

## SELEÇÃO ASSISTIDA POR MARCADORES DE DNA EM RETROCRUZAMENTO VISANDO RESISTÊNCIA AO MOFO BRANCO EM FEIJOEIRO

RAFAELA PRISCILA ANTONIO<sup>2\*</sup>, JOÃO BOSCO DOS SANTOS<sup>3</sup>, FILIPE COUTO ALVES<sup>4</sup>, PAULO ROBERTO CARVALHO GONÇALVES<sup>5</sup>, LETÍCIA APARECIDA DE CASTRO LARA<sup>6</sup>

**RESUMO** - Objetivou-se nesse estudo utilizar marcadores de DNA para seleção de plantas do primeiro e segundo retrocruzamento (RC) de duas populações de feijoeiro, portadoras do QTL para resistência ao mofo branco e mais semelhantes ao recorrente. Foram utilizadas as linhagens G122 (resistente – P<sub>1</sub>) como genitor doador e VC3 (suscetível – P<sub>2</sub>) como recorrente para formação da população F<sub>1</sub>RC<sub>1</sub>-GV avaliada para resistência ao mofo branco por meio do SCAR *Phs* e genotipada com *primers* RAPD. Para a segunda população F<sub>1</sub>RC<sub>2</sub>-EM foram utilizadas as linhagens Ex Rico 23 (resistente – P<sub>1</sub>) como genitor doador e M20 (suscetível – P<sub>2</sub>) como recorrente, sendo avaliada para resistência ao mofo branco, por meio dos *primers* RAPD O12.1600 e O15.1800 e genotipada com *primers* microssatélites. Foi estimado o coeficiente de similaridade genética (Dice) e, paralelamente, foi estimada a porcentagem de alelos RAPD e microssatélite do genitor recorrente (GR%) presente em cada planta F<sub>1</sub>RC<sub>1</sub> e F<sub>1</sub>RC<sub>2</sub>, respectivamente. Constatou-se que a Seleção Assistida por Marcadores (SAM) contribui para reduzir o número de retrocruzamentos em, pelo menos, uma geração.

**Palavras-chave:** *Sclerotinia sclerotiorum*, *Phaseolus vulgaris* L. Similaridade genética Marcadores microssatélites.

## ASSISTED SELECTION BY DNA MARKERS IN BACKCROSSING AIMING RESISTANCE TO WHITE MOLD IN COMMON BEAN

**ABSTRACT** - The present study aimed to use DNA markers to select plants for the first and second backcross (BC) of two distinct populations of common bean, carrying the QTL for resistance to white mold and RAPD and microsatellite markers to identify the plants of the BC population more similar to their recurrent parent. For this, it was used the lines G122 (resistant – P<sub>1</sub>) as donor parent and VC3 (susceptible – P<sub>2</sub>) as recurrent parent for generation of the population F<sub>1</sub>RC<sub>1</sub>-GV evaluated for resistance to white mold by means of the SCAR *Phs* and genotyped with RAPD primers. In the F<sub>1</sub>RC<sub>2</sub>-EM population were used the lines Ex Rico 23 (resistant) as donor parent and M20 (susceptible) as recurrent parent evaluated for resistance to white mold, by means of RAPD primers O<sub>12.1600</sub> and O<sub>15.1800</sub> and genotyped with microsatellite (SSR) primers. Genetic similarity (sg<sub>ij</sub>) between each BC plant and the recurrent parent was estimated using the Sorensen-Dice coefficient. The proportion of the SSR alleles derived from the recurrent parent was also estimated and, simultaneously, genetic similarity and the proportion of SSR alleles were efficient for identifying plants more similar to the recurrent parent. It was found that marker assisted selection (MAS) contributes to reducing the number of BC in at least a generation.

**Keywords:** *Sclerotinia sclerotiorum*, *Phaseolus vulgaris* L., Genetic similarity, Microsatellite.

\*Autor para correspondência.

<sup>1</sup>Recebido para publicação em 20/08/2012.; aceito em 27/12/2012.

