

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

**PARÂMETROS GENÉTICOS DA CONCENTRAÇÃO  
DE FERRO E DE ZINCO EM SEMENTES DE FEIJÃO  
ANDINO**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Allan Emanuel Mezzomo Zemolin**

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2015**

# **PARÂMETROS GENÉTICOS DA CONCENTRAÇÃO DE FERRO E DE ZINCO EM SEMENTES DE FEIJÃO ANDINO**

**Allan Emanuel Mezzomo Zemolin**

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 título do grau de  
**Mestre em Agronomia.**

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

**Santa Maria, RS, Brasil**

**2015**

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

ZEMOLIN, ALLAN EMANOEL MEZZOMO  
PARÂMETROS GENÉTICOS DA CONCENTRAÇÃO DE FERRO E DE  
ZINCO EM SEMENTES DE FEIJÃO ANDINO / ALLAN EMANOEL  
MEZZOMO ZEMOLIN.-2015.  
45 f.; 30cm

Orientadora: Nerinéia Dalfollo Ribeiro  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-  
Graduação em Agronomia, RS, 2015

1. Efeito materno 2. Herdabilidade 3. Ganho com a  
seleção 4. Distribuição de frequência 5. Biofortificação I.  
Dalfollo Ribeiro, Nerinéia II. Título.

---

©2015

Todos os direitos autorais reservados a Allan Emanuel Mezzomo Zemolin. A reprodução de qualquer parte deste trabalho só poderá ser feita com autorização por escrito do autor.

Endereço: Rua Dom Marcos Teixeira, 242, Parque do Sol, Santa Maria – RS, 97095-430.

Endereço eletrônico: allanzemolin@gmail.com

---

**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

**PARÂMETROS GENÉTICOS DA CONCENTRAÇÃO DE FERRO E DE  
ZINCO EM SEMENTES DE FEIJÃO ANDINO**

Elaborada por

**Allan Emanuel Mezzomo Zemolin**

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

**COMISSÃO EXAMINADORA:**

---

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

---

**Prof. Dr. Rogério Luiz Backes (UFSM)**

---

**Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Viviani Ruffo de Oliveira (UFRGS)**

Santa Maria, 23 de fevereiro de 2015.

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho aos meus queridos pais:

**ALCEU LUIZ ZEMOLIN e**

**JOVANA INÊS MEZZOMO ZEMOLIN,**

pelo apoio, incentivo e compreensão durante

essa importante etapa da minha vida.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, toda a minha gratidão, por iluminar meu caminho, dar esperanças, acalmar-me os medos, e, principalmente, permitir que eu esteja aqui realizando mais esta etapa da minha vida.

Aos meus pais, todo o meu carinho por serem a base de minha existência, pela paciência e auxílio nos momentos de incertezas e pelo apoio e incentivo prestado a mim durante toda esta trajetória.

À professora Nerinéia Dalfollo Ribeiro, pela orientação, paciência, auxílio e pelos conhecimentos transmitidos.

Aos mestres que tive na pós-graduação, sou grato aos ensinamentos que me foram passados.

Aos meus grandes amigos e companheiros de trabalho: Micheli Possobom e Lucas Domingues, pela amizade, confiança e apoio prestados durante esta jornada.

Aos amigos e companheiros de setor: Fernanda Arns, Cleiton Casagrande, Maykon Júnior da Silva, Skarlet Steckling, Greice Klasener, Raul Machado, Anderson Anversa, Andréia Schuster, Mariane Peripolli, Marina Pasqualli, Henrique Mezzomo e Ritieli Manbrin pelo auxílio nas atividades do setor, pela paciência e, principalmente, pela amizade. Saliento que vocês tiveram papel fundamental e contribuíram muito para eu melhorar como pessoa, e como profissional. A vocês, meu muito obrigado!

Aos funcionários do Departamento de Fitotecnia, especialmente ao João Colpo, pela amizade e auxílio prestado no preparo da área dos experimentos. Ao Paulo de Tarso, do Laboratório de Ecofisiologia, pelo empréstimo do local para realização dos procedimentos de digestão das amostras; ao Darinês Britzke, pelo auxílio e a realização das leituras dos minerais no espectrofotômetro de absorção atômica do Laboratório de Solos da Universidade Federal de Santa Maria.

