

## MAPEAMENTO DE CARACTERÍSTICAS OLIGOGÊNICAS EM POPULAÇÕES SIMULADAS DE RILs COM 50 E 100 INDIVÍDUOS

**Érica Mangaravite, Angélica Maria Nogueira, Adésio Ferreira, Marcia Flores da Silva  
Ferreira**

Universidade Federal do Espírito Santo, Alto Universitário S/N, CEP: 29.500.000, Alegre, Espírito Santo/  
Departamento de Produção Vegetal, CCA/UFES, fone (28) 3552-2478. ericaccaufes@gmail.com,  
axnogueira@hotmail.com, adesioferreira@gmail.com, mfloressf@gmail.com.

**Resumo-** Características oligogênicas apresentam herança controlada por poucos genes e são importantes para espécies vegetais, destacando-se a resistência a doenças. A natureza discreta e a interação epistática destas características geram um padrão de herança que não deve ser interpretado pelos métodos tradicionais de detecção de QTL. Neste trabalho objetivou-se comparar o método de mapeamento de características oligogênicas (MMCO) e o método de mapeamento por intervalo composto (MIC) em populações simuladas de linhagens endogâmicas recombinantes (RILs). Foram simuladas 100 populações de RILs com 50 e 100 indivíduos. Nos diferentes tamanhos de população avaliou-se duas características distintas segregando, denominadas C1 e C2, totalizando 400 populações analisadas. Para a característica C1 foram determinados três locos, com ação de 50%, 20% e 10%; e para a C2, dois locos com 50% e 30% de ação. Pela metodologia MMCO não se detectou OTLs, enquanto que o MIC detectou tanto em populações com 50 quanto com 100 indivíduos. O método tradicional detectou OTLs em todos os grupos de ligação (GL), inclusive onde não haviam sido simulados. Assim, a MMCO não foi sensível em populações de 50 e 100 indivíduos, enquanto que a MIC superestimou o número de OTLs.

**Palavras-chave:** RILs, simulação, melhoramento, MMCO

**Área do Conhecimento:** Ciências Biológicas - Genética

### Introdução

A caracterização do padrão da herança é um dos pontos mais importantes para a manipulação dos componentes hereditários, uma vez que as estratégias de seleção em estudo genético são contrastantes de acordo com a natureza da característica: se monogênica, oligogênica ou quantitativa. O desenvolvimento dos estudos de herança associado à construção de mapas de ligação por marcadores moleculares, tem permitido a identificação de regiões do genoma de importância para a expressão de muitas características sendo importante na seleção de plantas (FERREIRA; GRATTAPAGLIA, 1998).

Características oligogênicas apresentam herança governada por genes de efeito maior e são de importância para espécies vegetais, destacando-se a resistência a doenças.

A natureza discreta das características oligogênicas associada à interação epistática de múltiplos fatores resulta em uma característica que não deve ser mapeada pelos métodos tradicionais, que pressupõem normalidade e herança governada por muitos genes de pequeno efeito (LANDER; BOTSTEIN, 1989; LI, 2004; ZENG, 1994). Métodos para a identificação de QTL são bem documentados, porém não como opção para a análise de locos controladores de características oligogênicas.

Estudos de simulação tem grande importância no desenvolvimento de metodologias estatísticas tanto para a construção de mapas genéticos como para identificação de QTLs (DARVASI et al., 1993; FERREIRA et al, 2006; LANDER; KRUGLYAK, 1995). Baseado nestes estudos, Rocha et al. (2008) propuseram um método alternativo para o mapeamento de OTLs, definido como Método de Mapeamento de Características Oligogênicas (MMCO).

Este método utiliza de funções de verossimilhança para obtenção de estimativas de recombinação "r" de melhor ajuste aos dados, a partir das probabilidades condicionais de ocorrência entre o loco marcador e os locos controladores da herança da característica oligogênica (ROCHA et al., 2008). A metodologia não requer informação prévia sobre a ordem de marcadores nos grupos de ligação e não é afetada pela presença de mais de um OTL no mesmo grupo de ligação (ROCHA, 2007).

Rocha et al. (2010) utilizaram-na em populações F2 e, Rocha et al. (2008), em populações de retrocruzamento, entretanto o MMCO ainda não foi avaliado em populações de linhagens endogâmicas recombinantes (RILs – *Recombinant Inbred Line*) simuladas.

Estas populações, importantes para mapeamento, são caracterizadas por serem linhagens homocigotas, e são requeridas para o

mapeamento, pois podem ser multiplicadas indefinidamente permitindo que qualquer laboratório use-a.

O objetivo deste trabalho foi comparar com dados simulados a metodologia MMCO e um método de mapeamento por intervalo composto utilizado para mapeamento de QTLs em populações simuladas de RILs de 50 e 100 indivíduos.

