

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**CONTROLE GENÉTICO DA COLORAÇÃO DO  
TEGUMENTO E DA CONCENTRAÇÃO DE FERRO  
EM SEMENTES DE FEIJÃO MESOAMERICANO E  
ANDINO**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Micheli Thaise Della Flora Possobom**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2014**

**CONTROLE GENÉTICO DA COLORAÇÃO DO  
TEGUMENTO E DA CONCENTRAÇÃO DE FERRO EM  
SEMENTES DE FEIJÃO MESOAMERICANO E ANDINO**

**Micheli Thaise Della Flora Possobom**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de  
**Mestre em Agronomia**

**Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Nerinéia Dalfollo Ribeiro**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2014**

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Possobom, Micheli Thaise Della Flora  
Controle genético da coloração do tegumento e da  
concentração de ferro em sementes de feijão Mesoamericano  
e Andino / Micheli Thaise Della Flora Possobom.-2014.  
73 f.; 30cm

Orientadora: Nerinéia Dalfollo Ribeiro  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-  
Graduação em Agronomia, RS, 2014

1. Phaseolus vulgaris L. 2. Parâmetros de coloração 3.  
Acumulação de ferro 4. Efeito materno 5. Herdabilidade e  
ganho com a seleção I. Ribeiro, Nerinéia Dalfollo II.  
Título.

---

© 2014

Todos os direitos autorais reservados a Micheli Thaise Della Flora Possobom. A reprodução de qualquer parte deste trabalho só poderá ser feita com autorização por escrito do autor.

Endereço: Rua Restinga Seca, 159/401, Camobi, Santa Maria - RS, 97105-330.

Endereço eletrônico: michepossobom@yahoo.com.br

---

**Universidade Federal de Santa Maria  
Centro de Ciências Rurais  
Programa de Pós-graduação em Agronomia**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,  
aprova a Dissertação de Mestrado

**CONTROLE GENÉTICO DA COLORAÇÃO DO TEGUMENTO E DA  
CONCENTRAÇÃO DE FERRO EM SEMENTES DE FEIJÃO  
MESOAMERICANO E ANDINO**

elaborada por  
**Micheli Thaise Della Flora Possobom**

como requisito parcial para a obtenção do grau de  
**Mestre em Agronomia**

**COMISSÃO EXAMINADORA:**

---

**Nerinéia Dalfollo Ribeiro, Dr<sup>a</sup>.** (UFSM)  
(Presidente/Orientadora)

---

**Priscila Zaczuk Bassinello, Dr<sup>a</sup>.** (EMBRAPA)

---

**Rogério Luiz Backes, Dr.** (EPAGRI)

---

**Alberto Cargnelutti Filho, Dr.** (UFSM)

Santa Maria, 24 de fevereiro de 2014.

Aos meus pais Breni Antonio Possobom e  
Inês Maria Della Flora Possobom.  
Aos meus irmãos Marcos Rogério Possobom e  
Mateus Eduardo Possobom.

A essas pessoas que sempre estiveram ao meu lado, dedicando amor e  
compreensão

**Dedico este trabalho!**

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, a Deus por estar sempre ao meu lado me dando força e persistência.

À Universidade Federal de Santa Maria, base da minha construção profissional, e ao Programa de Pós-graduação em Agronomia pela oportunidade de cursar o Mestrado.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pela concessão da bolsa de estudos.

À minha orientadora, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Nerinéia Dalfollo Ribeiro pela orientação, ensinamentos, sugestões, amizade e compreensão, com ela compartilho cada página desse trabalho.

Agradeço, também, a todos os professores do Programa de Pós-graduação em Agronomia pelo conhecimento e amizade oferecida nesses dois últimos anos.

Aos professores Sandro Luís Petter Medeiros pela disponibilização do laboratório “Núcleo de Pesquisa em Ecofisiologia – NUPEC” para a realização das análises de minerais. Aos professores Jerônimo Luiz Andriolo e Lia Rejane Silveira Reiniger pelo empréstimo de alguns dos materiais necessários a condução dos trabalhos em laboratório.

Aos funcionários do Departamento de Fitotecnia, em especial ao João Colpo, pela amizade e auxílio nos experimentos de campo.

Ao colega e amigo Evandro Jost que se prontificou a realizar todas as leituras de minerais do meu trabalho.

A todos os meus colegas do Grupo de Pesquisa de Melhoramento e Manejo de Feijão que participaram da condução do meu trabalho e em especial ao Lucas da Silva Domingues e ao Allan Emanuel Mezzomo Zemolin que, além de colegas, se tornaram meus grandes amigos.

Ao meu namorado Rodrigo Taflick, por estar ao meu lado em todos os momentos, me tranquilizando e me incentivando. Seu apoio e paciência admiráveis foram fundamentais para eu cumprir esse trabalho.

Enfim, cada pessoa, cada palavra e cada momento marcaram essa trajetória, agradeço a todos que de fato me apoiaram.

**Muito Obrigada!**

“Se dois homens vêm andando por uma estrada, cada um com um pão, e, ao se encontrarem, trocarem os pães, cada um vai embora com um. Se dois homens vêm andando por uma estrada, cada um com uma idéia, e, ao se encontrarem, trocarem as idéias, cada um vai embora com duas.”

**Provérbio Chinês**

## RESUMO

Dissertação de Mestrado  
Programa de Pós-graduação em Agronomia  
Universidade Federal de Santa Maria

### CONTROLE GENÉTICO DA COLORAÇÃO DO TEGUMENTO E DA CONCENTRAÇÃO DE FERRO EM SEMENTES DE FEIJÃO MESOAMERICANO E ANDINO

AUTORA: MICHELI THAISE DELLA FLORA POSSOBOM

ORIENTADORA: NERINÉIA DALFOLLO RIBEIRO

Local e Data da Defesa: Santa Maria, 24 de fevereiro de 2014.

A aceitação dos grãos de feijão pelos consumidores está relacionada à coloração do tegumento e ao valor nutricional. Assim, foram objetivos desse trabalho: (1) verificar a existência de efeito materno para os parâmetros de coloração “L”, a\* e b\* e a concentração de ferro em sementes de feijão Mesoamericano e Andino; (2) investigar a distribuição do ferro no tegumento e no embrião das sementes de feijão Mesoamericano e Andino; (3) obter estimativas de herdabilidade e de ganho com a seleção para os parâmetros “L”, a\* e b\* e para a concentração de ferro em sementes de feijão de diferentes grupos gênicos; e (4) selecionar recombinantes com coloração de tegumento de maior demanda no comércio e com alta concentração de ferro nas sementes de feijão. Para tanto, realizaram-se cruzamentos controlados entre as linhagens Mesoamericanas CNFP 10104 e CHC 01-175 e entre as linhagens Andinas Cal 96 e Hooter para a obtenção das gerações F<sub>1</sub>, F<sub>1</sub> recíproco, F<sub>2</sub>, F<sub>2</sub> recíproco e retrocruzamentos (RC<sub>11</sub> e RC<sub>12</sub>) para cada combinação híbrida. Os genitores e as gerações obtidas foram avaliados em dois experimentos a campo (safra e safrinha) em Santa Maria - RS. Efeito materno significativo foi obtido para todos os parâmetros de coloração no grupo Mesoamericano e Andino. No cruzamento CNFP 10104 x CHC 01-175 foram obtidas estimativas de herdabilidade em sentido amplo de alta magnitude, nos cultivos de safra e de safrinha, para os valores de luminosidade (h<sup>2</sup>a: 76,66 a 78,09%), cromaticidade a\* (h<sup>2</sup>a: 73,08 a 89,31%) e cromaticidade b\* (h<sup>2</sup>a: 88,63 a 90,11%). No cruzamento Cal 96 x Hooter, também, se obteve alta herdabilidade em sentido amplo, no cultivo de safrinha, para luminosidade (h<sup>2</sup>a: 95,07%), cromaticidade a\* (h<sup>2</sup>a: 86,19%) e cromaticidade b\* (h<sup>2</sup>a: 92,50%). Para a concentração de ferro foi observado efeito materno significativo somente para o grupo Mesoamericano. A concentração de ferro nas sementes de feijão foi maior no tegumento das linhagens Mesoamericanas e no embrião das linhagens Andinas. Estimativas de herdabilidade para a concentração de ferro em sentido restrito de 54,69% e em sentido amplo de 70,20% foram observadas para o cruzamento CNFP 10104 x CHC 01-175 e em sentido amplo de 62,27% para o cruzamento Cal 96 x Hooter. Uma planta F<sub>2</sub> com concentração de ferro de 132,99 mg kg<sup>-1</sup> na matéria seca foi obtida a partir do cruzamento CNFP 10104 x CHC 01-175. A seleção de sementes F<sub>3</sub> (tegumento em F<sub>2</sub>) a partir dos cruzamentos realizados deverá ser promissora para a obtenção de linhagens de feijão com coloração de tegumento com maior demanda no comércio e com alta concentração de ferro nas sementes.

**Palavras-chave:** *Phaseolus vulgaris* L. Parâmetros de coloração. Acumulação de ferro. Efeito materno. Herdabilidade e ganho com a seleção.



## ABSTRACT

Master's Thesis  
Agronomy Post-graduation Program  
Santa Maria Federal University

### GENETIC CONTROL OF SEED COAT COLOR AND OF IRON CONCENTRATION IN MIDDLE AMERICAN AND ANDEAN COMMON BEAN SEEDS

AUTHOR: MICHELI THAISE DELLA FLORA POSSOBOM

ADVISER: NERINÉIA DALFOLLO RIBEIRO

Place and Date of Defense: Santa Maria, February 24<sup>th</sup>, 2014.

The acceptance of the beans by consumers is related to seed coat color and nutritional value. The objectives of this work were: (1) to verify the existence of maternal effect for the color parameters "L", a\* and b\* and for the iron concentration in Middle American and Andean common bean seeds; (2) to investigate the distribution of iron in the seed coat and embryo of the Middle American and Andean common bean seeds; (3) to estimate heritability and gain with the selection for the parameters "L", a\* and b\* and for the iron concentration in common bean seeds of different gene pools; and (4) to select recombinant with seed coat color of highest commercial demand and with high iron concentration in the seeds. To do this, were performed controlled crosses between Middle American lines CNFP 10104 and CHC 01-175, and Andean lines Cal 96 and Hooter to obtain F<sub>1</sub>, F<sub>1</sub> reciprocal, F<sub>2</sub>, F<sub>2</sub> reciprocal and backcrosses (RC<sub>11</sub> e RC<sub>12</sub>) generations for each hybrid combination. Parents and generations obtained were evaluated in two field experiments (normal rainy and dry season) in Santa Maria - RS. Significant maternal effect was obtained for all color parameters in the Middle American and Andean gene pool. In CNFP 10104 x CHC 01-175 crossing high broad sense heritability estimates were obtained for luminosity (h<sup>2</sup>b: 76.66 to 78.09%), chromaticity a\* (h<sup>2</sup>b: 73.08 to 89.31%) and chromaticity b\* (h<sup>2</sup>b: 88.63 to 90.11%) values in normal rainy and dry season. In Cal 96 x Hooter crossing the parameters luminosity (h<sup>2</sup>b: 95.07%), chromaticity a\* (h<sup>2</sup>b: 86.19%) and chromaticity b\* (h<sup>2</sup>b: 92.50%) showed high broad sense in dry season. For iron concentration, maternal effect was significant only for the Middle American gene pool. The iron concentration was higher in seed coat of Middle American lines, and superior in embryo of Andean lines. Estimates of narrow sense heritability for the iron concentration of 54.69% and broad sense heritability of 70.20% for CNFP 10104 x CHC 01-175 crossing and broad sense heritability of 62.27% for Cal 96 x Hooter crossing were observed. A F<sub>2</sub> plant with iron concentration of 132.99 mg kg<sup>-1</sup> of dry matter was obtained from CNFP 10104 x CHC 01-175 crossing. The selection of F<sub>3</sub> seeds (seed coat in F<sub>2</sub>) from the crossings performed should be promising to obtain common bean lines with seeds colored according to the market demand and with high iron concentration in seeds.

**Keywords:** *Phaseolus vulgaris* L. Color parameters. Iron accumulation. Maternal effect. Heritability and gain with the selection.

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1- Diagrama de cores CIE “L” a\* b\* ..... 14

### ARTIGO 1

FIGURA 1 - Segregação para coloração do tegumento das sementes de feijão em geração F<sub>2</sub> obtida a partir do cruzamento entre as linhagens CNFP 10104 x CHC 01-175 (A) e entre Cal 96 x Hooter (B). Santa Maria - RS, 2013..... 27

FIGURA 2 - Distribuição de frequência para os parâmetros de coloração “L”, determinadas em sementes de feijão com tegumento em geração F<sub>2</sub> para o cruzamento CNFP 10104 x CHC 01-175 em cultivo de safra (A1) e de safrinha (A2) e para o cruzamento Cal 96 x Hooter em cultivo de safrinha (A3); cromaticidade a\* determinada em sementes de feijão com tegumento em geração F<sub>2</sub> para o cruzamento CNFP 10104 x CHC 01-175 em cultivo de safra (B1) e de safrinha (B2) e para o cruzamento Cal 96 x Hooter em cultivo de safrinha (B3); e cromaticidade b\* determinada em sementes de feijão com tegumento em geração F<sub>2</sub> para o cruzamento CNFP 10104 x CHC 01-175 em cultivo de safra (C1) e de safrinha (C2) e para o cruzamento Cal 96 x Hooter em cultivo de safrinha (C3)..... 33

### ARTIGO 2

FIGURA 1 - Plantas com características de incompatibilidade genética. A) fraco crescimento vegetativo; B) crescimento radicular reduzido; C) nanismo; D) planta estéril em geração F<sub>2</sub> e E) formação de raízes adventícias na região do hipocótilo..... 56

FIGURA 2 - Distribuição de frequência para a concentração de ferro em mg kg<sup>-1</sup> de matéria seca em sementes da geração F<sub>3</sub> para o cruzamento CNFP 10104 x CHC 01-175 em cultivo de safra (A) e de safrinha (B) e para o cruzamento Cal 96 x Hooter em cultivo de safrinha (C)..... 59

## LISTA DE TABELAS

### ARTIGO 1

- TABELA 1 - Dados meteorológicos coletados no 8º Distrito de Meteorologia, na Estação Meteorológica de Santa Maria, instalada na Universidade Federal de Santa Maria (latitude 29°42' S, longitude 53°49' W e 95 m altitude), Estado do Rio Grande do Sul, Brasil..... 23
- TABELA 2 - Número de plantas (NP), valores médios dos parâmetros de coloração “L”, a\* e b\* e respectivo desvio padrão obtidos nos genitores (P<sub>1</sub> e P<sub>2</sub>) e nas gerações F<sub>1</sub>, F<sub>1</sub> recíproco, F<sub>2</sub> e F<sub>2</sub> recíproco nos cruzamentos entre as linhagens CNFP 10104 (P<sub>1</sub>) x CHC 01-175 (P<sub>2</sub>) (safra e safrinha) e entre Cal 96 (P<sub>1</sub>) x Hooter (P<sub>2</sub>) (safrinha) e probabilidade pelo teste t para os contrastes P<sub>1</sub> vs P<sub>2</sub>, P<sub>1</sub> vs F<sub>1</sub>, P<sub>2</sub> vs F<sub>1</sub> recíproco, F<sub>1</sub> vs F<sub>1</sub> recíproco e F<sub>2</sub> vs F<sub>2</sub> recíproco. Santa Maria - RS, 2013..... 26
- TABELA 3 - Estimativas de médias, parâmetros genéticos e predição de ganhos com a seleção para a coloração do tegumento de sementes de feijão nos cruzamentos entre as linhagens CNFP 10104 x CHC 01-175 (safra e safrinha) e Cal 96 x Hooter (safrinha). Santa Maria -RS, 2013..... 29

### ARTIGO 2

- TABELA 1 - Dados meteorológicos coletados no 8º Distrito de Meteorologia, na Estação Meteorológica de Santa Maria, instalada na Universidade Federal de Santa Maria (latitude 29°42' S, longitude 53°49' W e 95 m altitude), Estado do Rio Grande do Sul, Brasil..... 44
- TABELA 2 - Número de plantas (NP), concentração média de ferro e respectivo desvio padrão obtidos nos genitores (P<sub>1</sub> e P<sub>2</sub>) e nas gerações F<sub>1</sub>, F<sub>1</sub> recíproco, F<sub>2</sub> e F<sub>2</sub> recíproco nos cruzamentos entre as linhagens CNFP 10104 (P<sub>1</sub>) x CHC 01-175 (P<sub>2</sub>) (safra e safrinha) e entre Cal 96 (P<sub>1</sub>) x Hooter (P<sub>2</sub>) (safrinha) e probabilidade pelo teste t para os contrastes P<sub>1</sub> vs P<sub>2</sub>, P<sub>1</sub> vs F<sub>1</sub>, P<sub>2</sub> vs F<sub>1</sub> recíproco, F<sub>1</sub> vs F<sub>1</sub> recíproco e F<sub>2</sub> vs F<sub>2</sub> recíproco. Santa Maria - RS, 2013..... 50
- TABELA 3 - Porcentagem de matéria seca (MS %), concentração de ferro em % e em mg kg<sup>-1</sup> de matéria seca no embrião e no tegumento de sementes de feijão das linhagens CNFP 10104 e CHC 01-175 (safra e safrinha) e Cal 96 e Hooter (safrinha). Santa Maria - RS, UFSM, 2013..... 52
- TABELA 4 - Estimativas de médias, parâmetros genéticos e predição de ganhos com a seleção para a concentração de ferro em sementes de feijão nos cruzamentos entre as linhagens CNFP 10104 x CHC 01-175 (safra e safrinha) e Cal 96 x Hooter (safrinha). Santa Maria - RS, 2013..... 55

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
<b>2 ARTIGO 1 - CONTROLE GENÉTICO DA COLORAÇÃO DO TEGUMENTO DE SEMENTES DE FEIJÃO MESOAMERICANO E ANDINO .....</b>	<b>18</b>
<b>Resumo .....</b>	<b>18</b>
<b>Abstract .....</b>	<b>19</b>
<b>2.1 Introdução .....</b>	<b>19</b>
<b>2.2 Material e Métodos .....</b>	<b>22</b>
<b>2.3 Resultados e Discussão .....</b>	<b>25</b>
<b>2.4 Conclusões .....</b>	<b>34</b>
<b>2.5 Agradecimentos .....</b>	<b>34</b>
<b>2.6 Referências .....</b>	<b>35</b>
<b>3 ARTIGO 2 - CONTROLE GENÉTICO DA CONCENTRAÇÃO DE FERRO EM SEMENTES DE FEIJÃO MESOAMERICANO E ANDINO .....</b>	<b>38</b>
<b>Resumo .....</b>	<b>38</b>
<b>Abstract .....</b>	<b>39</b>
<b>3.1 Introdução .....</b>	<b>39</b>
<b>3.2 Material e Métodos .....</b>	<b>42</b>
<b>3.3 Resultados e Discussão .....</b>	<b>48</b>
<b>3.4 Conclusões .....</b>	<b>60</b>
<b>3.5 Agradecimentos .....</b>	<b>61</b>
<b>3.6 Referências .....</b>	<b>61</b>
<b>4 DISCUSSÃO .....</b>	<b>66</b>
<b>5 CONCLUSÕES.....</b>	<b>69</b>
<b>6 REFERÊNCIAS .....</b>	<b>71</b>

# 1 INTRODUÇÃO

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é um alimento rico em proteína, vitaminas, fibras e minerais (SATHE; DESHPANDE; SALUNKHE, 1984). Essa leguminosa é a principal fonte de proteína usada na dieta da população, especialmente em países menos desenvolvidos, por ser uma fonte alimentícia mais barata do que as fontes de proteína de origem animal, sendo capaz de suprir grande parte das necessidades nutricionais exigidas pelo organismo humano (WORTHINGTON et al., 2012).

Pertencente à família Fabaceae, o feijão é uma espécie diplóide ( $2n = 2x = 22$ ) de ampla distribuição geográfica, originário de dois centros, o Mesoamericano e o Andino (SINGH; GEPTS; DEBOUCK, 1991). No centro de origem primário, que engloba a América Central, México e sul dos Andes, foram encontradas as raças Mesoamericana, Jalisco e Durango do grupo gênico Mesoamericano. No centro secundário, que abrange o norte dos Andes, foram originadas as raças Nueva Granada, Perú e Chile do grupo gênico Andino.

A diversidade de raças de feijão tem sido atribuída às diferenças encontradas quanto ao tamanho das sementes e aos tipos de faseolina, principal fração protéica do feijão. Cultivares com faseolina dos tipos T, C, H e A possuem sementes maiores do que as cultivares com faseolina dos tipos S e B (BORÉM, 2005). As sementes de feijão são classificadas como de tamanho pequeno (massa de 100 sementes inferior a 25g), característica das raças Mesoamericanas, e de médio (massa de 100 sementes de 25 a 40g) a grande (massa de 100 sementes superior a 40g), típico de raças Andinas (SINGH; GEPTS; DEBOUCK, 1991).

As diferentes condições de solo e clima promoveram uma ampla adaptação das cultivares de feijão (SINGH; GEPTS; DEBOUCK, 1991). Segundo Debouck (1993), as cultivares Mesoamericanas são mais adaptadas às regiões de clima mais quente, enquanto que as Andinas, às regiões frias. No Brasil, por apresentar as mais variadas condições climáticas, a cultura do feijão foi disseminada por todo o território (BALDONI; RAMALHO; ABREU, 2008), sendo o país o maior produtor mundial de feijão com uma produção média de 3,5 milhões de toneladas anuais (MAPA, 2013).