<sup>2</sup>Professora – Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFRSA - Departamento de Ciências Vegetais, BR 110 - Km 47, Bairro Presidente Costa e Silva, CEP 59.625-900, Mossoró - RN; rafaela\_antonio@ufersa.edu.br

<sup>3</sup>Professor – Universidade Federal de Lavras – UFLA - Departamento de Biologia, Campus Universitário UFLA, s/n - Inácio Valetim, Lavras - MG, 37200-000; jbsantos@dbi.ufla.br

<sup>4</sup>Concluinte do curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Lavras – UFLA - Departamento de Biologia, Campus Universitário UFLA, s/n - Inácio Valetim, Lavras - MG, 37200-000; filipecouto02@gmail.com

<sup>5</sup>Doutorando do curso de Genética e Melhoramento de Plantas da Universidade Federal de Lavras – UFLA - Departamento de Biologia, Campus Universitário UFLA, s/n - Inácio Valetim, Lavras - MG, 37200-000; paulo\_ufla@hotmail.com

<sup>6</sup>Mestranda do curso de Genética e Melhoramento de Plantas da Universidade Federal de Lavras – UFLA - Departamento de Biologia, Campus Universitário UFLA, s/n - Inácio Valetim, Lavras - MG, 37200-000; letis440@hotmail.com

## INTRODUÇÃO

Dentre as doenças mais importantes do feijoeiro, o mofo branco (causado por *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary) se destaca por reduzir a produção em mais de 90%, especialmente em regiões que apresentam temperatura amena e alta umidade (MIKLAS et al., 2001). A obtenção de cultivares resistentes ainda é a alternativa mais eficiente para o controle dessa doença, porém, as fontes de resistência conhecidas não são adaptadas às condições brasileiras (ANTONIO et al., 2008; SCHWARTZ et al., 2006). Dessa forma, o meio mais viável de transferência desses alelos é o método dos retrocruzamentos, que é utilizado, frequentemente, com o objetivo de transferir pequenas porções genômicas, contendo os alelos de interesse, de genótipos não adaptados ou de espécies selvagens para genótipos elite deficientes neste aspecto (LORENCETTI et al., 2006).

O uso concomitante de marcadores moleculares, particularmente daqueles que flanqueiam o alelo de resistência, pode diminuir consideravelmente o arraste de genes desfavoráveis que são levados juntos com os alelos de interesse durante os ciclos de seleção recorrente. Esses marcadores, se estritamente ligados aos alelos de resistência, podem ser usados na seleção assistida por marcadores moleculares (SAM), particularmente nas etapas iniciais e intermediárias dos programas de melhoramento genético com o objetivo de diminuir o número de ciclos para obtenção de cultivares superiores (ALZATE-MARIN et al., 2005; OLIVEIRA et al., 2008).

Alguns trabalhos desenvolvidos com o marcador SCAR *Phs* tem demonstrado que parte da resistência ao mofo branco é explicada por um QTL de grande efeito (37% da variação fenotípica), o emprego desse marcador (SCAR) num programa de retrocruzamento pode auxiliar na seleção (MIKLAS et al., 2001; MELO et al., 2004). Além do marcador de QTL, o uso de marcadores para se estimar o parentesco das plantas de retrocruzamento com o genitor recorrente pode auxiliar na identificação de plantas mais promissoras a serem selecionadas e na redução do número de retrocruzamentos (BENCHIMOL et al., 2005).

O presente estudo teve por objetivo identificar, por meio de marcadores de DNA, plantas de feijoeiro, dentro das populações de retrocruzamento, aquelas mais semelhantes aos respectivos genitores recorrentes, portadoras do marcador para resistência ao mofo branco.

## MATERIAL E MÉTODOS

Duas populações de retrocruzamento foram obtidas a partir dos cruzamentos envolvendo quatro linhagens: G122 (resistente – P<sub>1</sub>) x VC3 (suscetível – P<sub>2</sub>) e Ex Rico 23 (resistente – P<sub>1</sub>) x M20 (suscetível – P<sub>2</sub>). Essas populações foram denominadas GV e

EM, respectivamente. A linhagem VC3 está em fase final de avaliação para lançamento como cultivar, sendo proveniente do programa de melhoramento de feijão da Universidade Federal de Viçosa (UFV). É do tipo Carioca com qualidade de grão superior às cultivares em uso, hábito de crescimento tipo III, prostrado, é resistente a algumas raças de *Colletotrichum lindemuthianum* e apresenta alta produtividade. A linhagem G122 possui hábito de crescimento determinado (tipo I) (SINGH, 1982), tem origem Andina, sementes grandes, tipo rajada de fundo bege e rajas vinho e tem exibido resistência de campo ao mofo branco (resistência fisiológica) (MIKLAS, 2001). Infelizmente, esta linhagem possui várias características agronômicas desfavoráveis, além de não ser adaptada às condições de cultivo do estado de Minas Gerais. A geração F<sub>1</sub> da população GV foi cruzada com a linhagem VC3 e obteve-se a geração F<sub>1</sub>RC<sub>1</sub>-GV com 53 plantas.