## Metodologia

Todas as simulações foram realizadas utilizando o programa GQMOL (CRUZ, 2008). Inicialmente foi simulado um genoma constituído por quatro grupos de ligação de 100 cM cada, com 21 marcas equidistantes co-dominantes e nível de saturação médio de 5 cM. Foram simulados dois genitores homocigotos contrastantes e posteriormente obtida a população F1 que foi utilizada para gerar todas as populações simuladas a partir de eventos de recombinação originadas do mesmo arranjo de genes na população F1, com a segregação de genitores produzindo somente eventos de recombinação em fase de acoplamento. O tamanho das populações foi de 50 e 100 indivíduos e em cada caso foram geradas 100 populações como repetição.

Embasado nos resultados obtidos por Silva et al. (2007), para a segregação da resistência ao nematóide de cisto da soja, raças 3, 9 e 14, em populações de RILs, foram simuladas duas características oligogênicas denominadas C1 e C2 segregando para três genes (7:1) e dois genes (3:1), respectivamente. Três marcadores do genoma original foram relacionados à expressão de traços oligogênicos em C1 (OTL1, OTL2 e OTL3) e dois marcadores relacionados com a expressão de traços oligogênicos em C2 (OTL1 e OTL2). Posteriormente, os valores fenotípicos simulados foram classificados em presença (1) e ausência (0) de acordo com interação epistática simulada, segundo as proporções 7:1 e 3:1.

Com a utilização dos recursos computacionais do programa GQMOL (CRUZ, 2008), os mapas de ligação foram construídos para posterior mapeamento. Os grupos de ligação foram obtidos baseados nos critérios de frequência de recombinação máxima ( $r_{\max} = 30\%$ ) e LOD mínimo ( $LOD_{\min} = 3$ ).

Utilizando as populações de RILs simuladas com 50 e 100 indivíduos segregando para as características C1 e C2 realizou-se o mapeamento dos OTLs através das metodologias: MMCO, proposto por Rocha et al. (2008), e o método de mapeamento de QTL por intervalo composto (MIC).

Para análise dos dados simulados, o número de populações com OTLs nos GL e nas marcas simuladas foi utilizado na comparação entre a metodologia tradicional e o MMCO.

## Resultados

A partir das 100 populações simuladas para cada tamanho de população foram obtidos 93 e 72 mapas para as populações de 50 e 100 indivíduos, respectivamente, sendo estes os valores utilizados para contabilização do mapeamento de OTLs nas populações.

Em ambas as metodologias, as populações de 50 e 100 indivíduos apresentaram marcadores não ligados aos grupos de ligação e perda ou adição de marcadores em diferentes grupos de ligação.

A partir das populações simuladas, não foi possível identificar OTLs em nenhuma das populações de 50 e 100 indivíduos, via MMCO, nos intervalos paramétricos simulados, para ambas as características (Tabela 1).

Pela metodologia de mapeamento por intervalo composto (MIC) foi possível detectar locos de controle de características oligogênicas em todos os grupos de ligação. Além disso, verificou-se a ocorrência de locos em GL equivocado e a não detecção do loco OTL no GL apropriado (Tabela 1). Segundo esta mesma metodologia, foram detectados três OTLs, na maioria das populações, mesmo para a característica C2, na qual foram simulados apenas dois locos de características oligogênicas (Tabela 2).

## Discussão

O menor número de mapas obtidos para os dois tamanhos de populações em relação ao esperado, também foi observado por Ferreira et al. (2006) em populações pequenas como as deste trabalho.

A não identificação de OTLs, via MMCO, nas populações de 50 e 100 indivíduos, demonstra que a metodologia não é sensível para detecção de locos, mesmo de grande efeito, em pequenas populações.

Pela metodologia de mapeamento por intervalo composto (MIC) de QTL foi possível detectar OTLs nas populações simuladas, o que torna este método bastante sensível em relação ao tamanho da população, para locos de grande efeito.

Entretanto, por esta metodologia foi possível detectar a ocorrência de erro do tipo I (não detecção do loco OTL no GL apropriado) e erro do tipo II (detecção do loco em GL equivocado), superestimando o número de locos controladores da característica nas populações simuladas.

**Tabela 1.** Detecção de OTLs e QTLs, esperados e observados, por Grupo de Ligação (GL), para as características C1 e C2, em populações de RILs simuladas compostas por 50 e 100 indivíduos.

Nº Ind.	Metodologia de mapeamento de OTL <sup>1</sup>						Metodologia de mapeamento de QTL <sup>2</sup>						
		GL1	GL2	GL3	GL4	Total	GL1	GL2	GL3	GL4	Total		
50	C1	ESPERADO	93	93	93	0	279	ESPERADO	93	93	93	0	279
		OBSERVADO	0	0	0	0	0	OBSERVADO	84	66	62	54	266
		OTL na marca simulada	0	0	0	-	0	OTL na marca simulada	30	18	7	-	54
	C2	ESPERADO	0	0	93	93	186	ESPERADO	0	0	93	93	186
		OBSERVADO	0	0	0	0	0	OBSERVADO	63	49	92	87	291
		OTL na marca simulada	-	-	0	0	0	OTL na marca simulada	-	-	47	29	76
100	C1	ESPERADO	72	72	72	0	216	ESPERADO	72	72	72	0	216
		OBSERVADO	0	0	0	0	0	OBSERVADO	59	41	45	45	190
		OTL na marca simulada	0	0	0	-	0	OTL na marca simulada	20	1	4	-	25
	C2	ESPERADO	0	0	72	72	144	ESPERADO	0	0	72	72	144
		OBSERVADO	0	0	0	0	0	OBSERVADO	40	49	70	56	215
		OTL na marca simulada	-	-	0	0	0	OTL na marca simulada	-	-	34	11	45

Legenda: <sup>1</sup>Método de mapeamento de característica oligogênica; <sup>2</sup>Mapeamento por intervalo composto.