Os programas de melhoramento genético de feijão têm sido direcionados a obtenção de cultivares do tipo preto e carioca, restringindo-se ao mercado interno. No entanto, as cultivares conhecidas como “grãos especiais”, ou seja, aqueles grãos que diferem do preto e

do carioca, ainda têm recebido pouco enfoque nas pesquisas realizadas no Brasil. Atualmente, 73% da área cultivada com feijão no país são de grãos do grupo preto e do tipo carioca (MAPA, 2013) e 60% do total da produção brasileira de feijão é obtida na agricultura familiar (CTSBF, 2012).

Entre as cultivares de grãos especiais, a pinto americano (sementes beges com rajadas marrons) e a branco chileno (sementes alongadas de tegumento branco), de pouca expressão no mercado brasileiro, são as de maior aceitação no mercado internacional. A diversificação dos mercados é um fator que viabiliza as exportações de grãos de feijão. O feijão-rajado (sementes alongadas com rajadas ou estrias vermelhas), por exemplo, tem forte demanda nos continentes asiático e africano (CONAB, 2006).

A aceitação dos grãos de feijão pelos consumidores está relacionada à coloração do tegumento que pode ser avaliada visualmente ou determinada em um colorímetro. As avaliações visuais são realizadas com o uso de escalas (ARAÚJO, 2012) e, portanto, não apresentam a mesma confiabilidade nos resultados quando comparados à medição realizada em um equipamento. A coloração do tegumento das sementes pode ser quantificada em um colorímetro em três eixos (“L”,  $a^*$  e  $b^*$ ). O sistema de cores L-a-b foi estabelecido pela Comissão Internacional de Iluminação (CIE) de 1976 (CIE, 1976). Neste sistema, o valor de “L” representa a luminosidade e os valores de  $a^*$  e  $b^*$  indicam a cromaticidade. O valor de “L” caracteriza a luminância e é expresso em porcentagem de 0 para o preto a 100 para o branco; o valor de  $a^*$  representa a cromaticidade do tom verde ao vermelho e adquire valor de -60 a +60; e o valor de  $b^*$ , ou seja, a saturação do azul ao amarelo, apresenta valores de -60 a +60 (BERNARDO, 2010).

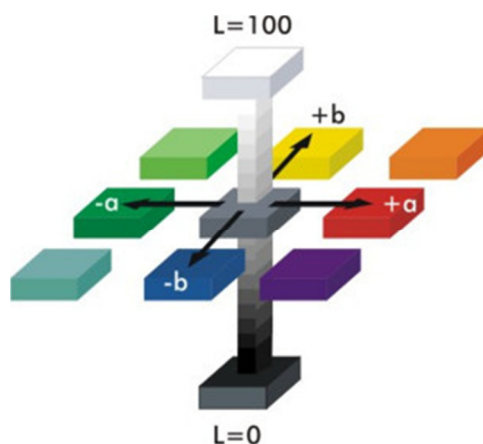


Figura 1 - Diagrama de cores CIE L\* a\* b\*.

Fonte: Hunter Lab, 1996

Estudos sobre a luminosidade (“L”) do tegumento em sementes de cultivares de feijão preto e carioca caracterizaram o padrão de tegumento de maior aceitação pelo consumidor. Segundo Ribeiro; Storck; Poersch (2008), cultivares de feijão de sementes carioca com valores de “L” superiores a 55 são preferidas pelo consumidor, que associa a maior claridade das sementes desta classe, com colheita recente e rápido cozimento. No caso do feijão preto, menor valor de “L” é desejável, pois “L” superior a 22 é indicativo da presença de grãos arroxeados e, portanto, de menor qualidade (RIBEIRO; POSSEBON; STORCK, 2003). Para os valores de cromaticidade  $a^*$  e  $b^*$  não foram encontradas referências de padrões aceitos para as diferentes classes de sementes. Na literatura, também, não foram encontrados relatos de controle genético dos valores de luminosidade (“L”) e de cromaticidades ( $a^*$  e  $b^*$ ) em sementes de feijão. Mais estudos são necessários para o estabelecimento de estratégias de seleção de linhagens com padrão de tegumento que atenda a demanda e as exigências dos consumidores.

No desenvolvimento e produção de qualquer tipo de alimento, o consumidor é quem define a aceitação ou não do produto. E apesar de haver preferência regionalizada, a coloração do alimento, muitas vezes, está associada à qualidade. Porém, no atual contexto mundial, a busca por uma alimentação equilibrada vem influenciando as escolhas dos consumidores, e características visuais como a coloração e o formato do alimento, não são mais os únicos parâmetros que definem a aceitação do produto. Muitos dos consumidores buscam alimentos que possuam características nutricionais benéficas à saúde, como alimentos ricos em minerais, entre eles o ferro (NITZKE et al., 2010).

Metade da população mundial é afetada por algum tipo de deficiência mineral (PFEIFFER; MCCLAFFERTY, 2007) e mais de dois bilhões de pessoas, ou seja, 40% da população mundial apresentam deficiência de ferro (WHO, 2006). O ferro tem função fundamental na formação da hemoglobina, prevenindo a anemia (CARVALHO; BARACAT; SGARBIERI, 2006). A deficiência de ferro tem sido associada à diminuição da atividade motora, a baixa imunidade, a suscetibilidade a infecções, a alterações funcionais do trato digestivo, ao aumento do risco de parto prematuro, ao baixo peso ao nascer, a diminuição da taxa de crescimento e a alteração comportamental e mental (OLIVARES; WALTER, 2004). Para Pinto (2008), embora a deficiência de ferro prevaleça em populações de baixo nível socioeconômico, é uma das poucas carências nutricionais que está presente em todas as categorias sociais. A carência de ferro na população de países desenvolvidos pode se originar de fatores como a má educação alimentar e o hábito de comer fora de casa (UMBELINO; ROSSI, 2006).

Atualmente busca-se desenvolver alimentos que possuam mais nutrientes essenciais a dieta básica, como o ferro, e em culturas alimentícias acessíveis a todas as classes da população (NITZKE et al., 2010). Segundo Araújo et al. (2011), os alimentos de origem vegetal permitem uma absorção de apenas 5 a 10% do ferro ingerido, chamado ferro não-heme. Já, os alimentos de origem animal são mais biodisponíveis em ferro, 15 a 25% do total do mineral ingerido é absorvido, chamado ferro heme, porém, devido ao elevado custo, os produtos de origem animal não são acessíveis a toda a população. Nesse contexto, o feijão é uma das culturas alvo para a biofortificação, devido à ampla variabilidade genética encontrada na cultura para a coloração do tegumento e para a concentração de ferro nas sementes (BLAIR et al., 2013).

De acordo com o Ministério da Saúde (1998), a recomendação de ingestão diária para uma pessoa adulta é de 14 mg de ferro. O feijão é um alimento capaz de suprir grande parte dessa necessidade, pois uma porção cozida de feijão (170 g) responde por 29 a 55% das necessidades diárias de ferro para mulheres e homens adultos, respectivamente (SATHE; DESHPANDE; SALUNKHE, 1984). O feijão é uma cultura que apresenta ampla variação na concentração de ferro nas sementes, com valores de 71,37 a 126,9 mg kg<sup>-1</sup> de matéria seca, previamente descritos em cultivares disponíveis para o cultivo no Brasil (MESQUITA et al., 2007). Além disso, há variabilidade genética suficiente, no Banco de Germoplasma do Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), para aumentar em 80% a concentração de ferro em sementes de feijão (BEEBE; GONZALEZ; RENGIFO, 2000).

O conhecimento da herança da coloração do tegumento e da concentração de ferro das sementes de feijão é necessária para o estabelecimento de estratégias de seleção e de condução das populações segregantes. No aspecto de distribuição do ferro em sementes de feijão, alguns estudos, mostraram que a diferença de massa de sementes entre feijão Mesoamericano e Andino promove uma variação na distribuição deste mineral entre o tegumento e o embrião (MORAGHAN et al., 2002; MORAGHAN; GRAFTON, 2001; RIBEIRO et al., 2012). A herança da concentração de ferro em sementes de feijão tem sido estudada de forma mais detalhada em feijão do grupo Mesoamericano e a presença de efeito materno significativo foi constatada por Jost et al. (2009). Além disso, a concentração de ferro em feijões Mesoamericanos apresentou distribuição contínua, caracterizando herança do tipo quantitativa (BLAIR et al., 2009). Como a maioria destas pesquisas foi realizada em linhagens do grupo Mesoamericano, pouco se sabe sobre o controle genético da concentração de ferro a partir de cruzamentos entre sementes de feijão do grupo Andino.



Para GEPTS (2008), uma das grandes vantagens que o feijão comum apresenta é o alto nível de diversidade genética em comparação com outras espécies de autofecundação, o que permite uma ampla exploração da variabilidade genética por programas de melhoramento. Nesse cenário, o melhoramento genético pode contribuir com o aumento da disponibilidade de ferro em sementes de feijão e vir a atender as exigências nutricionais, entretanto é necessário um estudo mais detalhado da concentração do mineral em diferentes grupos gênicos de feijão. Os feijões de diferente coloração possuem mercado internacional e com o desenvolvimento de linhagens com maior concentração de ferro nas sementes poderá ocorrer um aumento no valor agregado do produto, gerando mais fonte de renda ao agricultor e diversificando o padrão de consumo interno de feijão.

Sendo assim, os objetivos desse trabalho foram: (1) verificar a existência de efeito materno para os parâmetros de coloração “L”,  $a^*$  e  $b^*$  e a concentração de ferro em sementes de feijão Mesoamericano e Andino; (2) investigar a distribuição do ferro no tegumento e no embrião das sementes de feijão Mesoamericano e Andino; (3) obter estimativas de herdabilidade e de ganho com a seleção para os parâmetros de coloração “L”,  $a^*$  e  $b^*$  e para a concentração de ferro em sementes de feijão de diferentes grupos gênicos; e (4) selecionar recombinantes com coloração de tegumento de maior demanda comercial e com alta concentração de ferro nas sementes de feijão.

A dissertação está dividida em dois artigos científicos. O primeiro artigo intitulado **“Controle genético da coloração do tegumento de sementes de feijão Mesoamericano e Andino”** é apresentado nas normas da revista *Euphytica* e o segundo artigo **“Controle genético da concentração de ferro de sementes de feijão Mesoamericano e Andino”** é apresentado nas normas da revista *Pesquisa Agropecuária Brasileira*.

## 2 ARTIGO 1

### CONTROLE GENÉTICO DA COLORAÇÃO DO TEGUMENTO DE SEMENTES DE FEIJÃO MESOARECINANO E ANDINO

### GENETIC CONTROL OF SEED COAT COLOR OF MIDDLE AMERICAN AND ANDEAN COMMON BEAN SEEDS

#### Resumo

Os objetivos deste trabalho foram verificar se ocorre efeito materno para os parâmetros de coloração “L”,  $a^*$  e  $b^*$  em sementes de feijão Mesoamericano e Andino; obter estimativas de herdabilidade e de ganho com a seleção para os parâmetros de coloração “L”,  $a^*$  e  $b^*$  e selecionar recombinantes com coloração de tegumento de maior demanda no comércio. Para tanto, realizaram-se cruzamentos controlados entre as linhagens Mesoamericanas CNFP 10104 e CHC 01-175 e entre as linhagens Andinas Cal 96 e Hooter para a obtenção das gerações  $F_1$ ,  $F_1$  recíproco,  $F_2$  e  $F_2$  recíproco para cada combinação híbrida. Os genitores e as gerações obtidas foram avaliados em dois experimentos a campo (safra e safrinha) conduzidos no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. A coloração do tegumento das sementes foi quantificada com um colorímetro portátil sempre durante o dia, no interior de uma sala iluminada com lâmpadas fluorescentes. Efeito materno significativo foi obtido para todos os parâmetros de coloração no grupo Mesoamericano e Andino. No cruzamento CNFP 10104 x CHC 01-175 (safra e safrinha) foram obtidas estimativas de herdabilidade em sentido amplo de alta magnitude para os valores de luminosidade ( $h^2a$ : 76,66 a 78,09%), cromaticidade  $a^*$  ( $h^2a$ : 73,08 a 89,31%) e cromaticidade  $b^*$  ( $h^2a$ : 88,63 a 90,11%). No cruzamento Cal 96 x Hooter (safrinha), alta estimativa de herdabilidade em sentido amplo foi observada para os parâmetros de luminosidade ( $h^2a$ : 95,07%), cromaticidade  $a^*$  ( $h^2a$ : 86,19%) e cromaticidade  $b^*$  ( $h^2a$ : 92,50%). No cruzamento CNFP 10104 x CHC 01-175 (safra e safrinha) foram obtidos ganhos com a seleção para menores valores de “L” = -41,65 a -36,44%,  $a^*$  = -75,92 a -75,45% e  $b^*$  = -131,21 a -111,29% e para maiores valores foram de “L” = 75,75 a 108,63%,  $a^*$  = 182,83 a 193,62% e  $b^*$  294,62 a 261,34%. Para as linhagens Andinas Cal 96 x Hooter (safrinha), os ganhos para menores valores foram de “L” = -39,02%,  $a^*$  = -30,92% e  $b^*$  = -67,25% e para maiores valores foram de “L” = 37,45%,  $a^*$  = 58,63% e  $b^*$  58,31%. A seleção de sementes  $F_3$  (tegumento em  $F_2$ ) obtidas a partir dos cruzamentos realizados poderá ser promissora para a obtenção de linhagens de feijão com coloração de sementes de maior demanda no comércio.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris* L., parâmetros de coloração, efeito materno, herdabilidade e ganho com a seleção.

### Abstract

The objectives of this study were to determine whether there is maternal effect for the color parameters "L",  $a^*$  and  $b^*$  in Middle American and Andean bean seeds; to estimate heritability and gain with the selection for the color parameters "L",  $a^*$  and  $b^*$ ; and to select recombinants with seed coat color of highest commercial demand. For to this, were performed crossing controlled between Mesoamerican lines CNFP 10104 and CHC 01-175 and between Andean lines Cal 96 and Hooter to obtain  $F_1$ ,  $F_1$  reciprocal,  $F_2$  and  $F_2$  reciprocal generations for each hybrid combination. Parents and generations obtained were evaluated in two field experiments (normal rainy and dry season) were performed in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. The seed coat color was measured with a portable colorimeter always during the day, inside a room lit with fluorescent lamps. Significant maternal effect was obtained for all color parameters in the Middle American and Andean gene pool. In CNFP 10104 x CHC 01-175 crossing (normal rainy and dry season) high broad sense heritability estimates were obtained for the luminosity ( $h^2b$ : 76.66 to 78.09%), chromaticity  $a^*$  ( $h^2b$ : 73.08 to 89.31%) and chromaticity  $b^*$  ( $h^2b$ : 88.63 to 90.11%) values. In Cal 96 x Hooter crossing (dry season) the parameters luminosity ( $h^2b$ : 95.07%), chromaticity  $a^*$  ( $h^2b$ : 86.19%) and chromaticity  $b^*$  ( $h^2b$ : 92.50%) showed high broad sense heritability. In CNFP 10104 x CHC 01-175 crossing (normal rainy and dry season) were obtained gains with the selecting for lower values from "L" = -41.65 for -36.44%;  $a^*$  = -75.92 for -75.45% and  $b^*$  = -131.21 for -111.29% and for higher values from: "L" = 75.75 for 108.63%;  $a^*$  = 182.83 for 193.62% and  $b^*$  = 261.34 for 294.62%. In Cal 96 x Hooter (normal rainy), for lower values were: "L" = -39.02%;  $a^*$  = -30.92% and  $b^*$  = -67.25% and for higher values were: "L" = 37.45%;  $a^*$  = 58.63% and  $b^*$  = 58.31% The selection of  $F_3$  seeds (seed coat in  $F_2$ ) obtained from crossing performed should be promising for obtaining lines of common bean with seeds colored according to the market demand.

Key words: *Phaseolus vulgaris* L., color parameters, maternal effect, heritability and gain with the selection.

### 2.1 Introdução

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) apresenta ampla variação na coloração do tegumento das sementes. A coloração uniforme é denominada de cor primária, como o preto, o bege, o branco, entre outras. Também, pode

ocorrer a coloração secundária, expressa na forma de estrias, rajas, manchas ou pontuações de diferentes tonalidades (Silva e Costa 2003).

Genes que controlam a coloração do tegumento das sementes de feijão foram identificados a partir de cruzamentos realizados entre germoplasma de diferentes raças e grupos gênicos. A coloração do tegumento das sementes de feijão é dependente de alelos múltiplos do loco “P”, mas linhagens com caracterização “pp” expressam tecidos brancos ou sem pigmentação, enquanto que a expressão do alelo “J” afeta o brilho do tegumento e, conseqüentemente, a coloração (Bassett 1994). O alelo “T” é responsável pela coloração completa e a manifestação “tt” representa o padrão de tegumento parcialmente colorido, sendo que o alelo “t”, juntamente com o alelo “Z”, não expressa cor (Porch 2010). As interações que ocorrem entre os vários genes que controlam a coloração do tegumento das sementes de feijão contribuíram para a expressão de grande variabilidade de tonalidades (Moh 1971; McClean et al. 2002).

No Brasil, o consumidor de feijão tem preferência pelos grupos carioca (cor primária bege e com estrias marrons) e preto (uniforme e sem coloração secundária) (Borém 2005), ambos do grupo gênico Mesoamericano e com massa de 100 sementes de aproximadamente 25g (Singh et al. 1991). Já, nos Estados Unidos e no Canadá, o consumidor prefere feijões do grupo gênico Andino, que possuem massa de 100 sementes superior a 40g (Singh et al. 1991), conhecidos como feijão especial, por apresentarem maior variabilidade na coloração do tegumento (Thung et al. 2008). O tipo de feijão mais consumido nos Estados Unidos é o Pinto beans (tegumento bege com rajas marrons) (Flipse 2014), na Itália é o Cranberry (tegumento bege com rajas vermelhas) e o Dark Red Kidney (tegumento vermelho) e na França, é o White Kidney (tegumento branco) (Uebersax 2006). Portanto, a escolha por um determinado padrão de tegumento é variável com a região geográfica e com a preferência do consumidor.

Nesse cenário, o programa de melhoramento deve desenvolver novas cultivares de feijão com padrão de tegumento que atenda a demanda de mercado. A coloração do tegumento das sementes de feijão pode ser avaliada visualmente com o uso de escala de notas ou quantificada em um colorímetro. Esse equipamento analisa diferentes faixas de cores de forma tridimensional, possuindo uma fonte de luz que simula o comportamento da visão humana e mede a quantidade de luz que foi refletida pela amostra em três eixos (“L”,  $a^*$  e  $b^*$ ).

O valor de “L” é uma medida associada à claridade da amostra e é expressa em porcentagem de 0 para o preto a 100 para o branco e os valores de cromaticidade  $a^*$  e  $b^*$  medem a coloração em valores de -60 a +60 variando do tom verde ao vermelho ( $a^*$ ) e do azul ao amarelo ( $b^*$ ), respectivamente (Bernardo 2010). O uso do colorímetro possibilita a determinação da coloração do tegumento das sementes de maneira mais precisa. Para

sementes de feijão, a quantificação do valor de “L” em apenas um experimento foi suficiente para selecionar linhagens com 99% de exatidão para a claridade do tegumento (Cargnelutti Filho et al. 2006).

O valor de “L” tem sido utilizado para selecionar linhagens de feijão dos grupos carioca e preto quanto à claridade do tegumento das sementes (Ribeiro et al. 2008). Para linhagens de feijão carioca, o valor de “L” variou de 48,40 a 60,80, sendo que as cultivares com valores de “L” superior a 55,00 apresentam maior valor de mercado (Ribeiro et al. 2008), isso porque a maior claridade foi associada a um bom sabor e uma boa textura após o cozimento (Bassinello et al. 2003). Quanto ao feijão preto, valores de “L” entre 20,00 a 22,40 foram descritos previamente (Ribeiro e Storck 2002). Para essa classe, a claridade deverá ser inferior a 22,00, pois valor de “L” superior a 22,00 para tegumento preto é associado à coloração arroxeadada e a maior tempo para o cozimento (Ribeiro et al. 2003). Os valores de cromaticidade  $a^*$  e  $b^*$ , juntamente com o valor de “L”, expressam a intensidade da coloração do tegumento de forma mais detalhada. Quando houver grande variabilidade na coloração do tegumento será necessário incluir os valores de cromaticidades para selecionar linhagens com padrão de tegumento de maior aceitação. Nesse caso, apenas o valor de “L” não será suficiente para estratificar as diferenças de tonalidades do tegumento.

O conhecimento da herança da coloração do tegumento das sementes de feijão é fundamental para a obtenção de cultivares de feijão que atendam a demanda do mercado consumidor. O efeito materno é um tipo de herança que se caracteriza pelo fato de que o fenótipo obtido no cruzamento será igual ao genitor feminino e isso terá implicações diretas na seleção e na condução das populações segregantes (Ramalho et al. 2012). Neste caso, se a seleção de plantas individuais for praticada em sementes  $F_2$  será ineficaz, uma vez que a geração do tegumento estará uma geração atrasada em relação à geração do cotilédone e assim, a seleção deverá ser praticada em sementes em geração  $F_3$  (tegumento em  $F_2$ ) quando será observada a máxima segregação.

Não foram encontrados estudos sobre o controle genético do tegumento das sementes de feijão usando os parâmetros de coloração “L”,  $a^*$  e  $b^*$ . Há dúvidas se os valores de luminosidade (“L”) e de cromaticidades ( $a^*$  e  $b^*$ ) apresentam herança quantitativa ou algum efeito materno em germoplasma de feijão do grupo gênico Mesoamericano e Andino. Assim, os objetivos desse trabalho foram verificar se ocorre efeito materno para os parâmetros de coloração “L”,  $a^*$  e  $b^*$  em sementes de feijão Mesoamericano e Andino, obter estimativas de herdabilidade e de ganho com a seleção para os parâmetros de coloração “L”,  $a^*$  e  $b^*$  e selecionar recombinantes com coloração de tegumento de maior demanda no comércio.

