

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

**PARÂMETROS GENÉTICOS DOS CARACTERES DA
QUALIDADE NUTRICIONAL DO FEIJÃO: FIBRA
ALIMENTAR E AMINOÁCIDOS SULFURADOS**

TESE DE DOUTORADO

Patrícia Medianeira Grigoletto Londero

Santa Maria, RS, Brasil

2008

**PARÂMETROS GENÉTICOS DOS CARACTERES DA
QUALIDADE NUTRICIONAL DO FEIJÃO: FIBRA
ALIMENTAR E AMINOÁCIDOS SULFURADOS**

por

Patrícia Medianeira Grigoletto Londero

Tese apresentada ao Curso de Doutorado 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 a obtenção do
grau de

Doutor em Agronomia

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Nerinéia Dalfollo Ribeiro

Santa Maria, RS, Brasil

2008

L847p	Londero, Patrícia Medianeira Grigoletto, 1977- Parâmetros genéticos dos caracteres da qualidade nutricional do feijão : fibra alimentar e aminoácidos sulfurados / por Patrícia Medianeira Grigoletto Londero ; orientador Nerinéia Dalfollo Ribeiro. – Santa Maria, 2008. 56 f. ; il. Tese (doutorado) – Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, RS, 2008. 1. Agronomia 2. <i>Phaseolus vulgaris</i> L. 3. Efeito materno 4. Herdabilidade 5. Ganho por seleção 6. Alimento funcional 7. Qualidade protéica I. Ribeiro, Nerinéia Dalfollo, orient. II. Título CDU: 635.652
--------------	---

Ficha catalográfica elaborada por
Luiz Marchiotti Fernandes – CRB 10/1160
Biblioteca Setorial do Centro de Ciências Rurais/UFSM

© 2008

Todos os direitos autorais reservados a Patrícia Medianeira Grigoletto Londero. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita com autorização por escrito do autor.

Endereço: Rua João da Fontoura e Souza, n.60, Aptº 302, Bairro Camobi, Santa Maria, RS, 97105-210

Fone: (0xx) 55 9623 0770; End. Eletr: patricialondero@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 Tese de Doutorado

**PARÂMETROS GENÉTICOS DOS CARACTERES DA QUALIDADE
NUTRICIONAL DO FEIJÃO: FIBRA ALIMENTAR E AMINOÁCIDOS
SULFURADOS**

elaborada por
Patrícia Medianeira Grigoletto Londero

como requisito parcial para obtenção do grau de
Doutor em Agronomia

COMISSÃO EXAMINADORA:

Nerinéia Dalfollo Ribeiro, Dr^a.
(Presidente/Orientadora)

Irajá Ferreira Antunes, Dr. (EMBRAPA/CPACT)

Marcia Vizzotto, Dr^a. (EMBRAPA/CPACT)

Lia Rejane Silveira Reiniger, Dr^a. (UFSM)

Nilson Lemos de Menezes, Dr. (UFSM)

Santa Maria, 29 de fevereiro de 2008.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por iluminar os caminhos de minha vida.

Ao Curso de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal de Santa Maria, pela oportunidade em realizar o Curso de Doutorado.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

À professora Nerinéia Dalfollo Ribeiro pela orientação e amizade.

Ao pessoal do Laboratório NIDAL, pela possibilidade de realização das análises, especialmente ao professor Laerte, que sempre esteve pronto a ajudar nos momentos em que precisei.

Aos colegas do setor, Nerison, Evandro, Sandra, Taiguer, Simone, Ana Lúcia e Viviani pela colaboração dada a esse trabalho e pelos momentos de descontração, os quais tornaram o trabalho agradável.

À querida amiga Jaqueline, minha irmã de coração, e toda a sua família pelo acolhimento, carinho, estímulo e apoio.

As minhas amigas Anelise e Simone pela amizade, eu sei que vocês sempre torceram por mim.

Ao meu marido, José Antônio, pela compreensão, companheirismo, amor e apoio em todos os momentos de minha vida.

A minha família, pelo apoio, carinho, incentivo e por terem compreendido as minhas ausências.

A todos aqueles que conheci nesta Universidade, aos colegas de curso, funcionários e aos queridos professores que participaram deste período da minha vida, **MUITO OBRIGADA.**

RESUMO

Tese de Doutorado
Programa de Pós-Graduação em Agronomia
Universidade Federal de Santa Maria

PARÂMETROS GENÉTICOS DOS CARACTERES DA QUALIDADE NUTRICIONAL DO FEIJÃO: FIBRA ALIMENTAR E AMINOÁCIDOS SULFURADOS

AUTORA: PATRÍCIA MEDIANEIRA GRIGOLETTO LONDERO

ORIENTADORA: NERINÉIA DALFOLLO RIBEIRO

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 29 de fevereiro de 2008.

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) apresenta alto teor de fibra alimentar e proteína de alta qualidade, por isso pode ser considerado um alimento funcional. Os objetivos desse trabalho foram: (1) investigar a ocorrência de efeito materno para os teores de fibra insolúvel, fibra solúvel, metionina e cisteína em grãos de feijão; (2) obter estimativas de herdabilidade e de ganho por seleção para esses caracteres; (3) avaliar a composição de aminoácidos de gerações precoces de feijão obtidas a partir de cruzamentos controlados com genitor de alto teor de cisteína. Sendo assim, foram obtidas seis gerações (F_1 , F_1 recíproco, F_2 , F_2 recíproco, retrocruzamento 1 - RCP_1 e retrocruzamento 2 - RCP_2), a partir de cruzamentos entre genitores contrastantes para os teores de fibra insolúvel (Guateian 6662 x Guapo Brilhante), fibra solúvel (Guapo Brilhante x Pérola), metionina (BRS Valente x Iapar 44) e cisteína (TPS Nobre x Minuano). Os teores de fibra insolúvel e solúvel foram determinados pelo método enzimático-gravimétrico e os teores dos aminoácidos foram quantificados por cromatografia líquida de alta performance (HPLC). O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com número de repetições variável para as diferentes gerações. Os resultados obtidos revelaram presença de variabilidade genética para a fibra insolúvel, metionina e cisteína. Não foi verificado efeito materno significativo para os teores de fibra insolúvel, fibra solúvel, metionina e cisteína em grãos de feijão. Estimativa moderada de herdabilidade, em sentido amplo, de 45,22% e ganho por seleção predito de 10,15% foram obtidos para a fibra insolúvel. Não foi possível estimar a herdabilidade, em sentido amplo, e em sentido restrito para a fibra solúvel, devido à ausência de variabilidade genética nas diferentes gerações, e para os teores de metionina e de cisteína, pois variâncias genéticas negativas foram obtidas. A seleção de plantas F_2 obtidas a partir do cruzamento entre Guateian 6662 x Guapo Brilhante e entre BRS Valente x Iapar 44 poderá resultar em genótipos superiores quanto aos teores de fibra insolúvel e de metionina, respectivamente. Os genitores TPS Nobre e Minuano e as gerações F_1 e F_{1r} apresentaram teores de aminoácidos essenciais e não-essenciais adequados para uso na alimentação. Para o teor de cisteína, não é possível selecionar nenhuma planta na geração F_2 devido aos baixos teores desse aminoácido sulfurado.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris* L.; efeito materno; herdabilidade; ganho por seleção; alimento funcional; qualidade protéica.

ABSTRACT

PhD Thesis

Agronomy Post-Graduation Program

Federal University of Santa Maria

GENETIC PARAMETERS OF QUALITY NUTRITIONAL TRAITS OF COMMON BEAN: DIETARY FIBER AND SULFUR AMINO ACIDS

AUTHOR: PATRÍCIA MEDIANEIRA GRIGOLETTO LONDERO

ADVISER: NERINÉIA DALFOLLO RIBEIRO

Santa Maria, February 29th, 2008.

The common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) have high content of dietary fiber and protein of high quality, so it can be considered a functional food. The objectives of this work were: (1) to verify if occurs maternal effect for the insoluble fiber, soluble fiber, methionine and cysteine content in grains common bean; (2) to estimate the heritability and gain from selection for these traits; (3) to assess the composition of amino acids of early generations of common bean obtained from controlled crosses with genitor of high cysteine content. Six generations were obtained (F₁, F₁ reciprocal, F₂, F₂ reciprocal, retrocruzamento 1 - RCP₁ and retrocruzamento 2 - RCP₂) from crosses between genitors contrasting to the insoluble fiber (Guateian 6662 x Guapo Brilhante), soluble fiber (Guapo Brilhante x Pérola), methionine (BRS Valente x Iapar 44) and cysteine (TPS Nobre x Minuano) content. The soluble and insoluble fiber contents were determined by enzyme-gravimetric method and the amino acids content were determined by high performance liquid chromatography (HPLC). The experimental design was a completely randomized, with variable number of replications for generations obtained. The results showed presence of genetic variability for the insoluble fiber, methionine and cysteine contents. No was observed effect maternal significant for insoluble fiber, soluble fiber, methionine and cysteine contents in grains of common bean. Estimates of heritability moderate in the broad sense of 45.22% and gain from selection predicto of 10.15% was obtained for the insoluble fiber. Unable to estimate the heritability in the broad sense and in the narrow sense for soluble fiber, because of lack of genetic variability in different generations, and for the methionine and cysteine content, because genetic negative variances were obtained. The selection of plants F₂ obtained from crosses between Guateian 6662 x Guapo Brilhante and between BRS Valente x Iapar 44 may result in superior genotypes for the insoluble fiber and methionine content, respectively. The genitors TPS Nobre and Minuano and F₁ and F_{1r} generations showed essential amino acids and non-essential contents suitable for use in food. For the cysteine content, it is not possible to select any plant in the F₂ generation due to the low contents of this amino acid sulfur.

Key-words: *Phaseolus vulgaris* L.; maternal effect; heritability; gain from selection; functional food; protein quality.

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Graus de liberdade (GL) e quadrado médio para teor de fibra insolúvel e de fibra solúvel - em % da matéria seca, considerando os genitores (P_1 e P_2) e as gerações de feijão F_1 , F_1 recíproco, F_2 e F_2 recíproco obtidas nas combinações híbridas Guateian 6662 x Guapo Brilhante e Guapo Brilhante x Pérola. Santa Maria – RS, UFSM, 2007.....20
- Tabela 2 - Médias dos genitores (P_1 e P_2) e das gerações F_1 , F_2 , retrocruzamento 1 (RCP_1) e retrocruzamento 2 (RCP_2), parâmetros genéticos da geração F_2 e predição de ganho por seleção para os teores de fibra insolúvel e de fibra solúvel nos grãos de feijão para as combinações híbridas Guateian 6662 x Guapo Brilhante e Guapo Brilhante x Pérola. Santa Maria – RS, UFSM, 2007.....24
- Tabela 3 - Graus de liberdade (GL) e quadrado médio para teor de metionina e de cisteína – em g por 16 g de N da MS, considerando os genitores (P_1 e P_2) e as gerações de feijão F_1 , F_1 recíproco, F_2 e F_2 recíproco obtidas nas combinações híbridas BRS Valente x Iapar 44 e TPS Nobre x Minuano. Santa Maria – RS, UFSM, 2007.....31
- Tabela 4 - Médias dos genitores (P_1 e P_2) e das gerações F_1 , F_2 , retrocruzamento 1 (RCP_1) e retrocruzamento 2 (RCP_2), parâmetros genéticos da geração F_2 e predição de ganho por seleção para os teores de metionina e de cisteína nos grãos de feijão para as combinações híbridas BRS Valente x Iapar 44 e TPS Nobre x Minuano. Santa Maria – RS, UFSM, 2007.....35
- Tabela 5 - Composição de aminoácidos não essenciais e essenciais (em gramas por 16 g de N da matéria seca) e de proteína bruta (em gramas por 100 g de matéria seca) de grãos de feijão dos genitores (TPS Nobre x Minuano) e gerações obtidas a partir desse cruzamento. Santa Maria - RS, UFSM, 2007.....42
- Tabela 6 - Variâncias, variância percentual e acumulada das variáveis canônicas obtidas de seis aminoácidos avaliados, a partir do cruzamento entre TPS Nobre x Minuano e nas seis gerações desenvolvidas a partir desse cruzamento. Santa Maria - RS, UFSM, 2007.....45
- Tabela 7 - Teores médios de aminoácidos (em gramas por 16 g de N da matéria seca) dos dois grupos formados a partir do cruzamento entre TPS Nobre x Minuano, com base na matriz das distâncias de Mahalanobis, utilizando variáveis canônicas. Santa Maria - RS, UFSM, 2007.....47

Tabela 8 - Estimativas dos efeitos diretos e indiretos do teor prolina (Prol), tirosina (Tyr), arginina (Arg), isoleucina (Ile) e histidina (Hist) sobre o teor de cisteína (Cys) obtidas a partir do cruzamento entre TPS Nobre x Minuano e seis gerações desenvolvidas a partir desse cruzamento. Santa Maria - RS, UFSM, 2007.....48

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Genitores (P_1 e P_2) e gerações F_1 , F_1 recíproco, F_2 , F_2 recíproco com seus respectivos teores médios de fibra insolúvel (1) e de fibra solúvel (2) nos grãos de feijão e teste de significância dos contrastes entre P_1 vs P_2 , P_1 vs F_1 , P_2 vs F_{1r} , F_1 vs F_{1r} e F_2 vs F_{2r} obtidos para a fibra insolúvel (Guateian 6662 x Pérola) e para a fibra solúvel (Guapo Brilhante x Pérola). Santa Maria – RS, UFSM, 2007.....22
- Figura 2 - Genitores (P_1 e P_2) e gerações F_1 , F_1 recíproco, F_2 , F_2 recíproco com seus respectivos teores médios de metionina (1) e de cisteína (2) nos grãos de feijão e teste de significância dos contrastes entre P_1 vs P_2 , P_1 vs F_1 , P_2 vs F_{1r} , F_1 vs F_{1r} e F_2 vs F_{2r} obtidos para a metionina (BRS Valente x Iapar 44.....33
- Figura 3 - Dispersão dos escores dos genitores e das gerações obtidas a partir do cruzamento entre TPS Nobre x Minuano em relação às duas primeiras variáveis canônicas. Santa Maria - RS, UFSM, 2007.....46

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1 – Tipo de grão, Programa de Melhoramento obtentor/mantenedor da cultivar (origem), genealogia e hábito de crescimento (HC) das cultivares de feijão utilizadas como genitores para os estudos da genética dos teores de fibra insolúvel, de fibra solúvel, de metionina e de cisteína em grãos de feijão. Santa Maria – RS, UFSM, 2007.....	56
---	----

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	13
CAPÍTULO 1 – Parâmetros genéticos dos teores de fibra insolúvel e solúvel em grãos de feijão	
Resumo.....	15
Abstract.....	16
Introdução.....	16
Material e Métodos.....	18
Resultados e Discussão.....	20
Conclusões.....	25
CAPÍTULO 2 – Parâmetros genéticos dos teores de metionina e de cisteína em grãos de feijão	
Resumo.....	26
Abstract.....	27
Introdução.....	27
Material e Métodos.....	29
Resultados e Discussão.....	31
Conclusões.....	36
CAPÍTULO 3 – Composição de aminoácidos de gerações precoces de feijão desenvolvidas a partir de cruzamentos com genitor de alto teor de cisteína	
Resumo.....	37
Abstract.....	38
Introdução.....	38
Material e Métodos.....	40
Resultados e Discussão.....	41
Conclusões.....	49
CONSIDERAÇÕES FINAIS	50
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51

INTRODUÇÃO

No Brasil, o feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é um dos alimentos mais consumidos, desempenhando importante função na dieta da população, pois os grãos apresentam altos teores de fibras, proteína (25%), carboidratos complexos (60 a 65%) e baixos teores de gordura (0,8 a 1,5%) e de sódio e não contém colesterol (HOSFIELD, 1991; HUGHES, 1991; MORROW, 1991; GEIL & ANDERSON, 1994). Além disso, é uma cultura de extrema importância social, pelo fato de ser produzido por pequenos produtores, o que contribui para a manutenção de emprego no meio rural.