A linhagem Ex Rico 23 tem hábito de crescimento indeterminado, porém arbustivo, além de possuir resistência fisiológica ao mofo branco (SINGH, 1982). No entanto, esta linhagem possui várias características agronômicas desfavoráveis, além de não ser adaptada às condições de cultivo do estado de Minas Gerais. A linhagem M20 possui grão tipo carioca, hábito de crescimento tipo II, portadora dos alelos *Co-4*<sup>2</sup>, *Co-5* e *Co-7* que conferem resistência à antracnose, além de resistência à mancha-angular, porém, é altamente suscetível ao mofo branco. A geração F<sub>1</sub> da população EM foi cruzada com a cultivar M20 por duas gerações seguidas e obteve-se a geração F<sub>1</sub>RC<sub>2</sub>-EM com 170 plantas.

Extraiu-se o DNA de cada uma das 53 plantas da população F<sub>1</sub>RC<sub>1</sub>-GV e também dos genitores por meio dos procedimentos utilizados por Pereira et al. (2007). Foram utilizados os DNAs do genitor doador (P<sub>1</sub>), do recorrente (P<sub>2</sub>) e das 53 F<sub>1</sub>RC<sub>1</sub> para avaliação da resistência ao mofo branco por meio do marcador SCAR *Phs*, cuja sequência é: 5' AGCATATTC-TAGAGGCCTCC3' e 5'GCTCAGTTCCTCAATCTGTT3'. Também foram utilizados 250 iniciadores RAPD da "Operon Technologies" (Califórnia, USA) para a genotipagem das plantas F<sub>1</sub>RC<sub>1</sub>. Cada banda RAPD foi avaliada nas 53 plantas F<sub>1</sub>RC<sub>1</sub> registrando-se 0 para ausência e 1 para presença.

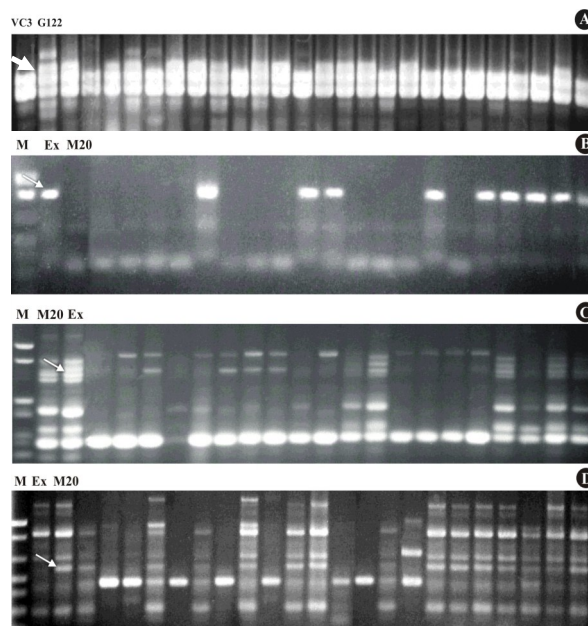
O mesmo procedimento de extração de DNA foi utilizado em cada uma das 170 plantas da população F<sub>1</sub>RC<sub>2</sub>-EM e dos genitores. Esta geração foi avaliada para resistência ao mofo branco, por meio dos marcadores RAPD O12.1600 e O15.1800, mapeados no grupo de ligação B2 por Kolkman e Kelly (2003) e, também, para a resistência à antracnose por ser a cultivar M20 portadora do alelo *Co-4*<sup>2</sup> para resistência a *C. lindemuthianum*, por meio do marcador OPL04.

Após a avaliação para a resistência ao mofo branco e antracnose, foram utilizados 507 *primers* amplificadores de regiões microssatélites (SSR) de *Phaseolus vulgaris*, cujas sequências estão disponíveis, em <http://www.css.msu.edu/bic>, para a genotipagem das plantas F<sub>1</sub>RC<sub>2</sub>, no entanto, apenas 23 *primers* identificaram polimorfismo nos indivíduos e genitores. Cada banda microssatélite foi avaliada nas 170 plantas F<sub>1</sub>RC<sub>2</sub> e nos genitores com 0 para ausência e 1 para presença.