## 2.2 Material e Métodos

Dois blocos de cruzamentos foram instalados em casa-de-vegetação do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, Estado do Rio Grande do Sul, Brasil (latitude 29°42' S, longitude 53°49' W e 95 m de altitude). O bloco I de cruzamento foi formado pelos genitores CNFP 10104 e CHC 01-175 pertencentes ao grupo gênico Mesoamericano, com sementes de tamanho pequeno (massa de 100 sementes inferior a 25 g). A linhagem CNFP 10104 possui sementes de tegumento preto e hábito de crescimento indeterminado com guias curtas (tipo II) e a CHC 01-175 apresenta sementes do tipo carioca (tegumento bege com estrias marrons) e hábito de crescimento indeterminado com guias longas (tipo III).

O bloco II de cruzamento foi constituído pelos genitores Cal 96 e Hooter que são do grupo gênico Andino e apresentam sementes de tamanho grande (massa de 100 sementes superior a 40 g). A Cal 96 possui sementes de tegumento vermelho escuro com rajadas creme e hábito de crescimento indeterminado com guias curtas (tipo II). A Hooter apresenta sementes de tegumento creme com rajadas vermelho médio e hábito de crescimento determinado (tipo I).

O cultivo foi realizado em vasos plásticos com capacidade para 8 L, contendo uma mistura de solo (Argissolo Bruno-Acinzentado alítico típico), substrato comercial Macplant e casca de arroz carbonizada, na proporção volumétrica de 3:2:1. A correção da fertilidade do solo e a adubação foram realizadas de acordo com a análise química do solo. Em cada vaso foram semeadas quatro sementes e no estágio V2 (folhas primárias totalmente abertas) foi realizado o desbaste, mantendo-se duas plantas por vaso.

Na floração foram realizados os cruzamentos dirigidos usando o método de entrelaçamento com emasculação prévia do botão floral (Peternelli et al. 2009). Durante o período de verão-outono de 2012, foram obtidas as sementes  $F_1$  ( $\text{♀ } P_1 \times \text{♂ } P_2$ ) e  $F_1$  recíproco ( $\text{♀ } P_2 \times \text{♂ } P_1$ ) nos dois blocos de cruzamentos. Essas sementes foram colhidas na maturação e secas em estufa (65 a 70 °C) (Odontobras 1.5, Odontobras, Ribeirão Preto, SP, Brasil) até 13% de umidade média. As sementes dos híbridos obtidos e dos genitores foram semeadas no período de inverno-primavera de 2012 para a obtenção das sementes  $F_2$  (autofecundação natural das plantas  $F_1$ ) e  $F_2$  recíproco (autofecundação natural das plantas  $F_1$  recíproco). Híbridos  $F_1$  e  $F_1$  recíproco foram obtidos simultaneamente para se dispor de maior quantidade de sementes, visando à condução de dois experimentos a campo (safra e safrinha).

A irrigação foi realizada diariamente para suprir a demanda hídrica das plantas. O controle de pragas e de doenças foi efetuado com a aplicação de produtos químicos, sempre que necessário, a fim de garantir a sanidade das plantas e a integridade dos botões florais. Na maturação, as sementes de cada geração obtida foram

colhidas e secas em estufa (65 a 70 °C) até 13% de umidade média. Em seguida, as sementes foram armazenadas em câmara fria à temperatura de 1°C e umidade relativa de 70% até o momento da instalação dos experimentos de campo.

Os genitores (CNFP 10104, CHC 01-175, Cal 96 e Hooter) e as gerações F<sub>1</sub>, F<sub>1</sub> recíproco, F<sub>2</sub> e F<sub>2</sub> recíproco obtidas em cada combinação híbrida foram avaliados em experimentos de campo conduzidos em safra 2012/2013 (semeadura em 09 de novembro de 2012) para o grupo Mesoamericano e na safrinha 2013 (semeadura em 06 de março de 2013) para os grupos Mesoamericano e Andino no Departamento de Fitotecnia da UFSM. As principais diferenças observadas entre as épocas de cultivo foram relativas à média das temperaturas mínimas e máximas, à quantidade e à distribuição da precipitação e a umidade relativa do ar (Tabela 1).

**Tabela 1** Dados meteorológicos coletados no 8º Distrito de Meteorologia, na Estação Meteorológica de Santa Maria, instalada na Universidade Federal de Santa Maria (latitude 29°42' S, longitude 53° 49' W e 95 m altitude), Estado do Rio Grande do Sul, Brasil.

Variável	---Safra 2012---				---Safrinha 2013---			
	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun
Temperatura mínima (°C)	17,5	19,9	18,2	19,1	16,4	14,4	11,0	9,5
Temperatura máxima (°C)	30,4	31,1	30,3	29,9	26,6	26,4	21,4	18,9
Precipitação (mm)	72,8	293,0	145,3	97,7	188,6	147,4	71,6	81,6
Umidade relativa (%)	70,5	77,8	75,8	80,9	83,8	83,5	87,2	89,7

O solo foi preparado de maneira convencional, sendo que a correção da acidez e a adubação foram realizadas de acordo com a interpretação da análise química do solo. A semeadura dos experimentos foi realizada em linhas de 1 m de comprimento, espaçadas em 0,5 m. No entanto, como as gerações avaliadas apresentaram diferenças quanto à variabilidade genética usaram-se diferentes números de linhas e densidades de semeadura. Para os genitores foi usada uma linha de 1 m e a densidade de semeadura recomendada para a cultura (CTSBF, 2012), ou seja, 15 sementes/metro linear. Para as gerações F<sub>1</sub> e F<sub>1</sub> recíproco, também se usou uma linha de 1 m, mas a densidade de semeadura foi de 10 sementes/metro linear. Já, as gerações F<sub>2</sub> e F<sub>2</sub> recíproco, que apresentavam maior variabilidade genética, foram constituídas por 15 linhas de 1 m, com densidade de 8 sementes/metro linear.

Com o estabelecimento da cultura, foram realizadas irrigações com o auxílio de um regador antes de se constatar déficit hídrico, ou seja, antes que a taxa de evapotranspiração seja superior a taxa de absorção. Foi considerada uma irrigação média de 3 mm dia<sup>-1</sup> na fase vegetativa e de 5 mm dia<sup>-1</sup> por planta na fase reprodutiva

(CTSBF 2012), o que equivale de 350 a 400 mm, conforme a duração do ciclo da cultura. O controle de plantas invasoras foi efetuado por capinas manuais e os insetos foram eliminados com uso do inseticida Engeo™ Pleno (Tiametoxam + Lambda-cialotrina) na dose de 125 ml ha<sup>-1</sup>, conforme recomendação do fabricante, sempre que a infestação de insetos atingiu aproximadamente 5% de dano. O controle de doenças não foi realizado. As plantas foram colhidas na maturação, trilhadas manualmente e as sementes foram secas em estufa (65 a 70 °C) até 13% de umidade média, quando se realizou a leitura da coloração do tegumento das sementes.

A coloração do tegumento das sementes foi quantificada com um colorímetro portátil (CR 410, Konica Minolta, Osaka, Japão), sempre durante o dia, no interior de uma sala iluminada com lâmpadas fluorescentes. Para tanto, uma amostra de sementes foi disposta em uma placa de *Petri* de 6 cm de diâmetro e 1,5 cm de altura, colocada sobre um papel branco, a fim de não absorver possíveis cores do ambiente. Para as linhagens Mesoamericanas usaram-se amostras de 40 sementes e para as linhagens Andinas 20 sementes, isso porque as linhagens Andinas apresentam sementes maiores, sendo necessária uma quantidade de sementes inferior para preencher uma mesma superfície. As sementes foram distribuídas uniformemente sobre a placa de *Petri*, cobrindo completamente o fundo do recipiente. O cabeçote de medição do colorímetro foi colocado verticalmente sobre as sementes, no sentido de cima para baixo. Três leituras foram realizadas em cada amostra para determinar os valores dos parâmetros de coloração “L”, a\* e b\*. O valor de “L” forneceu a luminosidade, variando do preto (L=0) ao branco (L=100). O valor de cromaticidade a\* caracterizou a coloração na região do verde ao vermelho e o valor de cromaticidade b\* indicou a coloração no espectro de cores do azul ao amarelo.

A investigação de efeito materno foi realizada com os dados obtidos para cada combinação híbrida e em cada época de cultivo. A hipótese de efeito materno foi testada efetuando-se a comparação entre as médias pelo teste t a 5% de significância para os contrastes P<sub>1</sub> vs P<sub>2</sub>, P<sub>1</sub> vs F<sub>1</sub>, P<sub>2</sub> vs F<sub>1</sub> recíproco, F<sub>1</sub> vs F<sub>1</sub> recíproco e F<sub>2</sub> vs F<sub>2</sub> recíproco.

As estimativas dos parâmetros genéticos foram obtidas com as variâncias dos genitores P<sub>1</sub> e P<sub>2</sub> e das gerações F<sub>1</sub> e F<sub>2</sub> para cada combinação híbrida e em cada época de cultivo. A herdabilidade foi estimada em

sentido amplo  $h_a^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_p^2}$ , sendo:  $\sigma_g^2 = \sigma_p^2 - \sigma_e^2$ ; variância fenotípica:  $\sigma_p^2 = \sigma_{F_2}^2$  e variância de ambiente em F<sub>2</sub>:

$\sigma_e^2 = 1/3(\sigma_{F_1}^2 + \sigma_{P_1}^2 + \sigma_{P_2}^2)$ . Os valores de cromaticidade a\* e b\* apresentaram grande amplitude com a presença de valores negativos entre os genitores do grupo gênico Mesoamericano, por isso não foi possível considerar as variâncias dos genitores na expressão que calcula a variância de ambiente em F<sub>2</sub>. Assim, a variância de ambiente em F<sub>2</sub> foi estimada como sendo  $\sigma_e^2 = \sigma_{F_1}^2$ .



Para a predição dos ganhos com a seleção foi considerada a seleção de 10% das plantas  $F_2$ , sementes com tegumento  $F_2$  com os menores valores de “L”,  $a^*$  e  $b^*$  para a seleção de sementes com tegumento preto e cranberry (fundo escuro) e os maiores valores “L”,  $a^*$  e  $b^*$  para a seleção de sementes com tegumento carioca e cranberry (fundo claro). O ganho esperado foi estimado pela expressão:  $\Delta G = DS \times h^2$  e  $\Delta G(\%) = \frac{\Delta G \times 100}{F_2}$  em que  $DS$  é o diferencial de seleção, expresso por  $\bar{X}_s - \bar{X}_0$ , sendo  $\bar{X}_s$  = média das plantas  $F_2$  selecionadas e  $\bar{X}_0$  = média das plantas  $F_2$ .

Os dados obtidos para as sementes com tegumento  $F_2$  foram submetidos, ainda, ao teste de Lilliefors para verificar a ocorrência de distribuição normal. Assim, a distribuição de frequência foi realizada para cada época de cultivo, visando observar a variabilidade genética obtida em cada cruzamento e identificar o tipo de distribuição (contínua ou descontínua) observada em sementes com tegumento  $F_2$ . As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio da planilha eletrônica Office Excel e do programa GENES (Cruz2006).

### 2.3 Resultados e Discussão

A coloração do tegumento das sementes de feijão apresenta efeito materno significativo, portanto o híbrido  $F_1$  obtido no cruzamento apresentará tegumento igual ao genitor feminino e a expressão do cruzamento será observada nas sementes da geração  $F_2$  (tegumento  $F_1$ ) (Ramalho et al., 2012). Assim, no presente estudo foi considerada a geração do tegumento das sementes colhidas no campo para caracterizar as gerações avaliadas. Nas plantas  $F_1$  colheram-se sementes em geração  $F_2$  (tegumento em  $F_1$ ), sendo essa geração denominada de  $F_1$ . Nas plantas  $F_2$  foram colhidas as sementes em geração  $F_3$  (tegumento em  $F_2$ ), sendo essa denominada de  $F_2$ .

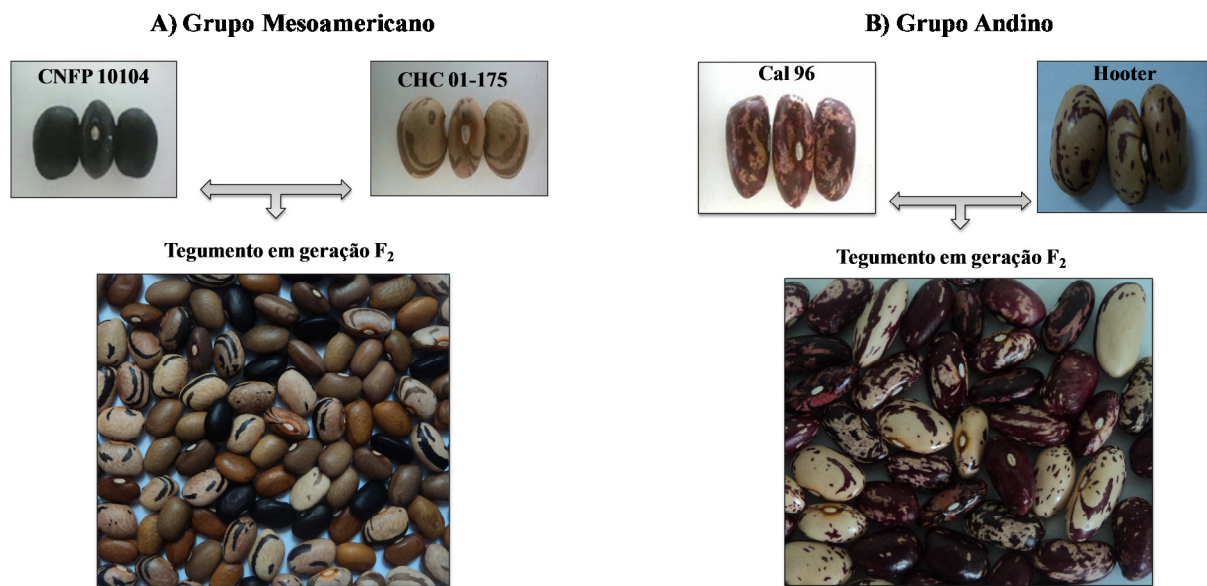
No cruzamento entre CNFP 10104 x CHC 01-175 (safra e safrinha) e entre Cal 96 x Hooter (safrinha) os genitores foram contrastantes para os parâmetros de coloração “L”,  $a^*$  e  $b^*$  (Tabela 2).

**Tabela 2** Número de plantas (NP), valores médios dos parâmetros de coloração “L”, a\* e b\* e respectivo desvio padrão obtidos nos genitores (P<sub>1</sub> e P<sub>2</sub>) e nas gerações de tegumento F<sub>1</sub>, F<sub>1</sub> recíproco, F<sub>2</sub> e F<sub>2</sub> recíproco nos cruzamentos entre as linhagens CNFP 10104 (P<sub>1</sub>) x CHC 01-175 (P<sub>2</sub>) (safra e safrinha) e entre Cal 96 (P<sub>1</sub>) x Hooter (P<sub>2</sub>) (safrinha) e probabilidade pelo teste t para os contrastes P<sub>1</sub> vs P<sub>2</sub>, P<sub>1</sub> vs F<sub>1</sub>, P<sub>2</sub> vs F<sub>1</sub> recíproco, F<sub>1</sub> vs F<sub>1</sub> recíproco e F<sub>2</sub> vs F<sub>2</sub> recíproco. Santa Maria - RS, 2013.

Genitores e Gerações	NP	CNFP 10104 x CHC 01-175 (Safra)			NP	CNFP 10104 x CHC 01-175 (Safrinha)			NP	Cal 96 x Hooter (Safrinha)		
		L	a	b		L	a	b		L	a	b
P <sub>1</sub>	7	19,89±0,17	0,72±0,00	-0,75±0,00	11	16,88±0,04	0,76±0,00	-0,40±0,00	7	26,83±0,13	11,38±0,08	3,25±0,02
P <sub>2</sub>	7	54,15±0,26	6,84±0,20	13,64±0,33	11	53,79±0,29	6,68±0,05	14,75±0,08	7	56,55±0,62	7,70±0,08	11,12±0,17
F <sub>1</sub>	4	17,80±0,05	0,92±0,00	-0,45±0,00	5	16,82±0,01	0,81±0,00	-0,33±0,00	4	29,80±2,98	15,80±1,00	3,57±0,21
F <sub>1</sub> recíproco	4	46,98±0,40	7,45±0,01	12,93±0,20	5	51,06±4,12	7,04±0,26	13,84±0,13	4	54,13±1,84	7,57±0,02	11,04±0,26
F <sub>2</sub>	34	20,03±0,14	0,90±0,00	-0,56±0,00	59	17,14±0,09	0,81±0,00	-0,35±0,00	30	33,02±3,86	14,38±0,41	4,56±0,32
F <sub>2</sub> recíproco	34	34,93±4,11	4,90±0,26	7,93±1,15	59	38,06±4,13	5,11±0,13	9,54±0,71	30	55,25±0,81	8,26±0,03	11,29±0,06
Probabilidade (%)												
P <sub>1</sub> vs P <sub>2</sub>		0,00*	0,00*	0,00*		0,00*	0,00*	0,00*		0,00*	0,00*	0,00*
P <sub>1</sub> vs F <sub>1</sub>		0,55*	0,09*	0,06*		85,16 <sup>ns</sup>	2,08 <sup>†</sup>	10,53 <sup>ns</sup>		5,21 <sup>ns</sup>	0,05*	56,43 <sup>ns</sup>
P <sub>2</sub> vs F <sub>1</sub> recíproco		0,00*	64,39 <sup>ns</sup>	57,71 <sup>ns</sup>		9,46 <sup>ns</sup>	53,38 <sup>ns</sup>	8,25 <sup>ns</sup>		12,54 <sup>ns</sup>	74,65 <sup>ns</sup>	91,15 <sup>ns</sup>
F <sub>1</sub> vs F <sub>1</sub> recíproco		0,00*	0,00*	0,00*		0,00*	0,00*	0,00*		0,01*	0,03*	0,01*
F <sub>2</sub> vs F <sub>2</sub> recíproco		0,00*	0,00*	0,00*		0,00*	0,00*	0,00*		0,00*	0,00*	0,00*

\* Significativo a 5% de probabilidade pelo teste t. <sup>ns</sup>: Não significativo.

A partir cruzamentos CNFP 10104x CHC 01-175 (safra e safrinha) e entre Cal 96 x Hooter (safrinha) foi possível obter sementes com tegumento F<sub>2</sub> com variabilidade genética para a claridade do tegumento (valores de “L” variando do preto ao branco) e com variação nos tons de verde ao vermelho (cromaticidade a\*) e do azul ao amarelo (cromaticidade b\*) no grupo gênico Mesoamericano (Figura 1A) e no Andino (Figura 1B). Isso possibilita a seleção de linhagens de feijão com grande diversidade de cores de sementes, atendendo a demanda do mercado consumidor.



**Figura 1** Segregação para coloração de sementes de feijão com tegumento em geração  $F_2$  obtida a partir do cruzamento entre as linhagens CNFP 10104 x CHC 01-175(A) e entre Cal 96 x Hooter (B). Santa Maria - RS, 2013.

O contraste  $F_1$  x  $F_1$ recíproco foi significativo para os parâmetros de coloração “L”,  $a^*$  e  $b^*$  no cruzamento CNFP 10104 x CHC 01-175 nas duas épocas de cultivo e no cruzamento Cal 96 x Hooter (safrinha) (Tabela 2), caracterizando a expressão de efeito materno. Portanto, a luminosidade e as cromaticidades  $a^*$  e  $b^*$  em sementes de feijão são dependentes do tegumento, que é tecido materno. O efeito materno é um tipo de herança que pode se manifestar por no máximo duas gerações (Ramalho et al. 2012). Efeito materno significativo para a coloração do tegumento das sementes de feijão, avaliada de maneira visual, foi descrita previamente em feijão (Ramalho et al. 2012). Portanto, a geração do tegumento deverá ser considerada na seleção. Neste caso, a seleção somente será eficiente em sementes na geração  $F_3$  (tegumento em  $F_2$ ) quando será observada grande variabilidade genética para a coloração do tegumento. No presente estudo, ampla segregação foi observada para todos os parâmetros de coloração a partir dos cruzamentos realizados (Figura 1A e 1B), o que possibilita a seleção. Em feijão, efeito materno significativo foi descrito previamente para o teor de proteína (Leleji et al. 1972), o tempo de cozimento (Ribeiro et al., 2006), a concentração de ferro (Jost et al. 2009a; Silva et al. 2013) e de cálcio nas sementes (Jost et al. 2009b).

A variância genética foi superior à variância de ambiente para os parâmetros de coloração “L”,  $a^*$  e  $b^*$  no cruzamento CNFP 10104 x CHC 01-175 (safra e safrinha) e Cal 96 x Hooter (safrinha) (Tabela 3). Por isso, foram obtidas estimativas de herdabilidade em sentido amplo de alta magnitude para os valores de luminosidade

( $h^2a$ : 76,66 a 95,07%), cromaticidade  $a^*$  ( $h^2a$ : 73,08 a 89,31%) e cromaticidade  $b^*$  ( $h^2a$ : 88,63 a 92,50%), demonstrando que a coloração do tegumento das sementes de feijão é uma característica altamente herdável.