O feijão é um alimento que possui quantidades significativas das frações insolúvel e solúvel da fibra (HUGHES, 1991), por isso pode ser utilizado como um alimento funcional. Isso porque, a fibra insolúvel atua no organismo prevenindo o câncer de cólon e o de mama, diverticulose e problemas intestinais (OLSON et al., 1987; MOORE et al., 1998). Por sua vez, a fração solúvel da fibra tem a propriedade de reduzir o colesterol sanguíneo, melhorar a intolerância à glicose e prevenir doenças cardiovasculares (OLSON et al., 1987; HUGHES, 1991; MOORE et al., 1998).

Essa leguminosa é uma das principais espécies que contribui como fonte protéica para a alimentação da população brasileira. No entanto, a proteína considerada de boa qualidade ou de alto valor biológico é aquela que fornece quantidades adequadas de aminoácidos essenciais (MORALES DE LEON et al., 2005). Para o ser humano, são essenciais os aminoácidos: isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano, histidina e valina (FRANCO, 2005).

O feijão é um alimento que apresenta em sua constituição todos os aminoácidos essenciais, sendo rico em lisina, porém limitante em aminoácidos sulfurados (metionina + cisteína) (ANTUNES et al., 1995; FONSECA MARQUES & BORA, 2000; GUZMÁN-MALDONADO et al., 2000; PIRES et al., 2006). Por isso, a combinação com cereais (arroz ou milho) se faz necessária, para que se obtenha uma dieta com conteúdo de aminoácidos mais adequados aos requisitos nutricionais da espécie humana.

No entanto, várias cultivares de feijão, disponíveis para o cultivo no Brasil, apresentaram teores adequados de aminoácidos sulfurados quando comparados ao padrão da Food and Agriculture Organization FAO (1998) (RIBEIRO et al., 2007). Contudo é preciso considerar que os teores apresentados pela FAO são muito baixos, por isso nenhuma das cultivares avaliadas foi identificada como deficiente em aminoácidos sulfurados.

A metionina e a cisteína são aminoácidos que têm sido relacionados com efeitos benéficos ao organismo, devido à propriedade de formarem quelatos solúveis com o ferro, mantendo-o disponível para a absorção no intestino (BIANCHI, 1988). Além disso, a metionina exerce ação lipotrópica, atuando na prevenção do acúmulo de gordura no fígado (FRANCO, 2005).

Assim, o desenvolvimento de cultivares de feijão com perfil nutricional diferenciado quanto aos teores de fibra insolúvel e solúvel, é desejável para a prescrição de dietas específicas, para auxiliar no controle e na prevenção de diversas doenças crônicas não transmissíveis. Também, a obtenção de cultivares de feijão com proteína de alto valor biológico, ou seja, com teores adequados de aminoácidos sulfurados (metionina + cisteína), assume extrema relevância quando se considera a contribuição do feijão para a manutenção do estado nutricional de grande parte da população brasileira.

Até o presente, não se tem conhecimento da genética das fibras insolúvel e solúvel, de maneira individualizada, e dos aminoácidos sulfurados, em grãos de feijão. Também, não se tem informações se ocorre alteração na composição de aminoácidos essenciais e não-essenciais, quando se modifica o teor de cisteína em feijão. Assim, justifica-se o estudo desses caracteres para maximizar os ganhos que poderão ser obtidos com a seleção e, também, para verificar se a seleção para aumento do teor de cisteína não comprometerá a disponibilidade dos demais aminoácidos. Sendo assim, foram objetivos deste trabalho:

- 1) Verificar se ocorre efeito materno para os teores de fibra insolúvel e solúvel em grãos de feijão e obter estimativas de herdabilidade e de ganho por seleção para esses caracteres.
- 2) Investigar a ocorrência de efeito materno na expressão dos teores de metionina e de cisteína em grãos de feijão e obter estimativas de herdabilidade e de ganho por seleção para esses caracteres.
- 3) Avaliar a composição de aminoácidos de gerações precoces de feijão obtidas a partir de cruzamentos controlados com genitor de alto teor de cisteína e identificar os aminoácidos que evidenciam os maiores efeitos diretos e indiretos sobre o teor de cisteína em feijão, além de selecionar plantas F_2 para o desenvolvimento de germoplasma de feijão com alto teor de cisteína.

CAPÍTULO 1

PARÂMETROS GENÉTICOS DOS TEORES DE FIBRA INSOLÚVEL E SOLÚVEL EM GRÃOS DE FEIJÃO

GENETIC PARAMETERS OF THE INSOLUBLE AND SOLUBLE FIBER CONTENTS IN COMMON BEAN GRAINS

RESUMO

Os objetivos desse trabalho foram verificar se ocorre efeito materno para os teores de fibra insolúvel e solúvel nos grãos de feijão e estimar a herdabilidade e o ganho por seleção para esses caracteres. Os cruzamentos foram conduzidos em casa-de-vegetação entre os genitores Guateian 6662 x Guapo Brilhante, para fibra insolúvel, e entre Guapo Brilhante x Pérola, para a fibra solúvel, durante o ano de 2006. Com os grãos de feijão das gerações obtidas F_1 , F_1 recíproco, F_2 , F_2 recíproco, retrocruzamento 1 (RCP₁) e retrocruzamento 2 (RCP₂), e dos genitores foram determinados os teores de fibra insolúvel e solúvel, pelo método enzimático-gravimétrico. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com duas repetições para os genitores, três repetições para as gerações F_1 , F_1 recíproco, RCP₁ e RCP₂ e seis repetições para as gerações F_2 e F_2 recíproco. Os resultados obtidos revelaram presença de variabilidade genética para a fibra insolúvel. Não se observou efeito materno significativo na expressão da fibra insolúvel e da fibra solúvel em feijão. Estimativa moderada de herdabilidade em, sentido amplo, de 45,22% e ganho por seleção predito de 10,15% foram obtidos para a fibra insolúvel. Para a fibra solúvel, não foi possível estimar a herdabilidade, devido à ausência de variabilidade genética nas gerações precoces. Plantas da geração F_2 , obtidas a partir do cruzamento entre Guateian 6662 x Guapo Brilhante, serão selecionadas pelo programa de melhoramento para o desenvolvimento de populações segregantes com alto teor de fibra insolúvel em feijão.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris* L., fibra alimentar, variabilidade genética, efeito materno, herdabilidade, ganho por seleção.

ABSTRACT

The objectives of this work were to verify if occurs maternal effect for insoluble and soluble fiber contents in the common bean grains and to estimate the heritability and the gain from selection for these traits. Crosses were performed inside a greenhouse between the genitors Guateian 6662 x Guapo Brilhante, for insoluble fiber, and between Guapo Brilhante x Pérola, for soluble fiber, during the year of 2006. The grains F_1 , F_1 reciprocal, F_2 , F_2 reciprocal, backcross 1 (BCP_1) and backcross 2 (BCP_2) generations and of the genitors were determined the insoluble and soluble fiber contents, by gravimetric-enzymatic method. The experimental design used was completely randomized with two replications for the genitors, three replications for F_1 , F_1 reciprocal, BCP_1 and BCP_2 generations and six replications for F_2 and F_2 reciprocal generations. The results obtained showed genetic variability for the insoluble fiber content. Maternal effect significant for insoluble and soluble fiber contents was not verified in common bean grains. Moderate estimate of broad-sense heritability of 45.22% and gain from selection predicted of 10.15% were obtained for the insoluble fiber content. For the soluble fiber, was not possible to estimate the heritability, due to absence of genetic variability in early generations. Plants of the F_2 generation, obtained from cross between Guateian 6662 x Guapo Brilhante, will be selected by program of improvement to the development of segregating populations with high insoluble fiber content in common bean.

Key words: *Phaseolus vulgaris* L., dietary fiber, genetic variability, maternal effect heritability, gain from selection.

INTRODUÇÃO

Atualmente, existe grande demanda da população por alimentos funcionais que, além de fornecerem os nutrientes necessários ao organismo, proporcionem benefícios à saúde. Nessa categoria, os alimentos ricos em fibra alimentar podem ser incluídos, pois a sua utilização, dentro de uma dieta equilibrada, pode reduzir os riscos de manifestação de algumas doenças crônicas não transmissíveis. Isso se deve as frações insolúvel e solúvel que compõem a fibra alimentar, exercendo efeitos fisiológicos distintos no organismo (YALÇIN et al., 2007).

As fibras insolúveis são, em geral, pouco fermentadas e possuem a capacidade de reter mais água, o que provoca aumento do volume fecal e da pressão osmótica, diminuindo o tempo de passagem do alimento pelo trato gastrointestinal. Como consequência, preveni a

constipação, a diverticulite e o câncer de cólon (MOORE et al., 1998; VANDERHOOF, 1998; MAFFEI, 2004). Por outro lado, as fibras solúveis possuem alto grau de fermentação no intestino, produzindo ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), como o acetato, butirato e propionato. Esses AGCC exercem funções importantes na fisiologia do intestino, como principal fonte de energia para as células do cólon, melhora do fluxo sanguíneo, diminuição do pH, atuando, também, como agente hipoglicemiante e hipocolesterolemiantes (OLSON, 1987; MOORE et al., 1998; VANDERHOOF, 1998).

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) apresenta três partes de fibra insolúvel para uma parte de fibra solúvel em seus grãos (LONDERO et al., 2006a), sendo essa proporção considerada ideal para o consumo humano (MAHAN, 2002). Além disso, as cultivares de feijão apresentam, em média 25,04% de fibra alimentar (LONDERO et al., 2006b), superando os teores observados em cereais (trigo, arroz e milho) e em várias hortaliças (ACEVEDO & BRESSANI, 1990).

Presença de variabilidade genética em grãos de feijão tem sido verificada para as diferentes frações da fibra. ACEVEDO & BRESSANI (1990) constataram teores de fibra insolúvel de 22,87 a 28,12% e de 2,88 a 3,27% de fibra solúvel em grãos de feijão roxo. Por sua vez, CRUZ et al. (2004) observaram teores entre 15,83 a 34,65% de fibra insolúvel e de 1,85 a 7,06% de fibra solúvel em amostras de 11 cultivares de feijão de vários grupos comerciais. LONDERO et al. (2006b) verificaram teores de 19,15 a 23,51% para fibra insolúvel e de 1,61 a 5,09% de fibra solúvel ao avaliarem 19 cultivares de feijão, em cultivo no Brasil.

Estimativas de herdabilidade, em sentido amplo, de 36,30% e de 48,59% foram observadas para a fibra insolúvel e solúvel, respectivamente, na combinação Valente x Varre Sai (LONDERO et al., 2006a). Assim, estimativa baixa para a fibra insolúvel e moderada para a fibra solúvel foram constatadas, indicando forte efeito da variância ambiental, sugerindo dificuldades na seleção para esses caracteres.

Outro fator a ser considerado na seleção, é a presença ou não de efeito materno significativo na herança de um determinado caráter. O efeito materno é um caso especial de herança, em que os descendentes representam o genótipo do genitor feminino, podendo ocorrer por uma ou duas gerações (RAMALHO, 2000). Existência de efeito materno foi observada para teor de proteína nos grãos de feijão (LELEJI et al., 1972) e para a capacidade de cozimento dos grãos (RIBEIRO et al., 2006). Nestes casos, a geração F₁ representa o genótipo materno, a expressão da geração F₁ ocorrerá na geração F₂ e a expressão da geração F₂ somente será observada na geração F₃, quando a seleção terá início (RAMALHO, 2000).

Assim, para que seja possível o desenvolvimento de germoplasma de feijão com teores diferenciados de fibra insolúvel e solúvel, que possam ser recomendados para dietas específicas, é importante o conhecimento do controle genético desses caracteres de maneira individualizada.

Sendo assim, foram objetivos desse trabalho: (1) verificar se ocorre efeito materno para os teores de fibra insolúvel e solúvel nos grãos de feijão e (2) estimar a herdabilidade e o ganho por seleção para esses caracteres.

MATERIAL E MÉTODOS

Os genitores utilizados para as hibridações controladas foram definidos com base na interpretação dos resultados obtidos por LONDERO et al. (2006b). Assim, foram selecionados dois genitores contrastantes para o teor de fibra insolúvel - Guateian 6662 (23,51%) e Guapo Brilhante (19,15%) e dois genitores, para a fibra solúvel - Guapo Brilhante (5,09%) e Pérola (1,61%).

A partir dos cruzamentos realizados entre esses genitores obtiveram-se as gerações F_1 , F_1 recíproco, F_2 , F_2 recíproco e os retrocruzamentos: RCP_1 e RCP_2 , no ano de 2006, em casa-de-vegetação do Departamento de Fitotecnia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria, RS. As hibridações controladas foram realizadas com a emasculação do botão floral, utilizando o método de entrelaçamento, descrito em PETERNELLI & BORÉM (1999).

Duas plantas foram cultivadas em vaso plástico de capacidade para 5 L, contendo uma mistura de solo, casca de arroz carbonizada e substrato comercial Plantimax®, na proporção volumétrica de 2:1:1. O solo utilizado pertence à unidade de Mapeamento Santa Maria (Argissolo Bruno Acinzentado alítico típico) e a adubação foi realizada de acordo com a interpretação da análise química do solo. Irrigações diárias e o controle de insetos e de doenças foram realizados sempre que necessário, de forma a garantir o desenvolvimento normal das plantas de feijão e para manter a integridade dos botões florais.

A colheita foi realizada individualmente por vagem para as gerações F_1 , F_1 recíproco, RCP_1 e RCP_2 e por planta para as gerações F_2 e F_2 recíproco. Amostras dos grãos de cada geração foram moídas em micro-moinho, até obter tamanho de partícula inferior a 1 mm. Logo após, as amostras foram armazenadas em embalagens plásticas, devidamente identificadas, e conservadas sob refrigeração até o momento da quantificação dos teores de fibra insolúvel e solúvel das amostras. As análises foram realizadas no Núcleo Integrado de

Desenvolvimento em Análises Laboratoriais (NIDAL) da UFSM. O método enzimático-gravimétrico foi utilizado para a quantificação da fibra alimentar descrito pela Association of Official Agricultural Chemists AOAC (1995). Assim, os teores de fibra insolúvel e total foram determinados analiticamente e o teor de fibra solúvel, por diferença.

Os dados obtidos, em cada combinação híbrida, para os genitores e as gerações F_1 e F_2 e seus respectivos recíprocos foram submetidos à análise da variância e teste F a 5% de probabilidade de erro para verificar a existência de variabilidade genética, sendo adotado o delineamento experimental inteiramente casualizado. Para testar a hipótese de efeito materno, efetuou-se a comparação entre médias pelo teste t 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, sendo utilizado a média de duas repetições para os genitores, três repetições para as gerações F_1 e F_1 recíproco e seis repetições para as gerações F_2 e F_2 recíproco.

