

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

**CARACTERIZAÇÃO CITOGÊNÉTICA DE  
CULTIVARES DE FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris* L.)**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Gracieli Dalla Nora**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2012**

**CARACTERIZAÇÃO CITOGENÉTICA DE CULTIVARES DE  
FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris* L.)**

**por**

**Gracieli Dalla Nora**

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

**Orientador: Prof<sup>a</sup>. Solange Bosio Tedesco**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2012**

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

Dalla Nora, Gracieli  
Caracterização citogenética de cultivares de feijão  
(Phaseolus vulgaris L.) / Gracieli Dalla Nora.-2012.  
37 f.; 30cm

Orientadora: Solange Bosio Tedesco  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-  
Graduação em Agronomia, RS, 2012

1. Citogenética 2. Phaseolus vulgaris L. 3.  
Viabilidade polínica I. Tedesco, Solange Bosio II. Título.

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

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

**CARACTERIZAÇÃO CITOGENÉTICA DE CULTIVARES DE FEIJÃO  
(*Phaseolus vulgaris* L.)**

elaborada por  
**Gracieli Dalla Nora**

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

**COMISSÃO EXAMINADORA:**

**Solange Bosio Tedesco, Dr<sup>a</sup>. (UFSM)**  
(Presidente/Orientadora)

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

**Neiva Maria Frizon Auler, Dr<sup>a</sup>. (IFF-SVS)**

Santa Maria, 17 de fevereiro de 2012.

## DEDICATÓRIA

*Aos meus pais **Liseu e Lúcia Isabel.***

*À minha irmã **Sabrina.***

*Ao meu namorado **Rafael.***

A essas pessoas maravilhosas, que fazem parte da minha história, e que são as principais responsáveis pela formação do meu caráter.

***Dedico este trabalho.***

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus pela vida, pelas oportunidades e pela fé que me fez seguir em frente.

Aos meus pais, Liseu e Lúcia Isabel, pela vida, pela educação, pelos exemplos de superação, pelo carinho e dedicação, por tudo o que sou.

A minha irmã Sabrina, pelo carinho, apoio e incentivo em todos os momentos.

Ao meu namorado Rafael pelo companheirismo, por compartilhar comigo momentos de dificuldades e alegrias. Por todo o seu amor, carinho, incentivo, paciência, compreensão e ajuda...

A Professora Solange, pela oportunidade que me deste, pela credibilidade em mim depositada, pela orientação, pela contribuição na minha formação científica e pela amizade.

Às Professoras do Comitê de Orientação, Nerinéia Dalfollo Ribeiro e Maria Teresa Schifino Wittmann, pelas valiosas contribuições ao meu trabalho.

Às amigas e colegas de laboratório, Tamara e Viviane, pelos momentos de boa conversa e de estudo, pela sua amizade.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de estudos.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, pelo conhecimento transferido.

A Universidade Federal de Santa Maria e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia pela oportunidade da realização do mestrado e acolhida.

A todos aqueles aqui não citados, mas tenham certeza, lembrados, meu carinho, minha admiração e meus sinceros agradecimentos.

**Muito Obrigada!**

## RESUMO

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

### **CARACTERIZAÇÃO CITOGENÉTICA DE CULTIVARES DE FEIJÃO (*Phaseolus vulgaris* L.)**

AUTORA: GRACIELI DALLA NORA

ORIENTADOR: SOLANGE BOSIO TEDESCO

Local e Data da Defesa: Santa Maria, 17 de fevereiro de 2012.

O comportamento meiótico e estimativa da viabilidade do pólen foram estudados em sete cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), sendo elas, IAPAR 44, Guapo Brilhante, BRS Expedito, BRS Valente, Guateian 6662, Pérola e Iraí. Botões florais foram coletados das cultivares, fixados e armazenados sob refrigeração para o preparo de lâminas pela técnica de esmagamento das anteras e coloração com orceína acética 2% e reativo de Alexander. Procurou-se obter o maior número de células possíveis de cada uma das fases da meiose. A estimativa da viabilidade polínica foi observada contando-se 800 grãos de pólen por planta. Para verificar alterações de tamanho, foram medidos 100 grãos de polens considerados maduros de cada cultivar. Não ocorreram células com anormalidades durante a análise do comportamento meiótico em todas as cultivares. Os índices meióticos encontrados foram elevados e uniformes, acima de 90%, indicando que estas cultivares possuem o processo meiótico estável e o uso em cruzamentos não apresentará problemas. Os grãos de polens não apresentaram diferenças significativas quanto ao seu tamanho, mostrando-se semelhante entre as cultivares. Os dados sobre comportamento meiótico e viabilidade polínica obtidos neste trabalho aliados aos da literatura, reforçam que o feijão possui um processo meiótico uniforme, demonstrando alto potencial de fertilidade dos gametas masculinos, o que facilita o uso dessa espécie em programas de melhoramento.

**Palavras-chave:** Citogenética. *Phaseolus vulgaris* L. Viabilidade polínica.

## ABSTRACT

M. S. Dissertation  
Programa de Pós-Graduação Agronomia  
Universidade Federal de Santa Maria

### CYTOGENETIC CHARACTERIZATION OF COMMON BEANS (*Phaseolus vulgaris* L.)

AUTHOR: GRACIELI DALLA NORA  
ADVISER: SOLANGE BOSIO TEDESCO  
Santa Maria February 17, 2012.

The meiotic behavior and estimation of pollen viability were studied in seven cultivars of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.), which were IAPAR 44, Guapo Brilhante, BRS Expedito, BRS Valente, Guateian 6662, Pérola e Iraí. Floral buds were collected from cultivars, fixed and stored under refrigeration for the preparation of slides by squashing technique anthers and coloring with acetic orceína 2% and reactive Alexander. It was tried to obtain the greatest possible number of cells of each stage of meiosis. The estimation of pollen viability was observed by counting 800 pollen grains per plant. To verify changes in size, were measured 100 grains of pollen of each cultivar considered mature. There were no cells with abnormalities during the analysis of meiotic behavior in all cultivars. The meiotic index were high and uniform over 90%, indicating that these cultivars have the meiotic process stable and use in plant breeding not present problems. The pollen grains showed no significant differences as to its size, being similar among cultivars. Data on meiotic behavior and pollen viability obtained in this work combined with the literature, emphasize that the bean has a meiotic process uniform, showing high potential fertility of male gametes, which facilitates the use of this species in breeding programs.

**Key-words:** Cytogenetic. *Phaseolus vulgaris* L. Pollen viability.



## LISTA DE TABELAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Tabela 1</b> – Número (N <sup>o</sup> ) de células normais das cultivares de feijão, avaliado através do método de coloração com orceína acética 2%.....                               | 22 |
| <b>Tabela 2</b> – Índice meiótico (IM) das cultivares de feijão, avaliado através do método de coloração de tétrades (T) com orceína acética 2%.....                                      | 23 |
| <b>Tabela 3</b> – Comparação das estimativas (%) da viabilidade do pólen entre corantes dentro de cada cultivar e entre cultivares dentro de cada corante, em sete cultivares feijão..... | 24 |
| <b>Tabela 4</b> – Médias das medidas dos grãos de pólen para as sete cultivares de feijão.....  | 27 |

## LISTA DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 1</b> - Fases da divisão meiótica corados com orceína acética 2%. A e B) Diacinese; C) Telófase I; D) Telófase II.....  | 21 |
| <b>Figura 2</b> - A e B) Tétrades, coradas com orceína acética 2%; C) Grãos de pólen corados com orceína acética; D) Grãos de pólen corados com reativo de Alexander..... | 26 |

## LISTA DE APÊNDICES

**Apêndice 1** - Grãos de feijão das cultivares: A) BRS Expedito B) BRS Valente C) Guapo Brilhante D) IAPAR 44 E) Guateian 6662 F) Pérola.....36

**Apêndice 2** - A e B) Grãos de feijão da cultivar andina Iraí. C e D) Vasos com as plantas de feijão em casa de vegetação. E e F) Sacos de papel, onde as sementes eram armazenadas.....37

## SUMÁRIO

|  |           |
|--|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO .....</b>                                    | <b>12</b> |
| <b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>                          | <b>14</b> |
| 2.1 Origem do feijão.....                                    | 14        |
| 2.2 Importância econômica, social e alimentar do feijão..... | 16        |
| 2.3 Estudos genéticos e citogenéticos em feijão.....         | 17        |
| <b>3 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>                             | <b>18</b> |
| <b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>                         | <b>21</b> |
| <b>5 CONCLUSÕES.....</b>                                     | <b>28</b> |
| <b>6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>                     | <b>29</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

O gênero *Phaseolus* compreende aproximadamente 55 espécies, das quais apenas cinco são cultivadas: o feijão comum (*Phaseolus vulgaris*), o feijão de lima (*P. lunatus*), o feijão Ayocote (*P. coccineus*), o feijão tepari (*P. acutifolius*), e o *P. polyanthus* (BORÉM; CARNEIRO, 1998).