**Tabela 2.** Porcentagem de populações simuladas, de 50, 100 e 200 indivíduos, com 1, 2, 3 ou 4 OTLs detectados através da metodologia de mapeamento de QTL por intervalo composto

Característica	Tamanho da população simulada (nº de indivíduos)	Porcentagem do nº de OTLs detectados nos diferentes tamanhos de cada população			
		1	2	3	4
C1 (7:1)	50	5,4%	21,5%	51,6%	21,5%
	100	12,5%	29,2%	40,3%	18,1%
C2 (3:1)	50	3,2%	14,0%	50,5%	32,3%
	100	6,9%	16,7%	47,2%	29,2%

Assim, pode-se considerar a metodologia pouco robusta.

Além disso, verificou-se superestimação no número de locos por esta metodologia em relação ao número simulado

Assim, para a validação da utilização do método MMCO em populações de RILs são necessários estudos em populações de tamanho superior a 100 indivíduos, a fim de obter populações com OTLs, no GL e na posição adequada.

- A metodologia MIC com dados simulados foi mais sensível ao tamanho da população, porém, superestimou o número de OTLs nas populações;

- Para utilização do método MMCO em populações de RILs são necessários estudos de validação da metodologia em populações de tamanho superior a 100 indivíduos.

### Conclusões

- A metodologia MMCO com dados simulados não se mostrou sensível em populações de RILs de 50 e 100 indivíduos, não detectando OTLs;

### Referências

ALONSO-BLANCO, C.; PEETERS, A. J. M.; KOORNNEEF, M.; LISTER, C.; DEAN, C.; BOSH, N. V. D.; POT, J.; KUIPER, M. T. R. Development of AFLP based linkage map of *Ler*, *Col* and *Cvi Arabidopsis thaliana* ecotypes and construction of a *Ler/Cvi* recombinant inbred line population. **The Plant Journal**, v. 14, n. 2, p. 259-271, 1998.

CONCIBIDO, V.C.; DIERS, B.W.; ARELLI, P.R. A decade of QTL mapping for cyst nematode resistance in soybean. **Crop Science**, v. 44, p. 1121-1131, 2004.

CRUZ, C. D. **Programa para análises de dados moleculares e quantitativos - GQMOL**. Viçosa: UFV, 2008.

DARVASI, A.; WEINREB, A.; MINKE, V.; WELLER, J.I. e SOLLER, M. Detecting marker-QTL linkage and estimating QTL gene effect and map location using a saturated genetic map. **Genetics**, v. 134 p. 943-951, 1993.

FERREIRA, A.; SILVA, M.F.; SILVA, L. da C.; CRUZ, C.D. Estimating the effects of population size and type on the accuracy of genetic maps. **Genetic Molecular Biology**, v. 29, n. 1, 2006.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3. ed. Brasília: EMBRAPA/CENARGEN, 1998. 220p.

LANDER E.S.; BOTSTEIN D. Mapping mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. **Genetics**, v. 121, n. 1, p. 185-199, 1989.

LANDER, E. e KRUGLYAK, L. Genetic dissection of complex traits: guidelines for interpreting and reporting linkage results. **Nature**, p. 241-247, 1995.

LI, J. Development of multiple interval mapping for mapping QTL in ordinal traits. **Raleigh**, North Carolina: North Carolina State University, 2004. 124p.

ROCHA, R. B. **Proposta de metodologia para mapeamento de locos controladores de características oligogênicas**. 2007. Tese de doutorado, UFV, Brasil, 2007.

ROCHA, R. B.; BARROS, W. S.; MURO-ABAD, J. I.; TOMAZ, R. S.; CRUZ, C. D.; BARROS, E. G.; ARAÚJO, E. F. Método para mapeamento de locos controladores de características oligogênicas. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 2, p. 332-338, fev., 2010.

ROCHA, R. B.; MURO, A.B.A.D.; CRUZ, C.D. ; BARROS, W.S. ; BARROS, E.G.; ARAÚJO, E.F. Genetic mapping of oligogenic traits using maximum likelihood functions - backcrossing populations. **Revista de Matemática e Estatística**, v. 26, p. 7-21, 2008.

SILVA, M.F.; SCHUSTER, I.; SILVA, J.F.V.; CERVIGNI, G.D.L.; FERREIRA, A.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Inheritance of resistance to soybean cyst nematode, races 3 and 14 in RILs and F2 populations. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, p. 1735-1740, 2007.

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