Embora a coloração do tegumento das sementes de feijão seja resultante da interação entre oito genes independentes entre si que definem uma explicação genética para a diversidade de classes de feijão (McClellan 2002). As influências ambientais que ocorrem entre diferentes anos e épocas de cultivo não provocaram alterações significativas na coloração do tegumento das sementes para o valor de “L”, que se manteve estável para feijões do grupo comercial preto, o que é desejável para essa classe, pois a presença de sementes arroxeadas deprecia o valor comercial do produto (Ribeiro et al. 2004). Assim, a seleção para a coloração do tegumento das sementes pode ser realizada em gerações precoces com grande sucesso (Santos et al.2001). Além disso, para selecionar linhagens de feijão quanto a claridade do tegumento das sementes, apenas duas repetições são suficientes para a identificação de diferenças entre as linhagens (Ribeiro et al. 2008), o que é fundamental, uma vez que o valor da luminosidade das sementes é utilizado em programas de melhoramento de feijão para a seleção de linhagens superiores (Ribeiro et al. 2003).

**Tabela 3** Estimativas de médias, parâmetros genéticos e predição de ganhos com a seleção para a coloração do tegumento de sementes de feijão nos cruzamentos entre as linhagens CNFP 10104 x CHC 01-175 (safra e safrinha) e Cal 96 x Hooter (safrinha). Santa Maria - RS, 2013.

Parâmetros	CNFP 10104 x CHC 01-175 Safra			CNFP 10104 x CHC 01-175 Safrinha			Cal 96 x Hooter Safrinha		
	L	a	b	L	A	b	L	a	b
Média	32,30	3,62	5,46	32,29	3,54	6,18	42,60	10,85	7,47
Variância fenotípica ( $\sigma^2_P$ )	4,81	0,069	0,135	5,23	0,006	0,016	115,87	12,40	9,68
Variância de ambiente ( $\sigma^2_E$ )	1,06	0,007	0,015	1,22	0,002	0,002	5,71	1,712	0,726
Variância genética ( $\sigma^2_G$ )	3,76	0,062	0,120	4,00	0,005	0,014	110,16	10,688	8,954
Herdabilidade ampla ( $h^2_a$ )	78,09	89,31	88,63	76,66	73,08	90,11	95,07	86,19	92,50
Valor mínimo nos genitores	18,49	0,65	-0,83	15,76	0,71	-0,48	25,10	6,79	2,48
Valor máximo nos genitores	56,18	8,00	15,45	56,82	7,93	16,17	59,41	12,21	12,12
Valor mínimo na F <sub>2</sub>	16,88	0,70	-1,43	15,52	0,58	-0,65	25,35	7,08	1,82
Valor máximo na F <sub>2</sub>	51,16	8,82	17,59	60,96	11,01	17,58	62,19	19,58	13,24
Média original na F <sub>2</sub>	27,48	2,90	3,68	27,60	2,96	4,59	44,14	11,32	7,92
SELEÇÃO PARA MENORES VALORES									
Plantas selecionadas na F <sub>2</sub>	40, 18, 3, 6, 30 e 20	12, 5, 7, 29, 48 e 23	37, 36, 26, 5, 23 e 7	8, 4, 14, 57, 7, 59, 30, 13, 60, 3 e 64	43, 15, 1, 2, 9, 36, 59, 3, 5, 8 e 48	49, 29, 26, 13, 43, 25, 50, 21, 8, 14 e 6	3, 1, 15, 30, 17 e 28	43, 45, 59, 4, 36 e 41	13, 14, 15, 16, 19 e 17
Média das plantas selecionadas	17,38	0,71	-1,15	16,04	0,71	-0,52	26,40	7,40	2,36
Diferencial de seleção (DS)	-10,10	-2,19	-4,84	-11,56	-2,25	-5,11	-17,74	-3,92	-5,56
Ganho por seleção ( $\Delta G$ )	-10,01	-2,19	-4,83	-11,50	-2,24	-5,11	-17,22	-3,50	-5,33
Ganho por seleção ( $\Delta G\%$ )	-36,44	-75,45	-131,21	-41,65	-75,92	-111,29	-39,02	-30,92	-67,25
Média predita para o primeiro ciclo após a seleção	17,47	0,71	-1,15	16,10	0,71	-0,52	26,92	7,82	2,59
SELEÇÃO PARA MAIORES VALORES									
Plantas selecionadas na F <sub>2</sub>	61, 65, 56, 62, 67 e 41	63, 65, 52, 68, 56 e 54	66, 65, 68, 56, 52 e 41	118, 88, 103, 100, 85, 115, 87, 116, 105, 102 e 117	108, 90, 106, 111, 105, 63, 80, 95, 98, 94 e 67	118, 105, 103, 108, 88, 100, 115, 85, 116, 87 e 106	34, 58, 47, 24, 4 e 51	29, 26, 9, 10, 28 e 30	34, 42, 58, 27, 51 e 24
Média das plantas selecionadas	48,47	8,21	14,54	57,74	8,69	16,60	61,17	18,75	12,75
Diferencial de seleção (DS)	20,99	5,31	10,86	30,14	5,73	12,01	17,03	7,43	4,82
Ganho por seleção ( $\Delta G$ )	20,82	5,30	10,85	29,98	5,73	12,01	16,53	6,64	4,62
Ganho por seleção ( $\Delta G\%$ )	75,75	182,83	294,62	108,63	193,62	261,34	37,45	58,63	58,31
Média predita para o primeiro ciclo após a seleção	48,30	8,20	14,54	57,58	8,69	16,60	60,67	17,96	12,54

A obtenção de estimativas de herdabilidade para os valores de cromaticidade a\* e b\* é importante em gerações segregantes, pois aumenta a eficiência do processo de seleção de linhagens superiores. A alta herdabilidade obtida para os valores de cromaticidade a\* e b\* sugere que, assim como o valor de “L”, são caracteres pouco influenciados pelo ambiente e que, também, podem ser utilizados como critério de seleção. Considerando um conjunto de sementes que não possua variação quanto à luminosidade das sementes (valor de “L”), os valores de cromaticidade a\* e b\* serão decisivos na seleção da linhagem. Supondo que as várias linhagens apresentem um valor de “L” em torno de 20,00, descrito na literatura como ideal para linhagens do

grupo comercial preto (Ribeiro e Storck 2002), os valores de  $a^*$  e  $b^*$  servirão como referência na escolha da linhagem, pois a intensidade de saturação dos valores de cromaticidades caracteriza uma forte ou fraca tendência à presença de uma segunda coloração, o que não é desejável em sementes de feijão preto.

No caso do grupo carioca, o valor de “L” superior a 55 é desejável (Ribeiro et al. 2008), mas sendo os valores de  $a^*$  e  $b^*$  positivos e expressivos, isso indica uma tendência a cor vermelho amarelado. Assim, uma semente do grupo carioca com uma cor mais escura (valor de  $L < 55$ ), não possui padrão de aceitação comercial e nesse caso os valores de cromaticidade  $a^*$  e  $b^*$  também devem ser considerados na avaliação da coloração de sementes de feijão do grupo carioca. Portanto, os valores de cromaticidade  $a^*$  e  $b^*$ , tornam-se caracteres indispensáveis na avaliação da coloração de sementes de feijão.

No cruzamento CNFP 10104 x CHC 01-175 foi observada uma amplitude de variação para o valor de “L” em sementes com tegumento  $F_2$  no cultivo de safra de 16,88 a 51,16 e de safrinha de 15,52 a 60,96 (Tabela 3), caracterizando ampla variabilidade genética para a claridade das sementes de feijão de origem Mesoamericana (Figura 1A). Considerando que o padrão do valor de “L” desejável pelo consumidor de feijão está entre 20,00 a 22,40 para o grupo preto (Ribeiro e Storck 2002) e superior a 55 para o grupo carioca (Ribeiro et al. 2008), muitas progênies poderão ser selecionadas nesta população com um padrão de tegumento que atenda às exigências de mercado.

O valor de cromaticidade  $a^*$  obtida em sementes com tegumento  $F_2$  no cruzamento CNFP 10104 x CHC 01-175, cultivo de safra, variou de 0,70 a 8,82 e em safrinha, de 0,58 a 11,01, caracterizando diversidade genética para essa característica. Valores de  $a^*$  positivos e mais distantes de zero indicam um vermelho mais intenso, enquanto que valores de  $a^*$  positivos, porém mais próximo a zero, caracterizam um vermelho menos intenso. No cultivo de safrinha, algumas sementes apresentaram uma cromaticidade  $a^*$  com incidência da cor vermelho mais intensa, enquanto que no cultivo de safra, os valores de  $a^*$  foram de menor amplitude.

Para a cromaticidade  $b^*$ , também, ocorreu uma variação nos valores obtidos em sementes  $F_2$  no cruzamento CNFP 10104 x CHC 01-175 no cultivo de safra (-1,43 a 17,59) e no cultivo de safrinha (-0,65 a 17,58). Valores de  $b^*$  negativos expressam a tendência ao azul e os valores positivos representam a cor amarelo. Na safra, as sementes apresentaram uma cromaticidade  $b^*$  de maior amplitude entre o azul ao amarelo quando comparado a safrinha. Portanto, tanto os valores de croma  $a^*$  como o  $b^*$  variaram de acordo com a época de cultivo, tendendo a uma coloração (-) vermelha ao amarelo em safra e a uma coloração (+) vermelha ao amarelo em safrinha (Tabela 3). No cultivo de safra, mais especificamente no estágio fenológico R9 (maturação), período em que as sementes desenvolvem a coloração característica da cultivar (CIAT 1987), houve predomínio de altas

temperaturas máximas, alta umidade relativa do ar e precipitação (Tabela 1). Esses fatores contribuíram para que os valores de cromaticidade  $b^*$  apresentassem maior amplitude de variação no cultivo de safra. Isso porque, as sementes de feijão que são submetidas a estresse climático, como temperaturas e umidade elevadas, podem tornar-se manchadas, perdendo sua cor natural e com aspecto de semente envelhecida, o que reduz significativamente o seu valor comercial (Lima et al. 2013).

Para as linhagens de feijão de sementes pretas é interessante que os valores de cromaticidades  $a^*$  e  $b^*$  fiquem mais próximos a zero, o que indica prevalência do valor de “L”, ocorrendo ausência de cor secundária. Grupos de feijões de diferentes luminosidades (“L”) podem apresentar correlação entre os valores de  $a^*$  e  $b^*$ , onde maiores valores de  $b^*$  podem mascarar os valores de  $a^*$ , indicando que a luminosidade não deve ser o único parâmetro considerado na avaliação da coloração do tegumento de sementes de feijão (Siqueira 2013). Assim, a seleção de sementes em heterozigose para o grupo comercial preto e carioca, mesmo se os valores de “L” forem abaixo de 22,40 (grupo comercial preto) (Ribeiro e Storck 2002) ou acima de 55 (grupo comercial carioca) (Ribeiro et al. 2008) devem ser consideradas ou não em função dos valores obtidos para as cromaticidades.

No cruzamento Cal 96 x Hooter foram obtidas sementes com tegumento  $F_2$  com ampla segregação para a coloração das sementes com cor de fundo variando de vermelho claro a escuro (Figura 1B). Para o valor de “L” os valores oscilaram de 25,35 a 62,19 (Tabela 3). Esses valores foram similares aos observados para feijões de cores, valores de “L” de 24,51 a 43,69 para sementes de tegumento vermelho e de “L” de 33,06 a 62,57 para linhagens de grãos rajados, como Cal 96 e Hooter (Ribeiro et al. 2014). Portanto, para o valor de “L” considera-se que a diversidade é um fator desejável.

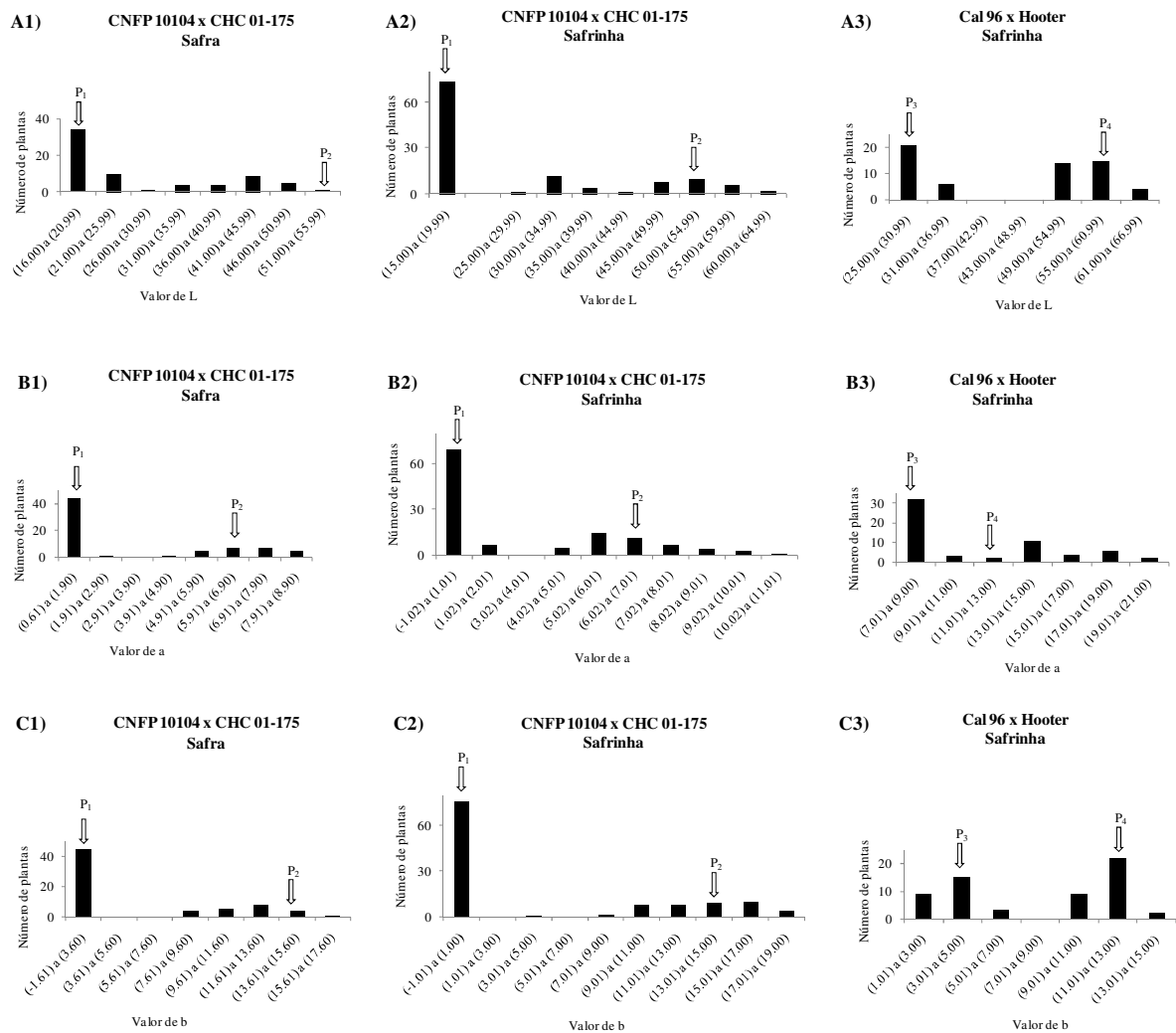
O valor de cromaticidade  $a^*$  variou de 7,08 a 19,58 e de cromaticidade  $b^*$  de 1,82 a 13,24 no cruzamento Cal 96 x Hooter, caracterizando sementes mais vermelhas e mais amarelas. A variabilidade na coloração de sementes de feijão é determinada pelas interações entre os genes, o que muitas vezes acaba dificultando o entendimento genético do tipo de herança (Bassett 1994; Porch 2010).

Varição descontínua foi observada em sementes com tegumento  $F_2$  para os parâmetros de coloração “L” (Figuras 2.A1, 2.A2 e 2.A3),  $a^*$  (Figuras 2.B1, 2.B2 e 2.B3) e  $b^*$  (Figuras 2.C1, 2.C2 e 2.C3), o que indica que poucos genes controlam a claridade e o croma  $a^*$  e  $b^*$  do tegumento das sementes de feijão. Herança monogênica para a coloração do tegumento das sementes e para a presença de listra no tegumento foi descrita previamente em feijão (Baldoni et al. 2002). Nesse caso, o ambiente exerce pouco efeito na expressão dos valores de luminosidade e também sobre acromaticidade  $a^*$  e  $b^*$ . Para o grupo Mesoamericano, safra e safrinha,

o valor de “L” concentrou-se entre 16,00 a 20,99 (Figuras 2.A1 e 2.A2), de  $a^*$  entre -1,02 a 1,90 (Figuras 2.B1 e 2.B2) e de  $b^*$  entre -1,61 a 3,60 (Figuras 2.C1 e 2.C2), indicando o predomínio de sementes de coloração preta com pouca influência de cores secundárias. Portanto, a seleção para os parâmetros de coloração determinados no tegumento das sementes de feijão em geração precoce será eficiente para a seleção de linhagens de feijão dos grupos preto e carioca que atendam as diferentes exigências comerciais.

Para o grupo Andino, houve uma divisão entre as classes, com o valor de “L” predominando entre 25,00 a 30,99 e entre 49,00 a 60,99 (Figura 2.A3), para a cromaticidade  $a^*$  os valores ficaram entre 7,01 a 9,00 e de 13,00 a 15,00 (Figura 2.B3) e para o valor de  $b^*$  entre 3,01 a 5,00 e entre 11,01 a 13,00 (Figura 2.C3), indicando a presença de sementes com amplitude de luminosidade e de cromaticidade  $a^*$   $b^*$  o que configura grande diversidade na coloração das sementes de feijão. A variabilidade na coloração de sementes de feijão é uma característica fundamental, uma vez que sementes de feijão de diferentes cores apresentam demanda e também alto valor comercial (Thung et al. 2008).





**Figura 2** Distribuição de frequência para os parâmetros de coloração “L”, determinadas em sementes de feijão (tegumento em geração F<sub>2</sub>) para o cruzamento CNFP 10104 x CHC 01-175 em cultivo de safra (A1) e de safrinha (A2) e para o cruzamento Cal 96 x Hooter em cultivo de safrinha (A3); cromaticidade a\* determinada em sementes de feijão (tegumento em geração F<sub>2</sub>) para o cruzamento CNFP 10104 x CHC 01-175 em cultivo de safra (B1) e de safrinha (B2) e para o cruzamento Cal 96 x Hooter em cultivo de safrinha (B3); e cromaticidade b\* determinada em sementes de feijão (tegumento em geração F<sub>2</sub>) para o cruzamento CNFP 10104 x CHC 01-175 em cultivo de safra (C1) e de safrinha (C2) e para o cruzamento Cal 96 x Hooter em cultivo de safrinha (C3).

\* As setas referem-se aos genitores: P<sub>1</sub>: CNFP 10104; P<sub>2</sub>: CHC 01-175; P<sub>3</sub>: Cal 96; P<sub>4</sub>: Hooter.

Em relação aos ganhos com a seleção, para as três variáveis analisadas (“L”, a\* e b\*) considerou-se a seleção para os menores e maiores valores, visando a seleção de plantas com sementes de feijão do grupo comercial preto e também do carioca, caso do grupo Mesoamericano, e com maior diversidade de coloração no caso do grupo Andino.

No cruzamento entre as linhagens Mesoamericanas, CNFP 10104 x CHC 01-175, tanto em cultivo de safra como de safrinha há chances de se obter linhagens com padrão de tegumento que atenda o mercado consumidor. Para esse cruzamento, podem ser esperados ganhos com a seleção para os menores valores (grupo comercial preto) de “L”= -41,65% a -36,44%,  $a^*$  = -75,92% a -75,45% e  $b^*$  = -131,21% a -111,29%. Já, para o grupo de cor (tipo carioca), os ganhos com a seleção considerados foram aqueles referentes aos maiores valores, com valor de “L” = 75,75% a 108,63%,  $a^*$  = 182,83% a 193,62% e  $b^*$  = 261,34% a 294,62% (Tabela 3).

Para o cruzamento entre as cultivares Andinas, Cal 96 x Hooter, os ganhos com a seleção para os menores valores foram de “L”= -39,02%,  $a^*$  = -30,92% e  $b^*$  = -67,25%, as sementes apresentaram fundo vermelho escuro com listras cor creme. Os ganhos com a seleção para os maiores valores foram de “L” = 37,45%,  $a^*$  = 58,63% e  $b^*$  = 58,31% com sementes de fundo de creme com listras de cor vermelha (Tabela 3). Para a população Andina os ganhos foram menos expressivos quando comparado ao grupo Mesoamericano, no entanto é importante destacar que o grupo Mesoamericano e o Andino pertencem a classes de cores bem divergentes e, portanto ambos os grupos possibilitaram a seleção de plantas com sementes de coloração que atendam às expectativas de mercado.

## 2.4 Conclusões

Os parâmetros de coloração “L”,  $a^*$  e  $b^*$  apresentam efeito materno significativo para sementes de feijão do grupo gênico Mesoamericano e Andino.

Em geração precoce, a herdabilidade em sentido amplo é de alta magnitude para os parâmetros de coloração “L”,  $a^*$  e  $b^*$  em sementes de feijão do grupo gênico Mesoamericano e Andino.

Ganhos expressivos com a seleção para o cruzamento CNFP 10104 x CHC 01-175 em safra e safrinha e Cal 96 x Hooter em safrinha são esperados.

A seleção de sementes em geração  $F_3$  (tegumento em  $F_2$ ) obtidas no cruzamento CNFP 10104 x CHC 01-175e Cal 96 x Hooter a partir dos parâmetros de coloração “L”,  $a^*$  e  $b^*$  é promissora para a obtenção de linhagens de feijão com coloração de sementes de maior aceitação comercial.

## 2.5 Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro e bolsa concedida. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelas bolsas concedidas.