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma planta anual diplóide ( $2n=2x=22$ ), originada das Américas, com centros de domesticação independentes (HARLAN, 1971 e 1975). Durante o processo de domesticação do feijão, em consequência do isolamento geográfico, ocorreu a formação de conjuntos gênicos adaptados as diferentes condições ambientais, entre os quais se destacam o Andino e o Mesoamericano (HANNAH et al., 2000; VIEIRA et al., 2005). O conjunto andino é caracterizado, principalmente, por feijões de grãos grandes e faseolina T, C, H e A, enquanto que os mesoamericanos possuem sementes pequenas e faseolina S (GEPTS; DEBOUCK, 1991).

No Brasil, o cultivo de feijão pode ser realizado durante todo o ano, principalmente, em razão da grande variação de condições de clima e de solo nas diversas regiões (BORÉM; CARNEIRO, 1998). Constitui importante fonte protéica na dieta de enorme parcela da população mundial, em especial nos países onde o consumo de proteína animal é limitado, por razões econômicas ou religiosas e culturais. No Brasil, é a principal leguminosa fornecedora de proteínas, fazendo parte da dieta diária das classes sócio-econômicas menos favorecidas (ANTUNES, 1995).

O pressuposto básico dos programas de melhoramento genético de plantas está fundamentado na obtenção de cultivares superiores, a partir da manipulação genética existente no germoplasma de determinada espécie. Dentre os fatores mais importantes para o sucesso desses programas destacam-se a seleção de genótipos e os cruzamentos. (TECHIO et al., 2006).

O conhecimento gerado pela citogenética é de grande importância para um programa de melhoramento, uma vez que ajuda a selecionar germoplasma e a manter uma monitoração constante, revelando alterações na fertilidade dos indivíduos (NAVARINI, 2008). Conforme Sybenga (1998), a citogenética possui duas

funções principais no melhoramento de plantas: primeiramente, gerar informações e, após, fornecer métodos para a subsequente manipulação genética.

Os estudos citogenéticos envolvem a análise da meiose, onde ocorre à recombinação dos genes e os eventos da gametogênese são controlados por um grande número de genes, a meiose é considerada uma fonte de variabilidade genética que os organismos possuem para se adaptar ao meio ambiente em que vivem e, dessa forma, garantir a sua perpetuação através da descendência (GOLUBOVKAYA, 1979; SING, 1993; NASSAR, 1997; PAGLIARINI, 2000).

As irregularidades cromossômicas refletem diretamente nos processos reprodutivos das espécies com a formação de grãos de pólen inviáveis (MARUTANI et al., 1993; CORRÊA et al., 2005). Os gametas portadores de anormalidades perdem em competitividade com os gametas normais, pois, ocasionam a redução na formação de frutos com ou sem sementes (PAGLIARINI, 2001).

O comportamento dos grãos de pólen em qualquer espécie vegetal é de fundamental importância para o estudo e detalhamento genético da planta, a fim de estudar o comportamento reprodutivo para melhor entendimento da dispersão dos gametas masculinos da planta (CORRÊA et al., 2005), assim como para a aplicação prática na conservação, quanto para algum tipo de melhoramento ou cultivo na agricultura (GUINET, 1989). Além de ser um fator importante na distinção das espécies pela morfologia e viabilidade (KARSBURG; BATTISTIN, 2005).

Considerando-se que a manifestação do genótipo de um indivíduo é o resultado da contribuição trazida pelos gametas masculinos e femininos, quanto maior a viabilidade polínica, maior a possibilidade da formação de diferentes combinações entre alelos, e em última análise, de variabilidade genética (SOUZA et al., 2002).

A determinação da viabilidade do pólen pode ser feita por métodos diretos, tais como a indução da germinação do pólen *in vivo* ou *in vitro* e métodos indiretos, baseados em parâmetros citológicos, como a coloração (SHIVANNA; JOHRI, 1985; DAFNI, 1992; SHIVANNA; RANGASWAMY, 1992; KEARNS; NOUYE, 1993). Na literatura, não há a descrição de um teste de viabilidade polínica universal, utilizando um corante específico (TECHIO et al., 2006).

Nesse contexto, as hipóteses estabelecidas para o estudo foram às seguintes: (i) verificar a ocorrência de comportamento meiótico regular e alta viabilidade polínica em todas as cultivares mesoamericanas (IAPAR 44, Guapo

Brilhante, BRS Expedito, BRS Valente, Guateian 6662 e Pérola); (ii) verificar a ocorrência de comportamento irregular e baixa viabilidade polínica na cultivar andina (Iraí); O objetivo desse trabalho foi determinar o comportamento meiótico e a viabilidade dos grãos de pólen das cultivares: IAPAR 44, Guapo Brilhante, BRS Expedito, BRS Valente, Guateian 6662, Pérola e Iraí de feijão (*Phaseolus vulgaris* L) através da comparação entre dois métodos de coloração.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Origem do feijão

O conhecimento da origem geográfica da espécie *Phaseolus vulgaris* L. é muito importante para todos que pretendem realizar o melhoramento genético desta planta, devido ao fato de que no centro de origem pode-se encontrar a maior diversidade genética como fontes de resistência a certas pragas e doenças, pois estas, possivelmente tenham se originado na mesma área e evoluído de forma paralela (VAVILOV, 1931). A origem evolutiva do gênero *Phaseolus* e sua diversificação primária ocorreram nas Américas (Vavilov, 1931, citado por DEBOUCK, 1991), mas o local exato onde isto se deu é motivo de controvérsia (GEPTS; DEBOUCK, 1991).

Tipos selvagens, similares a culturas crioulas simpátricas, encontrados no México e a existência de tipos domesticados, datados de cerca de 7.000 a.C., na Mesoamérica, suportam a hipótese de que o feijão teria sido domesticado na Mesoamérica e disseminado, posteriormente, na América do Sul. Por outro lado, achados arqueológicos mais antigos, com cerca de 10.000 a.C., de feijões domesticados na América do Sul (sítio de Guitarrero, no Peru) são indícios de que o feijão teria sido domesticado na América do Sul e transportado para a América do Norte (HEISER, 1977).

Dados mais recentes, obtidos por pesquisas moleculares, que têm como alvo principal o gene *Phs*, codificador da proteína faseolina, atualmente a ferramenta

mais utilizada em estudos evolutivos sobre o feijão, sugerem a existência de três centros primários de diversidade genética, tanto para espécies silvestres como cultivadas: o Mesoamericano, que se estende desde o sudeste dos Estados Unidos até o Panamá, tendo como zonas principais o México e a Guatemala; o sul dos Andes, que abrange desde o norte do Peru até as províncias do noroeste da Argentina; e o norte dos Andes, que abrange desde a Colômbia e a Venezuela até o norte do Peru (GEPTS; DEBOUCK, 1991).

Além destes três centros americanos primários, podem ser identificados vários outros centros secundários em algumas regiões da Europa, Ásia e África, onde foram introduzidos genótipos americanos. Pelo menos 10 tipos dessa proteína já foram encontradas em variedades cultivadas e populações selvagens de feijão (GEPTS et al., 1986), com uma alta correlação entre o tipo e o local geográfico de origem dos materiais, principalmente em relação ao material selvagem.

