 4 do mapa estabelecido por Ferreira (2006) em feijoeiro-comum para a geração F₂.

Grupo de Ligação (GL)	Posição no Mapa (cM)	LOD	Iterações	%explicação	Locos
GL1	0	0,21	4	1	PV11
	5	0,19	6	1,2	
	10	0,14	8	1	
	15	0,08	7	0,6	
	20	0,03	6	0,2	
	24	0,01	4	0	BM152
	29	0,05	4	0,3	
	29,2	0,05	4	0,3	PV15
	34,2	0,02	6	0,1	
	36	0,01	4	0	D11_1580
	41	0,01	6	0,1	
	46	0,01	6	0,1	
	51	0,02	5	0,1	
	52,9	0,02	4	0,1	BM143
	57,9	0	4	0	
	62,8	0,01	4	0	PV193
	67,8	0,01	5	0	
	72,8	0,07	7	0,5	
	77,8	0,2	7	1,3	
	80,9	0,29	6	1,7	AA18_1342
	85,9	0,11	8	0,8	
	90,9	0	6	0	
	95,9	0,07	6	0,4	
	100,1	0,19	4	0,9	PV213
	103,6	1,02	5	5,2	D06_637
	103,9	1,13	5	5,5	A08_1460
	108,9	1,31	9	8,6	
	113,9	1,45	13	12,5	
	118,9	1,42	16	14,2	
	123,9	1,13	16	11,7	
128,9	0,72	12	6,4		
133,9	0,4	8	2,7		

Tabela 8. Continuação.

Grupo de Ligação (GL)	Posição no Mapa (cM)	LOD	Iterações	%explicação	Locos
GL1	138,9	0,21	4	1	
	139	0,21	4	1	PV176
GL4	0	0,8	9	5,7	P01_400
	5	1,04	11	8,3	
	10	1,18	11	9,1	
	13,3	1,18	9	8,2	AF14_1900
	18,3	1,09	10	7,9	
	22,6	0,9	8	5,8	AE18_524
	27,6	0,82	9	5,8	
	32,6	0,67	9	4,8	
	37,6	0,5	7	3,2	
	42,6	0,35	5	1,8	
	42,7	0,34	5	1,8	A02_1007
	45,9	0,29	4	1,4	PVM18
	50,9	0,4	7	2,6	
	55,9	0,55	10	4,6	
	60,9	0,71	13	7,2	
	65,9	0,85	15	9,1	
70,9	0,88	14	8,9		
75,9	0,81	11	6,8		
77,9	0,76	9	5,7	P01_382	

1

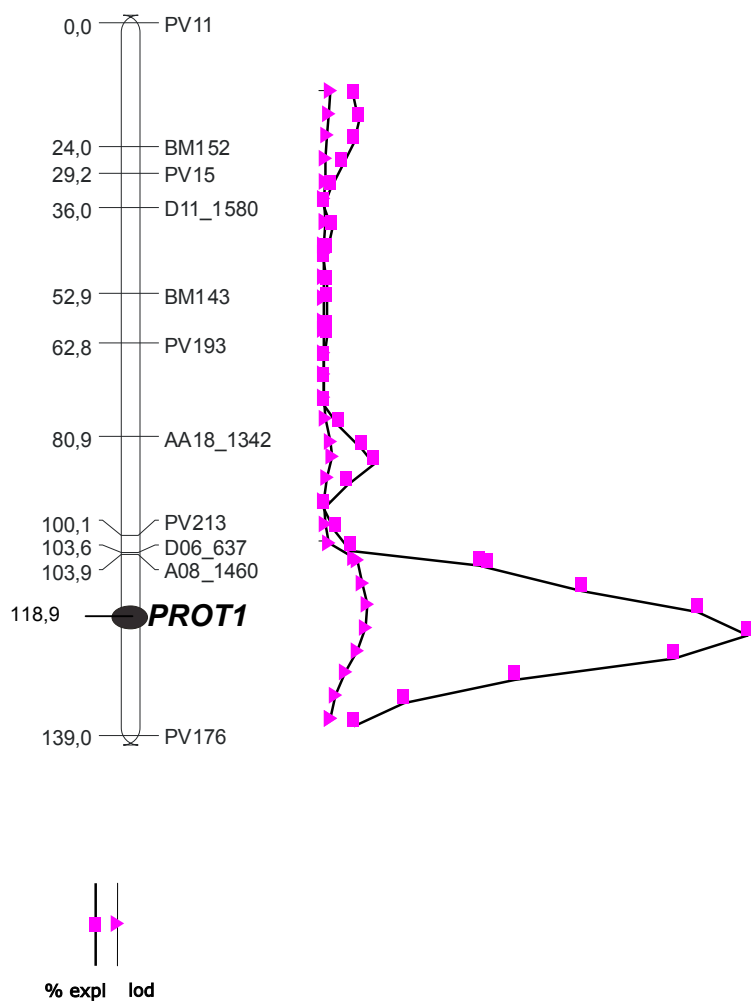


Figura 3. Mapeamento por intervalo de um QTL (*PROT1*) no grupo de ligação 1 do mapa estabelecido por Ferreira (2006) encontrado para teor de proteína para feijoeiro-comum na geração F_2 do cruzamento entre CNFC 7812 x CNFC 8056.

4

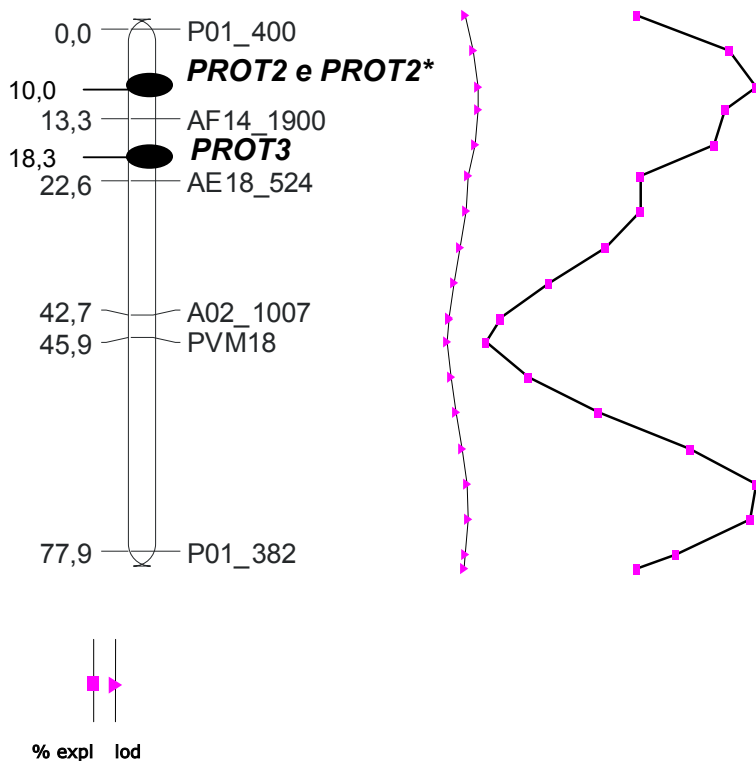


Figura 4. Mapeamento por intervalo de dois QTLs (*PROT2* e *PROT3*) na geração F_2 e um QTL (*PROT2**) na geração $F_{2:3}$ no grupo de ligação 4 do mapa estabelecido por Ferreira (2006) encontrado para teor de proteína para feijoeiro-comum do cruzamento entre CNFC 7812 x CNFC 8056.

Para a geração $F_{2:3}$, a análise de mapeamento por intervalo detectou três QTLs diferentes aos encontrados na geração F_2 : OPP01-400, PVM50 e OPAB04_1248. Esses foram distribuídos em três grupos de ligação: 4, 7 e 11, respectivamente (Tabela 9; Figuras 4, 5 e 6).

Tabela 9. Posição no mapa, critério de LOD, iterações e porcentagem da variância fenotípica explicada por cada loco dos grupos de ligação 4, 7 e 11 do mapa estabelecido por Ferreira (2006) em feijoeiro-comum para a geração F_{2:3}.