## 2.6 Referências

- Baldoni AB, Teixeira FF, Santos JB dos (2002) Controle genético de alguns caracteres relacionados à cor da semente de feijão no cruzamento Rosinha X Esal 693. *Acta Sci Agron* 24:1427-1431
- Bassett MJ (1994) The *griseoalbus* (gray-white) seed coat color is controlled by an allele ( $p^{gr}$ ) at the P locus in common bean. *Hort Sci* 29:1178-1179
- Bassinello PZ, Cobucci RMA, Ulhôa VG, Melo LC, DEL PELOSO MJ (2003) Aceitabilidade de três cultivares de feijoeiro comum. Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, Comunicado técnico 66
- Bernardo LM (2010) História da luz e das cores, 2th edn. Universidade do Porto, Porto, p101
- Borém A (2005) Melhoramento de espécies cultivadas. UFV, Viçosa pp 301-391
- Cargnelutti Filho A, Ribeiro DF, Jost E (2006) Número necessário de experimentos para a comparação de cultivares de feijão. *Cienc Rural* 36:1701-1709. doi: 10.1590/S0103-84782006000600006
- Centro Internacional de Agricultura Tropical – CIAT (1987) Standart system for the evaluation of bean germoplasm. CIAT, Cali p54
- Comissão Técnica Sul Brasileira De Feijão - CTSBF (2012) Informações técnicas para o cultivo de feijão na Região Sul brasileira. Epagri, Florianópolis p14
- Cruz CD (2006) Programa Genes: biometria. Imprensa Universitária UFV, Viçosa
- Flipse R (2014) Dry Bean Consumption in the U.S. The Bean Institute. <http://beaninstitute.com/dry-bean-consumption-in-the-us>. Acesso 20 janeiro 2013
- Jost E, Ribeiro ND, Cerutti T, Poersch NL, Mazieiro SM (2009a) Potencial de aumento do teor de ferro em grãos de feijão por melhoramento genético. *Bragantia* 68:35-42. doi:10.1590/S0006-87052009000100005
- Jost E, Ribeiro ND, Mazieiro SM, Cerutti T, Rosa DP (2009b) Efeitos gênicos do teor de cálcio em grãos de feijão. *Cienc Rural* 39:31-37. doi:10.1590/S0103-84782008005000055
- Leleji OI, Dickson MH, Crowder LV, Bourke JB (1972) Inheritance of crude protein percentage and its correlation with seed yield in beans, *Phaseolus vulgaris* L. *Crop Sci* 12:168-171. doi:10.2135/cropsci1972.0011183X001200020004x
- Lima LK, Ramalho MAP, Abreu AFB (2013) Selection of common bean inbred lines with tolerance to high moisture at harvest. *Ciênc Agrotec* 37:152-158. doi: 10.1590/S1413-70542013000200006
- McClellan PE, Lee RK, Otto C, Gepts P, Bassett MJ (2002) Molecular and phenotypic mapping of genes controlling seed coat pattern and color in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *J Hered* 93:148-152. doi:10.1093/jhered/93.2.148

- Moh Cc (1971) Mutation breeding in seed-coat colors of beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Euphytica*20:119-125
- Peternelli LA, Borém A, Carneiro JES (2009) Hibridação em Feijão. In: BORÉM, A. Hibridação artificial de plantas, 2th edn. UFV, Viçosa, pp 320-348.
- Porch TG (2010) List of genes - *Phaseolus vulgaris* L. *Annu Rep Bean Improve Coop* 53:1-27
- Ramalho MAP, Santos JB, Pinto CABP, Souza EA, Golçalves FMA, Souza JC (2012) Genética na agropecuária, 5th edn. UFLA, Lavras, p 565
- Ribeiro ND, Domingues LS, Gruhn EM, Zemolin AEM, Rodrigues JA (2014) Desempenho agrônomico e qualidade de cozimento de linhagens de feijão do grupo especiais. *Cien Agron* 45:92-100. DOI: 10.1590/S1806-66902014000100012.
- Ribeiro ND, Jost E, Cargnelutti Filho A (2004) Efeitos da interação genótipo x ambiente no ciclo e na coloração do tegumento dos grãos do feijoeiro comum. *Bragantia* 63:373-380. doi: 10.1590/S0006-87052004000300007
- Ribeiro ND, Possebon SB, Storck L (2003) Progresso genético em caracteres agrônomicos no melhoramento do feijoeiro. *Cien Rural* 33:629-633. doi:10.1590/S0103-84782003000400006
- Ribeiro ND, Storck L (2002) Escolha de genitores de feijoeiro por meio da dissimilaridade genética. *Rev Bras Agrocienc* 8:89-95
- Ribeiro ND, Storck L, Poersch NL (2008) Classificação de lotes comerciais de feijão por meio da claridade do tegumento dos grãos. *Cienc Rural* 38:2042-2045. doi: 10.1590/S0103-84782008000700039
- Ribeiro SRRP, Ramalho MAP, Abreu AFB (2006) Maternal effect associated to cooking quality of common bean. *Crop Breed Appl Biotechnol* 6:304-310
- Santos VS, Ramalho MAP, Carneiro JES, Abreu AFB (2001) Consequences of early selection for grain type in common bean breeding. *Crop Breed Appl Biotechnol*1:347-354. doi: <http://dx.doi.org/10.13082/1984-7033.v01n04a03>
- Silva CA, Abreu AFB, Ramalho MAP (2013) Genetic control of zinc and iron concentration in common bean seeds. *Afr J Agricult Res* 8:1001-1008. doi: 10.5897/AJAR12.2172
- Silva HT, Costa AO (2003) Caracterização botânica de espécies silvestres do gênero *Phaseolus* L. (Leguminosae). *Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás*, p 19
- Singh SP, Gepts P, Debouch DG (1991) Races of common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae). *Econ Bot* 45:379-396

- Siqueira BS (2013) Desenvolvimento dos fenômenos de escurecimento e endurecimento em feijão carioca: aspectos bioquímicos e tecnológicos. Dissertação, Universidade Federal de Goiás
- Thung M, Aidar H, Soares DM, Kluthcouski J (2008) Qualidade de grãos de feijão para exportação. IAC, Campinas, Comunicado técnico 85
- Uebersax MA (2006) Dry edible beans: indigenous staple and healthy cuisine. Trends Food Sci Technol 14: 507

## 3 ARTIGO 2

### Controle genético da concentração de ferro em sementes de feijão

#### Mesoamericano e Andino

### Genetic control of iron concentration in Middle American and

#### Andean bean common bean seeds

#### Resumo

Os objetivos deste trabalho foram verificar a ocorrência de efeito materno e a distribuição de ferro em diferentes frações das sementes, obter estimativas de herdabilidade, heterose, ganho com a seleção e selecionar recombinantes com alta concentração de ferro nas sementes de feijão de diferentes grupos gênicos. Para tanto, realizaram-se cruzamentos entre as linhagens Mesoamericanas CNFP 10104 e CHC 01-175 e entre as linhagens Andinas Cal 96 e Hooter para a obtenção das gerações  $F_1$ ,  $F_1$  recíproco,  $F_2$ ,  $F_2$  recíproco e retrocruzamentos ( $RC_{11}$  e  $RC_{12}$ ). Os genitores e as gerações obtidas foram avaliados em dois experimentos a campo (safra e safrinha) em Santa Maria - RS. Efeito materno significativo foi observado somente para o grupo Mesoamericano. A distribuição de ferro na semente se concentrou no tegumento das linhagens Mesoamericanas e no embrião das linhagens Andinas. Estimativas de herdabilidade em sentido restrito de 54,69% (safrinha) e em sentido amplo de 70,20% (safra) para o cruzamento CNFP 10104 x CHC 01-175 e em sentido amplo de 62,27% para o cruzamento Cal 96 x Hooter (safrinha) foram observadas. Uma planta  $F_2$  com 132,99 mg kg<sup>-1</sup> de matéria seca foi obtida a partir do cruzamento CNFP 10104 x CHC 01-175. A seleção de sementes em geração  $F_3$  a partir dos cruzamentos realizados é promissora para a obtenção de linhagens de feijão com maior concentração de ferro nas sementes.

Termos para indexação: *Phaseolus vulgaris* L., efeito materno, acúmulo de ferro, herdabilidade e ganho com a seleção.

## Abstract

The objectives of this study were to verify the occurrence of maternal effect and the distribution of iron in different fractions of the seeds, and to estimate heritability, heterosis, gains with the selection and to select recombinants with high iron concentration of common bean seeds from different gene pool. To do this, crosses were performed between Middle American lines CNFP 10104 and CHC 01-175 and between Andean lines Cal 96 and Hooter to obtain the generations  $F_1$ ,  $F_1$  reciprocal,  $F_2$ ,  $F_2$  reciprocal and backcrosses ( $BC_{11}$  and  $BC_{12}$ ). The parents and generations obtained were evaluated in two field experiments (normal rainy and dry season) in Santa Maria - RS. Significant maternal effect was obtained only for the Middle American gene pool. The accumulation of iron was higher in seed coat of Middle American lines and, superior in embryo of Andean lines. High narrow sense heritability estimates of 54.69% (dry season) and in broad sense 70.20% (normal rainy) in the crossing CNFP 10104 x CHC 01-175 and of 62.27% in broad sense to the crossing Cal 96 x Hooter (normal rainy) were observed. A  $F_2$  plant with iron concentration of  $132.99 \text{ mg kg}^{-1}$  of dry matter was obtained from the crossing CNFP 10104 x CHC 01-175. The selection of  $F_3$  seeds from the crossing performed is promising to obtain common bean lines with higher iron concentration in common bean seeds.

Index terms: *Phaseolus vulgaris* L., maternal effect, iron accumulation, heritability and gain with the selection.

### 3.1 Introdução

A concentração de ferro nas sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) apresenta variabilidade genética (Talukder et al., 2010; Akond et al., 2011; Silva et al., 2013). No Brasil, os valores de ferro observados em sementes de cultivares de feijão desenvolvidas pela pesquisa variaram de 71,37 a 126,90  $\text{mg kg}^{-1}$  de matéria seca - MS (Mesquita et al., 2007). Também, tem sido constatadas diferenças na concentração de ferro em sementes de feijão de diferentes grupos gênicos. Sementes de linhagens de feijão de origem Mesoamericana apresentaram concentração de ferro variando de 65,00 a 108,00  $\text{mg kg}^{-1}$  de MS (Ribeiro et al., 2013). Já, em sementes de linhagens de feijão de origem Andina, a amplitude foi menor e os

valores de concentração de ferro foram mais baixos, de 45,80 a 89,50 mg kg<sup>-1</sup> (Blair et al., 2010). A existência de variabilidade genética possibilita o desenvolvimento de novas cultivares de feijão com maior concentração de ferro nas sementes. O uso de hibridações controladas entre cultivares de feijão de origem Mesoamericana com diferenças na concentração de ferro nas sementes possibilitou um incremento de 94% na concentração deste mineral em geração F<sub>2</sub> (Jost et al., 2009).

A concentração de ferro nas sementes de feijão varia, também, com o ambiente e com a interação genótipo x ambiente (Araújo et al., 2003; Tryphone & Nchimbi-Msolla, 2010; Silva et al., 2012; Ribeiro et al., 2013). As condições do solo e a disponibilidade de água afetam o acúmulo de ferro nas sementes. As plantas de feijão cultivadas em solos ácidos apresentaram 25% a mais de ferro nas sementes do que as plantas cultivadas em solos alcalinos (Moraghan et al., 2002). O estresse hídrico em plantas de feijão também foi relacionado ao aumento da concentração de ferro nas sementes (Silva et al., 2012). Por isso, a avaliação de plantas em diferentes épocas e/ou locais torna-se necessário para se aumentar as chances de selecionar linhagens de feijão com maior concentração de ferro nas sementes.

A semente de feijão é composta pelo tegumento, que representa 9,9% da matéria seca, e pelo embrião (cotilédones e eixo embrionário) com 90,1% (Moraghan et al., 2006). Em cultivares de feijão Mesoamericano avaliadas em dois anos agrícolas, foi constatada ampla variação para a concentração de ferro acumulado no tegumento das sementes, com amplitude de 47,8 (Macanudo) a 83,2% (Rio Tibagi) (Ribeiro et al., 2012). Quando o maior acúmulo de ferro é verificado no tegumento da semente caracteriza-se a presença de efeito materno, como foi constatado em sementes de feijão do grupo gênico Mesoamericano por JOST et al. (2009). Isso traz consequências diretas para a seleção, pois sendo a concentração de ferro em sementes de feijão dependente do tegumento, a segregação será observada apenas em sementes em geração F<sub>3</sub> (tegumento em F<sub>2</sub>).



Em um estudo genético deve ser considerada a variabilidade genética encontrada na população, a divergência entre os genitores para a característica em estudo e a uniformidade do ambiente para que a obtenção das estimativas de herdabilidade seja confiável (Ramalho et al., 2012a). Altas estimativas de herdabilidade em sentido restrito são desejáveis devido à maior contribuição da variância genética aditiva na expressão de um caráter (Cruz, 2005). Em um trabalho com cultivares de feijão do grupo gênico Mesoamericano, foram obtidas estimativas de herdabilidade em sentido amplo de alta magnitude ( $h^2_a$ : 76,36%) e em sentido restrito de média ( $h^2_r$ : 50,60%) a alta magnitude ( $h^2_r$ : 98,93%), com predominância de efeitos gênicos aditivos para a concentração de ferro em geração precoce (Jost et al., 2009). Esse resultado indica facilidades no processo de seleção, sendo o caráter fixado em gerações precoces, reduzindo o tempo e os gastos com recursos para a obtenção de linhagens com maior concentração de ferro.

A concentração de ferro em sementes de feijão em gerações precoces e avançadas apresentou distribuição contínua (Guzmán-Maldonado et al., 2003; Cichy et al., 2009; Blair et al., 2010), indicando herança quantitativa no controle deste caráter. Neste caso, são esperadas dificuldades para a seleção de plantas de feijão com maior concentração de ferro nas sementes devido à maior expressão do efeito do ambiente.

Estudos sobre o controle genético da concentração de ferro em sementes de feijão de origem Andina não foram encontrados na literatura. Portanto, há dúvidas se a distribuição de ferro no embrião e no tegumento é semelhante para o germoplasma Mesamericano e o Andino e se o padrão de herança, incluindo algum possível efeito materno, é similar para sementes de diferentes grupos gênicos. Dessa forma, os objetivos desse trabalho foram verificar a ocorrência de efeito materno para a concentração de ferro em sementes de feijão de diferentes grupos gênicos; investigar a distribuição do ferro em diferentes frações das sementes de feijão de origem Mesoamericana e Andina; obter estimativas de herdabilidade, de heterose e de

ganho com a seleção para a concentração de ferro em sementes de feijão de diferentes grupos gênicos; e selecionar recombinantes com alta concentração de ferro nas sementes de feijão.

### 3.2 Material e métodos

O padrão de herança da concentração de ferro em sementes de feijão de diferentes grupos gênicos, incluindo algum possível efeito materno, foi estudado em híbridos obtidos a partir de cruzamentos realizados entre as linhagens Mesoamericanas CNFP 10104 x CHC 01-175 e as Andinas Cal 96 x Hooter provenientes do Banco de Germoplasma da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Esses genitores foram selecionados previamente com base no padrão de tegumento e na concentração de ferro nas sementes. A linhagem CNFP 10104 possui sementes de tegumento preto e baixa concentração de ferro ( $71,7 \text{ mg kg}^{-1}$  de matéria seca - MS) e a CHC 01-175 tem sementes do tipo carioca (tegumento bege com estrias marrons) e alta concentração de ferro ( $105,80 \text{ mg kg}^{-1}$  de MS) (Ribeiro et al., 2013). A Cal 96 apresenta sementes de tegumento vermelho escuro com rajas creme e baixa concentração de ferro ( $83,30 \text{ mg kg}^{-1}$  de MS) e a Hooter possui sementes de tegumento creme com rajas vermelho médio e alta concentração de ferro ( $159,00 \text{ mg kg}^{-1}$  de MS) (Ribeiro et al., 2014).

Os blocos de cruzamentos foram instalados em casa-de-vegetação, no Departamento de Fitotecnia da UFSM, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil (latitude  $29^{\circ}42'$  S, longitude  $53^{\circ}49'$  W e altitude de 95 m). O cultivo foi realizado em vasos plásticos de 8 L, preenchidos com uma mistura de solo Argissolo Bruno-Acinzentado alítico típico, substrato comercial Macplant e casca de arroz carbonizada, na proporção volumétrica 3:2:1. A correção da fertilidade do solo e a adubação foram realizadas de acordo com a análise química do solo.

A semeadura dos genitores foi realizada em diferentes datas, de 29/02 a 09/03/2012, possibilitando a extensão do período de floração das plantas e a realização de maior número de cruzamentos. Em cada vaso foram mantidas duas plantas. No período de verão-outono de

2012 foram obtidas as sementes  $F_1$  ( $\text{♀ } P_1 \times \text{♂ } P_2$ ) e  $F_1$  recíproco ( $\text{♀ } P_2 \times \text{♂ } P_1$ ) para as duas combinações híbridas. Essas sementes foram colhidas na maturação e secas em estufa (65 a 70 °C) (Odontobras 1.5, Odontobras, Ribeirão Preto, SP, Brasil) até 13% de umidade média. Os híbridos obtidos e os genitores foram semeados no período de inverno-primavera de 2012 para a obtenção das sementes  $F_2$  (autofecundação natural das plantas  $F_1$ ),  $F_2$  recíproco (autofecundação natural das plantas  $F_1$  recíproco) e para a obtenção das gerações de retrocruzamento 1 ( $RC_{11}$ :  $\text{♀ } F_1 \times \text{♂ } P_1$ ) e retrocruzamento 2 ( $RC_{12}$ :  $\text{♀ } F_1 \times \text{♂ } P_2$ ). Híbridos  $F_1$  e  $F_1$  recíproco foram obtidos simultaneamente para aumentar o número total de sementes, devido a problemas de incompatibilidade genética que foram observados no cruzamento entre as linhagens de origem Andina. Todos os cruzamentos foram realizados com emasculação prévia do botão floral, empregando-se o método de entrelaçamento descrito em Peternelli et al. (2009).

Na casa-de-vegetação foram realizadas irrigações diárias para suprir a demanda hídrica das plantas e o controle de pragas e de doenças foi efetuado sempre que necessário para manter a integridade dos botões florais. Na maturação, as vagens obtidas foram colhidas, debulhadas manualmente e as sementes foram secas em estufa (65 a 70°C) até 13% de umidade média.

Dois experimentos de campo foram instalados com as sementes das diferentes gerações obtidas ( $F_1$ ,  $F_1$  recíproco,  $F_2$ ,  $F_2$  recíproco,  $RC_{11}$  e  $RC_{12}$ ), para cada combinação híbrida, e os genitores (CNFP 10104, CHC 01-175, Cal 96 e Hooter). A semeadura foi realizada em 09/11/2012 (cultivo de safra) e em 06/03/2013 (cultivo de safrinha) em área experimental do Programa de Melhoramento de Feijão do Departamento de Fitotecnia da UFSM. As principais diferenças observadas entre as épocas de cultivo foram relativas à média das temperaturas mínimas e máximas, à quantidade e à distribuição da precipitação e a umidade relativa (Tabela 1).

**Tabela 1.** Dados meteorológicos coletados no 8º Distrito de Meteorologia, na Estação Meteorológica de Santa Maria, instalada na Universidade Federal de Santa Maria (latitude 29°42' S, longitude 53°49' W e 95 m altitude), Estado do Rio Grande do Sul, Brasil.

Variável	----Safrá 2012----				----Safrinha 2013----			
	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun
Temperatura mínima (°C)	17,5	19,9	18,2	19,1	16,4	14,4	11,0	9,5
Temperatura máxima (°C)	30,4	31,1	30,3	29,9	26,6	26,4	21,4	18,9
Precipitação (mm)	72,8	293,0	145,3	97,7	188,6	147,4	71,6	81,6
Umidade relativa (%)	70,5	77,8	75,8	80,9	83,8	83,5	87,2	89,7

Os dois cultivos foram realizados em área de solo homogênea quanto às propriedades físicas e químicas do solo. O solo é classificado como um Argissolo Bruno-Acinzentado alítico típico (Santos et al., 2006) e apresentou a seguinte composição química no momento da instalação dos experimentos: pH (H<sub>2</sub>O) de 6,1; 50 g kg<sup>-1</sup> de matéria orgânica; 13,5 mg dm<sup>3</sup> de fósforo; 60 mg dm<sup>-3</sup> de potássio; 6,0 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> de cálcio e 2,9 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup> de magnésio. O solo foi preparado de maneira convencional e a correção da fertilidade foi realizada de acordo com a análise química do solo. A adubação utilizada em ambos os experimentos foi 250 kg ha<sup>-1</sup> da fórmula 5-30-20 (uréia: 45% de nitrogênio, superfosfato: 18% de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e cloreto de potássio: 60% de K<sub>2</sub>O) na semeadura e 20 kg ha<sup>-1</sup> de uréia (45% de nitrogênio) no estágio de primeira folha trifoliolada (Fernández et al., 1986). Micronutrientes não foram aplicados no solo e nem via foliar.

A unidade experimental foi constituída de uma linha de 1 metro de comprimento, com espaçamento entre linhas de 0,5 m nos dois experimentos. Entretanto, como as gerações obtidas apresentaram diferenças quanto à variabilidade genética usaram-se diferentes números de linhas e densidades de semeadura. Para os genitores foi usada uma linha de 1 m e a densidade de semeadura recomendada para a cultura (CTSBF, 2012), ou seja, 15 sementes/metro linear. Para as gerações F<sub>1</sub>, F<sub>1</sub> recíproco, RC<sub>11</sub> e RC<sub>12</sub>, também, foram usadas uma linha de 1 m, mas a densidade de semeadura foi de 10 sementes/metro linear. Já, as gerações F<sub>2</sub> e F<sub>2</sub> recíproco, que apresentavam maior variabilidade genética, foram constituídas

por 15 linhas de 1 m, com densidade de 8 sementes/metro linear. No experimento de safrinha 2013, não foi possível avaliar as gerações de retrocruzamentos (RC<sub>11</sub> e RC<sub>12</sub>) devido ao número reduzido de sementes obtidas destas gerações, consequência da baixa eficiência nos cruzamentos.