O feijão está entre os alimentos mais antigos, remontando aos primeiros registros da história da humanidade. Era cultivado no antigo Egito e na Grécia, sendo, também, cultuado como símbolo da vida. A maioria dos historiadores atribui à disseminação dos feijões no mundo em decorrência das guerras, uma vez que esse alimento fazia parte essencial da dieta dos guerreiros em marcha. Os grandes exploradores ajudaram a difundir o uso e o cultivo de feijão para as mais remotas regiões do planeta (ALMEIDA, 1995).

Segundo os pesquisadores Gepts e Debouck citado por FREITAS (2001) os tipos de feijão que foram mais disseminados na América do Sul, inclusive o Brasil foram os vindos da América Central, introduzidos via nordeste do Brasil, enquanto os tipos Andinos se encontram mais disseminados na África e Europa. Esses pesquisadores dizem que algumas variedades andinas de feijão devem ter sido disseminadas no Brasil a partir do sul da Bolívia, via Paraguai, Santa Catarina, Paraná, São Paulo, chegando inclusive a Minas Gerais.

Segundo Cascudo (1987) citado por FREITAS (2001) os autores quinhentistas que descreveram o Brasil no início da colonização, mencionavam os feijões e as favas como componentes da alimentação indígena, o qual passa a ter uma maior aceitação pelo imigrante Europeu durante a expansão do gado que ocorreu como forma de colonizar o interior do nordeste, a partir da metade do século XVII. O feijão brasileiro constituía importante fonte de renda para o reino de Portugal, o qual trouxe receitas para o Brasil de alguns ingredientes como orelha,



focinho, rabo e lingüiça de porco, tornando parte do prato principal da culinária brasileira que é a feijoada.

## **2.2 Importância econômica, social e alimentar do feijão**

O feijão é um excelente alimento, fornecendo nutrientes essenciais ao ser humano, como proteínas, ferro, cálcio, magnésio, zinco, vitaminas (principalmente do complexo B), carboidratos e fibras. Representa a principal fonte de proteínas das populações de baixa renda e constitui um produto de destacada importância nutricional, econômica e social. Além de ser um dos alimentos mais tradicionais na dieta alimentar do brasileiro (SOARES, 1996).

O feijão apresenta cerca da metade do teor de proteína em relação à soja, porém possui maior digestibilidade protéica (78,70%) (PIRES et al., 2006). 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). O feijão é um alimento que apresenta em sua constituição todos os aminoácidos essenciais; é rico em lisina, mas limitante em aminoácidos sulfurados – metionina e cisteína (FONSECA MARQUES; BORA, 2000; GUZMÁN-MALDONADO et al., 2000; PIRES et al., 2006).

Além do papel relevante na alimentação do brasileiro, é um dos produtos agrícolas de maior importância econômico-social, devido principalmente à mão-de-obra empregada durante o ciclo da cultura, pois no Brasil é cultivado por pequenos produtores descapitalizados, com baixo uso de insumos externos, e destinado, sobretudo para a subsistência das famílias (WANDER, 2005).

No Brasil é cultivado em três épocas: a safra das “águas” - com semeadura realizada entre os meses de agosto a novembro, concentrando-se nos Estados da região sul; a safra da “seca” - efetuada durante janeiro a março, abrangendo todos os Estados brasileiros; e a safra de “inverno” - de abril a julho, concentrando-se na região tropical, desta forma sempre haverá produção de feijão em algum ponto do país, o que contribui para o abastecimento interno e reduz a oscilação dos preços (ARAUJO et al., 1996).

### 2.3 Estudos genéticos e citogenéticos em feijão

Em 1925, Karpetschenko fez o primeiro relato sobre contagem cromossômica no gênero *Phaseolus* L. Segundo o autor, as espécies *P. acutifolius* A. Gray, *P. coccineus* L., *P. lunatus* L. e *P. vulgaris* L. possuem  $2n = 22$  cromossomos (MERCADO-RUARO; DELGADO-SALINAS, 2000). Após esse relato surgiram outros estudos enfocando o número cromossômico em espécies pertencentes a esse gênero. Lackey (1979), Goldblatt (1981), Mercado-Ruaro; Delgado-Salinas (1998) e Mercado-Ruaro; Delgado-Salinas (2000), estudando cerca de 30 espécies do gênero *Phaseolus*, afirmaram que o número cromossômico básico estabilizado e predominante é  $n = x = 11$  podendo ser encontrado  $n = x = 10$  em três espécies distintas (*P. leptostachyus* Benth., *P. micranthus* Hook. & Arn., e *P. macvaughii* A. Delgado). Em exemplares de *Phaseolus semierectus* L. também foi encontrado  $2n = 11$  cromossomos (TURNER, 1956).

Em espécies silvestres, em geral, os cromossomos são pequenos. O menor foi encontrado em *P. filiformes* Bentham medindo  $0,78 \mu\text{m}$  e o maior encontrado em *P. chiapasanus* Piper medindo  $2,17 \mu\text{m}$ . Nos exemplares menores a descrição da morfologia citogenética torna-se difícil sem o auxílio de um sistema para análise de imagem. Também foi relatada a presença de um par satelitado em algumas metáfases. No entanto, em espécies cultivadas os cromossomos apresentam-se maiores, o que facilita a análise cariotípica (MERCADO-RUARO; DELGADO-SALINAS, 1998).

Algumas das análises citogenéticas já realizadas indicam que há predominância de cromossomos submetacêntricos e metacêntricos (MERCADORUARO; DELGADO-SALINAS, 2000). Cromossomos subtelo-cêntricos são incomuns neste gênero, mas foram reportados por Zeng et al. (1991) em *Phaseolus vulgaris*.

Alguns autores apontaram vários fatores envolvidos na evolução cariotípica como inversões, translocações, perda e ganho de cromatina (SARBHOY, 1977; SINHA; ROY, 1979). Esses autores ainda propõem que em cariótipos de *Phaseolus* pode haver diminuição do conteúdo de cromatina dando origem a um cariótipo assimétrico (MERCADO-RUARO; DELGADO-SALINAS, 2000).

Mercado-Ruaro; Delgado-Salinas (2000) analisaram várias espécies de *Phaseolus* e encontraram  $2n = 22$  cromossomos e diferentes classificações cromossômicas como, por exemplo, *P. filiformes* Bentham apresenta 11 pares de cromossomos metacêntricos; *P. marechalii* Delgado e *P. ritensis* Jones possui oito pares de metacêntricos e três pares de submetacêntricos; *P. neglectus* Hermann e *P. pauciflorus* Sessé & Mociño ex G. Don mostraram 10 pares de metacêntricos e um par de submetacêntrico; *P. xolocotzii* A. Delgado apresenta nove pares de metacêntricos e dois pares de submetacêntricos; *P. chiapasanus* Piper possui oito pares metacêntricos, dois pares submetacêntricos e um par subtelo-cêntrico.

Além do interesse teórico-científico, as informações citogenéticas contribuem para um melhor entendimento das diferenças citotaxonômicas encontradas em diferentes genótipos de feijão e fornecem suporte para estudos de taxonomia e genealogia. Também podem atuar como embasamento científico para futuras pesquisas de manipulação de cromossomos, bem como produção de progênies melhoradas para fins comerciais, sendo de interesse para citogeneticistas, filogenistas e melhoristas.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

O material vegetal utilizado foram botões florais das cultivares de feijão mesoamericanas: IAPAR 44, Guapo Brillhante, BRS Expedito, BRS Valente, Guateian 6662 e Pérola e da cultivar de feijão andina: Iraí, semeadas em vasos plásticos com capacidade de 5 L, contendo a mistura de solo + substrato comercial Plantmax®, na proporção volumétrica de 2:1. O solo utilizado foi o Argissolo Bruno-Acinzentado alítico típico, com a seguinte composição química: pH (H<sub>2</sub>O): 5,8; matéria orgânica: 1,9%; fósforo: 15,3 mg dm<sup>-3</sup>; potássio: 84 mg dm<sup>-3</sup>; cálcio: 5,8 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; magnésio: 2,4 cmol<sub>c</sub> dm<sup>-3</sup>; enxofre: 11,6 mg dm<sup>-3</sup>. A correção da fertilidade do solo foi realizada para os minerais considerados limitantes no solo. As irrigações foram realizadas sempre que houve necessidade, mantendo-se a umidade do solo próxima à capacidade de campo. A aplicação de nitrogênio em cobertura foi realizada nos estádios vegetativos V3 (1ª folha trifoliolada aberta) e V4

(3ª folha trifoliolada aberta) (CEPEF, 2007). O controle de doenças e de insetos foi feito sempre que necessário a fim de não comprometer o desenvolvimento normal das plantas de feijão.