Enfim, a todos que participaram direta ou indiretamente para a realização deste sonho:

**Muito Obrigado!**

*“... Ser sábio não quer dizer ser perfeito, não falhar,  
não chorar e nem ter momentos de fragilidade.  
Ser sábio é aprender a usar cada dor como  
uma oportunidade para aprender lições,  
cada erro como uma ocasião para corrigir rotas,  
cada fracasso como uma chance para ter mais coragem.  
Nas vitórias, os sábios são amantes da alegria;  
nas derrotas, são amigos da reflexão.”*

*(Augusto Cury)*

## RESUMO

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

### PARÂMETROS GENÉTICOS DA CONCENTRAÇÃO DE FERRO E DE ZINCO EM SEMENTES DE FEIJÃO ANDINO

AUTOR: ALLAN EMANOEL MEZZOMO ZEMOLIN  
ORIENTADORA: NERINÉIA DALFOLLO RIBEIRO

Local e Data da Defesa: Santa Maria, 23 de fevereiro de 2015.

Os objetivos desse trabalho foram investigar se ocorre efeito materno para a concentração de ferro e de zinco em sementes de feijão Andino, obter estimativas de parâmetros genéticos para esses minerais e selecionar recombinantes para o programa de biofortificação de feijão. Para tanto, hibridações controladas foram realizadas entre os parentais IAC Boreal x Light Red Kidney e Ouro Branco x Light Red Kidney para a obtenção das gerações  $F_1$ ,  $F_1$  recíproco,  $F_2$ ,  $F_2$  recíproco e retrocruzamentos  $RC_{11}$  ( $F_1 \times P_1$ ) e  $RC_{12}$  ( $F_1 \times P_2$ ). As gerações obtidas foram avaliadas em um experimento de campo conduzido no período de safreina de 2014 em Santa Maria, RS. Nas sementes de feijão das populações segregantes obtidas a concentração de ferro variou de 24,70 a 102,40 mg kg<sup>-1</sup> de matéria seca – MS e a concentração de zinco foi de 10,70 a 37,50 mg kg<sup>-1</sup> de MS, sem que a expressão de efeito materno tenha sido observada. A herdabilidade em sentido amplo estimada para a concentração de ferro nas sementes de feijão Andino variou de 52,36 a 67,83% e para zinco, a amplitude foi de 63,36 a 72,22%. A herdabilidade em sentido restrito para a concentração de ferro variou de 19,04 a 45,29% e para zinco, de 31,04 a 63,60%. Os ganhos de seleção obtidos para a concentração de ferro e de zinco nas sementes de feijão Andino foram de 18,58% e de 17,21%, respectivamente. Assim, a partir dos cruzamentos testados é possível obter recombinantes com alta concentração de ferro e de zinco nas sementes de feijão Andino.

**Palavras-chave:** *Phaseolus vulgaris* L.. Efeito materno. Herdabilidade. Ganho com a seleção. Distribuição de frequência. Biofortificação.

## ABSTRACT

Master's Dissertation  
Postgraduate Program of Agronomy  
Federal University of Santa Maria, RS, Brazil

### GENETIC PARAMETERS OF THE IRON AND ZINC CONCENTRATIONS IN ANDEAN BEAN SEEDS

AUTHOR: ALLAN EMANOEL MEZZOMO ZEMOLIN

ADVISER: NERINÉIA DALFOLLO RIBEIRO

Place and Date of Examination: Santa Maria, February, 23<sup>th</sup>, 2015

The aim of this work was to investigate if occurs maternal effect for iron and zinc concentrations in Andean bean seeds, to obtain genetic parameters estimates for these minerals, and to select recombinants for the bean biofortification program. For this, crosses were performed between the parents IAC Boreal x Light Red Kidney, and Ouro Branco x Light Red Kidney, to produce  $F_1$ ,  $F_1$  reciprocal,  $F_2$ ,  $F_2$  reciprocal and backcrossed  $RC_{11}$  ( $F_1 \times P_1$ ) and  $RC_{12}$  ( $F_1 \times P_2$ ) generations. Parents and the other generations obtained were evaluated at a field experiment conducted at 2014 dry season, in Santa Maria, RS. In the bean seeds of the segregating populations obtained, the iron concentration range from 24.70 to 102.40 mg  $kg^{-1}$  of dry matter – DM and the seed zinc concentration range from 10.70 to 37.50 mg  $kg^{-1}$  of DM, without that the expression of maternal effect was observed. The broad-sense heritability estimates for the seed iron concentration in the Andean beans range from 52.36 to 67.83%, and for zinc, the range was from 63.36 to 72.22%. The narrow-sense heritability estimates for seed iron concentration ranged from 19.04 to 45.29%, and, for zinc, from 31.04 to 63.60%. The selection gains for the seed iron and zinc concentrations ranged from 18.58 and 17.21%, respectively. Therefore, from the tested crosses, it is possible to obtain recombinants with high iron and zinc concentrations in Andean bean seeds.