A partir das matrizes binárias, obtidas a partir das duas populações, foi estimada a similaridade genética (S<sub>ij</sub>) entre todos os pares de genótipos utilizando o coeficiente de Dice (DICE, 1945). As análises de similaridade foram feitas através do programa NTSYS (Numerical Taxonomy and Multivariate System) Versão 2.1 (ROHLF, 2000). Paralelamente foi utilizado o procedimento proposto por Benchimol et al. (2005), para a estimativa da percentagem de alelos RAPD e microssatélites do genitor recorrente presente em cada planta F<sub>1</sub>RC<sub>1</sub> e F<sub>1</sub>RC<sub>2</sub> (GR%) respectivamente. A expressão utilizada foi: GR%=[B+(0.5H)/(B+H)]x100, em que B refere-se aos alelos do genitor recorrente e H, ao genótipo semelhante a F<sub>1</sub> contendo alelos dos dois genitores (bandas polimórficas no RC<sub>1</sub>). As similaridades genéticas das plantas F<sub>1</sub>RC<sub>1</sub> com o genitor recorrente foram correlacionadas com as respectivas GR%.

Esta banda foi amplificada pelo marcador *SCAR Phs*, este *marcador* amplifica parte do alelo para faseolina T, presente em feijão de origem andina (KAMI et al., 2006), como é o caso do G122. O alelo da faseolina T está mapeado no grupo de ligação B7 de *P. vulgaris*, o qual é um importante grupo de ligação para resistência a doenças (FREYRE et al. 1998; MIKLAS, 2006).

Foram utilizados 37 *primers* RAPD, que geraram pelo menos uma banda polimórfica, num total de 66 bandas polimórficas, nas plantas de retrocruzamentos e genitores (Tabela 1).



**Figura 1.** Produtos de amplificação dos DNAs das populações F<sub>1</sub>RC<sub>1</sub>-GV e F<sub>1</sub>RC<sub>2</sub>-EM. A) *SCAR Phs*. A seta indica o marcador do genitor resistente G122 na população F<sub>1</sub>RC<sub>1</sub>-GV e as canaletas correspondem a: VC3 genitor recorrente, G122 genitor doador e plantas F<sub>1</sub>RC<sub>1</sub> (1 a 25). B) Marcador O15-1800. A seta indica o marcador do genitor resistente Ex Rico 23 e as canaletas correspondem a: Ex Rico 23 genitor doador, M20 genitor recorrente, e plantas F<sub>1</sub>RC<sub>2</sub> (60 a 79) na população F<sub>1</sub>RC<sub>2</sub>-EM. C) Marcador O12-1600. A seta indica o marcador do genitor resistente Ex Rico 23 e as canaletas correspondem a: M20 genitor recorrente, Ex Rico 23 genitor doador, e plantas F<sub>1</sub>RC<sub>2</sub> (21 a 40) na população F<sub>1</sub>RC<sub>2</sub>-EM. D) Marcador L04. A seta indica o marcador de aproximadamente 1000 pb e as canaletas correspondem a: Ex Rico 23 genitor recorrente, M20 genitor doador e plantas F<sub>1</sub>RC<sub>2</sub> (1 a 22) na população F<sub>1</sub>RC<sub>2</sub>-EM. Lavras, MG, 2010.

**Tabela 1.** Iniciadores RAPD utilizados na população F<sub>1</sub>RC<sub>1</sub>-GV com as respectivas sequências de bases e número de bandas polimórficas

Primer	Sequência (5' - 3')	Nº de bandas polimórficas	Primer	Sequência (5' - 3')	Nº de bandas polimórficas
AE16	TCCGTGCTGA	1	AX10	CCAGGCTGAC	2
AK06	TCACGTCCCT	3	AX11	TGATTGCGGG	2
AK12	AGTGTAGCCC	2	AY07	GACCGTCTGT	2
AK17	CAGCGGTCAC	2	AY13	CCGCTCGTAA	4
AK19	TCGCAGCGAG	3	B07	GGTGACGCAG	1
AL09	CAGCGAGTAG	1	N01	CTCACGTTGG	1
AO13	CCCACAGGTG	1	R14	CAGGATTCCC	2
AL18	GGAGTGGACT	1	P01	GTAGCACTCC	2
AM 06	CTCGGATGT	2	P08	ACATCGCCCA	1
AO07	GATGCGACGG	1	P09	GTGGTCCGCA	1
AO18	GGGAGCGCTT	1	Q07	CCCCGATGGT	1
AQ15	TGCGATGCGA	1	Q05	CCGCGTCTTG	2
AR 18	CTACCGGCAC	2	Q15	GGGTAACGTG	2
AW 05	CTGCTTCGAG	5	R07	ACTGGCCTGA	1
AW 10	GGTGTTTGCC	2	R11	GTAGCCGTCT	2
AW 13	CTACGATGCC	2	R15	GGACAACGAG	3
AW 14	GGTTCTGCTC	1	R17	CCGTACGTAG	1
AX 06	AGGCATCGTG	2	S01	CTACTGCGCT	1
AX07	ACGCGACAGA	1			
Total			66		