Em cada vaso foram conduzidas duas plantas até o final do ciclo, totalizando oito plantas para cada genitor. As mesmas foram semeadas no dia 04 de agosto de 2010 e cultivadas em casa-de-vegetação no Departamento de Biologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Rio Grande do Sul, Brasil.

Durante o período de floração, que ocorreu no mês de outubro de 2010, foram coletados botões florais entre os horários das 08 às 11 horas, no estágio reprodutivo de pré-floração R5 (CEPEF, 2007), e fixados em álcool absoluto-ácido acético glacial (3:1), durante o período mínimo de 24 horas e máximo 72 horas, à temperatura ambiente (18 a 25°C). Posteriormente, os botões florais foram transferidos para álcool etílico a 70<sup>o</sup> e mantidos sob refrigeração, a temperatura de 15°C até a sua utilização.

Para o estudo da meiose, as lâminas foram preparadas pela técnica de esmagamento das anteras (GUERRA; SOUZA, 2002), utilizando orceína acética 2% na coloração das células. Foram preparadas duas lâminas para cada uma das oito plantas de cada cultivar. Nas associações dos cromossomos em diacinese e metáfase I, foram consideradas células normais as que apresentaram 11 bivalentes e na disjunção dos cromossomos em anáfase e telófase I, aquelas com separação regular de 11 cromossomos duplicados em cada pólo. A disjunção dos cromossomos também foi analisada em anáfase e telófase II, considerando células normais aquelas que apresentaram distribuição de 11 cromossomos simples para cada pólo (TEDESCO, 2000). O índice meiótico (IM) foi calculado de acordo com Love (1949):  $IM = \text{número de tétrades normais} / \text{número total de tétrades} \times 100$ .

As células mães de pólen (CMP) foram avaliadas quanto ao número e a viabilidade dos micrósporos em cada cultivar. As CMP com quatro micrósporos viáveis foram consideradas tétrades normais, as que apresentaram menos de quatro micrósporos (díades e tríades), mais de quatro micrósporos (políades) ou tétrades com micrósporos estéreis (não corados) foram consideradas anormais.

Para realizar a estimativa da viabilidade dos grãos de pólen, as lâminas foram preparadas pela técnica de esmagamento das anteras (GUERRA; SOUZA, 2002). Foram feitas duas lâminas de cada planta, contando-se 800 grãos de pólen por

planta, obtidos de oito plantas de cada cultivar. Foram utilizados dois tipos de corantes, para posterior comparação entre os resultados de cada corante: orceína acética a 2% e reativo de Alexander (verde-malaquita + fucsina ácida) (ALEXANDER, 1980).

Para a estimativa da viabilidade polínica pelo método de coloração com orceína acética a 2%, os grãos de pólen foram considerados inviáveis quando apresentaram tamanho visivelmente anormal, coloração fraca, protoplasma reduzido e/ou ausente, e viáveis os que apresentaram a exina intacta, protoplasma bem corado com distribuição homogênea (TEDESCO, 2000). Nas análises usando o corante reativo de Alexander, se obtém uma coloração diferencial dos polens viáveis e não viáveis, devido à utilização simultânea de verde malaquita e fucsina ácida, os quais apresentam coloração reversa. O primeiro tem afinidade pela celulose presente na parede celular, corando-a de verde, enquanto que o protoplasma é corado pela fucsina ácida. Dessa maneira, por não apresentarem protoplasma, os grãos de pólen abortados coram-se de verde (ALEXANDER, 1980)

Além disso, foram medidos 100 grãos de pólen maduros de cada cultivar, a partir de medidas, em micrômetros ( $\mu\text{m}$ ), para a verificação de diferenças significativas que levem a ocorrência de inviabilidade polínica.

Na análise da viabilidade polínica o delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com oito repetições. Os tratamentos foram combinados em esquema bifatorial 7x2, sendo sete cultivares (IAPAR 44, Guapo Brilhante, BRS Expedito, BRS Valente, Guateian 6662, Pérola e Iraí) e dois corantes testados (orceína acética a 2% e reativo de Alexander). A unidade experimental constou de duas lâminas por corante em que foram contados 400 grãos de pólen por lâmina.

As análises foram realizadas no Laboratório de Citogenética Vegetal e Genotoxicidade, do Departamento de Biologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Rio Grande do Sul, Brasil.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos das análises do comportamento meiótico estão registrados na tabela 1. Todas as células observadas foram consideradas normais (Figura 1 – A, B, C, D). O pareamento entre os bivalentes foi normal durante a metáfase I, resultando em uma segregação cromossômica regular durante a anáfase I e a anáfase II, ambas sem formação de pontes anafásicas, o que é considerado uma aberração cromossômica, ocasionando uma divisão celular irregular. No final da esporogênese, formaram-se na maioria das cultivares avaliadas, quatro micrósporos (tétrades), revelando uma meiose completamente regular em termos de divisão celular e conseqüentemente com formação de grãos de pólen viáveis, ou seja, férteis. Grãos de polens férteis geram maior variabilidade genética durante a fecundação.

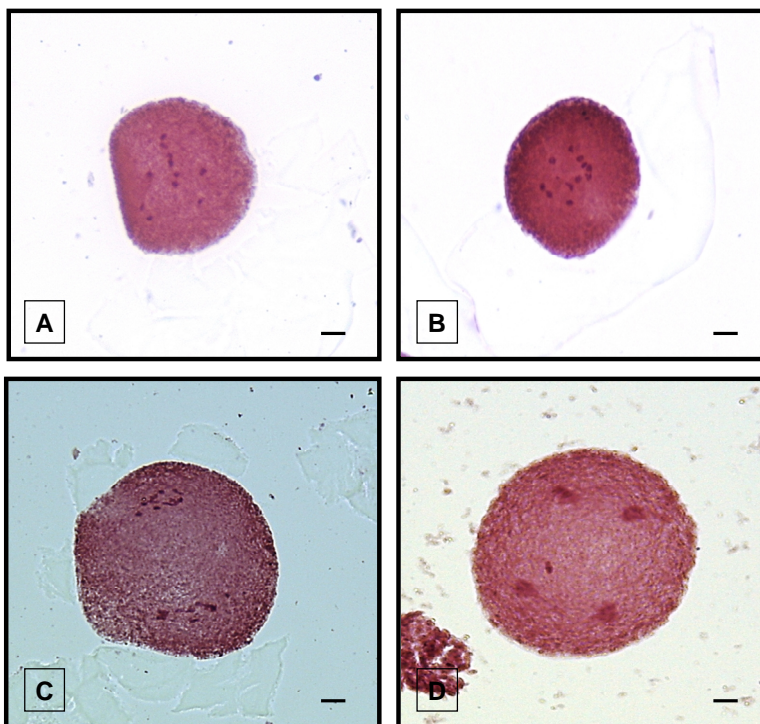


Figura 1 – Fases da divisão meiótica coradas com orceína acética 2%. A e B) Diacinese; C) Telófase I; D) Telófase II. Escala 10  $\mu$ m

O reduzido número de células observadas em cada uma das fases da meiose na tabela 1 é devido ao tamanho dos cromossomos do feijão, que são muito pequenos e dificultam a visualização. O maior número de células encontradas foi nas fases de diacinese, telófase I e telófase II, devido ao processo meiótico ocorrer muito rápido nessa espécie. Segundo Atkins et al. (1998), a análise do comportamento meiótico em *Lupinus* também foi dificultada em certo grau pelo pequeno tamanho e frequente sobreposição dos cromossomos e pela rapidez com que o processo meiótico ocorre nessa espécie.