Grupo de Ligação (GL)	Posição no Mapa (cM)	LOD	Iterações	% explicação	Locos
GL 4	0.0	1.01	8	6.8	P01_400
	5.0	0.61	10	4.9	
	10.0	0.21	8	1.6	
	13.3	0.06	6	0.4	AF14_1900
	18.3	0.16	7	1.1	
	22.6	0.27	6	1.7	AE18_524
	27.6	0.22	7	1.5	
	32.6	0.16	7	1.1	
	37.6	0.10	6	0.7	
	42.6	0.05	5	0.3	
	42.7	0.05	4	0.3	A02_1007
	45.9	0.07	4	0.4	PVM18
	50.9	0.06	6	0.4	
	55.9	0.04	9	0.4	
	60.9	0.02	10	0.2	
	65.9	0.00	10	0.0	
	70.9	0.00	7	0.0	
	75.9	0.01	8	0.1	
	77.9	0.02	7	0.1	P01_382
GL 7	0.0	1.14	4	5.7	PVM50
	5.0	0.93	6	5.5	
	10.0	0.68	8	4.7	
	15.0	0.40	9	3.1	
	20.0	0.16	9	1.3	
	25.0	0.02	7	0.2	
	30.0	0.01	5	0.0	
	35.0	0.08	4	0.4	
	35.1	0.08	4	0.4	PVM37
	40.1	0.10	6	0.6	
	45.1	0.11	7	0.8	
	50.1	0.11	7	0.8	
	53.3	0.10	7	0.7	H07_571

Tabela 9. Continuação.

Grupo de Ligação (GL)	Posição no Mapa (cM)	LOD	Iterações	% explicação	Locos
GL 11	0.0	0.85	9	6.3	N07_880
	5.0	0.97	10	8.0	
	10.0	1.09	12	9.7	
	15.0	1.20	13	11.1	
	20.0	1.28	13	11.7	
	25.0	1.34	12	11.5	
	30.0	1.35	11	10.6	
	34.3	1.35	9	9.5	AB04_1248

7

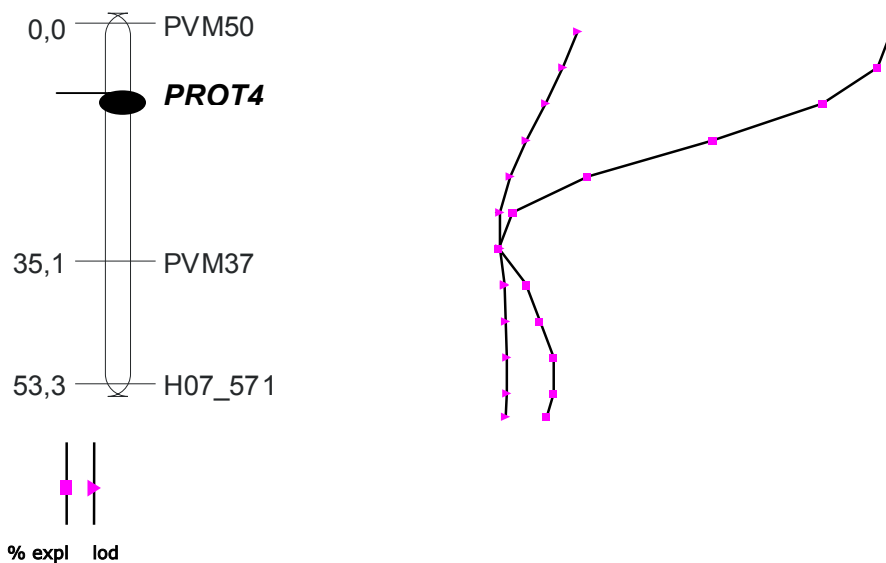


Figura 5. Mapeamento por intervalo de um QTL (*PROT4*) no grupo de ligação 7 do mapa estabelecido por Ferreira (2006) encontrado para teor de proteína para feijoeiro-comum na geração F_{2:3} do cruzamento entre CNFC 7812 x CNFC 8056.

11

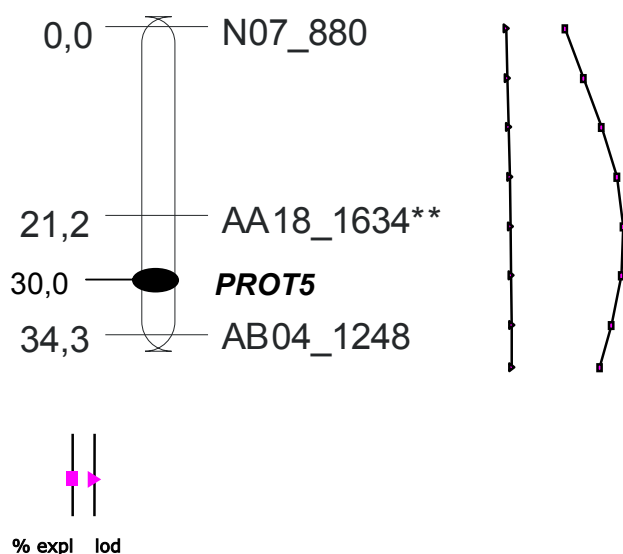


Figura 6. Mapeamento por intervalo de um QTL (*PROT5*) no grupo de ligação 11 do mapa estabelecido por Ferreira (2006) encontrado para teor de proteína para feijoeiro-comum na geração $F_{2:3}$ do cruzamento entre CNFC 7812 x CNFC 8056.

Na geração F_2 as análises de marcas simples revelaram cinco marcas (BM154, OPA08_1460, OPAE18_524, OPAF14_1900 e OPW06_836), ligadas a características teor de proteína, no entanto, o mapeamento por intervalo apenas confirmou a presença de três marcas significativas (OPA08_1460, OPAE18_524 e OPAF14_1900). Os resultados obtidos pelo método de mapeamento por intervalo sugerem haver QTLs nos seguintes intervalos: OPA08_1460 – PV 176 (Grupo de Ligação 1), OPAF14_1900 – OPAE18_524 e OPP01-400 – OPAF14_1900 (ambos intervalos apresentados no Grupo de Ligação 4).

Na geração $F_{2:3}$ as análises de marcas simples revelaram cinco marcas (OPAB04_1248, OPH01_545, OPP01_400 e PVM50), entretanto, mapeamento

por intervalo foram detectadas apenas as marcas OPP01-400, PVM50 e OPAB04_1248. Isto sugere haver QTLs nos intervalos: OPP01-400 – OPAF14_1900 (Grupo de Ligação 4), PVM37 – PVM50 (Grupo de Ligação 7) e OPAA18_1634 – OPAB04_1248 (Grupo de Ligação 11). Pode-se observar que apesar da diminuição do número de marcadores significativos quando se utilizou o método do mapeamento por intervalo, não houve o surgimento de marcas que não haviam sido detectadas na análise de marcas simples.

O mapeamento por intervalo permitiu confirmação dos dados obtidos nas análises de marcas simples, podendo-se identificar no grupo de ligação duas regiões de QTLs (**PROT2** e **PROT2***) que foram associados significativamente com o teor de proteína em feijoeiro independentemente da geração analisada. Os resultados encontrados para região **PROT2** sugerem ser esta região genômica estável, no entanto, novas análises devem ser realizadas no sentido de esclarecer se neste local existe uma ou duas regiões de QTL.

Uma região (OPP01-400, OPAF14_1900 e OPAE18_524) que apresenta QTLs das duas gerações aparece no grupo de ligação 4. Isto indica a ligação de um QTL nesta região que se mantém nas duas gerações (Figura 4).

Considerando que genitores CNFC 7812 e CNFC 8056 apresentam divergência genética baixa conforme indicou Ferreira (2006), no presente trabalho foi possível identificar através do método de mapeamento por intervalo seis marcadores associadas significativamente com o teor de proteína nas duas gerações avaliadas. A porcentagem da variação fenotípica deste caráter explicada por estes marcadores variou de 5,5% a 8,2% para a geração F_2 e de 5,7% a 9,5% para a geração $F_{2,3}$. Para a geração F_2 , os marcadores OPA08_1460, OPAE18_524 e OPAF14_1900 explicam 5,5%, 5,8% e 8,2%,

respectivamente da variação fenotípica. Na geração $F_{2:3}$, os marcadores OPP01_400, PVM50 e OPAB04_1248 explicam 6,8%, 5,7% e 9,5%, respectivamente da variação fenotípica. Somados, os marcadores encontrados explicam aproximadamente 20% da expressão da característica teor de proteína no caso da geração F_2 , 22% no caso da geração $F_{2:3}$.

Existem poucos estudos de mapeamento de características nutricionais em feijoeiro-comum, principalmente relacionado ao teor de proteína. Jacinto-Hernandez e colaboradores (2003) encontraram apenas uma marca relacionada ao tempo de cocção em feijoeiro-comum que explica 23% da variação desta característica nas linhagens estudadas.

Tar'an e colaboradores (2004) trabalharam com 88 linhagens recombinantes que foram avaliadas em 13 ambientes em três anos diferentes, utilizaram um mapa composto de 193 AFLPs, 13 RAPDs e um STS encontraram 3 QTLs para teor de proteína em ervilha, sendo estes responsáveis por 45% da variação fenotípica da característica.