O manejo a campo foi semelhante e uniforme nas duas épocas de cultivo. A irrigação foi realizada de maneira manual com auxílio de um regador, antes da constatação de déficit hídrico, ou seja, antes que a taxa de evapotranspiração fosse superior a taxa de absorção. Foi considerada uma irrigação média de 3 mm dia<sup>-1</sup> na fase vegetativa e de 5 mm dia<sup>-1</sup> por planta (CTSBF, 2012), o que equivale a 350 a 400 mm de precipitação, conforme a duração do ciclo da cultura. O controle de plantas invasoras foi efetuado por capinas manuais e os insetos foram eliminados com uso do inseticida Engeo™ Pleno (Tiametoxam + Lambda-cialotrina), na dose de 125 ml ha<sup>-1</sup>, sempre que a infestação de insetos atingiu aproximadamente 5% de dano. O controle de doenças não foi realizado.

As plantas foram colhidas individualmente na maturação e a debulha das sementes foi realizada manualmente. Máquinas e equipamentos agrícolas não foram utilizados na colheita e no beneficiamento das sementes para evitar a contaminação das amostras por metais pesados. Após a remoção manual das impurezas e das sementes quebradas, as sementes obtidas foram secas em estufa (65 a 70°C) até umidade média de 13%.

Amostras de seis sementes de cada planta dos genitores CNFP 10104 e CHC 01-175 e dos híbridos obtidos neste cruzamento e de três sementes dos genitores Cal 96 e Hooter e dos respectivos híbridos, foram moídas em moinho analítico (Q298A21, Quimis, Diadema, SP, Brasil) até a obtenção de partículas inferiores a 1 mm. Um número diferente de sementes foi utilizado porque as linhagens Andinas apresentam sementes de tamanho maior, sendo necessária uma quantidade de sementes inferior para se obter uma mesma massa de sementes.

Em seguida, uma amostra aleatória de 0,5 g da farinha de feijão cru obtida foi digerida com 5 ml de solução nítrica-perclórica ( $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$ ) na proporção volumétrica de 3:1. Após 12 horas de digestão a frio, a temperatura do bloco digestor (CPM 25, Marconi, Piracicaba, SP, Brasil) foi elevada, gradativamente, a cada 30 minutos em  $30^\circ\text{C}$ , até atingir  $180^\circ\text{C}$ . Ao final da digestão, quando a amostra apresentava 1 ml da solução com coloração transparente foi realizada a diluição, acrescentando-se 50 ml de água destilada, de acordo com a metodologia descrita por Miyazawa et al. (1999). A determinação da concentração de ferro foi realizada, baseada na média de três leituras, em espectrofotômetro de absorção atômica (Xplor AA, GBC Scientific Equipment Pty. Ltd., Braeside, Austrália) utilizando comprimento de onda de 248,3 nm.

Para testar a hipótese de efeito materno, efetuou-se a comparação entre as médias pelo teste t, bilateral, a 5% de significância para os contrastes  $P_1$  vs  $P_2$ ,  $P_1$  vs  $F_1$ ,  $P_2$  vs  $F_1$  recíproco,  $F_1$  vs  $F_1$  recíproco e  $F_2$  vs  $F_2$  recíproco, para cada combinação híbrida e em cada época de cultivo. A distribuição do ferro nas frações embrião e tegumento das sementes foram determinadas nos genitores para confirmar a hipótese de efeito materno. Para tanto, 25 sementes das linhagens Mesoamericanas CNFP 10104 e CHC 01-175 (cultivos de safra e de safrinha) e 15 sementes das linhagens Andinas Cal 96 e Hooter (cultivo de safrinha) foram coletadas ao acaso em três sub-amostras de sementes. Como as linhagens Mesoamericanas e as Andinas apresentam diferenças quanto à massa de 100 sementes, foi necessário usar um número de sementes variável entre os grupos para se obter a mesma quantidade de farinha de feijão de cada amostra.

As amostras de sementes foram colocadas entre duas folhas de papel toalha, que foram umedecidas com 30 mL de água destilada. As folhas de papel toalha foram cobertas por saco plástico, a fim de reter a umidade, e permaneceram sobre uma mesa por 30 horas em temperatura ambiente ( $18^\circ \pm 2^\circ\text{C}$ ). Após, foi realizada a remoção do tegumento das sementes

de forma manual, resultando em duas frações: embrião e tegumento. As amostras das diferentes frações foram secas separadamente em estufa (65 a 70°C) até 13% de umidade média e em seguida foram moídas. Na sequência, as amostras foram pesadas para se obter a massa seca total de cada fração das sementes. Posteriormente, 0,5 g de cada fração das sementes foram digeridas em solução nítrica-perclórica, de acordo com a metodologia descrita por Miyazawa et al. (1999). A concentração de ferro presente no embrião e no tegumento foi determinada por leitura em espectrofotômetro de absorção atômica.

Para verificar a distribuição do ferro nas diferentes frações da semente de feijão foi realizado o teste t a 5% de significância para o contraste embrião vs tegumento para cada época de cultivo. Os valores de concentração de ferro contida no embrião e no tegumento foram transformados para mg %, isso porque o embrião e o tegumento representam percentagens diferentes do total de massa seca da semente.

Os parâmetros genéticos foram obtidos com as variâncias dos genitores ( $P_1$  e  $P_2$ ) e das gerações  $F_1$ ,  $F_2$ ,  $RC_{11}$  e  $RC_{12}$ . A herdabilidade em sentido amplo foi estimada pela expressão:

$$h_a^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_P^2} \text{ em que: } \sigma_g^2 = \sigma_P^2 - \sigma_E^2; \text{ variância fenotípica: } \sigma_P^2 = \sigma^2 F_2 \text{ e variância de ambiente em}$$

$F_2$ :  $\sigma_E^2 = 1/3(\sigma^2 F_1 + \sigma^2 P_1 + \sigma^2 P_2)$ . A herdabilidade em sentido restrito foi estimada pela

$$\text{expressão: } h_r^2 = \frac{\sigma_A^2}{\sigma_P^2}, \text{ de acordo com o método dos retrocruzamentos proposto por Warner}$$

(1952), em que:  $\sigma_A^2$  refere-se à variância aditiva, dada por:  $\sigma_A^2 = 2\sigma^2 F_2 - (\sigma^2 RCP_{11} +$

$\sigma^2 RCP_{12})$  e variância fenotípica:  $\sigma_P^2 = \sigma^2 F_2$ . A heterose na geração  $F_1$  foi quantificada pela

forma percentual, para a média dos genitores ( $H\% = \frac{F_1 - P}{P} \times 100$ ) e para a heterobeltiose (

$$HT\% = \frac{F_1 - MP}{MP} \times 100), \text{ considerando-se } P = \frac{P_1 + P_2}{2} \text{ e } MP = \text{melhor genitor.}$$

Para a predição de ganhos com a seleção, foi considerada a seleção de 10% das plantas  $F_2$  com maior concentração de ferro nas sementes. Para tanto, considerou-se o número total de plantas  $F_2$  obtidas em cada cruzamento, independente do genitor usado como fonte de pólen. O ganho esperado com a seleção, considerando a seleção e a recombinação das plantas  $F_2$  superiores foi estimado pela expressão:  $\Delta G = DS \times h^2$  e  $\Delta G(\%) = \frac{\Delta G \times 100}{\bar{F}_2}$ , em que  $DS$  é o diferencial de seleção, expresso por  $\bar{X}_s - \bar{X}_0$ , onde  $\bar{X}_s$  = média das plantas  $F_2$  selecionadas e  $\bar{X}_0$  = média das plantas  $F_2$ .

Os dados obtidos para a geração das plantas  $F_2$  foram submetidos, ainda, ao teste de Lilliefors para verificar a ocorrência de distribuição normal. Assim, a distribuição de frequência foi realizada para cada época de cultivo, visando observar a variabilidade genética obtida em cada cruzamento e identificar o tipo de distribuição (contínua ou descontínua) observada para as plantas da geração  $F_2$ . Todas as análises foram realizadas com o auxílio da planilha eletrônica Office Excel e do programa Genes (CRUZ, 2006).

### 3.3 Resultados e discussão

No cruzamento CNFP 10104 x CHC 01-175, os genitores foram contrastantes para a concentração de ferro nas sementes no cultivo de safra (Tabela 2). Isso possibilitou a obtenção de plantas  $F_2$  com variabilidade genética para a concentração de ferro nas sementes em feijão de origem Mesoamericana. Entretanto, no cultivo de safrinha, estes genitores não foram mais contrastantes para ferro, pois o contraste  $P_1$  vs  $P_2$  não foi significativo. No cultivo de safrinha, os genitores Mesoamericanos apresentaram concentração de ferro de 70,24 mg kg<sup>-1</sup> de MS (CNFP 10104) e de 69,82 mg kg<sup>-1</sup> de MS (CHC 01-175), valores esses inferiores aos observados no cultivo de safra e diferentes daqueles descritos previamente por Ribeiro et al. (2013). Isso pode ser atribuído ao fato de que no cultivo de safrinha as temperaturas médias mínimas e máximas foram mais baixas e a quantidade de precipitação foi menor entre o



período reprodutivo e a maturação das plantas (Tabela 1), o que contribuiu para o menor acúmulo de ferro nas sementes. Já, no cultivo de safra, a translocação de ferro para as sementes foi maior, pois as temperaturas médias mínimas e máximas foram mais altas, a precipitação foi mais intensa e significativa no período de enchimento de vagens e a umidade relativa do ar foi mais baixa durante todo o cultivo. Silva et al. (2012), de maneira similar, observaram que as sementes de feijão produzidas em cultivos realizados em ambientes com menor umidade relativa do ar e com maior acúmulo de precipitação no final do ciclo da cultura apresentaram maior concentração de ferro.

O contraste  $F_1$  vs  $F_1$  recíproco foi significativo no cruzamento CNFP 10104 x CHC 01-175 nas duas épocas de cultivo, caracterizando a expressão de efeito materno (Tabela 2). Portanto, a concentração de ferro em sementes de feijão de origem Mesoamericana é dependente do tegumento, que é tecido materno.

**Tabela 2.** Número de plantas (NP), concentração média de ferro e respectivo desvio padrão obtidos nos genitores ( $P_1$  e  $P_2$ ) e nas gerações  $F_1$ ,  $F_1$  recíproco,  $F_2$  e  $F_2$  recíproco nos cruzamentos entre as linhagens CNFP 10104 ( $P_1$ ) x CHC 01-175 ( $P_2$ ) (safra e safrinha) e entre Cal 96 ( $P_1$ ) x Hooter ( $P_2$ ) (safrinha) e probabilidade pelo teste t para os contrastes  $P_1$  vs  $P_2$ ,  $P_1$  vs  $F_1$ ,  $P_2$  vs  $F_1$  recíproco,  $F_1$  vs  $F_1$  recíproco e  $F_2$  vs  $F_2$  recíproco. Santa Maria - RS, 2013.

Concentração de ferro ( $\text{mg kg}^{-1}$ de matéria seca)						
Genitores e Gerações	NP	CNFP 10104 x CHC 01-175 (Safra)	NP	CNFP 10104 x CHC 01-175 (Safrinha)	NP	Cal 96 x Hooter (Safrinha)
$P_1$	10	95,23 $\pm$ 3,92	10	70,24 $\pm$ 2,94	10	73,15 $\pm$ 2,46
$P_2$	10	85,07 $\pm$ 3,70	10	69,82 $\pm$ 0,79	10	80,14 $\pm$ 4,17
$F_1$	6	100,46 $\pm$ 4,74	6	53,87 $\pm$ 2,40	5	63,01 $\pm$ 5,44
$F_1$ recíproco	6	81,14 $\pm$ 2,20	6	64,90 $\pm$ 9,56	5	79,09 $\pm$ 53,28
$F_2$	63	81,85 $\pm$ 1,76	63	59,20 $\pm$ 0,92	50	76,10 $\pm$ 1,65
$F_2$ recíproco	63	78,65 $\pm$ 2,51	63	56,51 $\pm$ 1,73	50	77,46 $\pm$ 1,39

Probabilidade (%)			
$P_1$ vs $P_2$	0,18*	82,29 <sup>ns</sup>	1,37*
$P_1$ vs $F_1$	10,77 <sup>ns</sup>	0,00*	0,28*
$P_2$ vs $F_1$ recíproco	17,32 <sup>ns</sup>	7,81 <sup>ns</sup>	85,34 <sup>ns</sup>
$F_1$ vs $F_1$ recíproco	0,00*	0,95*	6,71 <sup>ns</sup>
$F_2$ vs $F_2$ recíproco	12,00 <sup>ns</sup>	9,61 <sup>ns</sup>	55,96 <sup>ns</sup>

\* Significativo a 5 % de probabilidade pelo teste t. <sup>ns</sup>: Não significativo.

A maior concentração de ferro na matéria seca das sementes foi verificada no tegumento, variando de 54,61 a 66,19% (cultivo de safra) e de 57,10 a 67,92% (cultivo de safrinha) (Tabela 3). Uma amplitude um pouco maior de ferro acumulado no tegumento, de 47,80 a 83,20%, foi observada em sementes de feijão de origem Mesoamericana obtidas em dois anos consecutivos (Ribeiro et al., 2012). Quanto maior for a concentração de ferro no tegumento das sementes de feijão, maior será a biodisponibilidade do ferro e isso contribui para o uso mais eficiente deste mineral pelo organismo humano (Moraghan et al., 2002). Portanto, a identificação de cultivares de feijão que acumulam mais ferro no tegumento das sementes é importante para a nutrição humana.

Expressão de efeito materno significativo para a concentração de ferro em sementes de feijão de origem Mesoamericana foi observada neste estudo, confirmando os resultados

obtidos previamente por Jost et al. (2009). Portanto, recomenda-se ao programa de melhoramento que a seleção para maior concentração de ferro em germoplasma Mesoamericano seja iniciada em sementes na geração  $F_3$  (tegumento em  $F_2$ ), quando será possível identificar recombinantes com variabilidade genética para ferro.

Pela análise de contrastes, ocorreu diferença significativa para a concentração de ferro entre os genitores de origem Andina Cal 96 ( $73,15 \text{ mg kg}^{-1}$  de MS) e Hooter ( $80,14 \text{ mg kg}^{-1}$  de MS) (Tabela 2), portanto foram obtidas plantas com variabilidade genética para ferro, a partir desse cruzamento. No entanto, o contraste  $F_1$  vs  $F_1$  recíproco não foi significativo, apesar da concentração de ferro ter variado de  $63,01$  ( $F_1$ ) a  $79,09 \text{ mg kg}^{-1}$  de MS ( $F_1$  recíproco). Acredita-se que essa amplitude nos valores obtidos nos híbridos  $F_1$  seja de causa ambiental, uma vez que nesta geração todas as plantas apresentam a mesma constituição genética e qualquer variação observada será devido ao ambiente (Ramalho et al., 2012b).

**Tabela 3.** Porcentagem de matéria seca (MS %), concentração de ferro em % e em mg kg<sup>-1</sup> de matéria seca no embrião e no tegumento de sementes de feijão das linhagens CNFP 10104 e CHC 01175 (safra e safrinha) e Cal 96 e Hooter (safrinha). Santa Maria - RS, UFSM, 2013.

Fração	Cultivar	MS %	Ferro %	Ferro em mg kg <sup>-1</sup>
Safrinha - Linhagens Mesoamericanas				
Embrião	CNFP 10104 (a)	89,15	33,81	62,96
	CHC 01175 (b)	91,26	45,38	69,41
	a- b	- 2,11*	- 11,57*	- 6,45*
Tegumento	CNFP 10104 (a)	10,85	66,19	123,12
	CHC 01175 (b)	8,74	54,61	83,40
	a- b	2,11*	11,58*	39,72*
Safrinha - Linhagens Mesoamericanas				
Embrião	CNFP 10104 (a)	89,09	32,07	58,76
	CHC 01175(b)	91,09	42,90	64,22
	a- b	- 2,00*	- 10,83*	- 5,46 <sup>ns</sup>
Tegumento	CNFP 10104 (a)	10,91	67,92	123,75
	CHC 01175(b)	8,91	57,10	85,41
	a-b	2,00*	10,82*	38,34*
Safrinha - Cultivares Andinas				
Embrião	Cal 96 (c)	92,24	69,40	68,90
	Hooter (d)	92,85	73,44	83,30
	c-d	- 0,61 <sup>ns</sup>	- 4,04 <sup>ns</sup>	- 14,4 <sup>ns</sup>
Tegumento	Cal 96 (c)	7,75	30,60	30,34
	Hooter (d)	7,14	26,56	30,47
	c-d	0,61 <sup>ns</sup>	4,04 <sup>ns</sup>	-0,13 <sup>ns</sup>

\*Significativo a 5% de probabilidade de erro pelo teste t.<sup>ns</sup>: não significativo.

Em feijão de origem Andina, a maior concentração de ferro na matéria seca das sementes foi observada no embrião, variando de 69,40% (Cal 96) a 73,44% (Hooter) ou de 68,90 a 83,30 mg kg<sup>-1</sup> de MS (Tabela 3). Valor um pouco menor de concentração de ferro nos cotilédones da semente (57 mg kg<sup>-1</sup>) foi descrito previamente para a cultivar Cal 96, avaliada na Universidade de Aarhus, Dinamarca (Cvitanich et al., 2010). Moraghan et al. (2006) já haviam observado que o acúmulo de ferro pode ser maior no embrião ou no tegumento da

semente de feijão, dependendo da cultivar avaliada. Conhecer a localização do ferro na semente feijão é importante para o planejamento das hibridações controladas e para definir o início do processo de seleção das progênies. Isso porque se o acúmulo do ferro for maior no embrião da semente de feijão, a geração da semente deverá ser a considerada, no entanto se o ferro se concentrar predominantemente no tegumento da semente, a expressão do cruzamento será observada apenas na geração seguinte, ou seja, no caso de efeito materno, para sementes em geração  $F_3$ , a geração do tegumento é  $F_2$ .

A concentração de ferro encontrada no embrião e no tegumento da semente de feijão pode influenciar na disponibilidade do mineral quanto ao desenvolvimento das plântulas de feijão. O ferro presente no embrião é mais disponível para o crescimento inicial das plantas de feijão do que o ferro disponível no tegumento das sementes, assim plantas provenientes de sementes que apresentam mais ferro no embrião têm um melhor estabelecimento inicial principalmente em solos pobres em ferro (Moraghan et al., 2002). A maior disponibilidade de ferro no embrião acontece pela presença de ferritina, proteína de armazenamento de ferro contida nos amiloplastos que se localizam no embrião da semente, no caso das leguminosas, funcionando como reguladora da disponibilidade de ferro conforme as necessidades da plântula (Cvitanich et al., 2010). Portanto, a identificação de cultivares de feijão que acumulam mais ferro no embrião contribui para o desenvolvimento das plantas de feijão nos estádios iniciais do ciclo fenológico.

No presente estudo, observou-se que a concentração de ferro nas sementes de feijão Andino é dependente do embrião, que é produto da fertilização. Neste caso, a seleção de recombinantes com maior concentração de ferro poderá ser iniciada em sementes na geração  $F_2$ , pois neste caso não ocorreu expressão de efeito materno significativo.

A variância genética foi superior à variância de ambiente no cruzamento CNFP 10104 x CHC 01-175, nas duas épocas de cultivo (Tabela 4). Por isso, foram obtidas estimativas de

herdabilidade em sentido amplo de alta magnitude para a concentração de ferro no cultivo de safra ( $h^2_a = 68,54\%$ ) e de safrinha ( $h^2_a = 70,20\%$ ). Valores de herdabilidade em sentido amplo entre 48,45 a 76,36% foram previamente descritos para a concentração de ferro em sementes de feijão de origem Mesoamericana, em geração precoce (Jost et al., 2009). No cruzamento Cal 96 x Hooter, também, foi obtida estimativa de herdabilidade em sentido amplo de alta magnitude ( $h^2_a = 62,27\%$ ), indicando que o padrão de herança da concentração de ferro é semelhante em feijão Mesoamericano e Andino. Considerando a magnitude das estimativas de herdabilidade em sentido amplo obtidas neste estudo e por Jost et al. (2009) é possível inferir que a seleção para aumentar a concentração de ferro em sementes de feijão será facilitada, pois a maior proporção da variação observada será causada por fatores genéticos.