Tabela 1 - Número (Nº) de células normais das cultivares de feijão, avaliado através do método de coloração comorceína acética 2%.

| Cultivares         | Meiose I                |                          |                         |                          | Meiose II                 |                          |                           |
|--------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|
|                    | Nº células em diacinese | Nº células em metáfase I | Nº células em anáfase I | Nº células em telófase I | Nº células em metáfase II | Nº células em anáfase II | Nº células em telófase II |
| IAPAR 44           | 44                      | 20                       | 11                      | 41                       | 05                        | 04                       | 42                        |
| Guapo<br>Brilhante | 28                      | 12                       | 08                      | 28                       | 08                        | 05                       | 30                        |
| BRS Expedito       | 44                      | 11                       | 10                      | 06                       | 04                        | 05                       | 13                        |
| BRS Valente        | 31                      | 11                       | 04                      | 26                       | 05                        | 03                       | 37                        |
| Guateian<br>6662   | 36                      | 16                       | 02                      | 45                       | 10                        | 06                       | 41                        |
| Pérola             | 42                      | 06                       | 13                      | 05                       | 03                        | 08                       | 16                        |
| Iraí               | 11                      | 06                       | 09                      | 52                       | 03                        | 04                       | 56                        |

Na Tabela 2, observa-se que as cultivares estudadas não apresentaram diferenças estatísticas significativas entre si, com valor do  $\chi^2 = 6.086$  e  $p = 0.4136$ . Na fase de tétrades, o número de células normais foi alta para todas as cultivares. As anormalidades encontradas foram tríades, díades e políades, mas em número muito reduzido.

Valores de índice meiótico acima de 90% em *Phaseolus* são semelhantes aos encontrados em outras leguminosas: em torno de 97% em *Vigna* L., 100% em *Arachis pintoi* Krap. & W. C. Gragory, próximo a 99% em *Desmodium* Desv. (SENF et al., 1995), acima de 90% em *Adesmia* DC. (TEDESCO et al., 2002). Estes índices

meióticos elevados são indicativos de que estas plantas são meioticamente estáveis e seu uso em cruzamentos provavelmente não apresentará problemas (LOVE, 1949).

Tabela 2 - Índice meiótico (IM) das cultivares de feijão, avaliado através do método de coloração de tétrades (T) com orceína acética 2%.

| Cultivares       | Nº de células em tétrades | Nº de células em tríades | Nº de células em díades | Nº de células em políades | IM= Nº T normais/ Nº T totais x 100% |
|------------------|---------------------------|--------------------------|-------------------------|---------------------------|--------------------------------------|
| IAPAR 44         | 487                       | 4                        | 2                       | 10                        | 96,81%                               |
| Guapo Brillhante | 304                       | 5                        | 2                       | 8                         | 95,29%                               |
| BRS Expedito     | 270                       | 4                        | 1                       | 10                        | 94,73%                               |
| BRS Valente      | 300                       | 1                        | 2                       | 6                         | 97,08%                               |
| Guateian 6662    | 320                       | 9                        | 1                       | 9                         | 94,39%                               |
| Pérola           | 357                       | 3                        | 4                       | 7                         | 96,22%                               |
| Iraí             | 289                       | 4                        | 2                       | 10                        | 94,75%                               |

A regularidade do comportamento meiótico tem sido também evidenciada em trabalhos com outras leguminosas. Coelho; Battistin (1998) analisaram o comportamento meiótico em sete espécies de *Adesmia* DC., e verificaram que a meiose foi regular, com formação de dez bivalentes nas espécies diplóides e 20 bivalentes nas tetraplóides em diacinese e metáfase I e disjunção normal na anáfase I e telófase II.

Schifino-Wittmann et al. (1994), verificaram que a meiose foi essencialmente regular em espécies de *Vicia* L. e *Lathyrus* L. com a formação exclusiva de sete bivalentes e disjunção cromossômica regular na anáfase. Tedesco et al. (2002), verificaram comportamento meiótico essencialmente regular na maioria dos acessos das 17 espécies de *Adesmia* DC. analisadas, com dez bivalentes na diacinese e metáfase I e segregação cromossômica normal na anáfase e telófase I e II. Em *Dahlstedtia pinnata* (Benth.) Malme e *D. pentaphylla* (Taubt.) Burk. a análise das



fases meióticas revelou não haver problemas de disjunção cromossômica e ambas apresentaram 11 bivalentes na metáfase I (TEIXEIRA et al., 2002).

Contudo, uma alta percentagem de grãos de pólen viáveis é esperada como resultado de um alto percentual de tétrades normais (Figura 2 – A, B), as quais refletiriam diretamente na uniformidade entre as cultivares quanto ao processo meiótico regular. Observou-se também uma alta percentagem de polens viáveis na cultivar andina Iraí, o que demonstra alto potencial de fertilidade dos gametas masculinos, contrariando a hipótese de que a mesma teria um percentual de polens viáveis reduzido. Não só as leguminosas, mas todas as espécies que produzem grande quantidade de pólen são plantas que alocam uma significativa parcela de energia na produção de gametas, diferentes das que alocam maior quantidade de energia na parte vegetativa (PIANKA, 1970; STILING, 1998).

Tabela 3 - Comparação das estimativas (%) da viabilidade do pólen entre corantes dentro de cada cultivar e entre cultivares dentro de cada corante, em sete cultivares de feijão.

| Cultivares      | Orceína Acética 2% |                      | Reativo de Alexander |                     |
|-----------------|--------------------|----------------------|----------------------|---------------------|
|                 | N*                 | %                    | N*                   | %                   |
| IAPAR 44        | 6352               | 99,24 <sup>bA</sup>  | 6145                 | 96,01 <sup>aA</sup> |
| Guapo Brilhante | 6379               | 99,67 <sup>abA</sup> | 6348                 | 99,18 <sup>aB</sup> |
| BRS Expedito    | 6373               | 99,57 <sup>abA</sup> | 6258                 | 97,78 <sup>aA</sup> |
| BRS Valente     | 6387               | 99,78 <sup>aA</sup>  | 6261                 | 97,82 <sup>aA</sup> |
| Guateian 6662   | 6367               | 99,48 <sup>abA</sup> | 6351                 | 99,23 <sup>aA</sup> |
| Pérola          | 6381               | 99,70 <sup>abA</sup> | 6363                 | 99,42 <sup>aA</sup> |
| Iraí            | 6391               | 99,88 <sup>aA</sup>  | 6371                 | 99,54 <sup>aB</sup> |
| Média           | 44630              | 99,61 <sup>A</sup>   | 44097                | 98,42 <sup>B</sup>  |

\*Número de pólenes viáveis; % percentual de viabilidade. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Na tabela 3 encontram-se os resultados da comparação das estimativas da viabilidade dos grãos de pólen com os dois diferentes corantes para as sete cultivares de feijão. Observou-se, pela análise dos resultados, que o corante orceína acética 2% foi o que apresentou maior percentual de viabilidade para a maioria das cultivares, enquanto que o corante reativo de Alexander apresentou um percentual de viabilidade menor ao da orceína acética, e isso se deve a sua coloração diferencial dos polens viáveis e não viáveis.