As estimativas dos parâmetros genéticos foram obtidas com as variâncias dos genitores P_1 e P_2 , e das gerações F_1 , F_2 , RCP_1 e RCP_2 , com base na geração dos cotilédones. Para cada combinação híbrida foram utilizadas duas repetições para os genitores, três repetições para a geração F_1 , seis repetições para a geração F_2 e três repetições para as gerações RCP_1 e RCP_2 .

A herdabilidade foi estimada, em sentido amplo ($h^2_a = \sigma^2_G / \sigma^2_P$) e, em sentido restrito ($h^2_r = \sigma^2_A / \sigma^2_P$), onde: $\sigma^2_A = \text{variância aditiva} = 2\sigma^2_{F_2} - (\sigma^2_{RCP_1} + \sigma^2_{RCP_2})$, $\sigma^2_P = \sigma^2_{F_2}$, de acordo com o método dos retrocruzamentos proposto por WARNER (1952). A variância de ambiente em F_2 foi estimada por: $\sigma^2_E = 1/3(\sigma^2_{F_1} + \sigma^2_{P_1} + \sigma^2_{P_2})$.

A heterose na geração F_1 foi quantificada pela fórmula ($H\% = (F_1 - P) / P \times 100$) e pela heterobeliose ($HT\% = (F_1 - MP) / MP \times 100$), sendo que, $P = (P_1 + P_2) / 2$ e $MP = \text{melhor pai}$. Para a predição de ganhos por seleção, foi considerada a seleção de 50% das plantas com maior teor de fibra insolúvel e solúvel nos grãos em F_2 . O ganho esperado, considerando-se a seleção e a recombinação dos indivíduos superiores na geração F_2 , foi estimado pela expressão: $\Delta G = DS h^2_r$ e $\Delta G(\%) = (\Delta G \times 100) / \bar{F}_2$ onde: $DS = \text{Diferencial de seleção} = \bar{X}_s - \bar{X}_0$; $\bar{X}_s = \text{média dos indivíduos selecionados em } F_2$, $\bar{X}_0 = \text{média da geração } F_2$. Todas as análises estatísticas foram efetuadas com o auxílio do programa GENES (CRUZ, 2001).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise de variância observou-se efeito significativo para teor de fibra insolúvel nos grãos, evidenciando variabilidade genética entre os genitores e as gerações obtidas (Tabela 1). Assim, será possível a seleção para o teor de fibra insolúvel em feijão nas gerações precoces obtidas a partir do cruzamento entre Guateian 6662 x Guapo Brilhante.

Para a fibra solúvel, não se identificaram diferenças significativas para tratamentos, a partir do cruzamento entre Guapo Brilhante x Pérola (Tabela 1). Sendo assim, o teor de fibra solúvel não apresentou variação entre os genitores, geração F₁, F₁ recíproco, F₂ e F₂ recíproco, o que pode ser atribuído ao alto coeficiente de variação ambiental (C_{Ve}) obtido, conforme classificação proposta por GOMES (1990). Isso se deve ao fato de que a fibra solúvel é obtida pela diferença entre as frações total e insolúvel, ou seja, é determinada de forma indireta no método enzimático-gravimétrico. Baixa precisão experimental para o conteúdo de fibra solúvel em feijão já havia sido constatada (LONDERO et al., 2006a; LONDERO et al., 2008).

Tabela 1 - Graus de liberdade (GL) e quadrado médio para teor de fibra insolúvel e de fibra solúvel - em % da matéria seca, considerando os genitores (P₁ e P₂) e as gerações de feijão F₁, F₁ recíproco, F₂ e F₂ recíproco obtidas nas combinações híbridas Guateian 6662 x Guapo Brilhante e Guapo Brilhante x Pérola. Santa Maria – RS, UFSM, 2007

Causas da variação	GL	Quadrado Médio ⁽¹⁾	
		Fibra insolúvel	Fibra solúvel
Tratamento	5	21,09*	0,24 ^{ns}
Resíduo	16		
Total	21		
Média		17,69	3,53
C _{Ve} (%)		5,99	37,58
C _{Vg} (%)		13,48	14,33
C _{Vg} /C _{Ve}		2,25	0,38

⁽¹⁾* = Significativo a 5% de probabilidade de erro pelo teste F; ^{ns} = não significativo.

C_{Ve} (%) = coeficiente de variação de ambiente.

C_{Vg} (%) = coeficiente de variação genético.

O contraste entre os genitores Guateian 6662 (P₁) vs Guapo Brilhante (P₂) apresentou efeito significativo pelo teste t a 5% de probabilidade de erro (Figura 1). Assim, os genitores foram contrastantes para o teor de fibra insolúvel nos grãos de feijão, o que possibilita obter

variabilidade genética nas gerações desenvolvidas a partir desse cruzamento. Os contrastes P_1 vs F_1 e P_2 vs F_1 recíproco, foram significativos, ou seja, os teores de fibra insolúvel das gerações F_1 e F_{1r} diferiram dos teores apresentados por seus genitores maternos, comprovando que o teor de fibra insolúvel em feijão é dependente dos cotilédones, pois as gerações F_1 e F_{1r} representaram os produtos da fertilização. Para o contraste entre F_1 vs F_{1r} não foi observada diferença significativa, demonstrando que o fenótipo do descendente não será dependente do genótipo materno e qualquer um dos genitores poderá ser utilizado como genitor materno nos cruzamentos controlados. O contraste F_2 vs F_2 recíproco não foi significativo, reforçando que os fenótipos destas sementes são semelhantes. Assim, foi comprovado que não ocorre efeito materno na expressão do teor de fibra insolúvel em feijão e, por isso, a seleção de plantas individuais nas gerações F_2 e F_2 recíproco será eficiente, pois a heterozigose será máxima.

Entretanto, efeito materno significativo foi observado para o teor de proteína no grão de feijão (LELEJI et al., 1972) e para a capacidade de cozimento (RIBEIRO et al., 2006). Esses caracteres estão presentes em maior concentração no tegumento dos grãos, que é tecido materno desenvolvido a partir da parede do óvulo. Nestes casos, a geração F_1 representa o genótipo materno, ou seja, o genótipo da F_1 somente se expressará em F_2 e a seleção deverá ser postergada para a geração F_3 , quando a segregação será constatada (RAMALHO, 2000).

Para a fibra solúvel, o contraste realizado entre os genitores Guapo Brilhante (P_1) vs Pérola (P_2) evidenciou efeito significativo pelo teste t a 5% de probabilidade de erro (Figura 1). Assim, os genitores foram contrastantes para o teor de fibra solúvel nos grãos de feijão. Os contrastes entre as gerações P_1 vs F_1 e P_2 vs F_{1r} , não diferiram significativamente, o que indica que os teores de fibra solúvel das gerações F_1 e F_{1r} foram semelhantes aos valores dos genitores maternos. Os contrastes entre gerações F_1 e F_{1r} e entre F_2 vs F_{2r} não foram significativos, demonstrando que, também, não ocorre efeito materno significativo na expressão do teor de fibra solúvel em feijão.

Além disso, o teor de fibra solúvel obtido na geração F_1 foi intermediário aos valores observados nos genitores e o valor médio da geração F_2 foi semelhante ao teor médio da geração F_1 , indicando efeito de aditividade. Como a predominância de efeitos aditivos na expressão do caráter é de grande importância para o melhoramento de autógamias, pois não segrega de geração para geração (CARVALHO et al., 2001), se espera êxito na seleção para alto teor de fibra solúvel em gerações segregantes de feijão.

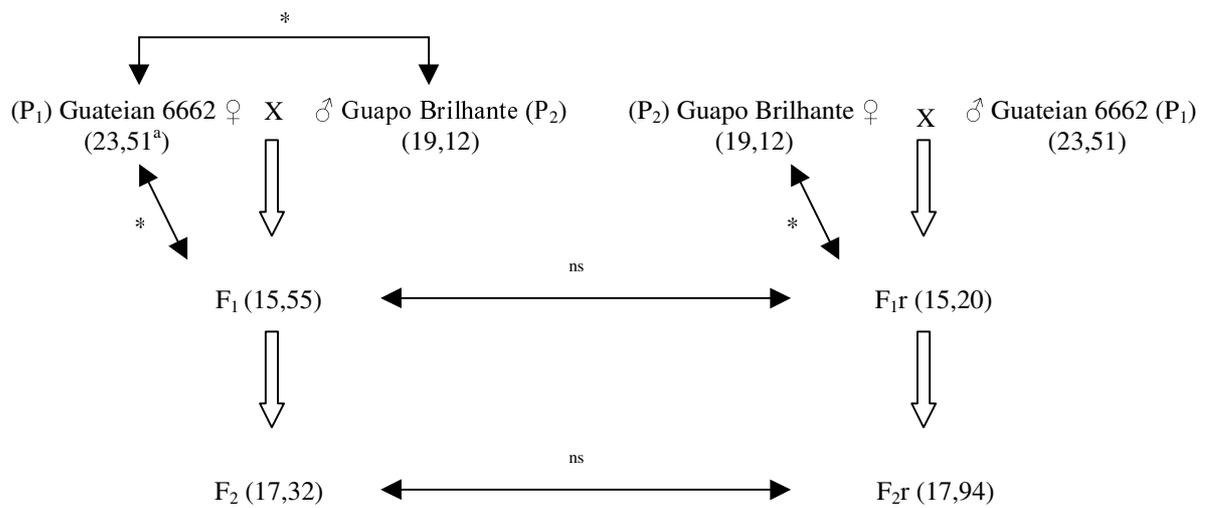
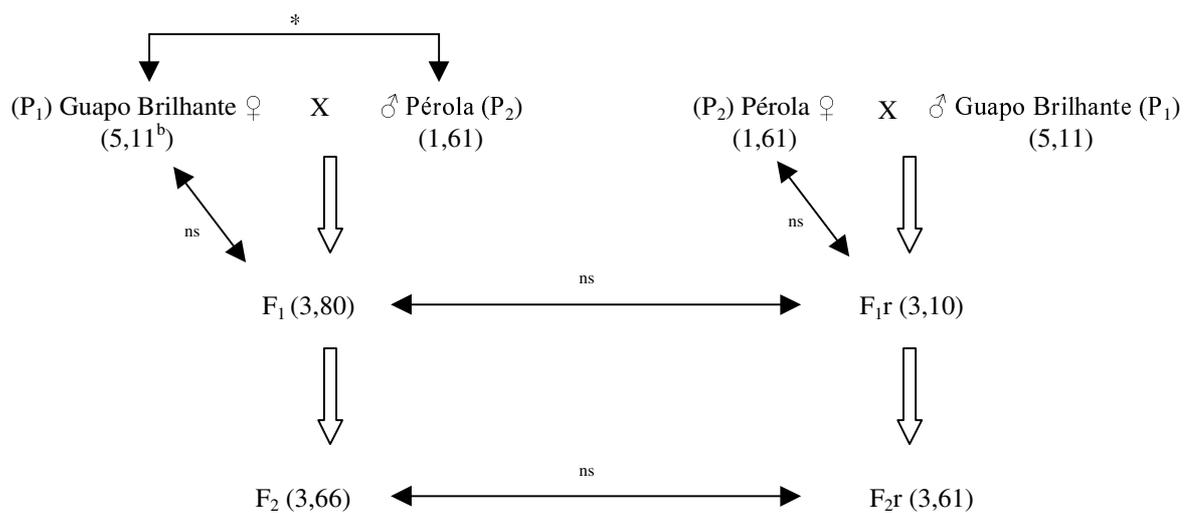
(1) Fibra insolúvel**(2) Fibra solúvel**

Figura 1 – Genitores (P₁ e P₂) e gerações F₁, F₁ recíproco, F₂, F₂ recíproco com seus respectivos teores médios de fibra insolúvel (1) e de fibra solúvel (2) nos grãos de feijão e teste de significância dos contrastes entre P₁ vs P₂, P₁ vs F₁, P₂ vs F_{1r}, F₁ vs F_{1r} e F₂ vs F_{2r} obtidos para a fibra insolúvel (Guateian 6662 x Pérola) e para a fibra solúvel (Guapo Brilhante x Pérola). Santa Maria – RS, UFSM, 2007

^a = Teor de fibra insolúvel (% da matéria seca); ^b = Teor de fibra solúvel (% da matéria seca); * = Contraste significativo; ^{ns} = Contraste não significativo.

Os teores de fibra insolúvel variaram de 13,86% (RCP₁) a 23,51% (Guateian 6662) (Tabela 2). Esses teores são inferiores aos verificados por outros autores (ACEVEDO & BRESSANI, 1990; CRUZ et al., 2004; LONDERO et al., 2005; LONDERO et al., 2006a). Além disso, os teores de fibra insolúvel obtidos nas gerações F₁ e F₂ foram muito próximos ao valor observado no genitor Guapo Brilhante (19,15%), indicando que ocorre dominância parcial para baixa fibra insolúvel em feijão. Dominância parcial no sentido de diminuir um caráter que confere qualidade nutricional ao feijão já havia sido constatada para proteína bruta (POLIGNANO, 1982).

As estimativas de variâncias auxiliam no estudo genético das características para quantificar a contribuição da genética e do ambiente na manifestação do fenótipo. Para a fibra insolúvel, a variância de ambiente apresentou maior expressão sobre a variância fenotípica e herdabilidade, em sentido amplo, moderada (45,22%) foi constatada (Tabela 2). Por sua vez, LONDERO et al. (2006a) observaram herdabilidade, em sentido amplo, baixa (36,30%) para a fibra insolúvel em feijão em gerações precoces obtidas no cruzamento entre Valente x Varre-Sai. Esses resultados indicam forte efeito da variância de ambiente sob o teor de fibra insolúvel, sugerindo que esse caráter é controlado por vários genes. Assim, a seleção em gerações mais avançadas, onde predominam os efeitos aditivos, seria mais adequada.

No sentido restrito, a herdabilidade apresentou valor de 194,29%, não possuindo valor biológico. A avaliação de gerações F₂ e de retrocruzamentos RCP₁ e RCP₂ com número reduzido de plantas contribuiu para elevar o erro dessa estimativa. Isso se deve a dificuldade de se realizar os cruzamentos manuais em feijão e a baixa eficiência de pegamento registrada, como consequência da alta taxa de abortamento de flores e de vagens, como também observado por KELLY & BLISS (1975a).

Os híbridos F₁ obtidos a partir do cruzamento entre Guateian 6662 x Guapo Brilhante apresentaram heterose negativa (-27,08), indicando que não foi possível obter híbridos F₁ superiores à média dos genitores. O valor da heterobeltiose também foi negativo (-33,84%), não havendo genótipo com valor superior ao melhor parental (Tabela 2). Sendo assim, os efeitos de dominância e/ou sobredominância foram poucos expressivos na expressão do teor de fibra insolúvel em feijão, pois não foi constatado vigor híbrido.