No presente trabalho, considerando que os genitores (CNFC 7812 e CNFC 8056) utilizados apresentam um pequeno contraste para o teor de proteína (5%) foi possível identificar regiões de QTLs para o teor de proteína em feijoeiro, mesmo que de pequeno efeito. Vale ressaltar que este é o primeiro registro do mapeamento de QTL para teor de proteína em feijoeiro-comum. Desta maneira, este trabalho abre a perspectiva do mapeamento de QTLs para teor de proteína em feijoeiro em populações de melhoramento genético onde normalmente contraste genético é pequeno para as características de interesse econômico, como é o caso do teor de proteína. Acredita-se que uma maior saturação do mapa de ligação desenvolvido por Ferreira (2006) poderá ampliar a cobertura das

regiões genômicas, permitindo menores distâncias médias entre os marcadores (cM), o que contribuíram com uma maior eficiência nos mapeamento de QTLs. Outra alternativa no mapeamento de QTL do teor de proteína seria a inclusão de novos cruzamentos buscando genitores que maximizem a divergência genética para a característica analisada, pois poderia permitir a localização de novos QTLs responsáveis por uma maior contribuição na variância fenotípica do teor de proteína em feijoeiro.

6. CONCLUSÃO

Com base nos resultados do presente trabalho pode-se concluir:

As metodologias de análise de QTL e o cruzamento utilizado foram satisfatórios para identificação de QTLs relacionados com teor de proteína em feijoeiro-comum.

A associação de regiões genômicas aos dados fenotípicas de teor de proteína em feijoeiro, permitiu a identificação de seis QTL de pequeno efeito quando utilizado a metodologia de mapeamento por intervalo.

A região genômica do grupo de ligação 4 foi detectada em ambas a gerações avaliadas, sendo recomendado uma melhor investigação desta região.

Pesquisas futuras são recomendadas para se ampliar à cobertura do genoma de feijoeiro com um maior número de marcadores moleculares, e bem como a incorporação de novos genitores com maior divergência para teor de proteína, e com isso melhorar a localização de regiões controlados do teor de proteína em feijoeiro.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adam-Blondon, A.; Sévignac, M. & Dron, M. **A Genetic Map of Common Bean to Localize Specific Resistance Genes Against Anthracnose**. Genome. v. 37, p. 915-924. 1994.

Arumuganatham, K. & Earle, E. D. **Nuclear DNA Content of Some Important Plant Species**. Plant Molecular Biology Reporter. v. 9, p. 208-218. 1991.

Andrade, C. A. B.; Patroni, S. M. S.; Clemente, E. & Scapim. **Produtividade e qualidade nutricional de cultivares de feijão em diferentes adubações – Nutritional quality and yield of bean cultivars under different fertilization levels**. Ciência Agrotec. Lavras, v.28, n.5, p.1077-1086. 2004.

Association Of Official Analytical Chemists. **Official Methods Of Analysis Of AOAC International**. Washington: AOAC, 1995.

Azevedo Filho, J. A. De; Vello, N. A. & Gomes, R. L. F. **Estimativas de parâmetros genéticos de populações de soja em solos contrastantes na saturação de alumínio**. Bragantia. Campinas, v. 57, n. 2. 1998.

Barros, E. G.; Moreira, M. A. & Carneiro, J. E. S. **Piramidação de genes de resistência a patógenos no feijoeiro-comum**. Publicações do VIII CONAFE - Congresso Nacional de Pesquisa de Feijão. Universidade Federal de Viçosa – Viçosa, MG. 2005.

Bassinello, P. P. **Qualidade dos grãos**. Disponível em: <http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia4/AG01/arvore/AG01_2_2810200_4161635.html>. Acesso em: 20 outubro 2005.

Bearzoti, E. Mapeamento de QTL. In.: PINHEIRO, J. B.; CARNEIRO, I. F. (Eds.). **Análise de QTL no melhoramento de plantas**. Goiânia, GO: FUNAPE. p.63-209. 2000.

Benchimol, Jaime. **Missionaries of sciences: the Rockefeller Foundation and Latin America**. Hist. cienc. Saude - Manguinhos, Rio de Janeiro, v. 2, n. 1, 1995. Pré-publicação. Disponível em:
<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-59701995000200015&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: junho 2007.

Bennett, M. D. & Leitch, I. J. **Nuclear DNA Amounts in Angiosperms ̢583 New Estimates**. Annals of Botany. v.80, p. 166-199. 1997.

Bento, D. A. V. Mapeamento de QTLs para produção de grãos e seus componentes em uma população de milho tropical. Tese (Doutorado em Agronomia: Genética e melhoramento de plantas). Piracicaba, SP, 2006.

Blair M. W.; Iriarte, G. & Beebe S. **QTL analysis of yield traits in an advanced backcross population derived from a cultivated andean x wild common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) cross**. Theor Appl Genet. 2006.

Blair, M. W.; Pedraza, F.; Buendia, 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.)**. Theor. and Applied Genetics International Journal of Plant Breeding Research. v.107, p.1362-1374. 2003.

Borem, A. **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, p. 817, 1999.

Börner, A.; Schumann, E.; Fürste, A.; Cöster, H.; Leithold, B.; Röder, M. S. & Weber, W. E. **Mapping of quantitative trait loci determining agronomic important characters in hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.)** Theoretical and Applied Genetics. 2002.

Botstein, D.; White, R. L.; Skolnick, M. & Davis, R. W. **Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms.** American Journal Human Genetics. Chicago, v.32, n.3, p.314-331. 1980.

Brigide, P. Disponibilidade de ferro em grãos de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L) irradiados. Dissertação (mestrado). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, USP, Piracicaba. 2002.

Brogini, R. L. Mapeamento de genes de resistência a ferrugem e de QTLs envolvidos na resistência a Septoriose em soja. 2005. 93p. Dissertação (mestrado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, USP, Piracicaba, 2005.

Brondani, C. & Brondani, R. P. V. **Germoplasma: base para nova agricultura.** Ciência Hoje. v. 35, n. 207, p. 70-73. 2004.

Brondani, R. P. V.; Brondani, C; Melo, L. C. & Pereira, P. A. A. Marcadores moleculares em programas de melhoramento genético do feijoeiro-comum. In: PELOSO, M. J. DEL; MELO, L. C. (Eds.). Potencial de rendimento da cultura do feijoeiro-comum. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão. p.85-107. 2005.

Broughton, W. J.; Hernández, G.; Blair, M.; Beeb, S.; Gepts, P. & Vanderleyden, J. **Beans (*Phaseolus* spp.) – model food legumes.** Plant and Soil. v. 252, p. 55-128. 2003.

Brummer, E. C.; Graef, G. L.; Orf, J.; Wilcox, J. R. & Shoemaker, R. C. **Mapping QTL for seed protein and oil content in eight soybean populations.** Crop Science. v. 37, p. 370-378. 1997.

Burr, B. & Burr, F. A. **Recombinant inbreds for molecular mapping in maize.** Theoretical and Practical considerations. Trends in Genetics, Oxford, v.7, p.55-60. 1991.

Camargo, C. E. De O.; Ferreira Filho, A. W. P. & Felício, J. C. **Herdabilidade e correlações entre características agrônômicas em populações híbridas de trigo**. Bragantia. Campinas, v. 57, n. 1. 1998.

Carmeille, A.; Caranta, C.; Dintinger, J.; Prior, P.; Luisetti, J. & Besse, P. **Identification Of Qtls For Ralstonia Solanacearum Race 3-Phylotype II Resistance In Tomato**. Theor Appl Genet. v. 113, p. 110-121. 2006.

Carneiro, M. S. & Vieira, M. I. C. **Mapas Genéticos em Plantas**. Bragantia. Campinas, v.61, n. 2, p. 89-100. 2002.

Cecchi, H. M. **Fundamentos Teóricos e Práticos em Análise de Alimentos**. Campinas, São Paulo: UNICAMP, 1999. 212 p.

Chacón, M. I.; Pickersgill, S. B. & Debouck, D. G. **Domestication patterns in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and the origin of the Mesoamerican and Andean cultivated races**. Theor Appl Genet. v. 110, p. 432-444. 2005.

Chai, B.; Lecomte, L.; Buret, M. & Causse, M. **Stability over genetic backgrounds, generations and years of Quantitative Trait Locus (QTL) for organoleptic quality in tomato**. Theor Appl Genet. v. 112, p. 934–944. 2006.

CIAT - International Center for Tropical Agriculture. **Commom Bean: the nearly perfect food**. Disponível em: <<http://www.ciat.cgiar.org>> Acesso em: 30 abril 2001.

CIAT – International Center for Tropical Agriculture. Disponível em: <<http://www.ciat.cgiar.org/ciatinfocus/beans.htm#top>.> Acesso em: 15 agosto 2006.