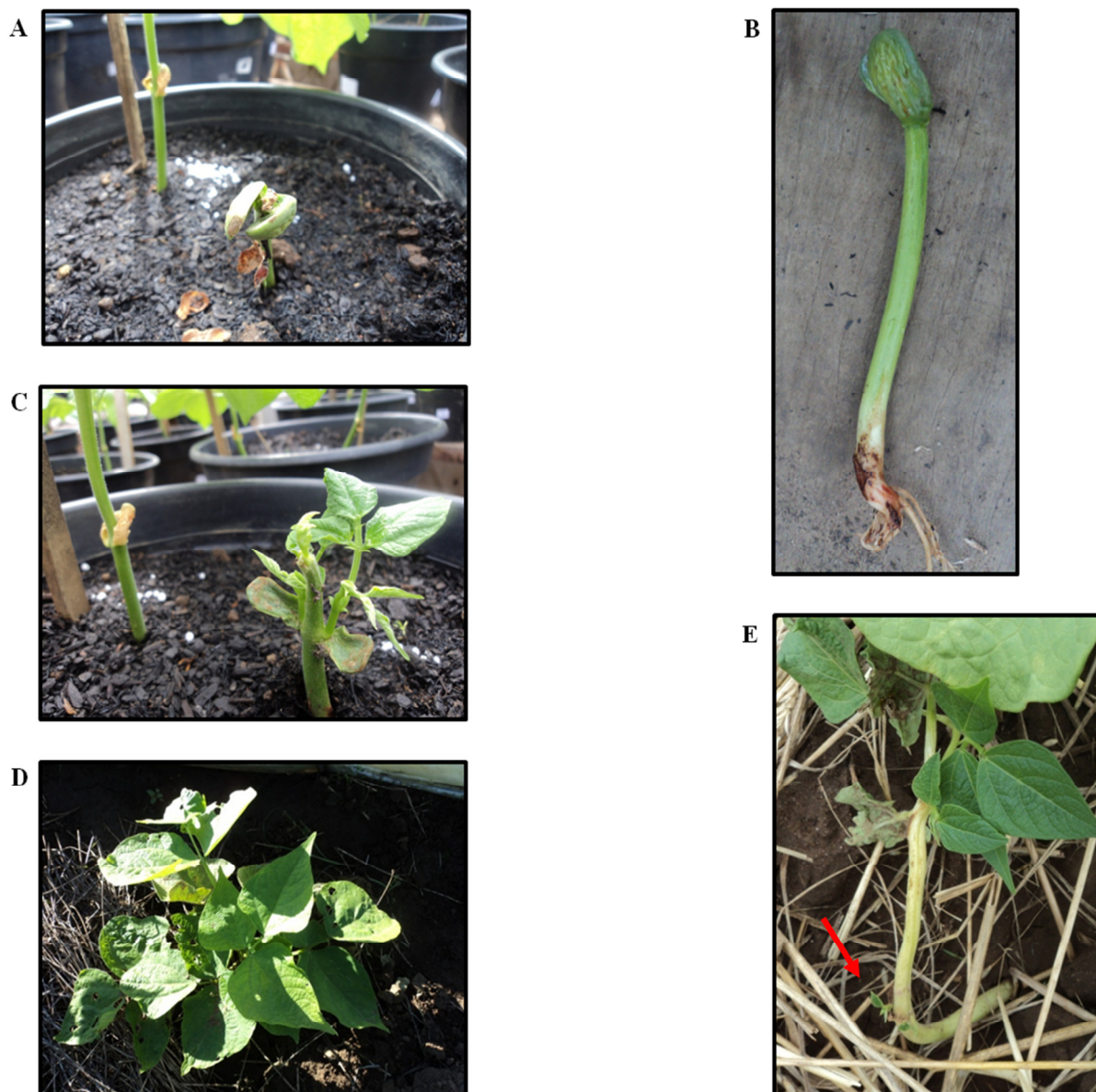
A herdabilidade em sentido restrito foi determinada apenas no cruzamento CNFP 10104 x CHC 01-175 no cultivo de safra e apresentou magnitude intermediária ( $h^2_r = 54,69\%$ ). Resultado similar foi observado por Jost et al. (2009) que obtiveram estimativas de herdabilidade em sentido restrito de 50,60% para o cruzamento Minuano x Diamante Negro. A herdabilidade em sentido restrito é importante no melhoramento de autógamias, pois considera a variância aditiva. Quando há predominância de interação alélica aditiva, a fixação dos alelos favoráveis será verificada na geração seguinte (Borém & Miranda, 2007).

**Tabela 4.** Estimativas de médias, parâmetros genéticos e predição de ganhos com a seleção para a concentração de ferro em sementes de feijão nos cruzamentos entre as linhagens CNFP 10104 x CHC 01-175 (safra e safrinha) e Cal 96 x Hooter (safrinha). Santa Maria - RS, 2013.

Genitores e gerações	Concentração de ferro (mg kg <sup>-1</sup> de matéria seca)		
	CNFP 10104 x CHC 01-175 Safra	CNFP 10104 x CHC 01-175 Safrinha	Cal 96 x Hooter Safrinha
Média	87,07	62,42	74,83
Variância fenotípica ( $\sigma^2_P$ )	110,84	57,84	82,57
Variância de ambiente ( $\sigma^2_E$ )	34,87	17,24	31,15
Variância genética ( $\sigma^2_G$ )	75,97	40,61	51,41
Variância aditiva ( $\sigma^2_A$ )	60,62	-	-
Herdabilidade ampla ( $h^2_a$ )	68,54	70,20	62,27
Herdabilidade restrita ( $h^2_r$ )	54,69	-	-
Heterose (H%)	11,43	-23,07	-17,79
Heterobeltiose (HT%)	5,48	-23,31	-13,86
Valor máximo nos genitores	99,83	79,06	89,89
Valor mínimo nos genitores	73,35	64,64	67,27
Valor máximo na F <sub>2</sub>	132,99	87,94	96,63
Valor mínimo na F <sub>2</sub>	61,32	32,66	62,72
Plantas selecionadas na F <sub>2</sub>	72, 12, 4, 46, 21, 77, 68, 85, 96, 98, 25 e 23	120,87, 15, 86, 27, 84, 13, 21, 28, 88, 23 e 51	39, 97, 98, 91, 27, 95, 43, 99, 89 e 21
Média original na F <sub>2</sub>	80,25	57,85	76,78
Média das plantas selecionadas	102,27	75,71	93,45
Diferencial de seleção (DS)	22,01	17,86	16,67
Ganho por seleção ( $\Delta G$ )	16,36	14,22	9,80
Ganho por seleção ( $\Delta G\%$ )	20,39	24,58	12,77
Média predita para o primeiro ciclo após a seleção	96,62	72,07	86,59

Na safrinha, não foi possível obter estimativas de herdabilidade em sentido restrito em nenhuma das combinações híbridas. Isso ocorreu devido ao número reduzido de sementes obtidas das gerações F<sub>1</sub> e de retrocruzamentos, além disso, muitas das plantas obtidas não produziram sementes suficientes para compor mais de um experimento a campo. No grupo Andino, muitas plantas apresentaram características típicas de incompatibilidade genética, como plantas F<sub>1</sub> com fraco crescimento vegetativo (Figura 1A), crescimento radicular reduzido (Figura 1B), nanismo (Figura 1C), esterilidade em plantas F<sub>2</sub> (Figura 1D) e ausência de raízes ou formação de raízes adventícias na região do hipocótilo (Figura 1E). Problemas de incompatibilidade genética em cruzamentos têm sido relatados em feijão, porém entre diferentes grupos gênicos (Vieira et al., 2005; Bomblies & Weigel, 2007). A diversidade de

raças de feijão pode gerar a incorporação de genes (fluxo gênico) entre diferentes grupos gênicos de forma natural (Blair et al., 2010), assim no grupo gênico Andino pode haver genes do grupo Mesoamericano, no entanto essa é uma hipótese que carece de confirmação.



**Figura 1.** Plantas com características de incompatibilidade genética. A) fraco crescimento vegetativo; B) crescimento radicular reduzido; C) nanismo; D) planta estéril em geração  $F_2$  e E) formação de raízes adventícias na região do hipocótilo.

No cruzamento CNFP 10104 x CHC 01-175, os valores de heterose e de heterobeliose foram positivos no cultivo de safra, 11,43% e 5,48%, respectivamente (Tabela 4). Nesse caso, foi possível obter híbridos  $F_1$  com concentração de ferro superior à média dos genitores



(Tabela 4), o que caracteriza efeito de sobredominância para a concentração de ferro em sementes de feijão, concordando com os resultados obtidos por Jost et al. (2009) em híbridos de feijão Mesoamericano. No entanto, como o feijão é uma planta autógama, a heterose será reduzida à metade a cada geração de autofecundação. Por isso, se faz necessária a avaliação em gerações avançadas para determinar a concentração de ferro em linhas puras.

No cultivo de safrinha, os valores foram negativos para a heterose (-23,07%) e para a heterobeltiose (-23,31%) no grupo Mesoamericano, ao contrário do que se observou em safra. As condições climáticas entre safra e safrinha foram bastante divergentes o que influenciou na expressão da concentração de ferro em sementes de feijão, confirmando que o caractere em estudo é influenciado pelo ambiente. No cultivo de safrinha, os genitores não apresentaram diferenças significativas para a concentração de ferro. Nesse caso, houve uma reduzida capacidade de combinação entre os locos dos genitores o que permitiu a expressão de locos em formas recessivas e, portanto, ocorreu heterose negativa (Ramalho et al., 2012a; Ramalho et al., 2012b).

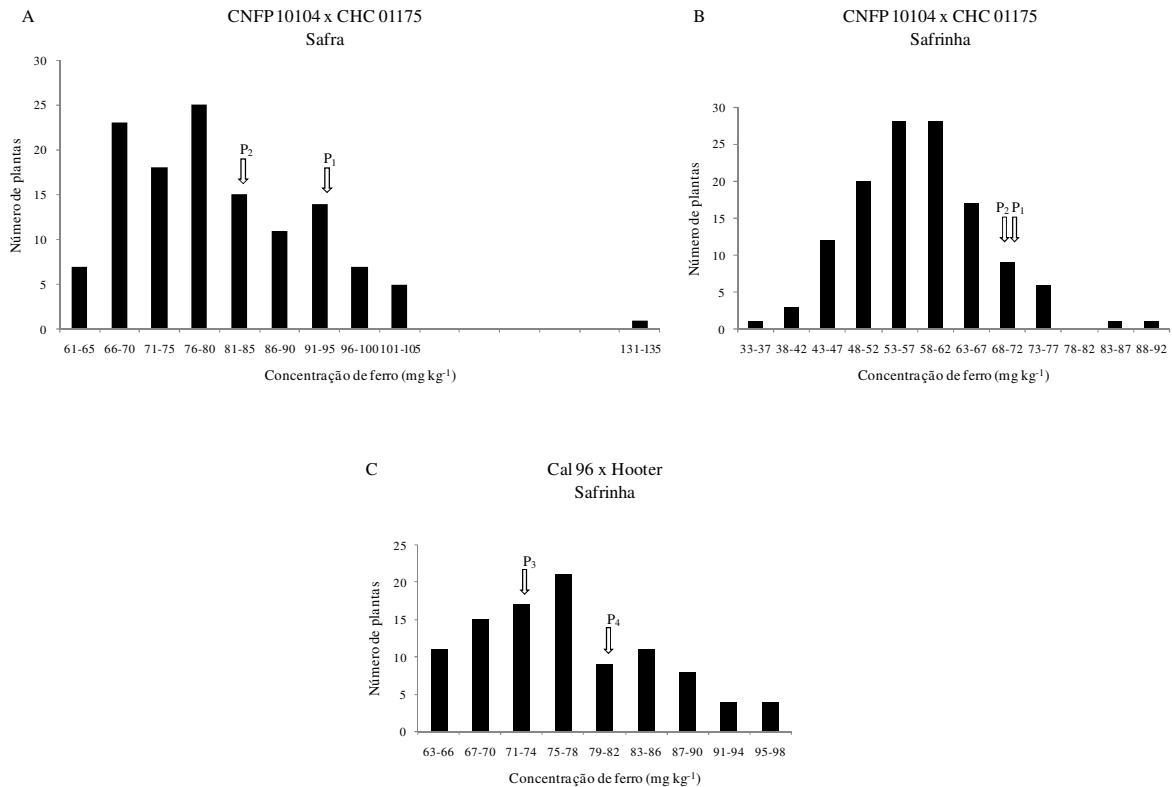
No cruzamento Cal 96 x Hooter, os valores de heterose (-17,79%) e heterobeltiose (-13,86%) foram negativos (Tabela 4). Em linhagem de feijão de origem Andina, as combinações gênicas ainda são pouco conhecidas, mas sabe-se que essas linhagens apresentam uma base genética estreita (Beebe et al., 2001). Muitas vezes as linhagens apresentam divergência genética, mas quando cruzadas não expressam uma complementação gênica, devido à falta de colinearidade entre os locos envolvidos no controle do caráter em estudo, e assim muitos dos descendentes apresentam desempenho inferior aos genitores (Ramalho et al., 2012a).

A ocorrência de heterose e heterobeltiose negativa na safrinha caracterizam dominância para baixa concentração de ferro nas sementes de feijão para os dois grupos gênicos. Dominância parcial para baixa concentração de potássio em sementes de feijão foi

descrito por Poersch et al. (2011). A ação de epistasia, interação entre alelos de diferentes locos, sobre o fenótipo da geração  $F_1$  pode ter atuado sobre a concentração de ferro. Os efeitos epistáticos dificultam o processo de seleção, pois determinado alelo de um gene (gene epistático) pode mascarar a expressão de alelos de outro gene (gene hipostático) não expressando o genótipo esperado (Cruz, 2005).

No cruzamento CNFP 10104 x CHC 01-175 foram obtidas sementes  $F_3$  com concentração de ferro nas sementes variando de 61,32 a 132,99  $\text{mg kg}^{-1}$  de MS (safra) e de 32,66 a 87,94  $\text{mg kg}^{-1}$  de MS (safrinha), caracterizando segregação transgressiva (Tabela 4, Figura 2A e 2B). A presença de fenótipos transgressivos se caracteriza pela presença de plantas em gerações segregantes com valores extremos, quando comparados aos genitores (Ramalho et al., 2012b), possibilitando assim a seleção de recombinantes superiores. No presente estudo foi obtida uma planta em geração  $F_2$  com concentração de ferro igual 132,99  $\text{mg kg}^{-1}$  de MS, o que representou um incremento de 33,21% de ferro em relação ao genitor CNFP 10104 (baixo ferro: 99,83  $\text{mg kg}^{-1}$  de MS) (Tabela 4). O cruzamento entre genitores de feijão de origem Mesoamericana e a seleção dos recombinantes obtidos possibilitou o incremento de 94% na concentração de ferro nas sementes em geração tegumento  $F_2$  (Jost et al., 2009). Esses percentuais de ganhos em geração precoce demonstram que é possível obter progênies de feijão com alta concentração de ferro nas sementes por melhoramento clássico.

No grupo Andino, o incremento máximo na concentração de ferro em plantas  $F_2$  foi de 7,50% em relação a cultivar Hooter (genitor com alta concentração de ferro: 89,89  $\text{mg kg}^{-1}$  de MS). Embora esse percentual tenha sido inferior ao verificado no grupo Mesoamericano, foi possível obter recombinantes com concentração de ferro de 96,63  $\text{mg kg}^{-1}$  de MS. Esse valor é superior ao valor de ferro que apresenta as cultivares de feijão biofortificadas, BRS Pontal (Fe: 80,24  $\text{mg kg}^{-1}$  de MS) e BRS Agreste (Fe: 78,84  $\text{mg kg}^{-1}$  de MS) (Bassinello et al., 2009) lançadas recentemente no Brasil.



**Figura 2.** Distribuição de frequência para a concentração de ferro em mg kg<sup>-1</sup> de matéria seca em sementes de geração F<sub>3</sub> para o cruzamento CNFP 10104 x CHC 01-175 em cultivo de safra (A) e de safrinha (B) e para o cruzamento Cal 96 x Hooter em cultivo de safrinha (C). \* As setas referem-se aos genitores: P<sub>1</sub>: CNFP 10104; P<sub>2</sub>: CHC 01-175; P<sub>3</sub>: Cal 96; P<sub>4</sub>: Hooter.

Variação contínua foi observada para a concentração de ferro em sementes de feijão em geração F<sub>3</sub> (Figura 2B) ou com forte tendência a variação contínua (2A e 2C), o que mostra que o ambiente exerce influência sobre o caráter. Observou-se um maior número de plantas com concentração de ferro de 66 a 80 mg kg<sup>-1</sup> de MS (safra), de 53 a 62 mg kg<sup>-1</sup> de MS (safrinha) para o grupo Mesoamericano e de 71 a 78 mg kg<sup>-1</sup> de MS para o grupo Andino, valores estes inferiores aos observados em seus genitores, o que caracteriza dominância parcial para baixa concentração de ferro em sementes de feijão. Considerando que a época exerce influência sobre a concentração de ferro em sementes de feijão, herança quantitativa pode ser predominante e assim são esperadas maiores dificuldades na seleção de plantas com alta concentração de ferro nas sementes. Distribuições populacionais contínuas sugerem que a

concentração de ferro em sementes de feijão comporta-se como uma característica quantitativa, como observado previamente por Blair et al. (2009) e Cichy et al. (2009).

Em relação aos ganhos com a seleção, podem ser esperados ganhos de 20,39% (safra) e de 24,58% (safrinha) no grupo Mesoamericano e de 12,77% para o grupo Andino. A partir do cruzamento CNFP 10104 x CHC 01-175 há mais chances de se obterem linhagens com maior concentração de ferro nas sementes, visto que, no cultivo de safra, obteve-se uma semente  $F_3$  com 132,99 mg  $kg^{-1}$  de MS e a magnitude do ganho com a seleção foi expressiva. Além disso, é importante mencionar que o uso de cruzamentos dirigidos e a seleção dos recombinantes obtidos possibilitaram a seleção de plantas com alta concentração de ferro, a partir dos genitores testados no presente estudo.

### 3.4 Conclusões

1. A concentração de ferro em sementes de feijão apresenta efeito materno significativo para linhagens do grupo gênico Mesoamericano e não significativo para as linhagens Andinas.
2. As linhagens CNFP 10104 e CHC 01-175 apresentam maior concentração de ferro no tegumento das sementes (54,61 a 67,92%) e Cal 96 e Hooter maior concentração de ferro no embrião (69,40 a 73,44%).
3. Em gerações precoces a herdabilidade em sentido amplo é de alta magnitude para a concentração de ferro em feijão de origem Mesoamericana e Andina.
4. Ganhos de 20,39% e 24,58% para o cruzamento CNFP 10104 x CHC 01-175 em safra e safrinha, respectivamente, e de 12,77% para o cruzamento Cal 96 x Hooter são esperados.

5. A seleção de sementes em geração F<sub>3</sub> obtidas no cruzamento CNFP 10104 x CHC 01-175 é promissora para a obtenção de linhagens de feijão com maior concentração de ferro nas sementes.

### 3.5 Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro e bolsa concedida. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelas bolsas concedidas. Ao Dr. Evandro Jost pela disponibilidade em realizar as leituras das análises químicas por espectrofotômetro.

### 3.6 Referências

- AKOND, A.S.M.G.M.; CRAWFORD, H.; BERTHOLD, J.; TALUKDER, Z.I.; HOSSAIN, K. Minerals (Zn, Fe, Ca and Mg) and antinutrient (phytic acid) constituents in common bean. **American Journal of Food Technology**, v.6, p.235-243, 2011. DOI: 10.3923/ajft.2011.235.243.
- ARAÚJO, R. de.; MIGLIORANZA, E.; MONTALVAN, R.; DESTRO, D.; VIDIGAL, M.C.G.; CIRINO, V.M. Genotype x environment interaction effects on the iron content of common bean grains. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.3, p.269-274, 2003.
- BASSINELLO, P.Z.; PELOSO, M.J.D.; da SILVA, W.M.R.; MELO, L.C.; GUIMARÃES, C.M.; CALGARO, M.; MENEZES, E.; BEEBE, S.; NUTTI, R.N. Desenvolvimento de cultivares de feijoeiro comum adaptadas e biofortificadas com ferro e zinco. In: Reunião Anual de Biofortificação no Brasil, 3., 2009, Aracaju. **Anais...** Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, 2009. Disponível em: <[HTTP://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CPATSA-2009-09/41216/1/OPB2435.pdf](http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CPATSA-2009-09/41216/1/OPB2435.pdf)>. Acesso em: 19 jan. 2013.

- BEEBE, S.E.; RENGIFO, J.; GAITAN, E.; DUQUE, M.C.; TOHME, J. Diversity and origin of Andean landraces of common bean. Madison. **Crop Science**, v.41, p.854-862, 2001. DOI: 10.2135/cropsci2001.413854x.
- BLAIR, M.W.; GONZÁLEZ, L.F.; KIMANI, P.M.; BUTARE, L. Genetic diversity, inter-gene pool introgression and nutritional quality of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) from Central Africa. **Theoretical Applied Genetic**, v.121, p.237-248, 2010. DOI: 10.1007/s00122-010-1305-x.
- BLAIR, M.W.; ASTUDILLO, C.; GRUSAK, M.A.; GRAHAM, R.; BEEBE, S.E. Inheritance of seed iron and zinc concentrations in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Molecular Breeding**, v.23, p.197-207, 2009. DOI: 10.1007/s11032-008-9225-z.
- BOMBLIES, K.; WEIGEL, D. Hybrid necrosis: autoimmunity as a potential gene-flow barrier in plant species. **Nature Reviews Genetics**, v.8, p.382-393, 2007. DOI:10.1038/nrg2082.
- BORÉM, A.; MIRANDA, G.V. **Melhoramento de plantas**. 4 ed. Viçosa: UFV, 2007. 525 p.
- CICHY, K.A.; CALDAS, G.V.; SNAPP, S.S.; BLAIR, M.W. QTL analysis of seed iron, zinc, and phosphorus levels in an Andean bean population. **Crop Science**, v.49, p.1742-1750, 2009. DOI:10.2135/cropsci2008.10.0605.
- COMISSÃO TÉCNICA SUL BRASILEIRA DE FEIJÃO- (CTSBF). **Informações técnicas para o cultivo de feijão na Região Sul brasileira 2012**. Florianópolis: Epagri. 2012. 14p.
- CRUZ, C. D. **Princípios de genética quantitativa**. Viçosa: UFV, 2005. 394p.
- CRUZ, C. D. **Programa Genes**. Viçosa: UFV, 2006. 382p.
- CVITANICH, C.; PRZYBYŁOWICZ, W.J.; URBANSKI, D.F.; JURKIEWICZ, A.M.; MESJASZ-PRZYBYŁOWICZ, J.; BLAIR, M.W.; ASTUDILLO, C.; JENSEN, E. Ø.; STOUGAARD, J. Iron and ferritin accumulate in separate cellular locations in *Phaseolus* seeds. **Plant Biology**, v.10, p.1-14, 2010. DOI: 10.1186/1471-2229-10-26.