Tabela 2 - Médias dos genitores (P_1 e P_2) e das gerações F_1 , F_2 , retrocruzamento 1 (RCP_1) e retrocruzamento 2 (RCP_2), parâmetros genéticos da geração F_2 e predição de ganho por seleção para os teores de fibra insolúvel e de fibra solúvel nos grãos de feijão para as combinações híbridas Guateian 6662 x Guapo Brilhante e Guapo Brilhante x Pérola. Santa Maria – RS, UFSM, 2007

Genitor e Geração	Fibra insolúvel	Fibra solúvel
	Guateian 6662 x G. Brilhante	Guapo Brilhante x Pérola
	% da matéria seca	
P_1	23,51	5,11
P_2	19,15	1,61
F_1	15,55	3,80
F_2	17,32	3,66
RCP_1	13,86	3,64
RCP_2	14,55	-
Média	17,18	3,60
CVe (%)	5,57	34,73
	Parâmetros genéticos da geração F_2	
Variância fenotípica (σ^2_p)	1,38	-
Variância ambiente ($\sigma^2_E F_2$)	0,75	-
Variância genética (σ^2_G)	0,62	-
Variância aditiva (σ^2_A)	2,68	-
Herdabilidade ampla (h^2_a)	45,22	-
Herdabilidade restrita (h^2_r)	194,29	-
Heterose (H%)	-27,08	-
Heterobeltiose (%)	-33,84	-
Valor máximo nos genitores	23,71	5,13
Valor mínimo nos genitores	19,12	1,41
Valor máximo na F_2	18,52	6,33
Valor mínimo na F_2	15,63	1,85
	Predição de ganhos por seleção	
Plantas selecionadas em F_2	2, 3 e 5	4, 6 e 3
Média original da F_2	17,32	3,66
Média das plantas selecionadas	18,22	4,74
Diferencial de seleção (DS)	0,91	1,08
Ganho por seleção (ΔG)	1,76	0,57
Ganho por seleção ($\Delta G\%$)	10,15	15,49
Média predita para 1º ciclo após seleção	19,08	4,22

CVe (%) = coeficiente de variação de ambiente.

A predição do ganho por seleção permite antever o êxito que se terá com a seleção das melhores plantas. Assim, ganhos por seleção de 10,15% podem ser esperados para a fibra insolúvel e a média predita para o primeiro ciclo após a seleção será de 19,08% (Tabela 2). Além disso, os teores de fibra insolúvel obtidos nas gerações precoces foram superiores aos valores observados em aveia, que é considerada uma excelente fonte de fibra para a

alimentação (GUTKOSKI & TROMBETA, 1999). Além disso, o grão de feijão apresenta três partes de fibra insolúvel para uma parte de fibra solúvel (LONDERO et al., 2006a), que é a proporção considerada ideal para o consumo humano, conforme sugerido por MAHAM (2002). Por isso, a seleção das plantas 2, 3 e 5 poderá ser efetiva no desenvolvimento de germoplasma de feijão com teores elevados de fibra insolúvel, que poderão ser utilizados em dietas específicas para reduzir a constipação, a diverticulite e atuar na prevenção de outras doenças intestinais (MOORE et al., 1998).

Para a fibra solúvel, obteve-se valor máximo de 6,33% na geração F_2 , superando os teores observados nos genitores, caracterizando segregação transgressiva na manifestação do teor de fibra solúvel em feijão. Resultado este que sugere ser possível a obtenção de germoplasma de feijão com alto teor de fibra solúvel que poderá ser recomendado nos tratamentos da diabete e do colesterol e na prevenção de doenças cardiovasculares (OLSON et al., 1987; MOORE et al., 1998).

Considerando que é possível aumentar o teor de fibra insolúvel e solúvel em feijão por melhoramento clássico é preciso avaliar os benefícios que essas cultivares proporcionariam a saúde, quando utilizadas como parte integrante de uma alimentação balanceada.

CONCLUSÕES

Não há efeito materno na expressão dos teores de fibra insolúvel e solúvel em grãos de feijão.

Plantas da geração F_2 , obtidas a partir do cruzamento entre Guateian 6662 x Guapo Brilhante, serão selecionadas pelo programa de melhoramento para o desenvolvimento de populações segregantes com alto teor de fibra insolúvel em feijão.

CAPÍTULO 2

PARÂMETROS GENÉTICOS DOS TEORES DE METIONINA E DE CISTEÍNA EM GRÃOS DE FEIJÃO

GENETIC PARAMETERS OF METHIONINE AND CYSTEINE CONTENTS IN COMMON BEAN GRAINS

RESUMO

Os objetivos desse trabalho foram investigar a presença de efeito materno para os teores de metionina e de cisteína nos grãos de feijão, bem como estimar a herdabilidade e o ganho por seleção para esses caracteres. As gerações F_1 , F_1 recíproco, F_2 , F_2 recíproco, retrocruzamento 1 (RCP_1) e retrocruzamento 2 (RCP_2) foram obtidas em casa-de-vegetação, a partir do cruzamento entre BRS Valente x Iapar 44, para a metionina, e entre TPS Nobre x Minuano, para a cisteína. Amostras dos grãos de cada geração foram avaliadas por cromatografia líquida de alta performance (HPLC). O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com número variável de repetições para as diferentes gerações. Os resultados obtidos revelaram presença de variabilidade genética para a metionina e para a cisteína. Não foi constatada presença de efeito materno significativo para os teores de metionina e de cisteína em grãos de feijão. Não foi possível estimar a herdabilidade em sentido amplo e em sentido restrito, pois variâncias genéticas negativas foram obtidas. A seleção de plantas na geração F_2 , obtida a partir do cruzamento entre BRS Valente x Iapar 44, poderá resultar em genótipos com maiores teores de metionina, devido aos elevados teores observados. Nenhuma planta na geração F_2 , obtida no cruzamento TPS Nobre x Minuano, é passível de seleção devido aos baixos teores de cisteína verificados.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris* L., aminoácidos sulfurados, variabilidade genética, efeito materno, herdabilidade, ganho por seleção.

ABSTRACT

The objectives of this work were to investigate the presence of maternal effect for methionine and cysteine contents in the common bean grains, as well as to estimate the heritability and the gain from selection for these traits. F₁, F₁ reciprocal, F₂, F₂ reciprocal, backcross 1 (BCP₁) and backcross 2 (BCP₂) generations were obtained in greenhouse from the cross between BRS Valente x Iapar 44, for the methionine content, and between TPS Nobre x Minuano, for the cysteine content. Samples of the grains of each generation were evaluated by high performance liquid chromatography (HPLC). The experimental design was completely randomized, with variable number of replications for the different generations. The results obtained showed presence of genetic variability for the methionine and the cysteine contents. It was not evidenced presence of maternal effect significant for methionine and cysteine contents in common bean grains. It was not possible to estimate the heritability in broad-sense and narrow-sense, therefore negatives genetics variances were obtained. The selection of plants in the F₂ generation obtained from cross between BRS Valente x Iapar 44 could to result in genotypes with highest of methionine content, due to high content observed. None plant in the F₂ generation, obtained from the cross TPS Nobre x Minuano, is likely to selection due to the low cysteine content verified.

key-words: *Phaseolus vulgaris* L., sulfur amino acids, genetic variability, maternal effect, heritability, gain from selection.

INTRODUÇÃO

A qualidade da proteína do alimento é determinada, principalmente, pela constituição de aminoácidos essenciais e pela digestibilidade (MORALES DE LEON et al., 2005; PIRES et al., 2006). Para o ser humano, são essenciais os aminoácidos: isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano, histidina e valina (FRANCO, 2005).

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) possui metade do teor protéico quando comparado à soja, contudo é de maior digestibilidade protéica (78,70% contra 71,76%) (PIRES et al., 2006). Além disso, contém todos os aminoácidos essenciais, sendo rico em lisina, mas limitante em aminoácidos sulfurados - metionina e cisteína (EVANS & BANDEMER, 1967; KELLY & BLISS, 1975b; ABD EL-SAMEI & LÁSZTITY, 1984; ANTUNES et al., 1995; FONSECA MARQUES & BORA, 2000; GUZMÁN-MALDONADO et al., 2000; PIRES et

al., 2006). Assim, a combinação do feijão com cereais (arroz ou milho) se faz necessária para que se obtenha uma dieta balanceada quanto aos teores de aminoácidos, em decorrência do efeito complementar do alto conteúdo de lisina do feijão com o alto teor de aminoácidos sulfurados dos cereais (LAJOLO et al., 1996).

Os teores de aminoácidos sulfurados em grãos de feijão apresentam diferenças genéticas. KELLY & BLISS (1975b) observaram teores de 0,87 g a 1,32 g por 16 g de N da matéria seca (MS) para metionina e de 0,41 g a 0,86 g por 16 g de N da MS para cisteína em quatro linhagens, nos Estados Unidos. No Brasil, variação entre 1,13 g a 1,42 g por 16 g de N da MS para o teor de metionina e entre 1,11 g a 1,51 g por 16 g de N da MS para o teor de cisteína foi obtida em quatro cultivares de feijão (ANTUNES et al., 1995). Teores de metionina entre 1,01 g a 1,10 g por 16 g de N da MS foram observados em três cultivares de feijão (FONSECA MARQUES & BORA, 2000). Valores compreendidos entre 0,73 g a 1,15 g por 16 g de N da MS para o teor de metionina e entre 0,84 g a 1,74 g por 16 g de N da MS para o teor de cisteína foram verificados em 19 cultivares de feijão (RIBEIRO et al., 2007). Além disso, presença de interação genótipos x ambientes tem sido verificada para os teores de aminoácidos sulfurados (KELLY & BLISS, 1975a; GUZMÁN-MALDONADO et al., 2000), o que sugere dificuldades para a seleção devido ao pronunciado efeito do ambiente.

Assim, é possível aumentar os teores de metionina e de cisteína nos grãos de feijão, por meio de melhoramento genético, pois há variabilidade genética. Para tanto, é preciso investigar se ocorre efeito materno na expressão do teor de metionina e de cisteína em feijão. Efeito materno foi observado para o teor de proteína nos grãos de feijão (LELEJI, 1972) e para globulina G1 - proteína de reserva (HALL et al., 1977). Essas características estão presentes em maior concentração no tegumento dos grãos, que é tecido materno desenvolvido a partir da parede do óvulo. Assim, a seleção de sementes F_2 , colhidas de uma planta será inteiramente ineficaz, pelo fato de os fenótipos destas sementes serem semelhantes e representarem a expressão do genótipo da planta F_1 (RAMALHO, 2000).

Até o momento, não há informações se o teor de metionina e de cisteína, se concentra em maior quantidade no tegumento dos grãos ou nos cotilédones, o que determinará a presença ou não de efeito materno, pois esses tecidos estão em gerações diferentes. Havendo efeito materno, a geração F_1 não expressará o produto da fertilização, pois será idêntica ao genitor materno. O fenótipo da geração F_1 somente irá se expressar em F_2 e a segregação acontecerá em F_3 , ou seja a seleção deverá ser postergada. Além disso, para que seja possível o desenvolvimento de germoplasma de feijão com altos teores de metionina e de cisteína nos grãos, que possam suprir as necessidades diárias do organismo, sem a inclusão de

complementos adicionais na dieta, é importante a estimação dos parâmetros genéticos desses caracteres.

Sendo assim, este trabalho teve como objetivos: (1) investigar a presença de efeito materno para os teores de metionina e de cisteína nos grãos de feijão e (2) estimar a herdabilidade e o ganho por seleção para esses caracteres.

MATERIAL E MÉTODOS

A partir dos resultados obtidos por RIBEIRO et al. (2007) foram realizados cruzamentos controlados entre genitores contrastantes para o teor de metionina - BRS Valente (0,79 g por 16 g de N da MS) x Iapar 44 (0,97 g por 16 g de N da MS) e para o teor de cisteína - TPS Nobre (0,95 g por 16 g de N da MS) x Minuano (1,43 g por 16 g de N da MS). As gerações F_1 , F_1 recíproco, F_2 , F_2 recíproco, retrocruzamento 1 (RCP_1) e retrocruzamento 2 (RCP_2) foram obtidas para cada combinação híbrida.

As hibridações controladas foram efetuadas durante o ano de 2006 em casa-de-vegetação do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria - RS, utilizando o método de entrelaçamento com a emasculação do botão floral, descrita em PETERNELLI & BORÉM (1999).

Duas plantas de feijão foram cultivadas em vaso plástico de capacidade para 5 L contendo uma mistura de solo, substrato comercial Plantimax® e casca de arroz carbonizada, na proporção volumétrica de 2:1:1, respectivamente. O solo utilizado pertence à unidade de Mapeamento Santa Maria (Argissolo Bruno Acinzentado alítico típico) e a adubação foi realizada de acordo com a interpretação da análise química do solo.

Irrigações diárias e o controle de insetos e de doenças foram realizados sempre que necessário, de maneira a garantir o desenvolvimento normal das plantas de feijão e a integridade dos botões florais. A colheita das vagens foi realizada individualmente para as gerações F_1 , F_1 recíproco, RCP_1 e RCP_2 e para as gerações F_2 e F_2 recíproco, a colheita foi realizada, separadamente, por planta.

Amostras dos grãos de cada geração foram moídas em micro-moinho, até a obtenção de partículas inferiores a 1 mm. Logo após, as amostras foram armazenadas em embalagens plásticas, devidamente identificadas, e conservadas sob refrigeração até a realização das análises. A determinação dos teores dos aminoácidos sulfurados (metionina e cisteína) foram realizadas no Laboratório de Análises Micotoxicológicas (LAMIC), da UFSM, Santa Maria, RS, utilizando cromatografia líquida de alta performance (HPLC). As amostras foram

previamente hidrolisadas com ácido clorídrico (HCl) bidestilado 6N, seguida de derivação pré-coluna dos aminoácidos livres - com fenilisotiocianato (PITC), e a separação dos derivativos feniltiocarbamil-aminoácidos (PTC-aa) - em coluna de fase reversa C18 (Pico-Tag - 3,9x300 mm), com detecção por UV a 254 nm. A quantificação da amostra foi baseada na altura de cada pico de aminoácido, usando como referência a altura do pico do padrão interno de aminoácidos com concentração conhecida, e o padrão foi derivado nas mesmas condições e no mesmo tempo em que as amostras. Os resultados dos aminoácidos foram transformados para gramas por 16 g de N da matéria seca - MS. Para tanto, o valor de proteína bruta (PB) foi determinado pelo método de micro-Kjeldhal ($N \times 6,25$), segundo a metodologia descrita pela Association of Official Agricultural Chemists AOAC (1995). As análises de proteína bruta foram realizadas em triplicata.

Os dados obtidos, em cada combinação híbrida, para os genitores e as gerações F_1 e F_2 e seus respectivos recíprocos foram submetidos à análise da variância e teste F a 5% de probabilidade de erro para verificar a existência de variabilidade genética, sendo adotado o delineamento experimental inteiramente casualizado. Para testar a hipótese de efeito materno, efetuou-se a comparação entre médias pelo teste t 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, sendo utilizado a média de duas repetições para os genitores e para as gerações F_1 e F_1 recíproco e quatro repetições para as gerações F_2 e F_2 recíproco.

As estimativas dos parâmetros genéticos foram obtidas com as variâncias dos genitores P_1 e P_2 , e das gerações F_1 , F_2 , RCP_1 e RCP_2 , com base na geração dos cotilédones. Para cada combinação híbrida foram utilizadas duas repetições para os genitores, geração F_1 e RCP_1 e RCP_2 e quatro repetições para a geração F_2 .