Coelho, A. S. G. Considerações gerais sobre a análise de QTL's. In.: PINHEIRO, J. B.; CARNEIRO, I. F. (Eds.). Análise de QTL no melhoramento de plantas. Goiânia: FUNAPE. p.1-36. 2000.

Collard, B. C. Y.; Jahufer, M. Z. Z.; Brouwer, J. B.; Pahg, E. C. K. **An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts.** Euphytica 142: 169-196. 2005.

Cregan, P. B.; Jarvik, T.; Bush, A. L.; Shoemaker, R. C.; Lark, K. G.; Kahler, A. L.; Kaya, N.; Vantoai, T. T.; Lohnes, D. G.; Chung, J.; Specht, J. E. **An integrated genetic linkage map of soybean genome.** Crop Science. v. 39, p.1464-1490, 1999.

Da Silva, T. R. B.; Lemos, L. B. & Tavares, C. A. **Produtividade e característica tecnológica de grãos em feijoeiro adubado com nitrogênio e molibdênio.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 41, n. 5, p. 739-745. 2006.

De Araújo, E. S.; De Souza, S. R. & Fernandes, M. S. **Características morfológicas e moleculares e acúmulo de proteína em grãos de variedades de arroz do maranhão.** Pesquisa Agropecuária Brasileira. Brasília, v. 38, n.11, p. 1281-1288. 2003.

De Oliveira, J. P.; Chaves, L. J.; Duarte, J. B.; Brasil, E. M.; Ferreira Junior, L. T. & Ribeiro, K. O. **Teor de proteína no grão em populações de milho de alta qualidade protéica e seus cruzamentos.** Pesquisa Agropecuária Tropical. v. 34, n.1, p. 45-51. 2004.

Durigan, J. F.; Sgarbieri, V. C. & Bulisani, E. A. **Protein value of dry bean cultivars: factors interfering with biological utilization.** Journal Agriculture: Food Chemical, v.35, p. 694-698. 1987.

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, Baltimore, v.116, p.13-125. 1987.

Embrapa Arroz e Feijão. Disponível em: <<http://www.cnpaf.embrapa.br/jornal>>
Acesso em: 02 agosto 2006.

Embrapa Arroz e Feijão. Disponível em: <<http://www.cnpaf.embrapa.br>> Acesso em: 30 Julho 2004.

Embrapa SOJA – **Soja na alimentação**. Disponível em: <http://www.cnpso.embrapa.br/soja_alimentacao/index.php?pagina=23#6>
Acesso em: 28 novembro 2006.

Emebiri, L. C.; Moody, D. B.; Horsley, R.; Panozzo, J. & Read, B. J. **The genetic control of grain protein content variation in a double haploid population derivd from a cross between Australian and North American two-rowed barley lines**. Journal of cereal science. v. 41, p. 107-114. 2005.

Falconer, D. S. **Introdução à genética quantitativa**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 279p. 1987.

Faleiro, F. G.; Ragagnin, V. A.; Schuster, I.; Corrêa, R. X.; Good-God, P. I.; Brommonshenkel, S. H.; Moreira, M. A. & Barros, E. G. **Mapeamento de genes de resistência do feijoeiro à ferrugem, antracnose e mancha-angular usando marcadores RAPD**. Fitopatologia Brasileira. v. 28, p. 59-66. 2003.

FAO - Food and Agriculture Organization. **Melhorar a nutrição através das hortas familiares. Módulo de formação técnicos de extensão agrícola em África**. Serviço de Programas de Nutrição. Divisão de Alimentação e Nutrição. Organização das Nações Unidas para a Alimentação e para Agricultura. Roma. 2003. Disponível em: <<http://www.fao.org/>> Acesso em: maio 2004.

FAO - Food and Agriculture Organization. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/faostat/collections?subset=agriculture/>> Acesso em: 29 maio 2004.

Faria, L. C.; Melo, L. C.; Peloso, M. J. Del & Abreu, A. F. B. Base genética da produtividade de grãos do feijoeiro-comum no Brasil e no mundo. In: PELOSO, M. J. DEL & MELO, L. C. (Eds.). Potencial de rendimento da cultura do feijoeiro-comum. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão. p.39-84. 2005.

Farinelli, R. & Lemos, L. B. **Produtividade, proteína bruta e tempo de cozimento de feijão em função de manejos de solo e adubação nitrogenada.** Disponível em: <<http://www.cnpaf.embrapa.br/conafe/pdf/conafe2005-0064.pdf>.> Acesso em: junho 2006.

Ferreira, M. E.; Grattapaglia, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética.** 3º Ed. Brasília: Embrapa-Cenargen. 1996. 220p.

Ferreira, L. G. Mapa genético do feijoeiro-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) baseado em marcadores SSR e RAPD. Dissertação (mestrado). Universidade Federal de Goiás, Goiânia. 2006.

Ferreira, C. M.; Del Peloso, M. J.; Faria, L. C. de. **Feijão na economia nacional.** Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão. 2002. 47p. (Documentos 135). Disponível em: <http://docsagencia.cnptia.embrapa.br/feijao/doc_135.pdf.> Acesso em: dezembro 2006.

Filho, M. P. B. & Silva, O. F. **Adubação nitrogenada de cobertura e seu efeito econômico na cultura do feijoeiro irrigado.** Embrapa Arroz e Feijão. Pesquisa em foco, n. 31. Santo Antônio de Goiás, GO. 1999.

Frei, A.; Blair, M. W.; Cardona, C.; Beebe, S. E.; Gu, H. & Dorn, S. **QTL mapping of resistance to Thrips palmi Karny in common bean.** Crop Science, v. 45, p. 379-387. 2005.

Freyre, R.; Skroch, P.W.; Geffroy, V.; Adam-Blondon, A.-F.; Shirmohamadali, A.; Johnson, W.C.; Llaca, V.; Nodari, R.O.; Pereira, P.A.; Tsai, S.-M.; Tohme, J.; Dron, M.; Nienhuis, J.; Vallejos, C. E. & Gepts, P. **Towards an integrated linkage**

map of common bean. 4. Development of a core linkage map and alignment of RFLP maps. Theor. Appl. Genet. n. 97, p. 847-856. 1998.

Gepts, P. & Bliss, F. A. **F1 hybrid weakness in the common bean: differential geographic origin suggests two gene pools in cultivated bean germplasm.** The Journal of heredity. v. 76, p. 447-450. 1985.

Gepts, P.; Kmiecik, K.; Pereira, P. A. A.; Bliss, F. A. **Dissemination pathways of common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae) deduced from phaseolin electrophoretic variability.** The Americans. Economic Botany. New York, v. 42, n. 1, p.73-85. 1988.

Gepts, P.; Beavis, W. D.; Brummer, E. C.; Shoemaker, R. C.; Stalker, H. T.; Weeden, N. F. & Young, N. D. **Legumes as a model plant family. Genomics for food and feed report of the cross-legume advances through genomics conference.** Plant Physiology, v.137. p. 1228-1235. 2005.

Gomes Junior, F. G.; Lima, E. R.; Leal, A. J. F.; Matos, F. A., De Sá, M. E. & Haga, K. I. **Teor de proteína em grãos de feijão em diferentes épocas e doses de cobertura nitrogenada.** Acta. Science Agron. v.27, n.3, p. 455-459. 2005.

Grisi, M. C. M. Mapeamento genético de locos microssatélites em feijoeiro-comum na população BAT93 x JALO EEP558. Dissertação (mestrado) Universidade Federal de Goiás, Goiânia. 2006.

Hyne, V.; Kaersey, M J. **QTL analysis: further uses of 'marker regression'.** Theor. Appl. Genet. 91:471-476. 1995.

Hu, Z. L.; Li, P.; Zhou, M.Q, Zhang, Z. H.; Wang, L. X; Zhu, L. H & Zhu, Y. G. **Mapping of quantitative trait loci (QTLs) for rice protein and fat content using doubled haploid lines.** Euphytica. v.135, p. 47-54. 2004.

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. Disponível em:

<<http://www.ibge.gov.br/home/estatística/indicadores/agropecuaria/1spa/1spa04200606.shtm>> Acesso em: 25 junho 2006.

Jacinto-Hernandez, C.; Azpiroz-Rivero, S; Acosta-Gallegos, J. A.; Hernandez-Sanchez, H. & Bernal-Lugo, I. **Genetic analysis and random amplified polymorphic DNA markers associated with cooking time in common bean.** Crop Science. v. 43, p. 329-332. 2003.

Jansen, R. C. **Interval mapping of multiple quantitative trait loci.** Genetics, Baltimore, v.135, n.1, p.205-211. 1993.