Para o corante orceína acética 2%, a cultivar IAPAR 44 diferiu significativamente de BRS Valente e de Iraí, não diferindo das demais cultivares. Na comparação entre as médias para o corante reativo de Alexander, as cultivares não diferiram entre si. Guapo Brilhante e Iraí apresentou diferenças significativas na comparação entre os corantes orceína acética 2% (99,67% e 99,88%, respectivamente) e reativo de Alexander (99,18% e 99,54%, respectivamente). Estes valores são semelhantes àqueles encontrados por Pazy et al. (1977), para *Lupinus palestinus* (96%), *L. pilosus* (93,6%) e por Carstairs et al. (1992), para *L. princeii* (98,6%), *L. atlanticus* (98%) e *L. digitatus* (92,4%) para algumas espécies. O elevado percentual de pólenes funcionais nesses acessos está associado à regularidade meiótica (TECHIO et al., 2006), o que contribui para o uso dessas espécies em programas de melhoramento.

Na tabela 3, ainda é possível observar que o corante orceína acética 2% (99,61%) diferiu significativamente do corante reativo de Alexander (98,42%), mostrando que este é o mais indicado para estimar a viabilidade do pólen em feijão, pois permitiu distinguir com mais segurança pólen viável de inviável. Segundo Alexander (1980), as análises usando esse corante parecem fornecer dados mais acurados sobre a viabilidade do pólen, pois se obtém uma coloração diferencial dos pólenes viáveis (Figura 2 - D) e não viáveis, devido à utilização simultânea de verde malaquita e fucsina ácida, os quais apresentam coloração reversa. Desta forma, constata-se que o corante orceína acética superestimou a viabilidade, pois corou pólenes viáveis (Figura 2 - C) e inviáveis com a mesma intensidade. Como não existe outro parâmetro comparativo, às vezes a distinção entre viáveis e inviáveis torna-se duvidosa.

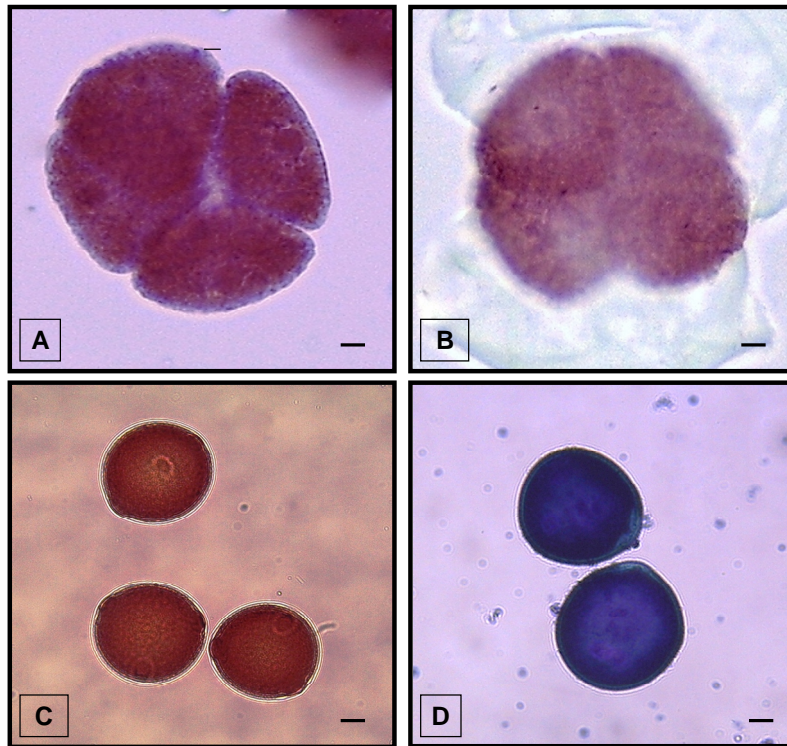


Figura 2 – A e B) Tétrades, coradas com orceína acética 2%; C) Grãos de pólen corados com orceína acética; D) Grãos de pólen corados com reativo de Alexander. Escala 10  $\mu$ m

O alto percentual de grãos de polens viáveis encontrados nas cultivares de feijão é compatível com os estudos prévios que mostram meiose regular e índice meiótico acima de 90% nestas mesmas cultivares, garantindo desta forma a manutenção das sucessivas gerações através da produção de sementes.

Na tabela 4 são apresentadas as médias das medidas dos grãos de pólen para as sete cultivares analisadas. Comparando as médias das medidas de todas as cultivares, observou-se que a cultivar BRS Valente apresentou média diferente das médias das cultivares IAPAR 44 e BRS Expedito. Shen; Webester (1986) analisaram a morfologia polínica de *Phaseolus vulgaris* L. em condições normais e sob condições de estresse hídrico. Segundo os autores o grão de pólen nas condições ambientais apresenta três aberturas esféricas e proeminentes, sendo, portanto triaperturados, estando elas relativamente distantes.

Tabela 4 - Médias das medidas dos grãos de pólen para as sete cultivares de feijão.

| Cultivares      | Médias ( $\mu\text{m}$ )* |
|-----------------|---------------------------|
| IAPAR 44        | 66,25 <sup>a</sup>        |
| Guapo Brilhante | 57,22 <sup>ab</sup>       |
| BRS Expedito    | 62,50 <sup>a</sup>        |
| BRS Valente     | 51,25 <sup>b</sup>        |
| Guateian 6662   | 61,50 <sup>ab</sup>       |
| Pérola          | 60,00 <sup>ab</sup>       |
| Iraí            | 57,77 <sup>ab</sup>       |

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

As diferenças observadas durante a medição dos grãos de polens das cultivares acredita-se não ter influência significativa na fertilidade dos gametas masculinos, pois como mostrado no estudo, a estimativa da viabilidade polínica encontrada foi alta.

## 5 CONCLUSÕES

A análise do comportamento meiótico foi considerado normal para todas as cultivares, sem registros de células com anormalidades. O índice meiótico não apresentou diferenças estatísticas significativas, mostrando uma alta percentagem de grãos de polens viáveis, os quais refletem diretamente na uniformidade entre as cultivares quanto o processo meiótico regular.

O uso do corante reativo de Alexander para a coloração dos grãos de polens no estudo da estimativa da viabilidade polínica foi o que apresentou dados mais acurados sobre polens viáveis e não viáveis quando comparado com o corante orceína acética, mostrando que este é o mais indicado para estimar a viabilidade do pólen de feijão, devido ao resultado ser mais preciso com a coloração diferencial.

Dessa maneira, constatou-se que o corante orceína acética superestimou a viabilidade dos grãos de pólen, pois corou grãos viáveis e inviáveis com a mesma intensidade, tornando a distinção entre os mesmos duvidosa.

Os dados sobre comportamento meiótico e viabilidade polínica encontrados neste trabalho, mostram que o feijão possui um processo meiótico iniforme, demonstrando alto potencial de fertilidade dos gametas masculinos, o que facilita o uso dessa espécie em programas de melhoramento, em especial com as cultivares aqui usadas. Acredita-se que a uniformidade e regularidade dos resultados obtidos nesse estudo se deram também por conta de todas estas cultivares já serem cultivadas e ter sofrido algum tipo de seleção por parte dos produtores.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXANDER, M. P. A. Versatile stain for pollen fungi, yeast and bacterium. **Stain Technology** v.5, n.1, p. 13-18, 1980.

ALMEIDA, M.L. **Origem e evolução de *Phaseolus***. Evolução de plantas cultivadas. Caderno Didático. Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 1995.

ANTUNES, Pedro L. et al. **Valor nutricional de feijão (*Phaseolus vulgaris*, L.), cultivares RICO 23, CARIOCA, "PIRATÃ-1" E "ROSINHA-G2"**. Pelotas, RS. Rev. Brás. de Agrociência, V.1, Nº 1, Jan-Abr., 1995.

ARAUJO, R. S. et al. **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba: POTAFOS, p. 786, 1996.

ATKINS, C. A.; SMITH, P. M. C.; GUPTA, S.; JONES, M. G. K.; CALIGARI, P. D. S. Genetics, cytology and biotechnology. In: GLADSTONES, J. S.; ATKINS, C. A.; HAMBLIN, J. (Eds.). **Lupins as crop plants: biology, production and utilization**. Cambridge: CAB International, p. 1-40, 1998.