A herdabilidade foi estimada, em sentido amplo ($h^2_a = \sigma^2_G / \sigma^2_P$) e, em sentido restrito ($h^2_r = \sigma^2_A / \sigma^2_P$), onde: $\sigma^2_A = \text{variância aditiva} = 2\sigma^2_{F_2} - (\sigma^2_{RCP_1} + \sigma^2_{RCP_2})$, $\sigma^2_P = \sigma^2_{F_2}$, de acordo com o método dos retrocruzamentos proposto por WARNER (1952). A variância de ambiente em F_2 foi estimada por: $\sigma^2_E = 1/3(\sigma^2_{F_1} + \sigma^2_{P_1} + \sigma^2_{P_2})$.

A heterose na geração F_1 foi quantificada pela fórmula ($H\% = (F_1 - P) / P \times 100$) e pela heterobeliose ($HT\% = (F_1 - MP) / MP \times 100$), sendo que, $P = (P_1 + P_2) / 2$ e $MP = \text{melhor pai}$. Para a predição de ganhos por seleção, foi considerada a seleção de 50% das plantas com maior teor de metionina e de cisteína nos grãos em F_2 . O ganho esperado, considerando-se a seleção e a recombinação dos indivíduos superiores na geração F_2 , foi estimado pela expressão: $\Delta G = DS h^2_r$ e $\Delta G(\%) = (\Delta G \times 100) / \bar{F}_2$ onde: $DS = \text{Diferencial de seleção} = \bar{X}_s -$

\bar{X}_0 ; \bar{X}_s = média dos indivíduos selecionados em F_2 , \bar{X}_0 = média da geração F_2 . Todas as análises estatísticas foram efetuadas com o auxílio do programa GENES (CRUZ, 2001).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Diferenças significativas entre os tratamentos foram constatadas para o teor de metionina em feijão, a partir do cruzamento entre BRS Valente x Iapar 44 (Tabela 3). Sendo assim, há variabilidade genética para o teor de metionina e a seleção poderá ser efetivada.

Para o teor de cisteína, também se constatou efeito significativo (Tabela 3). Assim, no cruzamento entre TPS Nobre x Minuano se observou variação para a cisteína entre os genitores e as gerações F_1 , F_1 recíproco, F_2 e F_2 recíproco.

Tabela 3 - Graus de liberdade (GL) e quadrado médio para teor de metionina e de cisteína – em g por 16 g de N da MS, considerando os genitores (P_1 e P_2) e as gerações de feijão F_1 , F_1 recíproco, F_2 e F_2 recíproco obtidas nas combinações híbridas BRS Valente x Iapar 44 e TPS Nobre x Minuano. Santa Maria – RS, UFSM, 2007

Causas da variação	GL	Quadrado Médio ⁽¹⁾	
		Metionina	Cisteína
g por 16 g de N da MS			
Tratamento	5	0,03*	0,14*
Resíduo	10		
Total	15		

Média		0,98	0,91
CVe (%)		8,16	10,18
CVg (%)		9,73	24,70
CVg/CVe		1,19	2,43

⁽¹⁾* = Significativo a 5% de probabilidade de erro pelo teste F; ^{ns} = não significativo.

CVe (%) = coeficiente de variação de ambiente.

CVg (%) = coeficiente de variação genético.

No cruzamento BRS Valente (0,79 g por 16 g de N da MS) x Iapar 44 (0,97 g por 16 g de N da MS), o contraste P_1 vs P_2 foi significativo, ou seja, o teste t discriminou diferenças genéticas entre os genitores para o teor de metionina (Figura 2). Os contrastes P_1 vs F_1 e P_2 vs F_{1r} não foram significativos, sendo assim as médias das gerações F_1 e F_1 recíproco foram similares ao genitor feminino utilizado nos cruzamentos controlados. As gerações F_1 e F_1

recíproco não diferiram significativamente, demonstrando que o fenótipo do descendente não será dependente do genótipo materno, ou seja não ocorre efeito materno na expressão do teor de metionina em feijão e o F_1 representa o produto da fertilização entre os genitores. O contraste F_2 vs F_2 recíproco não foi significativo, ou seja, os fenótipos destas sementes são semelhantes.

No entanto, presença de efeito materno para o teor de proteína (LELEJI et al., 1972) e de globulina G1 (HALL et al., 1977) foi verificada em feijão. Como os caracteres que conferem qualidade nutricional ao feijão podem apresentar ou não efeito materno significativo se faz necessário avaliar se o parâmetro considerado se concentra em maior quantidade no tegumento ou no cotilédone, pois estes tecidos estão em gerações diferentes (RAMALHO et al., 2000) e isso terá efeitos diretos na seleção. Considerando que não ocorre efeito materno significativo para o teor de metionina em feijão, a seleção deverá iniciar na geração F_2 , pois máxima heterozigose é esperada. Caso contrário, a seleção deverá ser postergada, pois somente em geração F_3 é que ocorrerá a expressão genética da geração F_2 .

Para o teor de cisteína, foi obtido contraste significativo entre os genitores TPS Nobre (P_1) vs Minuano (P_2), indicando variabilidade genética (Figura 2). O contraste F_1 vs F_1 recíproco não foi significativo, ou seja, os fenótipos destas sementes foram semelhantes, independentemente de qual cultivar foi utilizada como genitor materno nos cruzamentos controlados. As gerações F_2 e F_2 recíproco não diferiram significativamente, comprovando que também não ocorre expressão de efeito materno para o teor de cisteína em feijão. Portanto, em programas de hibridação controlada para aumentar o teor de cisteína em feijão, o genitor de alto teor poderá ser utilizado como genitor masculino ou feminino, indistintamente, pois não implicará em diferenças nos resultados obtidos na geração F_1 e a seleção de plantas individuais poderá ser realizada na geração F_2 com eficiência.

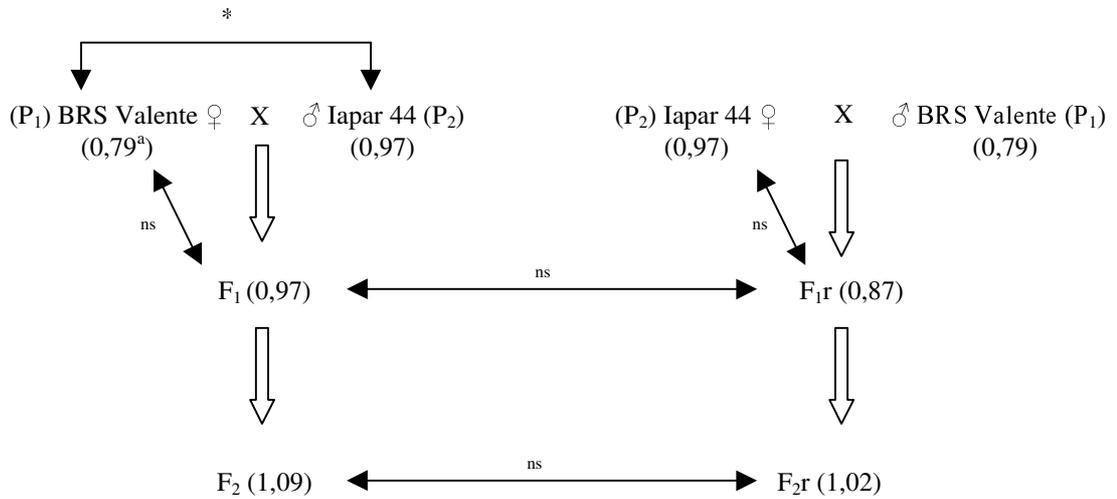
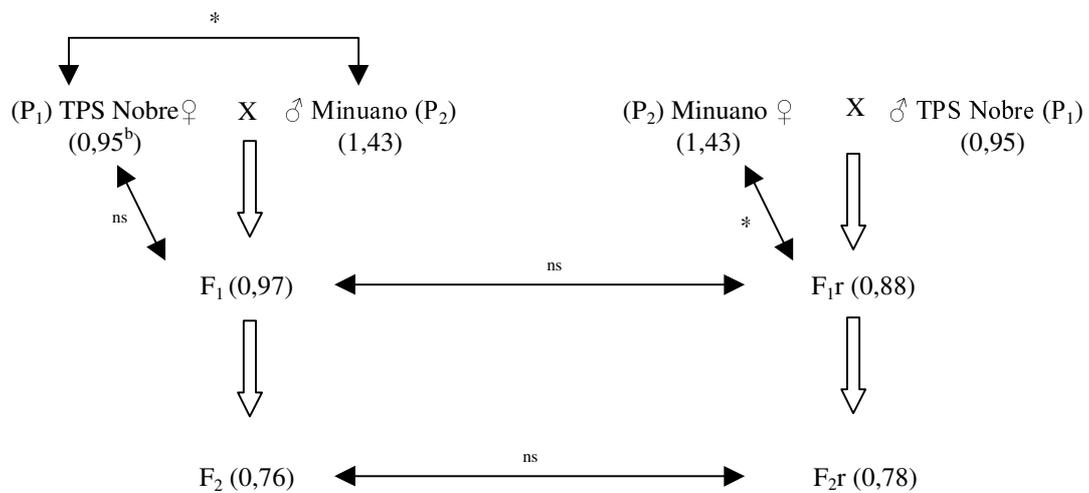
(1) Metionina**(2) Cisteína**

Figura 2 – Genitores (P₁ e P₂) e gerações F₁, F₁ recíproco, F₂, F₂ recíproco com seus respectivos teores médios de metionina (1) e de cisteína (2) nos grãos de feijão e teste de significância dos contrastes entre P₁ vs P₂, P₁ vs F₁, P₂ vs F_{1r}, F₁ vs F_{1r} e F₂ vs F_{2r} obtidos para a metionina (BRS Valente x Iapar 44) e para a cisteína (TPS Nobre x Minuano). Santa Maria – RS, UFSM, 2007

^a = Metionina (g por 16 g de N da MS); ^b = Teor de cisteína (g por 16 g de N da MS); * = Contraste significativo; ns = Contraste não significativo.

O teor de metionina variou de 0,79 g (BRS Valente) a 1,09 g por 16 g de N da MS (F_2) (Tabela 4). Esses valores foram inferiores aos obtidos por ANTUNES et al. (1995) em quatro cultivares brasileiras de feijão (Rico 23, Rosinha -G2, Carioca e Piratã-1). No entanto, foram similares aos resultados verificados por KELLY & BLISS (1975b) ao avaliarem quatro linhagens de feijão, por FONSECA MARQUES & BORA (2000) em feijão Mulatinho, Massacar e Azuki e por RIBEIRO et al. (2007) ao analisarem 19 cultivares de feijão. Os teores de aminoácidos em feijão também são afetados pelo ambiente e pela interação genótipos x ambientes (RIBEIRO et al., 2007), por isso as diferenças observadas entre os trabalhos.

A herdabilidade estima quanto da variação fenotípica é devida a efeitos genéticos e valores próximos de 100% indicam que a característica é pouco influenciada pelo ambiente e, conseqüentemente, a maior parte da variação é devida a fatores genéticos (SILVA et al., 2002). Entretanto, no presente trabalho, não foi possível obter estimativas de herdabilidade, em sentido amplo e em sentido restrito, para o teor de metionina e de cisteína, pois variâncias genéticas negativas foram observadas. Isso pode ser atribuído ao número reduzido de plantas avaliadas nas gerações F_2 e de retrocruzamentos (RCP_1 e RCP_2), devido à dificuldade de se realizar os cruzamentos manuais e a baixa eficiência de pegamento registrada, como conseqüência da alta taxa de abortamento de flores e de vagens, como também observado por KELLY & BLISS (1975a). Além disso, a técnica de cromatografia líquida de alta performance (HPLC) apresenta um custo muito elevado, o que inviabiliza a quantificação dos aminoácidos em maior número de amostras.

Os híbridos F_1 obtidos, a partir do cruzamento entre BRS Valente x Iapar 44, apresentaram heterose de 10,23%, demonstrando superioridade da média obtida na geração F_1 em relação à média dos genitores (Tabela 4). Assim, a presença dos efeitos de dominância e de sobredominância explicariam o vigor híbrido constatado para metionina em feijão.

A predição do ganho por seleção permite antever o êxito na seleção. Ganhos por seleção de 9,67% podem ser esperados e a média predicta para o primeiro ciclo após a seleção será de 1,19 g por 16 g de N da MS (Tabela 4). Assim, a seleção de plantas na geração F_2 obtida para o cruzamento BRS Valente x Iapar 44 poderá resultar em germoplasma com maior teor de metionina, melhorando a qualidade protéica dos grãos de feijão, o que proporcionará benefícios à dieta da população. Além disso, a metionina exerce ação lipotrópica (FRANCO, 2005), atuando na prevenção do acúmulo de gordura no fígado e também pode proporcionar melhor absorção do ferro no organismo, prevenindo a anemia ferropriva.

Tabela 4 - Médias dos genitores (P_1 e P_2) e das gerações F_1 , F_2 , retrocruzamento 1 (RCP_1) e retrocruzamento 2 (RCP_2), parâmetros genéticos da geração F_2 e predição de ganho por seleção para os teores de metionina e de cisteína nos grãos de feijão para as combinações híbridas BRS Valente x Iapar 44 e TPS Nobre x Minuano. Santa Maria – RS, UFSM, 2007

Genitor e Geração	Metionina	Cisteína
	BRS Valente x Iapar 44	TPS Nobre x Minuano
	g por 16 g de N da MS	
P_1	0,79	0,95
P_2	0,97	1,43
F_1	0,97	0,97
F_2	1,09	0,76
RCP_1	1,04	0,74
RCP_2	0,90	0,69
Média	0,99	0,85
CVe%	9,36	13,31
	Parâmetros genéticos da geração F_2	
Variância fenotípica (σ^2_p)	0,01	0,02
Variância ambiente ($\sigma^2_E F_2$)	0,02	0,00
Variância genética (σ^2_G)	- ⁽¹⁾	- ⁽¹⁾
Variância aditiva (σ^2_A)	-	-
Herdabilidade ampla (h^2_a)	-	-
Herdabilidade restrita (h^2_r)	-	-
Heterose (H%)	10,23	-18,34
Valor máximo nos genitores	0,97	1,43
Valor mínimo nos genitores	0,79	0,95
Valor máximo na F_2	1,18	0,98
Valor mínimo na F_2	0,95	0,64
	Predição de ganhos por seleção	
Plantas selecionadas em F_2	4 e 3	2 e 1
Média original da F_2	1,09	0,76
Média das plantas selecionadas	1,16	0,87
Diferencial de seleção	0,07	0,11
Ganho por seleção (ΔG)	0,10	0,19
Ganho por seleção ($\Delta G\%$)	9,67	24,34
Média predicta para 1º ciclo após seleção	1,19	0,95

CVe (%) = coeficiente de variação de ambiente.

⁽¹⁾ Variância negativa.

Quanto ao teor de cisteína, verificou-se variação de 0,69 g (RCP_2) a 1,43 g por 16 g de N da MS (Minuano) (Tabela 4). Esses resultados obtidos são similares aos verificados por EVANS & BANDEMER (1967) e superiores àqueles obtidos por KELLY & BLISS (1975b). Heterose negativa (-18,34%) foi verificada no cruzamento entre TPS Nobre x Minuano.