Johnson, N. L.; Pachico, D. & Voysest, O. **The Distribution of Benefits from Public International Germplasm Banks: The Case of Beans in Latin American.** Agricultural Economics. v. 29, p. 277-286. 2003.

Kearsey, M. J. & Hyne, V. **QTL analysis: a simple marker regression approach.** Theoretical and Applied Genetics. New York, v. 3, n. 6, p. 698-702. 1994.

Kelly, J. D.; Gepts, A, P.; Miklas, P. N. & Coyned, D. P. **Tagging and mapping of genes and QTL and molecular marker-assisted selection for traits of economic importance in bean and cowpea.** Field Crops Research. v. 82, p. 135-154. 2003.

Lajolo, F. M.; Genovese M. I.; Menezes, E. W. Qualidade nutricional. In: Araújo, R. S.; Rava C. A.; Stone L. F.; Zimmermann, M. J. O. (Coord.) **Cultura do feijoeiro comum no Brasil.** Piracicaba: Potafos, p.23-56 1996.

Lander, E.; Botstein, D. **Mapping complex genetic traits in humans: new methods using a complete RFLP linkage map.** Cold Spring Harbor Symp. Quant Biol. 51: 49-62. 1986a.

Lander, E.; Botstein, D. **Strategies for studying heterogeneous genetic traits in humans by using map of restriction fragment length polymorphisms.** Proc. Natl. Sci. USA 83: 7353-7357. 1986b.

Lander, E. S. & Botstein, D. **Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps.** Genetics. Baltimore, v.121, n.1, p.185-199. 1989.

Lemos, L. B.; Oliveira, R. S.; Palomino, E. C. & Silva, T. R. B. **Características agronômicas e tecnológicas de genótipos de feijão do grupo comercial Carioca.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 39, n.4, p. 319-326. 2004.

Litt, M. & Luty, J. A. **A Hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene.** American Journal Human Genetics. v. 44, p. 398-401. 1989.

Luthria, D. L., Pastor Corrales, M. A. **Phenolic acid content of fifteen dry edible beans (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties.** Journal of Food Composition and Analysis. v. 19. p. 205-211. 2005.

Luthria, D. L., Pastor Corrales, M. A. **Phenolic acids profiles of beans commonly consumed in United States.** Bean Improvement Cooperative Annual Report. v. 49. p. 6-7. 2006.

Lynch, M. & Walsh, B. **Genetics and analysis of quantitative traits.** Sunderland: Sinauer Associates. 1998. 978p.

Macmillan, K.; Emrich, K.; Piepho, H. P.; Mullins, C. E.; Price, A. H. **Assessing The Importance of genotype × environment interaction for root traits in rice using a mapping population II: conventional QTL analysis.** Theor Appl Genet. 2006.

Mascarenhas, H. A. A. *et al* . Residual effect of fertilizer applied to soybean on sugarcane yield. Sci. agric. Piracicaba, v. 51, n. 2, 1994. Pré-publicação. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-90161994000200011&lng=en&nrm=iso> Acesso em: junho 2007.

Marchioni, D. M. L. Feijões: consumo e saúde. Anais do Congresso Nacional de Pesquisa de Feijão. Goiânia, 2005. CD-ROM.

Marza, F.; Bai, G. H.; Carver, B. F. & Zhou, W. C. **Quantitative Trait Loci for yield and related traits in the wheat population Ning7840 x Clark**. Theor Appl Genet . v. 112, p. 688-698. 2006.

Mattos, L. L. De & Martins, I. S. **Consumo de fibras alimentares em população adulta**. Rev. Saúde Pública. v. 34, n.1, p. 50-55. 2000.

Mcclean, P.; Kami, J. & Gepts, P. Genomics and genetic diversity in common bean. In: Wilson, R. F.; Stalker, H. T. & Brummer, E. C. (Ed.) Legume Crop Genomics. AOCS Press, Champaign, IL, p.60-82. 2004.

Melo, L. C. Mapeamento de QTLs em feijoeiro, por meio de marcadores RAPD, em diferentes ambientes. Tese (doutorado). Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2000.

Melo, L. C.; Santos, J. B. & Ferreira, D. F. **Mapeamento de QTLs para florescimento do feijoeiro-comum com marcadores RAPD em diferentes ambientes**. Ciência Agrotec. Lavras, v. 26, n. 4. 2002.

Melo, L. C.; Santos, J. B. Dos & Ferreira, D. F. **Mapeamento de QTLs para reação ao oídio e mancha-angular do feijoeiro-comum em diferentes locais**. Pesq. Agropec. Bras. v. 37, n. 8. 2002.

Naves, M. M. V.; Silva, M. S.; Cerqueira, F. M. & Paes, M. C. D. **Avaliação química e biológica da proteína do grão em cultivares de milho de alta qualidade protéica**. Pesquisa Agropecuária Tropical. v. 34, n. 1, p. 1-8. 2004.

Nodari, R. O.; Tsai, S. M.; Gilbertson, R. L. & Gepts, P. **Towards an integrated linkage map of common bean. II. Development of an RFLP-based linkage map**. Theoretical and Applied Genetics. v. 85, p. 513-520. 1993a.

Nodari, R. O.; Tsai, S. M.; Guzmán, R. L.; Gilbertson, R. L. & Gepts, P. **Towards an integrated linkage map of common bean. III. Mapping genetic factors controlling host-bacteria interactions**. Genetics. v. 134, p. 341-350. 1993b.

OMS (Organización Mundial de la Salud). Informe de una Reunión Consultiva Conjunta FAO/OMS/UNU. 1985. Necesidades de energia y de proteínas. OMS Ginebra. 220p. (Série de Informes Técnicos 724).

Panthee, D. R.; Pantalone, V. R.; Sams, C. E.; Saxton A. M.; West, D. R.; Orf, J. H. & Killam, A. S. **Quantitative Trait Loci controlling sulfur containing amino acids, Methionine and Cysteine, In Soybean Seeds**. Theor Appl Genet. v. 112, p. 546–553. 2006.

Paterson, A. H. Molecular dissection of complex traits. Boca Raton. Flórida, CRC Press LLC. 1998. 305p.

Peloso, M. J. Del; Costa, J. G. C.; Rava, C. A.; Carneiro, G. E. S.; Soares, D. M.; Díaz, J. L. C. & Faria, L. C. Feijão Preto é 'Valente'. Embrapa Arroz e Feijão. Dezembro, 2000.

Pessôa, A. Feijão. Ministério das Relações Exteriores. Disponível em <<http://www.mre.gov.br/cdbrasil/itamaraty/web/port/economia/agric/producao/feijao>> Acesso em: 21 outubro 2005.

Pinheiro, B. S. Jornal da Embrapa Arroz e Feijão. n. 11, 2005.

Quarrie, S. A.; Pekic Quarrie, S.; Radosevic, R.; Rancic, D.; Kaminska, A.; Barnes, J. D.; Leverington, M.; Ceoloni, C. & Dodig, D. **Dissecting a wheat QTL for yield present in a range of environments: from the QTL to candidate genes.** Journal of Experimental Botany. p. 1-11. Abril, 2006.

Ramalho, M. A. P.; Santos, J. B. dos; Pinto, C. A. B. P. Genética na Agropecuária. Universidade Federal de Lavras, Lavras, p.472. 2000.

Ramos Junior, E. U.; Lemos, L. B. & Silva, T. R. B. **Componentes da produção, produtividade de grãos e características tecnológicas de cultivares de feijão.** Bragantia. Campinas, v.64, n.1, p.75-82. 2005.

Ribeiro, N. D.; Londero, P. M. G.; Hoffmann Junior, L.; Poersch, N. L. & Cargnelutti Filho, A. **Dissimilaridade genética para teor de proteína e fibra em grãos de feijão dos grupos preto e de cor.** Revista Brasileira de Agrociência. Pelotas, v. 11, n.2, p. 167-173. 2005.

Ribeiro, N. D.; Possebon, S. B. & Storck, L. **Progresso genético em caracteres agrônômicos no melhoramento do feijoeiro.** Ciência Rural, v. 33, n. 4, p. 629-633. 2003.

Septiningsih, E. M.; Trijatmiko, K. R.; Moeljopawiro, S.; McCouch, S. R. **Identification of quantitative trait loci for grain quality in an advanced backcross population derived from the *Oryza sativa* variety IR64 and the wild relative *O. rufipogon*.** Theor Appl Genet. v. 107, n. 8, p.1433-41. 2003.

Schuster, I. & Cruz, C. D. Estatística Genômica Aplicada a Populações Derivadas de Cruzamentos Controlados. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa. 2004.

Soratto, R. P.; Crusciol, C. A. C.; Silva, L. M. da & Lemos, L. B. **Aplicação tardia de nitrogênio no feijoeiro em sistema de plantio direto.** Bragantia. Campinas, v. 64, n. 2. 2005.