O total de bandas foi 423, sendo que destas, 357 foram monomórficas, conforme o esperado, uma vez que, em uma população F<sub>1</sub>RC<sub>1</sub>, em média, 75% do genoma do recorrente é recuperado.

As plantas F<sub>1</sub>RC<sub>1</sub> com similaridade genética de 75% ou mais ao genitor recorrente estão registradas na Tabela 2.

A similaridade observada entre o genitor doador G122 e o recorrente VC3 foi de apenas 3%, refletindo o grau de divergência entre os genitores. Das plantas que obtiveram porcentagem de recuperação do genoma do recorrente, acima de 75%, treze plantas (1, 3, 4, 7, 8, 10, 13, 14, 17, 29, 34, 40 e 50), no qual apresentaram o SCAR *Phs* para resistência ao mofo branco, sendo que apenas três com mais de 80% de similaridade com o recorrente (Tabela 2).

As estimativas das proporções de alelos RAPD do genitor recorrente nas plantas F<sub>1</sub>RC<sub>1</sub> foram muito semelhantes aos resultados obtidos pelo coeficiente de similaridade de Dice. Pelo procedi-

mento proposto por Benchimol et al. (2005), a média de recuperação do doador recorrente nas F<sub>1</sub>RC<sub>1</sub> foi de 73,87%, variando de 64,29 a 80,53. Esta média é muito semelhante ao valor esperado (75%). Várias plantas obtiveram porcentagem de recuperação superior a 75% (Tabela 2), sendo que quatro apresentaram 80% ou mais alelos RAPD derivados do recorrente, como nas estimativas de similaridade genética. Entre essas seis plantas as mesmas três (1, 3 e 40), também identificadas pela similaridade genética, são portadoras do marcador do QTL para resistência ao mofo branco. A semelhança dos resultados dos dois procedimentos é corroborada pela elevada correlação ( $r = 0,95^{**}$ ) entre as similaridades genéticas das plantas F<sub>1</sub>RC<sub>1</sub> com o recorrente e suas respectivas proporções de alelos do recorrente. Esse valor de correlação indica que apenas um desses critérios é suficiente para identificar as plantas RC mais apresentadas ao recorrente.

**Tabela 2.** Similaridade genética pelo coeficiente de Dice (%) e proporção de alelos RAPD (GR) entre plantas da população de feijoeiro F<sub>1</sub>RC<sub>1</sub>-GV que apresentaram recuperação maior ou igual a 75% do genitor recorrente VC3. Lavras, MG, 2010.

Coeficiente de Dice		GR	
Tratamento	VC3	Tratamento	VC3
G122	3,00	G122	-
44	84,73	3	80,53
3	84,38	44	80,23
33	82,54	40	80,00
47	81,97	47	80,00
16	81,97	1	79,78
40	81,97	16	79,54
1	81,82	33	79,21
2	81,82	2	79,03
5	80,60	5	78,26
23	80,60	23	78,26
36	80,60	36	77,78
25	79,41	20	76,67
10	78,26	25	76,44
20	78,26	7	76,14
13	77,61	10	75,88
4	77,14	4	75,84
22	77,14	22	75,84
7	76,47	6	75,58
14	76,47	14	75,58
8	76,06	8	75,00
29	76,06	34	75,00
34	76,06	41	75,00
17	75,36		
46	75,36		
32	75,00		
42	75,00		
50	75,00		
Média*	78,80	Média*	77,53

\*Média entre as plantas de retrocruzamento que apresentaram recuperação maior ou igual a 75% dos alelos do genitor recorrente VC3.