Assim, a média obtida na geração F_1 foi inferior à média observada nos genitores, indicando ausência de vigor híbrido para o teor de cisteína em feijão.

Além disso, todas as gerações precoces apresentaram teores de cisteína similares a cultivar TPS Nobre (genitor com baixo teor desse aminoácido). Dessa maneira, dominância parcial para baixo teor de cisteína foi observada em feijão. Resultado semelhante foi observado para o teor de proteína em feijão (POLIGNANO, 1982). Por isso, a seleção de plantas F_2 obtidas a partir do cruzamento entre TPS Nobre x Minuano não será efetiva para aumentar o teor de cisteína nos grãos de feijão.

O desenvolvimento de germoplasma de feijão com teores adequados de aminoácidos sulfurados - metionina e cisteína – é um objetivo importante em programas de melhoramento genético. Desse modo, esse alimento poderá fornecer proteína de alta qualidade biológica, reduzindo assim o consumo de cereais, tornando a dieta menos calórica, sem onerar em custos adicionais.

CONCLUSÕES

Não ocorre efeito materno na expressão dos teores de metionina e de cisteína em grãos de feijão.

A seleção de plantas na geração F_2 , obtida a partir do cruzamento entre BRS Valente x Iapar 44, poderá resultar em genótipos com maiores teores de metionina, devido aos elevados teores observados.

No cruzamento TPS Nobre x Minuano, nenhuma planta F_2 é passível de seleção devido aos baixos teores de cisteína obtidos.

CAPÍTULO 3

COMPOSIÇÃO DE AMINOÁCIDOS DE GERAÇÕES PRECOSES DE FEIJÃO DESENVOLVIDAS A PARTIR DE CRUZAMENTOS COM GENITOR DE ALTO TEOR DE CISTEÍNA

AMINO ACID COMPOSITION OF COMMON BEAN EARLY GENERATIONS DEVELOPED FROM CROSS WITH HIGH CYSTEINE CONTENT GENITOR

RESUMO

Os objetivos desse trabalho foram determinar a composição de aminoácidos em gerações precoces de feijão, desenvolvidas a partir de cruzamentos com genitor de alto teor de cisteína, e identificar os aminoácidos que evidenciam os maiores efeitos diretos e indiretos sobre o teor de cisteína, além de selecionar plantas F_2 com alto teor de cisteína. As gerações F_1 , F_1 recíproco, F_2 , F_2 recíproco, retrocruzamento 1 (RCP₁) e retrocruzamento 2 (RCP₂) foram obtidas a partir do cruzamento entre TPS Nobre x Minuano. Os aminoácidos foram determinados por cromatografia líquida de alta performance (HPLC) e os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, de variáveis canônicas e de trilha. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com número variável de repetições para as diferentes gerações. Os aminoácidos cisteína, prolina, tirosina, arginina, isoleucina e histidina apresentaram variabilidade genética entre os genitores e as diferentes gerações. Os teores de aminoácidos essenciais e não-essenciais observados nos genitores e nas gerações F_1 e F_{1r} foram adequados para uso na alimentação. As demais gerações apresentaram deficiência de aminoácidos sulfurados. As duas primeiras variáveis canônicas explicaram 96,43% da variação total dos genótipos e dois grupos foram formados. Os teores de tirosina, arginina e prolina apresentaram os maiores efeitos diretos negativos sobre o teor de cisteína em feijão. Nenhuma planta da geração F_2 é passível de seleção pelo programa de melhoramento para o desenvolvimento de populações segregantes de feijão com alto teor de cisteína.

Palavras-chave: *Phaseolus vulgaris* L., qualidade protéica, variabilidade genética, aminoácidos sulfurados, variáveis canônicas, análise de trilha.

ABSTRACT

The objectives of this study were to determine the composition of amino acids in grains of the common bean early generations developed from cross with genitor of high cysteine content and identify the amino acids that showed the largest direct and indirect effects on the cysteine content and to select plants of the F₂ generation with high cysteine content. F₁, F₁ reciprocal, F₂, F₂ reciprocal, backcross 1 (RCP₁) and backcross 2 (RCP₂) generations were obtained from cross between TPS Nobre x Minuano. The amino acids contents were determined by high performance liquid chromatography (HPLC) and the data were submitted the analysis of variance, canonic variables and path analysis. The experimental design used was a completely randomized, with variable number of replications for different generations. The cysteine, proline, tyrosine, arginine, isoleucine and histidine showed genetic variability between genitors and the different generations. The essential and non-essential amino acids contents observed in genitors and the F₁ and F_{1r} generations were appropriate for use in food. The others generations showed deficiency of sulfur amino acids. The first two canonic variables explained 96.43% of the total variation of genotypes and two groups were formed. The tyrosine, arginine and proline contents showed the largest negative direct effects on the cysteine content in common bean. None plant of the F₂ generation is likely to be selected by program of improvement to the development of segregating populations of common bean with high cysteine content.

Key-words: *Phaseolus vulgaris* L., protein quality, genetic variability, sulfur amino acids, canonic variables, path analysis.

INTRODUÇÃO

A proteína considerada de boa qualidade ou de alto valor biológico é aquela que fornece maior digestibilidade e quantidades adequadas de aminoácidos essenciais (MORALES DE LEON et al., 2005; PIRES et al., 2006). A ausência ou a ingestão inadequada de algum dos aminoácidos essenciais interfere no processo de constituição da proteína de tal maneira que pode fazer com que a dieta carente se comporte como aprotéica (SZARFARC et al., 1980).

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) tem sido referido como uma proteína de baixa qualidade, pois é deficiente em aminoácidos sulfurados - metionina e cisteína (EVANS & BANDEMER, 1967; ABD-EL-SAMEI & LÁSZTITY, 1984; GUZMÁN-MALDONADO et al., 2000). Assim, o aumento da qualidade protéica de dietas mistas, contendo feijão e cereais é importante devido ao efeito complementar do alto conteúdo de lisina do feijão, com o alto teor de aminoácidos sulfurados dos cereais (LAJOLO et al., 1996). Desse modo, o desenvolvimento de germoplasma de feijão com maior teor de metionina e cisteína possibilitará a redução do consumo de cereais, tornando a dieta menos calórica e vantajosa do ponto de vista nutricional, pois o feijão possui baixo conteúdo de gordura e de sódio, e não contém colesterol (HOSFIELD, 1991; MORROW, 1991).

A Food and Agriculture Organization (FAO), estabeleceu os padrões para os aminoácidos em alimentos (FAO, 1998), considerando as necessidades diárias de um indivíduo adulto. Nesse sentido, se o somatório metionina + cisteína for superior a 1,7 g por 16 g de N, a proteína apresenta teores de aminoácidos sulfurados adequados para uso na alimentação. RIBEIRO et al. (2007) observaram que várias cultivares de feijão, disponíveis para o cultivo no Brasil, apresentaram teores de aminoácidos sulfurados superiores ao padrão considerado adequado pela FAO (FAO, 1998). Além disso, os teores de metionina e de cisteína em feijão apresentaram diferenças genéticas (KELLY & BLISS, 1975b; ABD-EL-SAMEI & LÁSZTITY, 1984; RIBEIRO et al., 2007). Essa condição é essencial para o desenvolvimento de um alimento mais equilibrado nutricionalmente, por meio de melhoramento genético clássico.

Estimativas de herdabilidade, em sentido amplo de 43 a 52% e em sentido restrito de 52 a 89%, foram verificadas para o teor de metionina em grãos de feijão (KELLY & BLISS, 1975a). Nesse trabalho, foi possível obter gerações precoces de feijão com alto teor de metionina, a partir de cruzamentos controlados com genitor de alto teor de metionina. Entretanto, o controle genético do teor de cisteína não é conhecido e tão pouco se sabe sobre a ocorrência de alteração na composição dos aminoácidos essenciais e não essenciais, quando se modifica o teor de cisteína em feijão, pois o incremento de um aminoácido não pode comprometer a disponibilidade de outro aminoácido, sob o risco de comprometer a qualidade dessa proteína.

Assim, os objetivos desse trabalho foram: (1) avaliar a composição de aminoácidos de gerações precoces de feijão obtidas a partir de cruzamentos controlados com genitor de alto teor de cisteína; (2) identificar os aminoácidos que evidenciam os maiores efeitos diretos e

indiretos sobre o teor de cisteína em feijão; (3) selecionar plantas F_2 para o desenvolvimento de populações segregantes de feijão com alto teor de cisteína.

MATERIAL E MÉTODOS

A partir dos resultados obtidos por RIBEIRO et al. (2007) foram realizados cruzamentos controlados entre dois genitores contrastantes para o teor de cisteína em grãos de feijão: TPS Nobre (0,95 gramas por 16 g de N da MS) e Minuano (1,43 gramas por 16 g de N da MS).

As hibridações controladas foram efetuadas durante o ano de 2006, em casa-de-vegetação, do Departamento de Fitotecnia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Santa Maria - RS. No período de outono-inverno foram obtidos os grãos das gerações F_1 e F_1 recíproco por meio de cruzamentos entre os genitores. Na primavera-verão foram obtidas as gerações F_2 e F_2 recíproco pela autofecundação natural das plantas F_1 e F_1 recíproco respectivamente. Também foram desenvolvidas as gerações de retrocruzamento 1 (RCP₁: F_1 x P_1) e retrocruzamento 2 (RCP₂: F_1 x P_2). O método de entrelaçamento, com a emasculação do botão floral, foi adotado de acordo com a metodologia descrita em PETERNELLI & BORÉM (1999).

Duas plantas de feijão foram cultivadas em vaso plástico de capacidade para 5 L contendo uma mistura de solo, substrato comercial Plantimax® e casca de arroz carbonizada, na proporção volumétrica de 2:1:1, respectivamente. O solo utilizado pertence à unidade de Mapeamento Santa Maria (Argissolo Bruno Acinzentado alítico típico) e a adubação foi realizada de acordo com a interpretação da análise química do solo.

Irrigações diárias e o controle de insetos e de doenças foram realizados sempre que necessário, de maneira a garantir o desenvolvimento normal das plantas de feijão e a integridade dos botões florais. A colheita das vagens foi realizada individualmente para as gerações F_1 , F_1 recíproco, RCP₁ e RCP₂ e para as gerações F_2 e F_2 recíproco, a colheita foi realizada por planta.

Amostras dos grãos de cada geração foram moídas em micro-moinho, até a obtenção de partículas inferiores a 1 mm. Logo após, as amostras foram armazenadas em embalagens plásticas, devidamente identificadas, e conservadas sob refrigeração até o momento da realização das análises. A determinação dos teores de aminoácidos foi realizada no Laboratório de Análises Micotoxicológicas (LAMIC) da UFSM, utilizando cromatografia líquida de alta performance (HPLC). As amostras foram previamente hidrolisadas com ácido

clorídrico (HCl) bidestilado 6 N, seguida de derivação pré-coluna dos aminoácidos livres - com fenilisotiocianato (PITC), e a separação dos derivativos feniltiocarbamil-aminoácidos (PTC-aa), em coluna de fase reversa C18 (Pico-Tag - 3,9x300 mm), com detecção por UV a 254 nm. A quantificação da amostra foi baseada na altura de cada pico de aminoácido, tendo-se usado como referência a altura do pico do padrão interno de aminoácidos com concentração conhecida, com o padrão derivado nas mesmas condições e no mesmo tempo em que as amostras.

Os teores de aminoácidos foram transformados para gramas por 16 g de N da amostra seca. Para tanto, o teor de proteína bruta (PB, g por 100g de matéria seca - MS) da amostra foi determinada pelo método de micro-Kjeldhal ($N \times 6,25$), segundo a metodologia descrita pela Association of Official Agricultural Chemists AOAC (1995). As análises de proteína bruta foram realizadas em triplicata.

Os dados dos teores de aminoácidos e de proteína bruta dos genitores (P_1 e P_2) e das gerações (F_1 , F_1 recíproco, F_2 , F_2 recíproco, RCP_1 e RCP_2) foram submetidos à análise da variância e teste F a 5% de probabilidade de erro. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, com duas repetições para os genitores (P_1 e P_2), geração F_1 , F_1 recíproco, RCP_1 e RCP_2 e quatro repetições para as gerações F_2 e F_2 recíproco. As médias das gerações foram comparadas entre si pelo teste t a 5% de significância.

Com os valores dos teores dos aminoácidos que apresentaram diferença significativa entre os tratamentos (cisteína, prolina, tirosina, arginina, isoleucina e histidina) foi realizada a análise de agrupamento, utilizando a técnica de variáveis canônicas, conforme descrito em RAO (1952).

A análise de trilha com colinearidade foi utilizada para determinar os efeitos diretos e indiretos das variáveis secundárias (prolina, tirosina, arginina, isoleucina e histidina) sobre a variável principal (cisteína), com base na estimativa da matriz dos coeficientes de correlação genotípicos (CRUZ & REGAZZI, 2001). Todas as análises estatísticas foram realizadas com o programa Genes (CRUZ, 2001).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Diferenças significativas ($P \leq 0,05$) foram verificadas para cisteína, prolina, tirosina, arginina, isoleucina e histidina, demonstrando que esses aminoácidos apresentaram teores diferenciados entre os genitores e as gerações avaliadas (Tabela 5).

Os teores de cisteína observados nas gerações precoces foram inferiores ao valor da cultivar Minuano (1,43 g por 16 g de N da MS). Assim, apesar da utilização de um genitor com alto teor de cisteína (Minuano), nos cruzamentos controlados, todas as gerações precoces apresentaram baixa cisteína, indicando que ocorre dominância parcial para baixo teor de cisteína em feijão. Resultado semelhante foi observado para o teor de proteína bruta, em gerações precoces de feijão (POLIGNANO, 1982).