Tanksley, S. D. **Mapping polygenes**. Annual Review of Genetics. Palo Alto, v.27, p.205-233. 1993.

Tar'an, B.; Michaels, T. E. & Pauls, K. P. **Genetic Mapping of Agronomic Traits in Common Bean**. Crop Science. v. 42, março-abril. 2002.

Thomson, M. J.; Tai, T. H.; McClung, A. M.; Lai, X. H.; Hinga, M. E.; Lobos, K.B.; Xu, Y.; Martinez, C.P.; McCouch, S.R. **Mapping quantitative trait loci for yield, yield components and morphological traits in an advanced backcross population between *Oryza rufipogon* and the *Oryza sativa* cultivar Jefferson**. Theor Appl Genet. v. 107, n. 3, p. 479-93. 2003.

Vallejos, C. E. *Phaseolus vulgaris*: The common bean. In: PHILLIPS, R. L. & VASIL, I. K. DNA-Based Markers in Plants. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publisher, p. 261-270. 1994.

Vallejos, C. E.; Sakiyama N.S. & Chase, C.D. **A Molecular Marker-Based Linkage Map of *Phaseolus vulgaris* L.** Genetics. v. 131, p. 733-740. 1992.

Van Ooijen, J. W.; Bôer, M. P., Jansen, R. C. & Maliepaard, C. **"MapQTL (tm) 4.0: Software for the calculation of QTL positions on genetic maps"**. 2002.

Vieira, N. Apostila: Curso de Avaliação das Características de Óleos e Farelos Vegetais. Campinas, SP: ITAL (Instituto de Tecnologia de Alimentos). 1994.

Wander, A. E.; Ferreira, C. M. **Consumo de feijão**. Agência de Informação Embrapa – Feijão. Disponível em:
<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Agencia4/AG01/arvore/AG01_62_131120_0215103.html> Acesso em: dezembro 2006.

Weber, J. L. & May, P. E. **Abundant class of DNA polymorphisms which can be typed using the Polymerase Chain Reaction**. American Journal Human Genetics, v. 44, n. 3, p. 388-396. 1989.

Williams, J. G. K.; Kubelik, A. R.; Livar, K. J.; Rafalski, J. A. & Tingey, S. V. **DNA polymorphism amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers.** Nucleic Acids Research. v. 18, p. 6531-6535. 1990.

Wu, W. R.; Li, W. M. **A new approach for mapping quantitative trait loci using complete genetic marker linkage maps.** Theor. Appl. Genet. 89: 535-539, 1994.

Wu, W. R.; Li, W. M. **Model fitting in and model testing in the method of joint mapping of quantitative trait loci.** Theor. Appl. Genet. 92:477-482. 1996.

Yokoyama, L. P. Tendências de mercado e alternativas de comercialização do feijão. Comunicado Técnico 43 St Ant. de Goiás- GO. Embrapa Arroz e Feijão. Dezembro, 2002.

Yu, K.; Park, S. J. & Poysa, V. **Abundance and variation of microsatellites DNA of sequences beans (*Phaseolus* and *Vigna*).** Genome. v. 42, p. 27-34. 1999.

Yu, K.; Park, S. J.; Poysa, V. & Gepts, P. **Integration of simple sequence repeat (SSR) markers into a linkage map of common bean (*Phaseolus vulgaris*).** Journal of Heredity. v. 91, p. 429-434, 2000.

Zeng, Z. B. **Precision mapping of quantitative trait loci.** Genetics. Baltimore, v.136, n.4, p.492-496. 1994.

Zeng, Z. B. **Theoretical basis for separation of multiple linked genes effects in mapping of quantitative trait loci.** Proceedings of the national academic of sciences of the United States of America. Washington, v.90, n.23, p.10972-10976. 1993.

Zhang, W. K.; Wang, Y. J.; Luo, G. Z.; Zhang, J. S.; He, C. Y.; Wu, X. L.; Gai, J. Y. & Chen, S. Y. **QTL mapping of ten agronomic traits on the soybean (*Glycine Max L. Merr.*) genetic map and their association with EST markers.** Theor Appl Genet. v. 108, p. 1131-1139. 2004.

Zygier, S.; Chaim, A. B.; Efrati, A.; Kaluzky, G.; Borovsky, Y.; Paran, I. **QTLs mapping for fruit size and shape in chromosomes 2 and 4 in pepper and a comparison of the pepper QTL map with that of tomato.** Theor Appl Genet. v. 111, p. 437-445. 2005.

ANEXOS

ANEXO A. Resultados das análises de teor de proteína de cada família avaliada nas gerações F₂ e F_{2:3} de feijoeiro-comum. N.D.: não foi obtida quantidade de grão suficiente para esta análise.

Genótipos	F₂	Família F_{2:3}
1	N.D.	21,23
2	20,7	23,61
3	20,4	23,61
4	N.D.	19,48
6	17,3	20,49
7	16,4	21,76
8	22,5	19,76
9	23,2	N.D.
11	N.D.	18,68
12	13,6	18,78
13	20,9	21,41
14	18,9	21,16
15	20	22,84
16	16,8	22,52
17	22,9	N.D.
18	22,3	19,51
19	24,8	16,99
20	21	18,62
21	14,7	21,1
22	22,9	22,36
23	18	22,21
24	N.D.	21,73
25	N.D.	21,2
26	21,3	22,86
27	28,3	22,21
28	20,6	21,29
29	20,4	20,59
30	N.D.	19,75
31	22,3	22,17
33	23	22,04
34	18,8	20,58
35	25,5	17,84

36	N.D.	23,48
37	27,9	18,68
38	25,4	15,53
39	18,9	16,35
40	20,4	21,22
41	N.D.	23,92
42	N.D.	25,36
43	24,4	20,2
44	N.D.	25,58
45	25,5	20,68
46	16,5	17,06
47	19	18,86
48	23,7	16,99
49	N.D.	25,49
50	21,8	16,73
51	N.D.	25,73
52	18,1	18,27
53	23,6	19,69
54	21,8	20,31
55	23,9	21,63
56	27,1	19,69
57	20,2	21,58
58	17,5	19,53
59	16,7	20,69
60	13,9	16,38
61	17,9	16,42
62	20,3	14,9
63	21,7	17,73
64	23,8	N.D.
65	27,7	N.D.
66	25,7	15,65
67	16,9	N.D.
70	21,4	16,46
71	21,7	17,3
72	N.D.	22,23

73	20	19,88
74	N.D.	26,16
75	N.D.	24,79
76	27,5	20,4
77	28,3	20,17
78	29,2	20,99
79	N.D.	24,05
80	22,1	21,76
81	21,7	21,6
82	24,4	22,27
83	N.D.	21,13
84	25,4	18,87
85	16,6	15,93
86	27	20,58
88	N.D.	19,4
89	22,9	20,01
90	20,3	18,74
91	N.D.	19,45
92	18,5	20,07
93	N.D.	22,81
94	23,7	19,92
95	23,1	19
96	26,4	18,35
97	24,8	22,74
99	16,8	21
100	24,9	23,46
101	22,5	24,51
102	21,6	24,51
103	20,4	20,43
104	18,7	20,69
105	16,2	17,91
106	19	19,18
107	21,1	17,27
108	N.D.	21,16
109	N.D.	19,21

110	21,7	17,66
111	23,1	20,93
112	N.D.	22,58
113	24,3	20,94
114	26,8	N.D.
115	22,9	20,97
116	19,5	20,33
118	N.D.	21,57
120	N.D.	20,1
121	17,8	20,11
122	24,9	22,58
123	27,1	21,35
124	21	20,97
125	N.D.	24,38
126	N.D.	25,84
127	N.D.	26,69
128	20,3	18,03
129	N.D.	28,5
130	N.D.	28,79
131	18,5	17,89
132	19,2	19,25
133	23,3	18,64
135	20,4	15,39
136	18	17,41
137	N.D.	26,99
138	19,4	20,46
139	20,1	19,35
140	21,9	22,59
141	18,7	22,82
142	25	21,74
143	N.D.	23,16
144	28,1	19,51
145	N.D.	25
146	20,6	20,08
147	20	19,67

148	22,5	17,37
149	18,4	16,44
150	N.D.	24,43
Média	21,6	20,73

ANEXO B. Análises de variância na geração F₂ em *Phaseolus vulgaris* de cada loco para a característica teor de proteína e valor de r para os 5 locos significativos. F, P-value, F-crítico, r (frequência de recombinação).