Dos 507 *primers* microssatélites testados nos genitores, quanto à existência de polimorfismo, apenas 23 *primers* (4,5%) foram polimórficos (Tabela 3). O reduzido polimorfismo encontrado em genótipos de feijão por marcadores microssatélites tem sido relatado em diversos trabalhos (TORGA et al., 2010). As 170 plantas F<sub>1</sub>RC<sub>2</sub> obtiveram média de recuperação do genoma recorrente (M20) de 87,28%

pelo método proposto por Benchimol et al. (2005), em concordância com a média esperada na geração F<sub>1</sub>RC<sub>2</sub>, 87,5% e 76,96%, pelo coeficiente de Dice, não sendo a média observada de acordo com o resultado esperado. Porém, houve correlação alta e positiva ( $r=0,80^{**}$ ) entre os dois métodos de estimativa da similaridade.

**Tabela 3.** Grupos de ligação (GL), seqüências de bases e temperaturas de anelamento (TA) dos iniciadores microssatélites (SSRs) utilizados na população de feijoeiro F<sub>1</sub>RC<sub>2</sub>-EM. Lavras, MG, 2010.

SSRs	GL	Seqüência 5'...3' e 3'...5'	TA
BM141	B09	TGA GGA GGA ACA ATG GTG GC CTC CAC AAC CAC AAC GCA CC	55-55
59M3	Desconhecido	GCA CGA GTA GTT GAA AAG A GAT TCA AGT TCA GCA AGC	58-60
BMD-3	Desconhecido	TGT TTC TTC CTT ATG GTT AGG TTG GTA TCC TCC GAT CAA ATT CAC CT	60-60
PVM02	Desconhecido	CGC CAT TTG GAT TGG ATT AGG CGT GGA AGT GGA GTG	58-60
PVM30	Desconhecido	GCA GAC CCT GTC AAC AAC AA GCC ATG AAG CAA GGT GAA GA	58-60
PVM03	Desconhecido	CCG CCT TCT TCT TCT TCT TC CGG CGA GTC ATC TTT TCC	58-60
BM175	B05	CAA CAG TTA AAG GTC GTC AAA TT CCA CTC TTA GCA TCA ACT GGA	58-60
BMd-12	B06	CAT CAA CAA GGA CAG CCT CA GCA GCT GGC GGG TAA AAC AG	60-60
BM143	B02	GGGAAATGAACAGAGGAAA ATGTTGGGAACTTTTAGTGTG	55-55
BM201	B07	TGGTGTACAGACTTGATGG TGTCACCTCTCTCCTCCAAT	55-55
BM160	B07	CGTGCTTGGCGAATAGCTTTG CGCGTTCTGATCGTGACTTC	55-55
PVESTBR_273F	Desconhecido	ATCAAAGTGTGGCAGGTTGGT TGATGAACCCATTAAAGCATTG	60-60
PVBR107	B01	CCCCTTTCTCACTTCAG ACCAAAAACGGTGCTCAAAC	58-60
PV131	B03	GCGTCTGAGGAGAAGGAGGT CTCCCAATCTCACCAAACC	58-60
PVBR25	Desconhecido	GAGCTTCTCCGTCCTGTGT CGAACTGAATCAGAAAGGAA	62-62
PVBR31	B01	AATGGCAGGTCAGTGAAACA ATGACCACGCAGTGACAGAG	60-60
PV59	Desconhecido	TTGAGTGAGCCATATATTTTTCTC GTTGGTGTGGGAAGAGAGGA	58-58
PV67	Desconhecido	TGAGCCATATATTTTTCTCACTCTT ATGGGCATGGTGGATGATAG	58-58
PVBR93	B05	TGGGTTGAGAGAGAAAGGTG TACCATAGCAGGCGTTGTTG	58-60
PVESTBR_17	Desconhecido	TTCTCCTTCTCCTTCTCCTCCT CGGAATACCCTTTCACTTCTTG	58-60
PV-gaat001	B04	AAGGATGGGTTCCGTGCTTG CACGGTACACGAAACCATGCTATC	62-62
PVESTBR_42	Desconhecido	CGTGTTGGAGAGAGAGTG GTTCCAAAGGGATTATTACYG	58-58
PVESTBR_175F	Desconhecido	AGGAGGAAAGATGTGAAGACCA TCACCAACAACTTCATGATCC	58-58

Selecionando-se as 11 plantas com maior proporção de recuperação do genoma do recorrente (Tabela 4), a média obtida foi de 90,68 e 95,15 para o coeficiente de Dice e pela proporção de alelos do

recorrente (BENCHIMOL et al., 2005), respectivamente, o que corresponde à uma proporção da recuperação do genoma maior que o esperado para essa geração e bem próxima da esperada para o terceiro ciclo de retrocruzamento, que é 93,75%.