FERNANDEZ, F.; GEPTS, P.; LOPEZ, M. **Etapas de desarrollo de La planta de frijol común** (*Phaseolus vulgaris* L.). Cali: CIAT, 1986. 34p.

GUZMAN-MALDONADO, S.H.; MARTÍNEZ, O.; ACOSTA-GALLEGOS, J.; GUEVARA-LARA, F.J.; PAREDES-LOPEZ, O. Putative quantitative trait loci for physical and chemical components of common bean. **Crop Science**, v.43, p.1029–1035, 2003. DOI:10.2135/cropsci2003.1029.

JOST, E.; RIBEIRO, N.D.; CERUTTI, T.; POERSCH, N.; MAZIERO, S.M. Potencial de aumento do teor de ferro em grãos de feijão por melhoramento genético. **Bragantia**, v.68, p.35-42,2009. DOI: 10.1590/S0006-87052009000100005.

MESQUITA, F.R.; CÔRREA, A.D.; ABREU, M.C.P. de; LIMA, R.A.Z.; ABREU, A. de F.B. Linhagens de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.): composição química e digestibilidade protéica. **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, p.1114-1121, 2007. DOI: 10.1590/S1413-70542007000400026.

MIYAZAWA, M.; PAVAN, M.A.; MURAOKA, T.; CARMO, C.A.F.S.; MELLO, W.J. Análises químicas de tecido vegetal. In: SILVA, F.C. (Ed.). **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 1999. p.171-223.

MORAGHAN, J.T.; ETCHEVERS, J.D.; PADILHA, J. Contrasting accumulations of calcium and magnesium in seed coats and embryos of common bean and soybean. **Food Chemistry**, v.95, p.554–561, 2006. DOI:10.1016/j.bbr.2011.03.031.

MORAGHAN, J. T.; PADILLA, J.; ETCHEVERS, J.D.; GRAFTON, K.; ACOSTA-GALLEGOS, J.A.. Iron accumulation in seed of common bean. **Plant and Soil**, v.246, p. 175-183, 2002.

PETERNELLI, L. A.; BORÉM, A.; CARNEIRO, J. E. S. Hibridação em Feijão. In: BORÉM, A. **Hibridação artificial de plantas**. 2. ed.Viçosa: UFV, 2009. p.320-348.

POERSCH, N.L.; RIBEIRO, N.D.; ROSA, D.R.; POSSOBOM, M.T.DF. Genetic control of potassium content of common bean seeds. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.46, p.626-632, 2011. DOI: 10.1590/S0100-204X2011000600008.

RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A.F.B.; SANTOS, J.B.; RODRIGUES, J.A. **Aplicações da genética quantitativa no melhoramento de plantas autógamas**. Lavras: UFLA, 2012a. 522p.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J.B.; PINTO, C.A.B.P.; SOUZA, E.A.; GOLÇALVES, F.M.A.; SOUZA, J.C. **Genética na agropecuária**. 5.ed. Lavras: UFLA, 2012b. 565p.

RIBEIRO, N.D.; DOMINGUES, L.S.; GRUHN E.M.; ZEMOLIN, A.E.M.; RODRIGUES, J.A. Evaluation of special grains bean lines for grain yield, cooking time and mineral concentrations. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.14, p.15-22, 2014.

RIBEIRO, N. D.; MAMBRIN, R.B.; STORCK, L.; PRIGOL, M.; NOGUEIRA, C.W. Combined selection for grain yield, cooking quality and minerals in the common bean. **Ciência Agronômica**, v.44, p.869-877, 2013. DOI: org/10.1590/S1806-66902013000400025.

RIBEIRO, N.D.; MAZIERO, S.M.; PRIGOL, M.; NOGUEIRA, C.W.; ROSA, D.P.; POSSOBOM, M.T.DF. Mineral concentrations in the embryo and seed coat of common bean cultivars. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.26, p.89-95, 2012. DOI 10.1016/j.jfca.2012.03.003.

SANTOS, H.G. dos; JACOMINE, P.K.T.; ANJOS, L.H.C. dos; OLIVEIRA, V.A. de; OLIVEIRA, J.B. de; COELHO, M.R.; LUMBRERAS, J.F.; CUNHA, T.J.F. (Ed.). **Sistema Brasileiro de classificação de solos**. 2.ed. Rio de janeiro: Embrapa Solos, 2006. 306p.

SILVA, C.A.; ABREU, A.F.B.; RAMALHO, M.A.P. Genetic control of zinc and iron concentration in common bean seeds. **African Journal of Agricultural Research**, v.8, p.1001-1008, 2013. DOI: 10.5897/AJAR12.2172.



SILVA, C.A.; ABREU, A.F.B.; RAMALHO, M.A.P.; CORRÊA, A.D. Interaction genotype by season and its influence on the identification of beans with high content of zinc and iron.

**Bragantia**, v.71, p.336-341, 2012.DOI: 10.1590/S0006-87052012005000037.

TALUKDER, Z.I.; MIKLAS, P.N.; BLAIR, M.W.; OSORNO, J.; DILAWARI, M.; HOSSAIN, K.G. Genetic diversity and selection of genotypes to enhance Zn and Fe content in common bean. **Canadian Journal of Plant Science**, v.90, p.49-60, 2010. DOI:

10.4141/CJPS09096.

TRYPHONE, G.M; NCHIMBI-MSOLLA, S. Diversity of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes in iron and zinc contents under screen house conditions. **African Journal of Agricultural Research**, v.5, p.738-747, 2010. DOI: 10.5897/AJAR10.304.

VIEIRA, C.; BORÉM, A.; RAMALHO, M.A.P.; CARNEIRO, J.E.S. **Melhoramento do feijão**. In: BORÉM, A. (Ed.). Melhoramento de espécies cultivadas. 2.ed. Viçosa: UFV, 2005. p.301-391.

WARNER, J.N. A method for estimating heritability. **Agronomy Journal**, v.44, p.427-430, 1952.

## 4 DISCUSSÃO

Com base nos artigos pode-se observar que existe variabilidade genética entre as plantas F<sub>2</sub> de feijão dos grupos gênico Mesoamericano e Andino para os caracteres: claridade do tegumento (valores de “L”), cromaticidade (valor de a\* e b\*) e para a concentração de ferro em sementes de feijão. A seleção de linhagens de feijão com grande diversidade na coloração do tegumento e com alta concentração de ferro nas sementes visa atender diferentes classes de mercado consumidor. A busca por maior variabilidade genética é uma questão constante no melhoramento genético de feijão, principalmente por esta cultura ser um alimento consumido mundialmente e apresentar alto valor nutricional (BROUGHTON et al., 2003).

No primeiro artigo, foi possível observar a existência de efeito materno significativo para todos os parâmetros de coloração (“L”, a\* e b\*), indicando que a seleção somente será eficiente em sementes na geração F<sub>3</sub> (tegumento em F<sub>2</sub>), quando foi observada máxima variabilidade genética para a coloração do tegumento. As estimativas de herdabilidade em sentido amplo foram de alta magnitude para os valores de luminosidade (h<sup>2</sup>a: 76,66 a 95,07%), cromaticidade a\* (h<sup>2</sup>a: 73,08 a 89,31%) e cromaticidade b\* (h<sup>2</sup>a: 88,63 a 92,50%), nos diferentes grupos gênicos, sugerindo que poucos genes controlam o caráter, uma vez que variação descontínua foi observada. Além disso, altas estimativas de herdabilidade para as variáveis de cromaticidade a\* e b\* mostraram que estas também podem ser usadas como critério de seleção de linhagens com diferente coloração de tegumento. Até o momento, apenas o valor da luminosidade das sementes era recomendado em programas de melhoramento de feijão para a seleção de linhagens superiores (RIBEIRO; POSSEBON; STORCK, 2003).

Ganhos significativos com a seleção foram estimados para os três parâmetros de coloração analisados. No cruzamento CNFP 10104 x CHC 01-175 (safra e safrinha) foram obtidos ganhos com a seleção para menores valores de “L” = -41,65 a -36,44%, a\* = -75,92 a -75,45% e b\* = -131,21 a -111,29% e para maiores valores foram de “L” = 75,75 a 108,63%, a\* = 182,83 a 193,62% e b\* 294,62 a 261,34%. Para as linhagens Andinas Cal 96 x Hooter (safrinha), os ganhos para menores valores foram de “L” = -39,02%, a\* = -30,92% e b\* = -67,25% e para maiores valores foram de “L” = 37,45%, a\* = 58,63% e b\* 58,31%. Como

cada grupo gênico representa diferentes classes de cores, ambos os grupos possibilitarão a obtenção de sementes com coloração de tegumento de aceitação comercial.

No segundo artigo, foi observada presença de efeito materno significativo para a concentração de ferro em sementes de feijão do grupo Mesoamericano (CNFP 10104 e CHC 01-175). Nesse caso, atenção especial deve ser dada ao momento da seleção, pois se recomenda que a seleção seja iniciada em sementes na geração tegumento em  $F_3$  (RAMALHO et al., 2012). Efeito materno para concentração de ferro em sementes de feijão do grupo Mesoamericano foi descrito previamente por Jost et al. (2009). No entanto, para as cultivares do grupo Andino (Cal 96 e Hooter) não se observou presença de efeito materno e, portanto a seleção poderá ser praticada na geração  $F_2$ .

O conhecimento sobre a acumulação dos minerais no embrião ou no tegumento das sementes de feijão é necessário, pois a concentração de ferro ocorre de maneira diferenciada nas frações das sementes. No tegumento das sementes de feijão das linhagens Mesoamericanas, a concentração de ferro variou de 54,61 a 66,19% (cultivo de safra) e de 57,10 a 67,92% (cultivo de safrinha). Já, nas cultivares Andinas, o ferro se concentrou no embrião, com valores entre 69,40 a 73,44%. A maior acumulação do ferro no embrião da semente de feijão indica que geração  $F_1$  representará o produto do cruzamento entre dois genitores, e, portanto a seleção poderá ser praticada em sementes na geração  $F_2$ .

Estimativas de herdabilidade em sentido amplo de alta magnitude para a concentração de ferro no cultivo de safra ( $h^2_a = 68,54\%$ ) e de safrinha ( $h^2_a = 70,20\%$ ) para o cruzamento CNFP 10104 x CHC 01-175 e em safrinha ( $h^2_a = 62,27\%$ ) para o cruzamento Cal 96 x Hooter indicam que os efeitos genéticos foram predominantes sobre os efeitos ambientais favorecendo a seleção para aumento na concentração de ferro nas sementes de feijão.

Para heterose e heterobeltiose foram obtidos valores positivos em safra e negativos em safrinha para o cruzamento CNFP 10104 x CHC 01-175. Valores negativos em safrinha também ocorreram para o cruzamento Cal 96 x Hooter. A ocorrência de heterose e heterobeltiose negativa na safrinha caracterizaram dominância parcial para baixa concentração de ferro nas sementes de feijão para os dois grupos gênicos. Nessa situação, efeitos epistáticos podem ter atuado, em que determinado alelo de um gene mascara a expressão de alelos de outro gene (Cruz, 2005). Além disso, variação contínua ou com forte tendência a variação contínua foi observada para a concentração de ferro em sementes de feijão em geração  $F_3$ , isso mostra que o ambiente exerce influência sobre o caráter.

Ganhos por seleção foram estimados na ordem de 20,39% (safra) e de 24,58% (safrinha) no grupo Mesoamericano e de 12,77% para o grupo Andino. Sendo que segregação

transgressiva foi constatada para a concentração de ferro em sementes de feijão Mesoamericano, em que foi obtida uma planta em geração F<sub>2</sub> com concentração de ferro nas sementes igual a 132,99 mg kg<sup>-1</sup> de MS, ou seja, um incremento de 33,21% de ferro na semente em relação ao melhor genitor CNFP 10104 (99,83 mg kg<sup>-1</sup> de MS), indicando que é possível aumentar a concentração desse mineral por melhoramento genético.

Portanto, devido ao alto potencial genético existente recomenda-se o avanço das gerações obtidas, pois há perspectivas de obtenção de linhagens de feijão com padrão de tegumento variável e alta concentração de ferro nas sementes.

## 5 CONCLUSÕES

As sementes de feijão das linhagens do grupo Mesoamericano (CNFP 10104 e CHC 01-175) e do grupo Andino (Cal 96 e Hooter) apresentam efeito materno para os parâmetros de coloração “L”,  $a^*$  e  $b^*$ . Os parâmetros de coloração apresentam estimativas de herdabilidade em sentido amplo de alta magnitude para os dois grupos gênicos, em geração F3. Isso sugere facilidades no processo de seleção, pois, provavelmente, estes caracteres são controlados por poucos genes de grande efeito, uma vez que apresentam variação descontínua.

Os ganhos com a seleção são expressivos para o cruzamento Mesoamericano, CNFP 10104 x CHC 01-175 em safra e safrinha para os parâmetros de coloração foram obtidos ganhos com a seleção para menores valores de “L” = -41,65 a -36,44%,  $a^*$  = -75,92 a -75,45% e  $b^*$  = -131,21 a -111,29% e para maiores valores foram de “L” = 75,75 a 108,63%,  $a^*$  = 182,83 a 193,62% e  $b^*$  294,62 a 261,34%. Para as linhagens Andinas Cal 96 x Hooter (safrinha), os ganhos para menores valores foram de “L” = -39,02%,  $a^*$  = -30,92% e  $b^*$  = -67,25% e para maiores valores foram de “L” = 37,45%,  $a^*$  = 58,63% e  $b^*$  58,31%. Assim, a seleção de sementes F3 (tegumento F2) obtidas a partir dos cruzamentos realizados é promissora para a obtenção de linhagens de feijão com coloração de tegumento de maior aceitação comercial.

Quanto à concentração de ferro em sementes de feijão ocorre efeito materno significativo para linhagens do grupo gênico Mesoamericano e não significativo para as cultivares do grupo gênico Andino. Essa informação é comprovada pela forma como o ferro se concentra na semente de feijão. Em linhagens Mesoamericanas, as sementes apresentam maior concentração de ferro no tegumento (54,61 a 67,92%), enquanto que as cultivares Andinas concentram mais ferro no embrião da semente (69,40 a 73,44%).

Como a herdabilidade em sentido amplo é de alta magnitude para a concentração de ferro em feijão de origem Mesoamericana e Andina, são esperados ganhos com a seleção de 20,39% e 24,58% para o cruzamento CNFP 10104 x CHC 01-175 em safra e safrinha, respectivamente, e de 12,77% para o cruzamento Cal 96 x Hooter. Nesse contexto, a seleção de plantas F2 obtidas no cruzamento CNFP 10104 x CHC 01-175, por meio de melhoramento clássico, é promissora para a obtenção de linhagens de feijão com maior concentração de ferro nas sementes. A partir disso é possível a realização de estudos para a seleção de

recombinantes com coloração de aceitação comercial e alta concentração de ferro a partir dos cruzamentos realizados.

## REFERÊNCIAS

ARAÚJO, L. C. A. **Seleção de linhagens de feijoeiro com escurecimento tardio dos grãos**. 2012. 66 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.

ARAÚJO, L. R. et al. Aspectos gerais da deficiência de ferro no esporte, suas implicações no desempenho e importância do diagnóstico precoce. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 24, n. 3, p. 493-502, 2011.

BALDONI, A. B.; RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B. Allele frequency and selection efficiency in cross populations of Andean x Mesoamerican common beans (*Phaseolus vulgaris* L. Fabales, Fabaceae). **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 31, n. 4, p. 914-919, 2008.

BEEBE, S.; GONZALEZ, A.; RENGIFO, J. Research on trace minerals in the common bean. **Food and Nutrition Bulletin**, Boston, v. 21, n. 4, p. 387-391, 2000.

BERNARDO L. M. **Histórias da luz e das cores**. Porto: Universidade do Porto, Porto, 2010.101p.

BLAIR, M. W. et al. Biofortification breeding of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Biozoom**, Slagelse, n. 1, p. 25-28, 2013.

BLAIR, M. W. et al. Inheritance of seed iron and zinc concentrations in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Molecular Breeding**, Bethesda, v. 23, n. 2, p. 197-207, 2009.

BORÉM, A. **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: UFV, 2005. 969p.

BROUGHTON, W. J. et al. Beans (*Phaseolus* spp.): model food legumes. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 25, n. 2, p. 55-128, 2003.

CARVALHO, M. C.; BARACAT, E. C. E.; SGARBIERI, C. V. Anemia ferropriva e anemia de doença crônica: distúrbios do metabolismo de ferro. **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, v. 13, n. 2, p. 54-63, 2006.

COMISSÃO TÉCNICA SUL BRASILEIRA DE FEIJÃO. **Informações técnicas para o cultivo de feijão na Região Sul brasileira 2012**. Florianópolis: Epagri. 2012. 14p.

COMMISSION INTERNACIONALE DE L'ECLAIRAGE – (CIE). **Technical Report**. CIE 15.2 Colorimetry. Austria, Central Bureau of the CIE, p. 1-74, 1976.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Formulário Conab**. Brasília: CONAB, 2006. Disponível em:

<<http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/b01c8cba0f306a6da80caa4509816a85..pdf>>. Acesso em: 22 set. 2013.

CRUZ, C. D. **Princípios de genética quantitativa**. Viçosa: UFV, 2005. 394p.

DEBOUCK, D. G. Genetic diversity and ecological distribution of *Phaseolus vulgaris* (Fabaceae) in Northwestern South America. **Economic Botany**, Bronx, v.47, n. 4, p.408-423, 1993.

GEPTS, P. **Genomics of Phaseolus Beans, a Major Source of Dietary Protein and Micronutrients in the Tropics** - Chapter 5. *Genomics of Tropical Crop Plants*: Davis, 2008.

Hunter Lab. CIE L\*a\*b\* Color Scale. **Applications note**, Reston, v. 8, n. 7, p. 1-4, 1996.

JOST, E. et al. Potencial de aumento do teor de ferro em grãos de feijão por melhoramento genético. **Bragantia**, Campinas, v. 68, n. 1, p. 35-42, 2009.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Perfil do feijão no Brasil**. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/feijao/saiba-mais>>. Acesso em: 03 out. 2013.

MESQUITA, F. R. et al. Linhagens de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.): composição química e digestibilidade protéica. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 4, p. 1114-1121, 2007.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Portaria do Ministério da Saúde n.º 33 de 13 de janeiro de 1998**, Brasília, 1988.

MORAGHAN, J. T. et al. Iron accumulation in seed of common bean. **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 246, n. 2, p. 175-183, 2002.

MORAGHAN, J. T.; GRAFTON, K. Genetic diversity and mineral composition of common bean seed. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Oxford, v. 81, n. 4, p. 404-408, 2001.

NITZKE, J. A. et al. Segurança Alimentar: rompendo barreiras. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 1, p. 2-9, 2010.

OLIVARES, M.; WALTER, T. Causas y consecuencias de La deficiencia de hierro. **Revista de Nutrição**, Santiago, v. 17, n. 1, p. 5-14, 2004.

PFEIFFER, W. H.; MCCLAFFERTY, B. Harvest Plus: Breeding crops for better nutrition. **Crop Science**, Madison, v. 47, n. 3, p. 88-105, 2007.

PINTO, G. M. Deficiência de ferro: resistência ou suscetibilidade a infecções?. **Revista Médica de Minas Gerais**, Belo Horizonte, v. 18, n. 3, p. 191-196, 2008.

RAMALHO, M. A. P. et al. **Genética na agropecuária**. 5.ed. Lavras: UFLA, 2012. 565p.

RIBEIRO, N. D. et al. Mineral concentrations in the embryo and seed coat of common bean cultivars. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 26, n. 1-2, p. 89-95, 2012.



- RIBEIRO, N. D.; POSSEBON, S. B.; STORCK, L. Progresso genético em caracteres agronômicos no melhoramento do feijoeiro. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 4, p. 629-633, 2003.
- RIBEIRO, N. D.; STORCK, L.; POERSCH, N. L. Classificação de lotes comerciais de feijão por meio da claridade do tegumento dos grãos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 7, p. 2042-2045, 2008.
- SATHE, S. K.; DESHPANDE, S. S.; SALUNKHE, D. K. Dry beans of Phaseolus. A review. Part 2. Chemical composition: Carbohydrates, fiber, minerals, vitamins and lipids. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Arnherst, v. 21, n. 2, p. 41-91, 1984.
- SINGH, S. P.; GEPTS, P.; DEBOUCK, D. G. Races of common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae). **Economic Botany**, Bronx, v. 45, n. 3, p. 379-396, 1991.
- UMBELINO, D. C.; ROSSI, E. A. Deficiência de ferro: consequências biológicas e propostas de prevenção. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Araraquara, v. 27, n. 2, p. 103-112, 2006.
- WHO. World Health Organization. **Guidelines on food fortification with micronutrients**. 2006. Disponível em: <[http://www.who.int/whr/2002/en/whr02\\_en.pdf](http://www.who.int/whr/2002/en/whr02_en.pdf)>. Acesso em: 03 dez. 2013.
- WORTHINGTON, M. et al. Genetic composition and spatial distribution of farmer-managed *Phaseolus* bean plantings: an example from a Village in Oaxaca, Mexico. **Crop Science**, Madison, v. 52, n. 4, p. 1721–1735, 2012.