Tabela 5 - Composição de aminoácidos não essenciais e essenciais (em gramas por 16 g de N da matéria seca) e de proteína bruta (em gramas por 100 g de matéria seca) de grãos de feijão dos genitores (TPS Nobre x Minuano) e gerações obtidas a partir desse cruzamento. Santa Maria - RS, UFSM, 2007

Genitor e Geração	Aminoácidos não essenciais								
	Cisteína	Ácido Aspártico	Ácido Glutâmico	Serina	Glicina	Alanina	Prolina	Tirosina	Arginina
TPS Nobre	0,95 bc*	13,79 ^{ns}	16,14 ^{ns}	6,08 ^{ns}	3,49 ^{ns}	3,91 ^{ns}	2,28 d*	3,04 b*	6,61 a*
Minuano	1,43 a	11,02	14,67	4,65	3,34	3,62	2,39 d	2,98 b	6,20 ab
F ₁	0,97 b	10,92	15,30	5,33	3,31	3,68	3,02 bc	3,70 a	5,77 abcd
F _{1r}	0,88 bcd	11,28	16,07	5,43	3,29	3,63	3,02 bc	3,63 a	6,00 abc
F ₂	0,76 de	10,53	13,32	5,05	3,12	3,45	2,91 c	3,37 ab	4,66 d
F _{2r}	0,78 cde	11,05	14,38	5,60	3,46	3,88	3,36 abc	3,75 a	5,26 bcd
RCP ₁	0,74 de	10,73	13,37	5,37	3,28	3,40	3,39 ab	3,47 ab	5,02 cd
RCP ₂	0,69 e	11,46	14,91	5,47	3,48	3,72	3,74 a	3,65 a	5,59 abcd
Média	0,87	11,24	14,59	5,36	3,34	3,66	3,04	3,47	5,50
QME ⁽¹⁾	0,0077	1,0349	1,6848	0,2425	0,0741	0,1160	0,0476	0,0657	0,3075
Desv. padrão	0,0877	1,0173	1,2980	0,4924	0,2723	0,3406	0,2181	0,2562	0,5545
CVe% ⁽²⁾	10,02	9,05	8,90	9,18	8,16	9,30	7,18	7,38	10,08
Genitor e Geração	Aminoácidos essenciais								
	Metionina	Lisina	Fenilalanina	Leucina	Isoleucina	Histidina	Valina	Treonina	Proteína bruta
TPS Nobre	0,91 ^{ns}	6,53 ^{ns}	4,90 ^{ns}	7,22 ^{ns}	4,25 a*	2,17 d*	4,60 ^{ns}	3,53 ^{ns}	29,69 b*
Minuano	0,88	6,28	4,77	6,60	4,26 a	2,39 bcd	5,01	3,66	28,19 bc
F ₁	0,99	5,83	5,07	7,44	4,07 ab	2,36 cd	4,69	3,68	26,39 cd
F _{1r}	0,92	5,96	5,13	7,60	4,10 a	2,86 a	4,59	3,45	34,96 a
F ₂	0,83	4,99	4,52	6,45	3,48 bc	2,38 bcd	4,17	3,72	23,59 de
F _{2r}	0,90	5,75	5,06	7,31	3,96 abc	2,69 ab	4,76	4,10	20,77 e
RCP ₁	0,81	5,20	4,64	6,64	3,45 c	2,61 abc	4,01	3,87	23,57 de
RCP ₂	0,97	5,61	5,23	7,29	4,28 a	2,84 a	5,00	3,91	23,09 e
Média	0,89	5,69	4,89	7,03	3,93	2,54	4,58	3,77	25,46
QME ⁽¹⁾	0,0051	0,3596	0,2027	0,4710	0,0885	0,0259	0,1442	0,0642	2,2639
Desv. padrão	0,0713	0,5996	0,4502	0,6863	0,2974	0,1609	0,3798	0,2534	1,5046
CVe% ⁽²⁾	7,97	10,54	9,21	9,76	7,57	6,34	8,30	6,71	5,91
Adequado ⁽³⁾	1,7 ⁽⁴⁾	1,6	1,9 ⁽⁵⁾	1,9	1,3	1,6	1,3	0,99	

*Médias não seguidas de mesma letra, na vertical, diferem a 5% de probabilidade de erro pelo teste t. ^{ns}: não significativo. ⁽¹⁾QME: Quadrado médio do erro. ⁽²⁾CVe%: Coeficiente de variação experimental. ⁽³⁾Valor considerado adequado pela FAO (1998), para suprir as necessidades diárias de um indivíduo adulto. ⁽⁴⁾Metionina + cisteína. ⁽⁵⁾Fenilalanina + tirosina.

Como a cisteína é o aminoácido parcialmente essencial presente em menor quantidade no feijão (EVANS & BANDEMÉR, 1967; ABD-EL-SAMEI & LÁSZTITY, 1984; ANTUNES et al., 1995; GUZMÁN-MALDONADO et al., 2000; RIBEIRO et al., 2007), é preciso averiguar se o somatório metionina + cisteína é superior a 1,7 g por 16 g de N da MS (FAO, 1998), que é o recomendado para satisfazer as necessidades diárias de um indivíduo adulto. Nesse sentido, pode-se constatar que apenas os genitores e as gerações F_1 e F_1 recíproco apresentaram teores de aminoácidos sulfurados (metionina + cisteína) adequados para uso na alimentação. Sendo assim, não foi possível obter plantas F_2 com teores de aminoácidos sulfurados superiores ao padrão estabelecido pela FAO (1998), a partir do cruzamento entre TPS Nobre x Minuano.

Com relação ao teor de prolina, verificou-se variação de 2,28 g (TPS Nobre) a 3,74 g por 16 g de N da MS (RCP_2). Neste caso, todas as gerações obtidas apresentaram teores de prolina superiores aos genitores TPS Nobre e Minuano. Assim, acréscimos no teor de prolina foram constatados em gerações precoces de feijão com baixo teor de cisteína.

Para a tirosina, também se observaram incrementos nas gerações precoces, quando comparados aos genitores utilizados nos cruzamentos controlados. No entanto, os valores obtidos nas gerações F_2 e RCP_1 não apresentaram significância em relação aos teores das cultivares TPS Nobre e Minuano. Sendo assim, pode-se constatar que o teor de tirosina em feijão pode ser aumentado ou mantido, em gerações precoces com baixo teor de cisteína. Quando comparado ao padrão estabelecido pela FAO (1998), é necessário verificar se o somatório dos aminoácidos aromáticos - fenilalanina + tirosina - é superior a 1,9 g por 16 g de N da MS. Sendo assim, pode-se constatar que todas as gerações possuíram teores superiores a esse padrão.

A arginina apresentou teores entre 4,66 g (F_2) a 6,61 g por 16 g de N na MS (TPS Nobre). As gerações F_1 , F_{1r} e RCP_2 não foram diferentes estatisticamente dos genitores TPS Nobre e Minuano. As gerações F_2 e RCP_1 obtiveram teores inferiores a ambos os genitores. Desse modo, os teores de arginina poderão ser mantidos ou reduzidos em gerações precoces de feijão desenvolvidas a partir de cruzamento com genitor de alto teor de cisteína.

Os demais aminoácidos não-essenciais – ácido aspártico, ácido glutâmico, serina, glicina e alanina - não foram alterados, pois diferenças significativas não foram observadas (Tabela 5).

A isoleucina e histidina são aminoácidos essenciais, ou seja, não podem ser produzidos pelo corpo humano. Para a isoleucina, os teores oscilaram entre 3,45 g (RCP_1) a 4,28 g por 16 g de N da MS (RCP_2). As gerações F_2 e RCP_1 obtiveram teores de isoleucina inferiores aos

valores dos genitores TPS Nobre e Minuano. Para as demais gerações, não se obteve diferença significativa com os genitores. Assim, os teores de isoleucina permaneceram inalterados ou foram diminuídos nas gerações precoces de feijão de baixo teor de cisteína. Contudo, todas as gerações obtidas apresentaram teor de isoleucina superior ao valor recomendado pela FAO (1998), que é de 1,3 g por 16 g de N da MS, para suprir as necessidades diárias de indivíduo adulto.

Quanto a histidina, o teor variou de 2,17 g (TPS Nobre) a 2,86 g por 16 g de N da MS (F_{1r}). As gerações segregantes F_{1r} e RCP_2 apresentaram teores superiores aos genitores TPS Nobre e Minuano. Porém, as gerações F_1 e F_2 não diferiram significativamente de ambos os genitores. Desse modo, os teores de histidina permaneceram mantidos ou foram aumentados nas gerações precoces de feijão obtidas a partir de cruzamento com genitor de alto teor de cisteína. Ao comparar com o padrão recomendado pela FAO (1998), que é de 1,3 g por 16 g de N na MS para a histidina, todas as gerações possuíram teores adequados desse aminoácido.

Os demais aminoácidos essenciais – metionina, lisina, fenilalanina, leucina, valina e treonina - não foram alterados, pois diferenças significativas não foram observadas (Tabela 5). Além disso, os teores destes aminoácidos, nos genitores e nas gerações precoces, foram superiores ao padrão considerado adequado pela Food and Agriculture Organization (FAO), para suprir as necessidades diárias de um indivíduo adulto (FAO, 1998).

Assim, no cruzamento entre TPS Nobre x Minuano, obtiveram-se gerações precoces com teores de aminoácidos essenciais e não-essenciais semelhantes às cultivares de feijão disponíveis para o cultivo no Brasil (ANTUNES et al., 1995; RIBEIRO et al., 2007).

Para as avaliações das variáveis canônicas, foram considerados os seis aminoácidos que apresentaram diferença significativa entre os tratamentos, cisteína, prolina, tirosina, arginina, isoleucina e histidina (Tabela 5). As variâncias (autovalores), variâncias percentuais e as variâncias acumuladas relativas a cada variável estão apresentadas na Tabela 6 e indicam que as duas primeiras variáveis canônicas explicaram cerca de 96,43% da variação total do teor dos aminoácidos (88,51% relativo à primeira e 7,92% relativo à segunda variável canônica).

Tabela 6 - Variâncias, variância percentual e acumulada das variáveis canônicas obtidas de seis aminoácidos avaliados, a partir do cruzamento entre TPS Nobre x Minuano e nas seis gerações desenvolvidas a partir desse cruzamento. Santa Maria - RS, UFSM, 2007

Variáveis canônicas	Variância		
	Variável canônica	Percentual	Percentual acumulado
1	0,025873	88,51	88,51
2	0,149921	7,92	96,43
3	0,025603	2,04	98,47
4	0,015552	0,87	99,34
5	0,002950	0,46	99,80
6	0,003075	0,19	100,00

Conforme CRUZ & REGAZZI (2001), para uma interpretação satisfatória da variabilidade manifestada entre os genótipos é necessário que as duas primeiras variáveis canônicas permitam estimativas mínimas de 80% da variação total contida no conjunto de caracteres analisados para a identificação de genótipos similares em gráficos de dispersão bi ou tri dimensionais. Sendo assim, foi possível a visualização gráfica bidimensional dos genitores e das gerações analisadas, utilizando a primeira e a segunda variáveis canônicas (Figura 3).

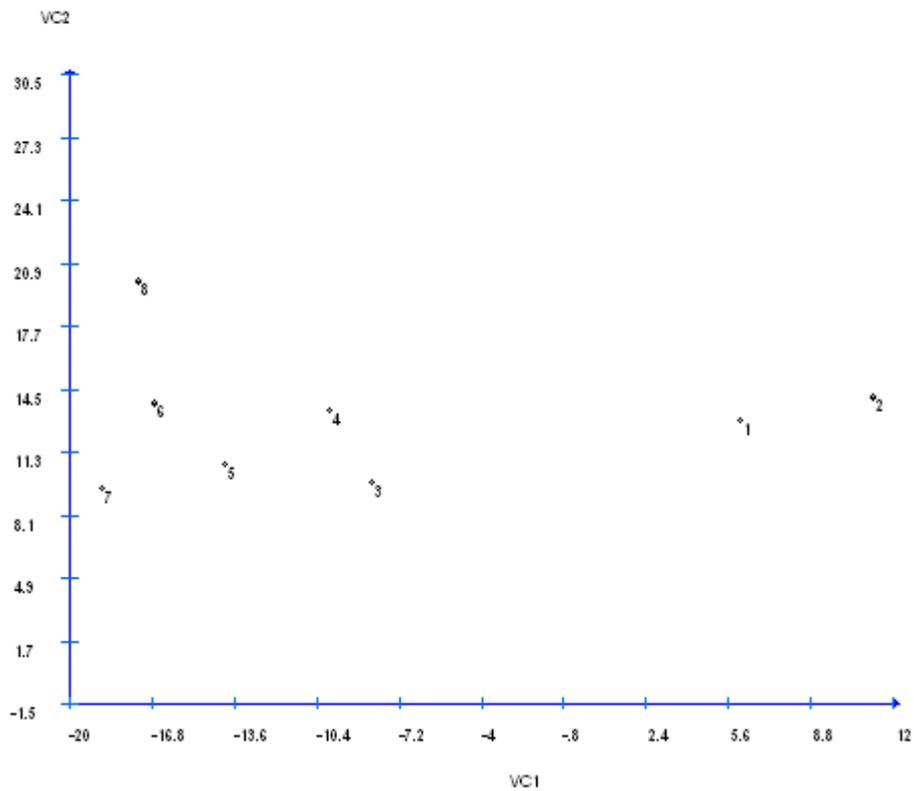


Figura 3 - Dispersão dos escores dos genitores e das gerações obtidas a partir do cruzamento entre TPS Nobre x Minuano em relação às duas primeiras variáveis canônicas. Santa Maria - RS, UFSM, 2007

1. TPS Nobre; 2. Minuano; 3. F₁; 4. F₁r; 5. F₂; 6. F₂r; 7. RCP₁ e 8. RCP₂.

A dispersão gráfica dos escores das variáveis canônicas possibilitou a formação de dois grupos, um formado pelos genitores TPS Nobre e Minuano e o outro grupo formado pelas gerações F₁, F₁ recíproco, F₂, F₂ recíproco, RCP₁ e RCP₂ (Figura 3). O grupo 1 diferenciou-se pelos elevados teores de cisteína e de arginina (Tabela 7). O grupo 2 apresentou a manutenção do teor de isoleucina, os menores teores de cisteína e de arginina e os maiores teores de prolina, tirosina e histidina.

Tabela 7 - Teores médios de aminoácidos (em gramas por 16 g de N da matéria seca) dos dois grupos formados a partir do cruzamento entre TPS Nobre x Minuano, com base na matriz das distâncias de Mahalanobis, utilizando variáveis canônicas. Santa Maria - RS, UFSM, 2007

Grupo ¹	Cisteína	Prolina	Tirosina	Arginina	Isoleucina	Histidina
1	1,19 ^a	2,34 ^b	3,01 ^b	6,41 ^a	4,26 ^a	2,28 ^b
2	0,80 ^b	3,21 ^a	3,59 ^a	5,28 ^b	3,85 ^a	2,60 ^a
Média geral	0,87	3,04	3,47	5,50	3,93	2,54
QME ⁽²⁾	0,0240	0,0995	0,0638	0,4020	0,1436	0,0527
Desvio-padrão	0,1549	0,3155	0,2525	0,6341	0,3789	0,2295
CVe% ⁽³⁾	17,71	10,38	7,27	11,52	9,64	9,04

*Médias não seguidas de mesma letra, na vertical, diferem a 5% de probabilidade pelo teste t. ^{ns}: não significativo.

¹Grupo: 1: TPS Nobre e Minuano; 2: demais gerações segregantes. ⁽²⁾QME: Quadrado médio do erro. ⁽³⁾CVe%: Coeficiente de variação experimental.

A análise de trilha tem sido utilizada pelos melhoristas para o melhor entendimento das associações entre os caracteres e para a decomposição da correlação existente entre os efeitos diretos e indiretos, através de uma variável principal e as variáveis explicativas, como estratégia auxiliar no processo de seleção de plantas (KUREK et al., 2001). As estimativas dos efeitos diretos e indiretos dos aminoácidos prolina, tirosina, arginina, isoleucina e histidina sobre o teor de cisteína estão apresentados na Tabela 8.

Os aminoácidos prolina, tirosina e arginina apresentaram efeitos diretos negativos ou de baixa magnitude sobre o teor de cisteína. Efeito indireto positivo de alta magnitude foi obtido apenas para a arginina via tirosina (0,8813). Dessa maneira, os melhoristas de feijão terão dificuldades na seleção indireta para cisteína. Por isso, se faz necessária a avaliação de outros caracteres que apresentam coeficientes de correlação de alta magnitude com o teor de cisteína em feijão para que se obtenha sucesso com a seleção de características altamente correlacionadas.