**Tabela 4.** Similaridades pelo coeficiente de Dice (%) e proporção de alelos microsatélites (GR) entre plantas de feijoeiro da geração F<sub>1</sub>RC<sub>2</sub>-EM que apresentaram recuperação maior ou igual a 87,5% com o genitor recorrente M20. Lavras, MG, 2010.

Coeficiente de Dice		GR	
Tratamento	M20	Tratamento	M20
Ex Rico	26,41	Ex Rico	-
108	94,92	69	97,62
69	94,74	139	97,50
105	91,30	168	96,15
101	90,63	105	95,24
91	90,63	101	95,24
118	90,32	108	95,24
139	90,32	118	95,00
168	89,66	91	93,90
16	88,89	16	93,59
58	88,14	58	93,59
29	87,88	29	93,59
*Média	90,68	*Média	95,15

\*Média entre as plantas de retrocruzamento que apresentaram recuperação maior ou igual a 87,5% dos alelos do genitor recorrente M20.

As plantas mais semelhantes ao recorrente foram às mesmas nos dois métodos de avaliação (Tabela 4). Portanto, tanto a similaridade genética quanto a proporção de alelos SSR podem ser considerados métodos eficientes para selecionar plantas mais similares ao genitor recorrente.

A marca para resistência ao mofo branco identificado pelo *primer* RAPD O15 com 1800pb foi

encontrada em 34 das 170 plantas F<sub>1</sub>RC<sub>2</sub> ( $\chi^2 = 5,98$ ; P = 0,014). As plantas selecionadas foram as de n.º.: 4, 25, 29, 31, 32, 37, 40, 42, 45, 47, 50, 54, 56, 58, 65, 69, 70, 74, 76, 77, 78, 79, 80, 86, 87, 89, 94, 101, 112, 113, 115, 122, 123 e 126 (Figura 1B).

O QTL identificado pelo *primer* O15.<sub>1800</sub> mapeado no grupo de ligação B2 por Kolkman e Kelly (2003) está situado próximo a genes relacionados à defesa a várias doenças, tais como o gene PvPR-2 que é relacionado a patogênese em *P. vulgaris* (WALTER et al., 1990), uma proteína inibidora de poligalacturonase a *Pgip* e ao alelo *ChS* da enzima chalcona sintetase (RYDER et al., 1987). Em adição, o gene *ChS* localizado próximo O15.<sub>1800</sub>, codifica para enzimas que condicionam a resistência à *S. sclerotiorum* (RYDER et al., 1987).

A marca para resistência ao mofo branco identificada pelo *primer* RAPD O12 com 1600pb foi

encontrada em 25 das 170 plantas F<sub>1</sub>RC<sub>2</sub> ( $\chi^2 = 0,66$ ; P = 0,42). As plantas de n.º.: 1, 2, 4, 13, 31, 32, 37, 39, 40, 42, 48, 50, 56, 65, 67, 71, 74, 77, 155, 156, 159, 160, 163, 167 e 169 foram selecionadas por este critério (Figura 1C).

O *primer* L04 foi utilizado para identificar as plantas F<sub>1</sub>RC<sub>2</sub> portadoras do alelo *Co-4*<sup>2</sup>. Entre as

170 plantas dessa geração, 142 plantas ( $\chi^2 = 1,21$ ; P = 0,27) apresentaram o marcador, neste caso, considerado um marcador ideal este deve apresentar

herança monogênica. Isso foi comprovado pelos resultados de segregação da presença ou ausência da banda identificada nas plantas da geração F<sub>1</sub>RC<sub>2</sub> (Figura 1D). Nota-se uma proporção de plantas com ou sem a banda muito próxima do esperado. Assim, é provável que as plantas selecionadas sejam portadoras do alelo *Co-4*<sup>2</sup> (SILVA; SANTOS, 2001).

## CONCLUSÕES

O marcador SCAR *Phs* foi eficiente em identificar as plantas possivelmente portadoras do QTL

na população F<sub>1</sub>RC<sub>1</sub> e pelo teste do  $\chi^2$  também ficou evidenciado que as bandas identificadas pelos marcadores RAPD O15.<sub>1800</sub>, O12.<sub>1600</sub> e L04 nas plantas da geração F<sub>1</sub>RC<sub>2</sub>, identificaram uma proporção de plantas com ou sem a banda muito próxima do esperado;

Tanto a similaridade genética quanto a proporção de alelos SSR foram eficientes para selecionar plantas mais similares ao genitor recorrente. Assim, constatou-se que a Seleção assistida por marcadores (SAM) contribui para reduzir o número de RC em pelo menos uma geração.