BORÉM, A. e CARNEIRO, J. E. S. A cultura. In: **Feijão: Aspectos Gerais e Cultura no Estado de Minas Gerais**. VIEIRA, C., TRAZILBO, P. Jr., BORÉM, A. (eds.). Editora UFV, Viçosa, p. 13-17, 1998.

CARSTAIRS, S. A.; BUIRCHELL, B. J.; COWLING, W. A. Chromosome number, size and interspecific crossing ability of three Old World lupins, *Lupinus princei* Harms, *L. atlanticus* Gladstones and *L. digitatus* Forsk I, and implications for cyto-systematic relationships among the rough-seeded lupins. **Journal of the Royal Society of Western Australia**, Australia, v. 75, p. 83-88, 1992.

CEPEF. Comissão Estadual de Pesquisa do Feijão. **Indicações técnicas para a cultura do feijão no Estado do Rio Grande do Sul**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, p. 110, 2007.

COELHO, L. G. M.; BATTISTIN, A. Meiotic behavior of *Adesmia* DC. (Leguminosae-Faboideaceae) species native to Rio Grande do Sul, Brazil. **Genetic and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 21, n. 3, p. 403-406, 1998.

CORRÊA, M.G.S; VIEGAS, J.; SILVA, J.B; AVILA, P.F.V; BUSATO, G.R.; LMES, J.S. Meiose e viabilidade polínica na família Araceae. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v.19 n.2, p. 295-303, 2005.

DAFNI, A. **Pollination ecology: a practical approach (the practical approach series)**. New York: University Press, p. 250, 1992.

DEBOUCK, D.G. **Systematics and morphology**. In: SCHOONHOVEN, A. van; VOYSEST, O. (Ed.). *Common beans: research for crop improvement*. Cali: CIAT, p. 55-118, 1991.

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

FREITAS, F. O. **Estudo genético – evolutivo de amostras modernas e arqueológicas de milho (*Zea mays mays*, L.) e feijão (*Phaseolus vulgaris*, L.)**. 125p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 2001.

GEPTS, P.; DEBOUCK, D.G. **Origin, domestication, and evolution of the common bean (*Phaseolus vulgaris*)**. In: SCHOONHOVEN, A. van; VOYSEST, O. (Ed.). *Common beans: research for crop improvement*. Cali: CIAT, p. 7-53, 1991.

GEPTS, P.; OSBORN, T.C.; RASHKA, K.; BLISS, F.A. **Phaseolin protein variability in wild forms and landraces of the common bean (*Phaseolus vulgaris*): evidence for multiple centers of domestication**. *Economic Botany*, v.40, p. 451-468, 1986.

GOLDBLATT, P. Cytology and the the phylogeny of Leguminosae. In: *Advances in legume systematics*. **Royal Botanic Garden**. p. 55-118. 1981.

GOLVBOVSKAYA, I.N. Genetics control of meiosis. **International Review of Cytology**, v.58, p. 247-90, 1979.

GUERRA, M. S.; SOUZA, M. J. **Como observar cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana**. Ribeirão Preto: FUNPEC, p. 191, 2002.

GUINET, P.H. **Advances in legume biology: struture evolution, and biology of pollen in eguminosae**. St. Louis: Missouri Botanical Garden, p. 842, 1989.

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**, v.80, p.1874- 1881, 2000.

HANNAH, M. A.; IQBAL, M. J.; SANDERS, F. E. **The DL gene system in common bean: a possible mechanism for control of root-shoot partitioning.** New Phytologist, Lancaster, v. 147, p. 487-496, 2000.

HARLAN, J.R. Agricultural origins: centers and no centers. Washington. **Science**, v. 174, p. 468-474, 1971.

HARLAN, J.R. Geographic patterns of variation in some cultivated plants. Baltimore. **Journal of Heredity**, v. 66, p. 184-191, 1975.

HEISER J. R.; Charles, B. A carne do pobre: leguminosas. In: **Sementes para a civilização: a história da alimentação humana.** São Paulo: Edusp, p 122-140, 1977.

KARSBURG, I.V.; BATTISTIN, A. Estimativa da viabilidade do pólen com diferentes corantes, em cinco espécies de Urticaceae do Rio Grande do Sul. **Revista Científica Rural**, Bagé, v.10, n.2, p.23-29, 2005.

KEARNS, C.A.; INOUE, D. **Techniques for pollinations biologist.** Niwot: University Press of Colorado, 1993.

LACKEY, J. A. A chromosome atlas of the Phaseoleae (Leguminosae, Papilionoideae). **Iselya**, v.1, n.1, p.87-114, 1979.

LOVE, R.M. **Estudos citológicos preliminares de trigos Rio-Grandenses.** Porto Alegre: Secretaria de Estado dos Negócios da Agricultura, Indústria e Comércio, 1949. 23p. (Circular, 74)

MARUTANI, N.; SHEFFER, R.O.; KAMEMOTO, H. **Cytological analysis of *Anthurium andraeanum*(Araceae) its related taxa and their hybrids.** American Journal of Botany, Columbus, v.80, n.2, p.93-103, 1993.

MERCADO-RUARO, P.; DELGADO-SALINAS, A. Cytogenetic studies in *Phaseolus* L. (Fabaceae). **Genetics and Molecular Biology**, v.23, n.4, p.985-987, 2000.



MERCADO-RUARO, P.; DELGADO-SALINAS, A. karyotypic studies on species of Phaseolus (Fabaceae: Phaseolinae). **American Journal of Botany**, v.85, n.1, p.1-9, 1998.

MORALES DE LEON, J.; BOURGES, H.; CAMACHO, M.E. Amino acid composition of some Mexican foods. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.55, p.172-186, 2005.

NASSAR, N.M.A.; FREITAS, M. Prospects of polyploidizing Cassava, *Manihot esculenta* Crantz, by unreduced microspores. **Plant Breeding**. n.116, p.195-7, 1997.

NAVARINI, A.P.G. **Caracterização citogenética de populações de *Hypericum caprifoliatum* Cham. & Schlttdl. (Clusiaceae) em comparação com outras espécies do gênero**. 2008. 85f. Dissertação (Mestrado – Horticultura) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande Do Sul, Porto Alegre, 2008.

PAGLIARINI, M.S. **Citogenética aplicada ao melhoramento**. In: NASS, L.L.; VALOIS, A.C.C.; MELO, I.S.; VALADARES-INGLIS, M.C. Recursos Genéticos Melhoramento Plantas, Rondonópolis: Pallotti, 2001, 872-910p.

PAGLARINI, M.S. Meiotic behavior of economically important plant species: the relationship between fertility and male sterility. **Genetics and molecular Biology**, v.23, n.4, p.997-1002, 2000.

PAZY, B.; HEYN, C. C.; HERRNSTADT, I.; PLITMANN, U. Studies in populations of the Old World *Lupinus* species. I. Chromosomes of the east-mediterranean lupines. **Israel Journal of Botany**, Jerusalém, v. 26, p. 115-127, 1977.

PIANKA, E. R. On r- and k- selection. **American Naturalist**. Chicago. v. 104. p.592-597, 1970.

PIRES, C.V.; OLIVEIRA M.G.A.; ROSA, J.C.; COSTA, N.M.B. Qualidade nutricional e escore químico de aminoácidos de diferentes fontes protéicas. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v.26, p.179-187, 2006.

SARBHOY, R. K. Cytogenetical studies in the genus *Phaseolus* Linn. III. Evolução in the genus *Phaseolus*. **Cytologia**, v.42, n.3, p.401-413, 1977.

SCHIFINO-WITTMANN, M. T.; LAU, A. H.; SIMIONE, C. The genera *Vicia* and *Lathyrus* (Leguminosae) in the Rio Grande do Sul (Southern Brazil): Cytogenetics of native, naturalized and exotic species. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 17, n. 3, p. 313-319, 1994.

SENF, M. I.; SCHIFINO-WITTMANN, M. T.; PAIM, N.R. Cytogenetic studies of populations of *Arachis*, *Desmodium* and *Vigna* species. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 18, p. 629-631, 1995.