Tabela 8 - Estimativas dos efeitos diretos e indiretos do teor prolina (Prol), tirosina (Tyr), arginina (Arg), isoleucina (Ile) e histidina (Hist) sobre o teor de cisteína (Cys) obtidas a partir do cruzamento entre TPS Nobre x Minuano e seis gerações desenvolvidas a partir desse cruzamento. Santa Maria - RS, UFSM, 2007

Aminoácido	Estimativa
Prolina	
Efeito direto sobre Cys	-0,5660
Efeito indireto via Tyr	-0,8837
Efeito indireto via Arg	0,4752
Efeito indireto via Ile	-0,1031
Efeito indireto via Hist	0,3106
Total	-0,8280
Tirosina	
Efeito direto sobre Cys	-0,9538
Efeito indireto via Pro	-0,5243
Efeito indireto via Arg	0,5718
Efeito indireto via Ile	-0,1477
Efeito indireto via Hist	0,2593
Total	-0,8978
Arginina	
Efeito direto sobre Cys	-0,6188
Efeito indireto via Pro	0,4346
Efeito indireto via Tyr	0,8813
Efeito indireto via Ile	0,2257
Efeito indireto via Hist	-0,1549
Total	0,7012
Isoleucina	
Efeito direto sobre Cys	0,2688
Efeito indireto via Pro	0,2170
Efeito indireto via Tyr	0,5243
Efeito indireto via Arg	-0,5196
Efeito indireto via Hist	-0,0155
Total	0,5042
Histidina	
Efeito direto sobre Cys	0,3607
Efeito indireto via Pro	-0,4873
Efeito indireto via Tyr	-0,6857
Efeito indireto via Arg	0,2657
Efeito indireto via Ile	-0,0115
Total	-0,5194

Coefficiente de determinação: 0,839219

Valor de k usado na análise de trilha com colinearidade: 0,107630

Efeito da variável residual: 0,400975

Sendo assim, a seleção para aumentar os teores de cisteína em grãos de feijão, a partir do cruzamento entre TPS Nobre x Minuano, não será eficiente para aumentar o teor de aminoácidos sulfurados em feijão. Nesse sentido, sugere-se que cruzamentos controlados

entre outros genitores sejam realizados, e que seja avaliado o aumento do teor de cisteína nas gerações obtidas.

CONCLUSÕES

Os genitores TPS Nobre e Minuano e as gerações F_1 e F_{1r} não apresentaram limitação na disponibilidade de aminoácidos essenciais e não-essenciais.

Os teores dos aminoácidos tirosina, arginina e prolina apresentaram os maiores efeitos diretos negativos sobre o teor de cisteína em feijão.

Nenhuma planta da geração F_2 é passível de seleção pelo programa de melhoramento, para o desenvolvimento de populações segregantes de feijão com alto teor de cisteína.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O enriquecimento dos alimentos, por meio de melhoramento genético, proporcionará o desenvolvimento de alimentos com teores diferenciados no perfil nutricional, o que permitirá efeitos funcionais benéficos ao organismo. Para tanto, o conhecimento do controle genético dos teores de fibra insolúvel, de fibra solúvel, de metionina e de cisteína é importante para que se obtenha sucesso na seleção desses caracteres.

Nesse sentido, não se verificou presença de efeito materno significativo na expressão dos teores de fibra insolúvel, de fibra solúvel, de metionina e de cisteína nos grãos de feijão. Assim, a geração F_1 representa o produto do cruzamento entre os genitores e a seleção de plantas individuais iniciará na geração F_2 , que apresentará máxima segregação.

Além disso, estimativa de herdabilidade em sentido amplo, moderada, foi obtida para o teor de fibra insolúvel em grãos de feijão, sugerindo que esse caráter é controlado por vários genes. Dessa maneira, a seleção em gerações mais avançadas, onde predominam os efeitos aditivos, será mais adequada. Não foi possível estimar a herdabilidade, em sentido amplo, para a fibra solúvel devido à ausência de variabilidade genética nas gerações precoces.

Também, não foi possível a obtenção de estimativas de herdabilidade, em sentido amplo e em sentido restrito, para os teores de metionina e de cisteína, devido a dificuldade de avaliar um grande número de amostras, devido a baixa eficiência de pegamento obtida nos cruzamentos controlados, bem como ao alto custo para a realização das análises laboratoriais. Assim, um maior número de repetições deverá ser considerado em experimentos futuros. Para isso, será necessário realizar os cruzamentos em ambiente climatizado e, também, de aporte financeiro para a realização das análises de aminoácidos.

Ainda, se observou a ocorrência de dominância parcial para baixo teor de fibra insolúvel e de cisteína nos grãos de feijão, indicando dificuldades para a obtenção de linhagens superiores para esses caracteres por meio de melhoramento clássico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABD EL-SAMEI, M.H.; LÁSZTITY, R. Comparative study on the amino acids composition in three local *Phaseolus vulgaris* seeds varieties. **Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und - Forschung**, Heidelberg, v.178, n.1, p.24-26, 1984.
- ACEVEDO, E.; BRESSANI, R. Contenido de fibra dietética y digestibilidad del nitrógeno en alimentos centroamericanos: Guatemala. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v.40, n.3, p.439-451, 1990.
- ANTUNES, P.L. et al. Valor nutricional de feijão (*Phaseolus vulgaris*, L.), cultivares Rico 23, Carioca, Piratã-1 e Rosinha-G2. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.1, n.1, p.12-18, 1995.
- AOAC INTERNATIONAL (Gaithersburg, Estados Unidos). **Official methods of analysis of AOAC International**. 16th ed. Washington, 1995. 200 p.
- BIANCHI, M.L.P. **Biodisponibilidade de ferro em produtos industrializados de soja**. 1988. 187 f. Dissertação (doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade de São Paulo, São Paulo.
- CARVALHO, F.I.F. et al. **Estimativas e implicações da herdabilidade como estratégia de seleção**. Pelotas:UFPEL, Universitária, 2001. 99 p.
- CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 2. ed. Viçosa:UFV, 2001. 390 p.
- CRUZ, C.D. **Programa Genes: versão Windows, aplicativo computacional em genética e melhoramento**. Viçosa: UFV, 2001. 648 p.
- CRUZ, G.A.D.R. et al. Avaliação da digestibilidade protéica, inibidor de protease e fibras alimentares de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v.7, n.2, p.103-109, 2004.
- EVANS, R.J.; BANDEMER, S.L. Nutritive value of legume seed proteins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.15, n.3, p.439-433, 1967.
- FAO. Junta de Conselho de Especialistas FAO/WHO/ONU. **Necessidades de energia e proteína**. São Paulo: Roca, 1998. 225 p.

FONSECA MARQUES, M.F.; BORA, P.S. Composición química y análisis de aminoácidos de alubias. **Ciencia y Tecnología Alimentaria**, Reynosa, v.2, n.5, p.248-252, 2000.

FRANCO, G. **Tabela de composição química dos alimentos**. 9. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2005. 307 p.

GEIL, P.B.; ANDERSON, J.W. Nutrition and health implications of dry beans: A review. **Journal of the American College of Nutrition**, v.13, n.6, p.549-558, 1994.

GOMES, F.P. **Curso de estatística experimental**. 13.ed. Piracicaba: Nobel, 1990. 468 p.

GUZMÁN-MALDONADO, S.H.; ACOSTA-GALLEGOS, J.; PAREDES-LÓPEZ, O. Protein and mineral content of a novel collection of wild and weedy common bean (*Phaseolus vulgaris* L). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.80, n.13, p.1874-1881, 2000.

GUTKOSKI, L.C.; TROMBETTA, C. Avaliação dos teores de fibra alimentar e de beta-glicanas em cultivares de aveia (*Avena sativa* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.19, n.3, 1999.

HALL, T.C.; McLEESTER, R.C.; BLISS, F.A. Equal expression of the maternal and paternal alleles for polypeptide subunits of the major storage protein of the bean *Phaseolus vulgaris* L. **Plant Physiology**, Washington, v.59, n.6, p.1122-1124, 1977.

HOSFIELD, G.L. Genetic control of production and food quality factors in dry bean. **Food Technology**, Chicago, v.45, n.9, p.98-103, 1991.

HUGHES, J.S. Potential contribution of dry bean dietary fiber to health. **Food Technology**, Chicago, v.45, n.9, p.122-126, 1991.

KELLY, J.D.; BLISS, F.A. Heritability estimates of percentage seed protein and available methionine and correlations with yield in dry beans. **Crop Science**, Madison, v.15, p.753-757, 1975a.

KELLY, J.D.; BLISS, F.A. Quality factors affecting the nutritive value of bean seed protein. **Crop Science**, Madison, v.15, n.6, p.757-760, 1975b.

KUREK, A. J. et al. Análise de trilha como critério de seleção indireta para rendimento de grãos em feijão. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.7, n.1, p.29-32, 2001.

LAJOLO, F.M.; GENOVESE, M.I.; MENEZES, E.W. Qualidade nutricional. In: ARAUJO, S.R. et al. **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba: Potafós, 1996. p.23-56.

LELEJI, O.I. et al. Inheritance of crude protein percentage and its correlation with seed yield in beans, *Phaseolus vulgaris* L. **Crop Science**, Madison, v. 12, n. 2, p.168-171, 1972.

LONDERO, P.M.G. et al. Genetic variability for dietary fiber content in common bean populations. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v.5, n.1, p.86-90, 2005.

LONDERO, P.M.G. et al. Herança dos teores de fibra alimentar e rendimento de grãos em populações de feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, n.1, p.51-58, 2006a.

LONDERO, P.M.G. et al. Variabilidade genética de cultivares de feijão para fibra alimentar. In: REUNIÃO SUL BRASILEIRA DE FEIJÃO, 8., 2006, Londrina, PR. **Anais...** Londrina: IAPAR, 2006b. p. 96-98. 226 p.

LONDERO, P.M.G.; RIBEIRO, N.D.; CARGNELUTTI FILHO, A. Teores de fibra e rendimento de grãos em populações de feijão. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.32, n.1, p.167 -173, 2008.

MAFFEI, H.V.L. Constipação crônica funcional. Com que fibra suplementar? **Jornal de pediatria**, v.80, n.3, 2004.

MAHAM, L.K.; SCOTT-STUMP, S. M. A. Krause: **Alimentos, nutrição e dietoterapia**. 10. ed. São Paulo: Roca, 2002, 1157p.

MOORE, M.A.; PARK, C.B.; TSUDA H. Soluble and insoluble fiber influences on cancer development. **Critical Reviews in Oncology/Hematology**, New York, v.27, n.3, p.229-242, 1998.

MORALES DE LEON, J.; BOURGES, H.; CAMACHO, M.E. Amino acid Composition of Some Mexican Foods Composición de Aminoácidos en Varios Alimentos Mexicanos. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, Caracas, v.55, n.2, p.172-186, 2005.

MORROW, B. The rebirth of legumes. **Food Technology**, Chicago, v.45, n.9, p.96 e 121, 1991.

MOURA, N.C.; CANNIATTI-BRAZACA, S.G. Avaliação da disponibilidade de ferro de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) em comparação com carne bovina. **Ciência e Tecnologia dos alimentos**, Campinas, v.26, n.2, p.270-276, 2006.

OLSON, A.; GRAY, M.G.; CHIU, M.C Chemistry and analysis of soluble dietary fiber. **Food Technology**, Chicago, v.4, n.2, p.71-82, 1987.

OLIVEIRA, L.F.A. et al. Teores de fibra alimentar e de inibidores de proteases em arroz polido (*Oriza sativa*, L.) e feijão comum (*Phaseolus vulgaris*, L.). **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v.2, n.1-2, p.161-165, 1999.

PETERNELLI, L.A.; BORÉM, A. Hibridação em feijão. In: BORÉM, A. **Hibridação artificial de plantas**. Viçosa: UFV, 1999. p. 269-294.

PIRES, C.V. et al. Qualidade nutricional e escore químico de aminoácidos de diferentes fontes protéicas. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v.26, n.1, p.179-187, 2006.

POLIGNANO, G.B. Breeding for protein percentage and seed weight in *Phaseolus vulgaris* L. **The Journal Agricultural Science**, Cambridge, v.1, n.99, p.191-197, 1982.

RAMALHO, M.A.P.; SANTOS, J.B.; PINTO, C.A.B.P. **Genética na agropecuária**. Lavras: UFLA, 2000. 472 p.

RAO, R. C. **Advanced statistical methods in biometric research**. New York: John Wiley, 1952. 390 p.

RIBEIRO, N.D. et al. Composição de aminoácidos de cultivares de feijão e aplicações para o melhoramento genético. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.42, n.10, p.1393-1399, 2007.

RIBEIRO, S.R.R.P.; RAMALHO, M.A.P.; ABREU, A.F.B. Maternal effect associated to cooking quality of common bean. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.6, n.4, p.304-310, 2006.

SILVA, R.A. et al. Estimação de parâmetros genéticos e correlações em família de meio-irmãos de melões orange red flesh e HTC 01. **Caatinga**, Mossoró, v.15, n.1/2, p.43-48, 2002.

SZARFARC, S.C. et al. Qualidade protéica de dietas avaliadas segundo os padrões FAO 1968 e FAO 1973. **Revista Saúde Pública**, São Paulo, v.14, n.2, p.151-160, 1980.

VANDERHOOF, J.A. Immunonutrition: the role of carbohydrates. **Nutrition**, v.14, n.7/8, p.595-598, 1998.

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

YALÇIN, E. et al. Effects of genotype and environment on β -glucan and dietary fiber contents of hull-less barley grown in Turkey. **Food Chemistry**, Turkey, v.101, p.171-176, 2007.

ANEXOS

Anexo 1 – Tipo de grão, Programa de Melhoramento obtentor/mantenedor da cultivar (origem), genealogia e hábito de crescimento (HC) das cultivares de feijão utilizadas como genitores para os estudos da genética dos teores de fibra insolúvel, de fibra solúvel, de metionina e de cisteína em grãos de feijão. Santa Maria – RS, UFSM, 2007

Cultivar	Tipo de grão	Origem*	Genealogia**	HC***
Guatelian 6662	Preto	Fepagro	Introdução da Costa Rica	II/III
Guapo Brilhante	Preto	Embrapa – Clima Temperado	XAN 125 {BAT 336 (A83 / ICA Pijao)}	II
Pérola	Carioca	Embrapa – Arroz e Feijão	Seleção da cultivar Aporé	III
BRS Valente	Preto	Embrapa – Arroz e Feijão	/// entre Engopa 201-Ouro, Ônix e NA 512586	II
Iapar 44	Preto	IAPAR	BAC 2 / RAI 12 // Rio Tibagi / Cornell 49242	II
TPS Nobre	Preto	Terassawa Produção de Sementes	FT 120/FT 84-1806// FT 84-424	II
Míniano	Preto	Embrapa – Clima Temperado/Fepagro	A 358 /// A 176 // G 4326 / XAN 40	III

*Origem: Embrapa – Arroz e Feijão: Centro Nacional de Pesquisa em Arroz e Feijão, Goiânia, GO; FT: Francisco Terasawa Sementes, Ponta Grossa, PR; Embrapa – Clima Temperado: Centro de Pesquisa Agropecuária de Clima Temperado, Pelotas, RS; IAPAR: Instituto Agronômico do Paraná, Londrina, PR.

**Genealogia: /: cruzamento simples; //: cruzamento duplo; /// :cruzamento triplo.

***HC: II: hábito de crescimento indeterminado com guias curtas; III: hábito de crescimento indeterminado com guias longas.