	Locos	F	P-value	F crítico	r
	BM141	1,57184	0,21325	3,09655	
	BM143	0,02688	0,97349	3,10516	
	BM152	0,28977	0,74913	3,0977	
	BM154	4,34033	0,0159	3,09887	0,32
BM	BM183	0,37361	0,68932	3,09887	
	BM187	0,07677	0,92617	3,09655	
	BM189	0,68128	0,50853	3,09655	
	BM205	0,46751	0,62838	3,11864	
	BM211	1,62345	0,203	3,09887	
	PV11	0,51696	0,59815	3,1013	
	PV15	0,24731	0,78151	3,11379	
	PV29	1,46036	0,23792	3,10384	
	PV35	2,81181	0,06539	3,0977	
	PV46	1,51945	0,22445	3,09887	
	PV54	2,12269	0,1256	3,09655	
	PV61	0,82335	0,44228	3,09887	
	PV81	1,17069	0,31478	3,09655	
	PV87	0,64662	0,52623	3,0977	
	PV93	1,14844	0,32189	3,1013	
PV	PV107	2,12269	0,1256	3,09655	
	PV114	1,51048	0,22711	3,11226	
	PV163	0,54003	0,58459	3,09655	
	PV170	0,48774	0,61563	3,0977	
	PV171	1,33585	0,26834	3,10255	
	PV176	0,57919	0,5625	3,1013	
	PV193	0,22392	0,79985	3,10384	
	PV213	0,81609	0,44544	3,09887	
	PV222	1,11107	0,33363	3,09655	
	PV235	0,16786	0,84574	3,0977	
	PV269	0,87257	0,42138	3,0977	

	PVM02	0,39007	0,67814	3,09655	
	PVM03	0,16914	0,84466	3,09655	
	PVM13	0,02259	0,97767	3,10007	
	PVM18	0,72783	0,48578	3,0977	
PVM	PVM21	0,65563	0,52155	3,09655	
	PVM37	0,68962	0,50446	3,10007	
	PVM49	0,20448	0,81546	3,10007	
	PVM50	0,02526	0,97506	3,09655	
	PVM70	1,99083	0,14255	3,0977	
	PVM78	0,73251	0,48361	3,10007	
U	U18791	1,12974	0,32792	3,10384	
	OPJ05_1634	0,03312	0,85606	3,96509	
	OPJ09_810	0,03591	0,85013	3,94688	
*OPJ	OPJ09_996	8,35E-05	0,99273	3,94688	
	OPJ10_450	3,24707	0,07483	3,94454	
	OPJ15_1288	0,02303	0,87971	3,94569	
	OPA02_1007	0,58058	0,44808	3,94688	
OPA	OPA08 - 1460	5,87164	0,01739	3,94688	0,33
	OPAA03_1076	2,53726	0,11481	3,95059	
	OPAA17_883	2,89898	0,09209	3,94688	
OPAA	OPAA18_1342	1,91622	0,16982	3,95059	
	OPAA18_1634	0,22788	0,6343	3,95059	
	OPAA19_1050	0,19018	0,66379	3,94454	
	OPAB02_1767	0,00246	0,96055	3,94569	
OPAB	OPAB04_1248	0,68269	0,41095	3,95188	
	OPAE03_1208	0,27259	0,60294	3,95188	
	OPAE08_1050	0,55667	0,45803	3,9739	
	OPAE17_969	0,92964	0,33776	3,95596	
	OPAE17_1235	1,11459	0,29411	3,95457	

	OPAE17_1368	0,04623	0,83027	3,95321	
	OPAE18_524	3,83223	0,05341	3,94808	0,36
	OPAE20_748	0,0111	0,91634	3,94808	
	OPAF07_1262	0,12637	0,7231	3,95321	
OPAF	OPAF14_1900	7,95328	0,00589	3,94569	0,31
	OPAF15_1102	0,58207	0,44764	3,95457	
	OPAF15_1129	0,67171	0,41478	3,95457	
*OPAJ	OPAJ18_960	1,08437	0,30064	3,95188	
	OPAJ18_1430	0,19653	0,65868	3,95457	
	OPB08_1554	0,1047	0,747	3,94569	
	OPB08_1714	0,84697	0,35984	3,94569	
OPB	OPB10_1050	0,81664	0,36853	3,94454	
	OPB10_1076	0,72535	0,39661	3,94454	
	OPB10_1634	0,02445	0,8761	3,94454	
*OPC	OPC01_1488	2,31194	0,13201	3,95059	
*OPD	OPD06_637	1,24626	0,26724	3,94688	
	OPD11_1580	0,0022	0,96266	3,94932	
OPE	OPE06_624	0,46854	0,49548	3,95059	
	OPE12_1235	0,06528	0,79892	3,94688	
	OPF06_638	0,82385	0,36646	3,94569	
OPF	OPF06_704	0,42238	0,51737	3,94454	
	OPF06_1115	2,12064	0,14877	3,94569	
OPH	OPH01_250	0,01137	0,91533	3,94569	
	OPH01_545	0,19927	0,65639	3,94808	
	OPH01_930	2,00142	0,1606	3,94688	
	OPH02_1315	0,35175	0,55458	3,94454	
	OPH02_1448	0,68411	0,41032	3,94454	

	OPH07_571	0,01213	0,91256	3,94688	
	OPH07_1169	0,93931	0,33508	3,94808	
	OPH12_1262	0,09678	0,75643	3,94454	
OPI	OPI10_1182	0,02388	0,87753	3,94688	
OPL	OPL14_677	3,18567	0,07762	3,94569	
OPN	OPN07_880	0,9479	0,33287	3,94688	
OPO	OPO16_491	2,49956	0,11735	3,94569	
	OPO16_970	0,35951	0,55027	3,94569	
OPP	OPP01_200	0,52469	0,47073	3,94688	
	OPP01_382	2,88268	0,09299	3,94688	
	OPP01_400	3,64336	0,05948	3,94688	
OPR	OPR07_584	0,43861	0,50954	3,95059	
	OPW06 - 836	6,63627	0,01166	3,94932	0,32
OPW	OPW06_1000	1,27275	0,26228	3,94808	
	OPW06_1594	2,67177	0,10572	3,94932	
OPZ	OPZ08_220	0,6098	0,43691	3,94688	
	OPZ08_780	0,26731	0,60641	3,94688	

ANEXO C. Análises de variância na geração F_{2:3} em *Phaseolus vulgaris* de cada loco para a característica teor de proteína e valor de r (frequência de recombinação) para os 3 locos significativos. F, P-value, F-crítico, r (frequência de recombinação).