## AGRADECIMENTOS

Registram-se aqui os melhores agradecimentos ao CNPq pela concessão da Bolsa de Pesquisa de pós-graduação.

## REFERÊNCIAS

ANTONIO, R. P. et al. Genetic control of the resistance of common beans to white mold using the re

- action to oxalic acid. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 7, n. 3, p. 733-740, 2008.
- ALZATE-MARIN, A. L. et al. Seleção assistida por marcadores moleculares visando ao desenvolvimento de plantas resistentes a doenças, com ênfase em feijoeiro e soja. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 4, p. 333-342, 2005.
- BENCHIMOL, L. L. et al. Microsatellite-assisted backcross selection in maize. **Genetic and Molecular Biology**, São Paulo, v. 28, n. 4, p. 789-797, 2005.
- FREYRE, R. et al. Towards an integrated linkage map of common bean. 4. Envelopments of a core linkage map and alignment of RFLP maps. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 97, n. 4, p. 847-856, 1998.
- KAMI, J. et al. Development of four phylogenetically-arrayed BAC libraries and sequence of the APA locus in *Phaseolus vulgaris*. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 112, n. 4, p. 987-998, 2006.
- KOLKMAN, J. M.; KELLY, J. D. QTL conferring resistance and avoidance to white mold in common bean. **Crop Science**, v. 43, n. 2, p. 539-548, Mar. 2003.
- LORENCETTI C. et al. Retrocruzamento como uma estratégia de identificar genótipos e desenvolver populações segregantes promissoras em aveia. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 4, p. 1118-1125, 2006.
- MELO, L. C.; SANTOS, J. B. dos; FERREIRA, D. F. QTL mapping for common bean yield in different environments. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 4, n. 2, p. 135-144, June 2004.
- MIKLAS, P.N. Potential marker-assisted selection for resistance to white mold in pinto and great northern bean. In: **National Sclerotinia Initiative Annual Meeting**, 18<sup>th</sup>-20<sup>th</sup> January 2006, Minneapolis, MN, USA. Prosser, Washington, Agricultural Research Service. p. 5., 2006.
- MIKLAS, P. N. et al. Inheritance and QTL analysis of physiological resistance to white mold in common bean G122. **Crop Science**, v. 41, n. 2, p. 309-315, 2001.
- OLIVEIRA, L. K. et al. Backcross assisted by microsatellite markers in common bean. **Genetics and Molecular Research**, Ribeirão Preto, v. 7, n. 4, p. 1000-1010, 2008.
- PEREIRA, H. S. et al. Informações fenotípicas e marcadores microssatélites de QTL na escolha de populações segregantes de feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n.5, p. 707-713, 2007.
- ROHLF, F. J. **NTSYS-pc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, Version 2.1**. Exeter Software, New York, 38 p. 2000.
- RYDER, T. B. et al. Organization and differential activation of a gene family encoding the plant defense enzyme chalcone synthase in *Phaseolus vulgaris*. **Molecular and General Genetics**, v. 210, n. 2, p. 219-233, 1987.
- SILVA, M. V.; SANTOS, J. B. Identificação de marcadores RAPD ligado ao alelo Co-4<sup>2</sup> de resistência do feijoeiro comum ao agente causal da antracnose. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 25, n. 5, p. 1097-1104, 2001.
- SINGH, S. P. A key for identification of different growth habits of *Phaseolus vulgaris* L. **Annual Reports Bean Improvement Cooperative**, v. 25, n. 1, p. 92-95, 1982.
- SCHWARTZ, H. F. et al. Inheritance of white mold resistance in *Phaseolus vulgaris* x *P. coccineus* crosses. **Plant Disease**, v. 90, n. 9, p. 1167-1170, 2006.
- TERÁN, H.; SINGH, S. P. Recurrent selection for physiological resistance to white mould in dry bean. **Plant Breeding**, v. 129, n. 3, p. 327-333, 2010.
- TORGA, P. P. et al. Selection of common bean families based on grain type and yield. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 34, n. 1, p. 95-100, 2010.
- WALTER, M. H. et al. Bean-pathogenesis-related proteins deduced from elicitor-induced transcripts are members of a ubiquitous new class of conserved PR proteins including pollen allergens. **Molecular and General Genetics**, v. 222, n. 2/3, p. 353-360, 1990.