SHEN, X. Y.; WEBSTER, B. D. Effects of water stress on pollen of *Phaseolus vulgaris* L. **Journal American Society Horticultural Science**. v.11, n.5, p. 807-810, 1986.

SHIVANNA, K.R.; RANGASWAMY, N.S. **Pollen biology**. A laboratory manual. Berlin/New York: Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg, 1992.

SHIVANNA, K.R.; JOHRI, B.M. **The angiosperm pollen: structure and function**. New Dehli: Wiley Eastern Ltd., 1985.

SINGH, R.J. **Plant cytogenetics**. Urbana: University of Illinois, 391p. 1993.

SINHA, S.S.N. and Roy, H. **Cytological studies in the genus Phaseolus**: Mitotic analysis of fourteen species. *Cytologia* v.44: 191-199, 1979.

SOARES, A. G. Consumo e qualidade nutritiva. In: Reunião Nacional de Pesquisa de Feijão, 1996, Goiânia. **Anais...** Goiânia: UFGO, v. 2, p. 73-79, 1996.

SOUZA, M.M.; PEREIRA, T.N.S.; MARTINS, E.R. Microsporogênese e microgametogênese associadas ao tamanho do botão floral e da antera e viabilidade polínica em maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* degener). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.26, n.6, p.1209-1217, 2002.

STILING, R. *Ecology: theories and applications*. 3. ed. **Oxford**. Prentice-Hall, 638p. 1998.

SYBENDA, J. Forty years of cytogenetics in plant breeding: a personal view. In: LELLEY, T. (Ed). **Current topics in plant cytogenetics related to plant improvement**. Tullen, Áustria : Universitätsverlag, p. 22-32, 1998.

TECHIO, V. H.; DAVIDE, L.C.; PEDROZO, C. A.; PEREIRA, A.V. **Viabilidade do grão de pólen de acessos de capim-elefante, milho e híbridos interespecíficos (capim-elefante x milho)**. Acta Sci. Biol. Sci. Maringá, v. 28, n. 1, p. 7-12, Jan./Mar, 2006.

TEDESCO, S.B. **Morfologia, microsporogênese e modo de reprodução das espécies brasileiras do gênero *Adesmia* DC. (Leguminosae)**. 2000. Tese (Doutorado – Zootecnia) Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande Do Sul, Porto Alegre, 2000.

TEDESCO, S. B.; SCHIFINO-WITTMANN, M. T.; DAL'AGNOLL, M. Meiotic behaviour in the seventeen Brazilian species of *Adesmia* DC. (Leguminosae). **Caryologia**, Firenze, v. 55, n. 4, p. 341-347, 2002.

TEIXEIRA, S. P.; FORNI-MARTINS, E. R.; RANGA, N. T. Development and cytology of pollen in *Dahlstedtia* Malme (Leguminosae: Papilionoideae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 138, p. 461-471, 2002.

TURNER, B. L. Chromosome number in the Leguminosae. **American Journal of Botany**, v.43, p.577-581, 1956.

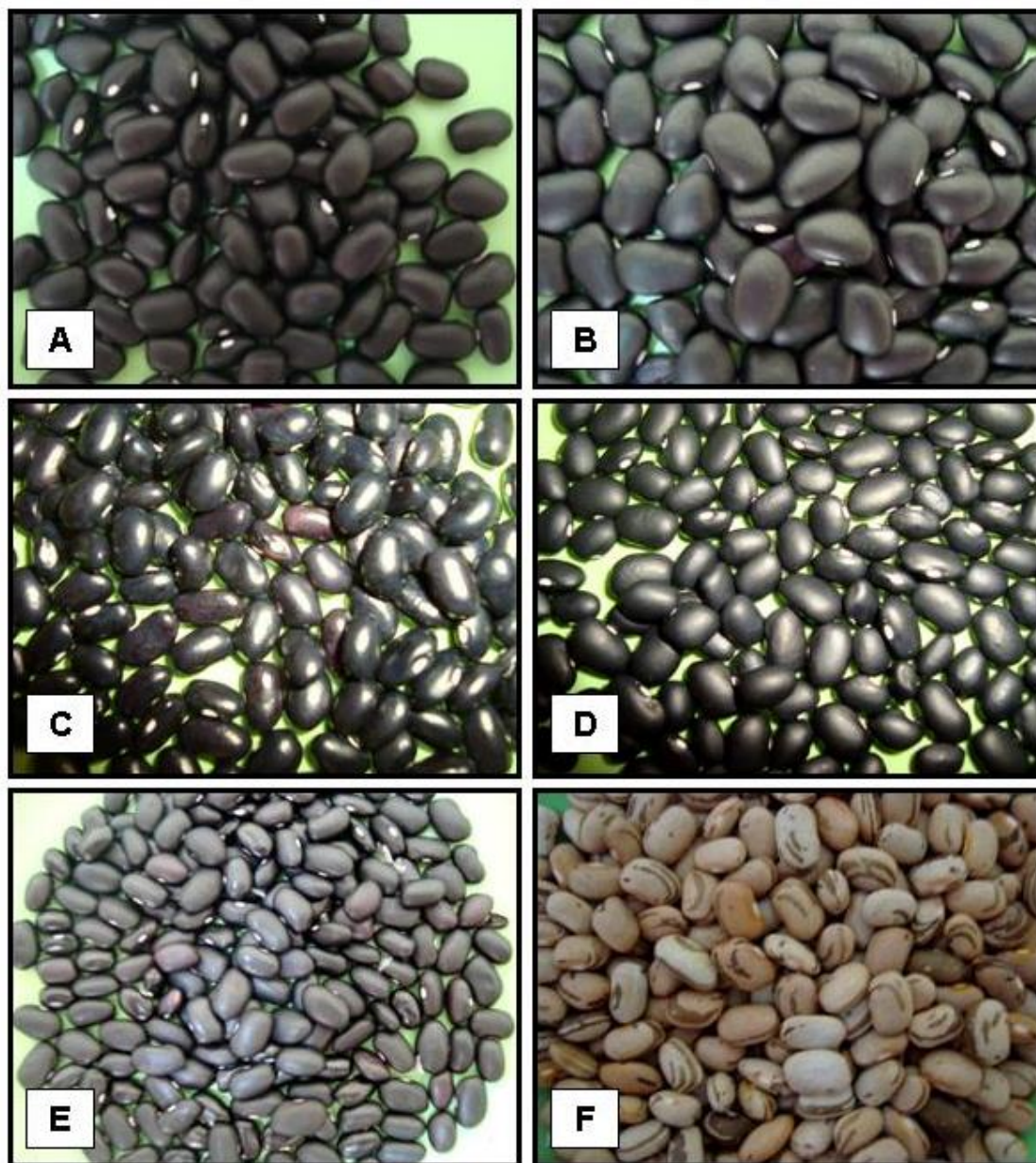
VAVILOV, N.I. **Linnaeus species as a system**. Bulletin Applied Botanic Genetic, v.26, n.3, p. 109-134, 1931.

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

WANDER, A. E. **Embrapa Arroz e Feijão**. Sistemas de Produção, Nº.05 ISSN 1679-8869, 2005. Versão eletrônica. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/FeijaoIrrigadoNoroesteMG/index.htm>. Acesso em: 04 junho de 2010, 15:33:21

ZENG, J.; NAKATA, J.; UCHIYAMA, H.; MORIKAWA, H.; TANAKA, R. **Giemsa Cbanding patterns** in several species of *Phaseolus* (L.) and *Vigna* Savi, Fabaceae. **Cytologia**, v. 56, n.2, p.459-466, 1991.

## **7 APÊNDICES**



Apêndice 1 - Grãos de feijão das cultivares: A) BRS Expedito B) BRS Valente C) Guapo Brilhante D) IAPAR 44 E) Guateian 6662 F) Pérola.



Apêndice 2 – A e B) Grãos de feijão da cultivar andina Iraí. C e D) Vasos com as plantas de feijão em casa de vegetação. E e F) Sacos de papel, onde as sementes eram armazenadas.