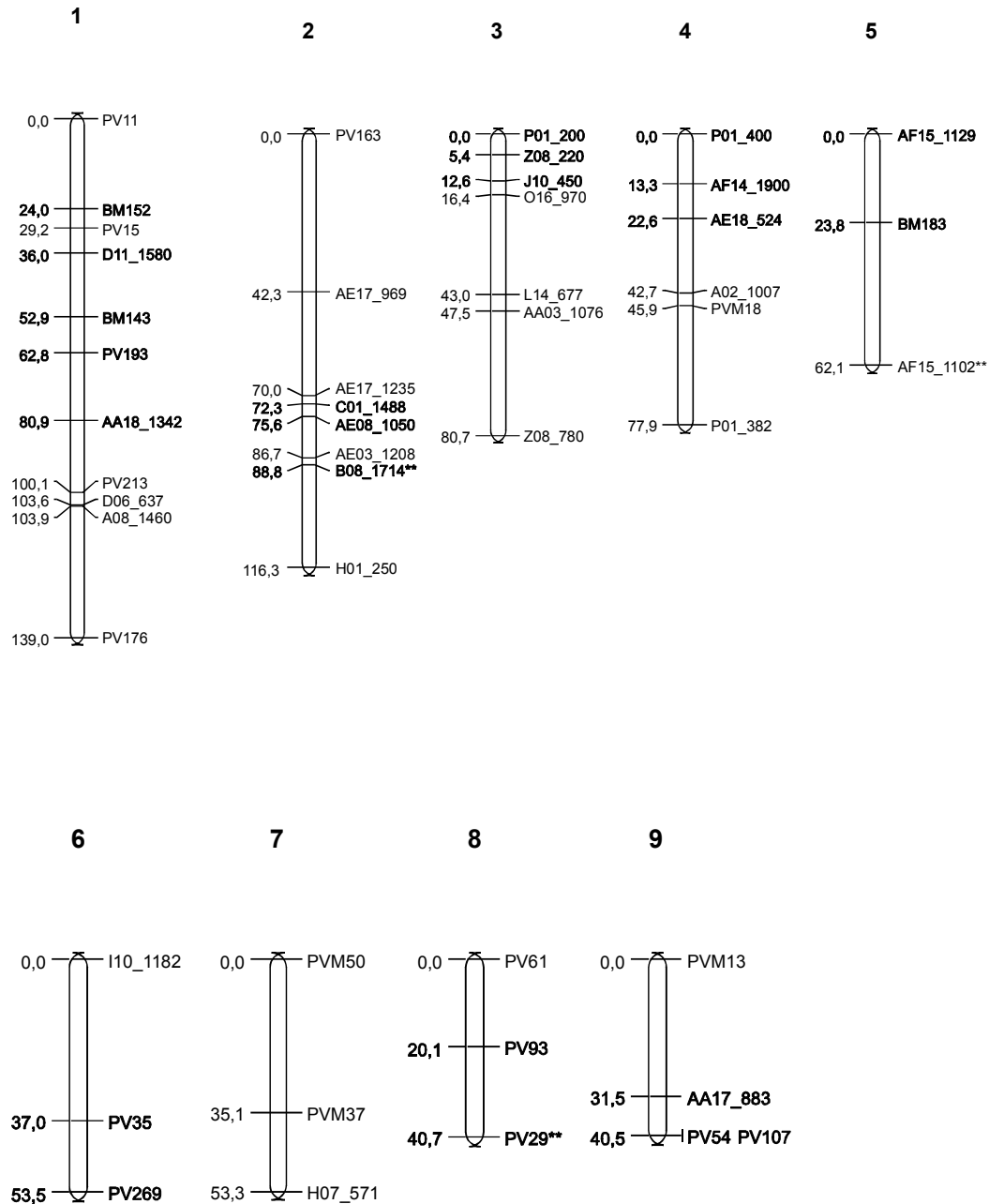
	Locos	F	P-value	F crítico	r
BM	BM141	0,38519	0,68149	3,10255	
	BM143	2,12006	0,1268	3,11226	
	BM152	0,04235	0,95856	3,10384	
	BM154	1,8211	0,16818	3,10516	
	BM183	0,39968	0,6718	3,10516	
	BM187	2,49988	0,08804	3,10255	
	BM189	0,02392	0,97637	3,10255	
	BM205	0,02856	0,97186	3,12768	
	BM211	0,44181	0,64436	3,10516	
	PV11	0,65767	0,52077	3,10789	
	PV15	0,25904	0,7725	3,1221	
	PV29	0,08289	0,92053	3,10789	
	PV35	0,26424	0,76842	3,10384	
	PV46	0,13298	0,87567	3,10516	
	PV54	0,41527	0,66148	3,10255	
	PV61	0,2357	0,79054	3,10516	
	PV81	1,77267	0,17603	3,10255	
	PV87	0,60058	0,5508	3,10384	
	PV93	0,01272	0,98736	3,10651	
PV	PV107	0,41527	0,66148	3,10255	
	PV114	0,48372	0,6184	3,11864	
	PV163	0,7156	0,49179	3,10255	
	PV170	0,85441	0,42916	3,10384	
	PV171	1,32023	0,27276	3,10931	
	PV176	0,07383	0,92889	3,10651	
	PV193	2,98928	0,05598	3,11077	
	PV213	2,14745	0,12315	3,10516	
	PV222	0,90437	0,40861	3,10255	
	PV235	0,50676	0,60423	3,10255	
	PV269	0,00614	0,99388	3,10384	

	PVM02	0,36302	0,69664	3,10255	
	PVM03	0,11315	0,89315	3,10255	
	PVM13	0,15503	0,85664	3,10651	
	PVM18	1,24215	0,29395	3,10384	
PVM	PVM21	1,18608	0,31036	3,10255	
	PVM37	0,33746	0,71456	3,10651	
	PVM49	0,04945	0,95178	3,10651	
	PVM50	3,97606	0,02231	3,10255	0,33
	PVM70	0,86293	0,42559	3,10384	
	PVM78	0,0803	0,92291	3,10651	
U	U18791	0,14874	0,86203	3,11077	
	OPJ05_1634	3,62054	0,06096	3,97023	
	OPJ09_810	0,37576	0,54152	3,95321	
*OPJ	OPJ09_996	0,10777	0,7435	3,95321	
	OPJ10_450	0,85621	0,35736	3,95059	
	OPJ15_1288	2,41491	0,12386	3,95188	
OPA	OPA02_1007	0,47298	0,49349	3,95321	
	OPA08 - 1460	0,00984	0,92122	3,95321	
	OPAA03_1076	0,90154	0,34516	3,95739	
	OPAA17_883	0,13552	0,71369	3,95321	
OPAA	OPAA18_1342	0,0165	0,89812	3,95739	
	OPAA18_1634	3,10192	0,08193	3,95739	
	OPAA19_1050	0,16871	0,68227	3,95059	
OPAB	OPAB02_1767	3,72206	0,057	3,95188	
	OPAB04_1248	5,46276	0,0219	3,95885	0,33
OPAE	OPAE03_1208	0,00466	0,94574	3,95596	
	OPAE08_1050	1,51658	0,22226	3,97778	
	OPAE17_969	0,43027	0,51376	3,96189	
	OPAE17_1235	0,06122	0,80521	3,96035	

	OPAE17_1368	0,04979	0,82399	3,95885	
	OPAE18_524	1,05194	0,30801	3,95457	
	OPAE20_748	0,00239	0,96112	3,95457	
	OPAF07_1262	0,2871	0,59357	3,96035	
OPAF	OPAF14 - 1900	0,06128	0,80508	3,95188	
	OPAF15_1102	1,84265	0,17851	3,96189	
	OPAF15_1129	1,689	0,19751	3,96189	
*OPAJ	OPAJ18_960	1,61794	0,20702	3,95885	
	OPAJ18_1430	0,76744	0,38367	3,96189	
	OPB08_1554	0,7753	0,38104	3,95188	
	OPB08_1714	1,52884	0,21965	3,95188	
OPB	OPB10_1050	1,65219	0,20207	3,95059	
	OPB10_1076	0,02714	0,86953	3,95059	
	OPB10_1634	0,15454	0,69519	3,95059	
*OPC	OPC01_1488	0,04726	0,82845	3,95739	
*OPD	OPD06_637	0,07394	0,78635	3,95321	
	OPD11_1580	0,13712	0,71211	3,95596	
OPE	OPE06_624	0,07913	0,77919	3,95739	
	OPE12_1235	1,9046	0,17118	3,95321	
	OPF06_638	0,09737	0,75576	3,95188	
OPF	OPF06_704	0,09879	0,75404	3,95059	
	OPF06_1115	0,00878	0,92557	3,95188	
OPH	OPH01_250	0,40137	0,52807	3,95188	
	OPH01_545	3,84856	0,05306	3,95321	0,34
	OPH01_930	0,00172	0,96705	3,95321	
	OPH02_1315	0,82831	0,36528	3,95059	
	OPH02_1448	1,48943	0,2256	3,95059	

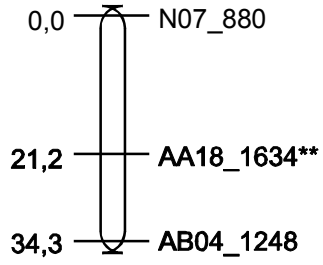
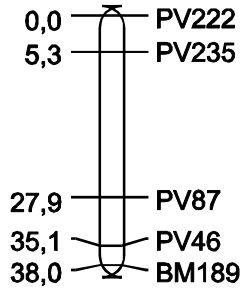
	OPH07_571	0,65749	0,41969	3,95188	
	OPH07_1169	0,52654	0,47006	3,95321	
	OPH12_1262	1,81978	0,18084	3,95059	
OPI	OPI10_1182	0,17799	0,67417	3,95321	
OPL	OPL14_677	0,10126	0,75109	3,95188	
OPN	OPN07_880	2,10053	0,15093	3,95321	
OPO	OPO16_491	0,0538	0,81713	3,95188	
	OPO16_970	0,10126	0,75109	3,95188	
OPP	OPP01_200	1,97935	0,16311	3,95321	
	OPP01_382	0,07933	0,7789	3,95321	0,34
	OPP01_400	5,07876	0,02679	3,95321	
OPR	OPR07_584	2,41107	0,12433	3,95739	
OPW	OPW06_836	1,59748	0,20972	3,95321	
	OPW06_1000	0,26806	0,60596	3,95188	
	OPW06_1594	0,19912	0,65657	3,95321	
OPZ	OPZ08_220	1,43349	0,23452	3,95321	
	OPZ08_780	0,01897	0,89077	3,95321	

ANEXO D. Mapa de ligação de feijoeiro comum, baseado em marcadores SSR e RAPD. Os grupos de ligação estão representados de 1 a 17. Os nomes em **negrito** constituíram framework. Os locos distorcidos ($P < 0,05$), baseado no critério de correção FDR, foram indicados como símbolo**.



10

11



12

13

14

15

16

17