**Key words:** *Phaseolus vulgaris* L. Maternal effect. Heritability. Gain with selection. Frequency distribution. Biofortification.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Distribuição de frequência das plantas F<sub>2</sub> obtidas a partir dos cruzamentos entre IAC Boreal x Light Red Kidney para as concentrações de ferro (Figura 1A) e de zinco (Figura 1C), e Ouro Branco x Light Red Kidney para as concentrações de ferro (Figura 1B) e de zinco (Figura 1D), e as estatísticas dos testes de assimetria (A), curtose (K) e normalidade (N) (\*significância a 5% de probabilidade) para a concentração de ferro (mg kg<sup>-1</sup> de massa seca - MS) e zinco (mg kg<sup>-1</sup> de MS), em cultivo de safrinha 2014.....26

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Características das linhagens utilizadas como parentais no estudo dos parâmetros genéticos da concentração de ferro e de zinco com suas respectivas concentrações médias de ferro (  $\text{mg kg}^{-1}$  de matéria seca – MS ) e de zinco (  $\text{mg kg}^{-1}$  de MS) nas sementes, coloração do tegumento das sementes, massa de 100 sementes (M100S – g) e hábito de crescimento (HC).....20
- Tabela 2 – Dados de temperatura máxima (Temp. max. - °C) e temperatura mínima média mensal (Temp. min. - °C), precipitação total acumulada mensal (Precipitação - mm) e umidade relativa (UR - %) no período de cultivo de safrinha 2014, coletados na Estação Meteorológica de Santa Maria, Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Santa Maria – RS, UFSM, 2014 .....22
- Tabela 3 – Número de plantas (NP), concentração média de ferro e de zinco com respectivo desvio padrão obtidos nos parentais ( $P_1$  e  $P_2$ ) e nas gerações  $F_1$ ,  $F_1$  recíproco,  $F_2$ ,  $F_2$  recíproco e retrocruzamentos ( $RC_{11}$  e  $RC_{12}$ ) nos cruzamentos entre as linhagens IAC Boreal (IAC B,  $P_1$ ) x Light Red Kidney (LRK,  $P_2$ ) e entre Ouro Branco (OB,  $P_1$ ) x Light Red Kidney (LRK,  $P_2$ ) e probabilidade pelo teste t para os contrastes  $P_1$  vs.  $P_2$ ,  $P_1$  vs.  $F_1$ ,  $P_2$  vs.  $F_1$  recíproco,  $F_1$  vs.  $F_1$  recíproco e  $F_2$  vs.  $F_2$  recíproco. Santa Maria – RS, 2014 .....27
- Tabela 4 – Estimativas dos parâmetros genéticos e predição dos ganhos com a seleção para a concentração de ferro (  $\text{mg kg}^{-1}$  de massa seca- MS) e de zinco (  $\text{mg kg}^{-1}$  de MS) em sementes de feijão obtidas dos cruzamentos entre IAC Boreal (IAC B) x Light Red Kidney (LRK) e Ouro Branco (OB) x Light Red Kidney (LRK), no cultivo de safrinha 2014. Santa Maria – RS, 2014 .....29

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>20</b>
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>25</b>
3.1 Parâmetros genéticos da concentração de ferro em sementes de feijão .....	25
3.2 Parâmetros genéticos da concentração de zinco em sementes de feijão .....	33
<b>4 CONCLUSÕES.....</b>	<b>38</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>39</b>

# 1 INTRODUÇÃO

Globalmente, mais de 2 bilhões de pessoas sofrem com a deficiência de vitamina A, ferro, zinco e iodo (FAO, 2014a; FAO 2014b; THOMPSON; AMOROSO, 2014). A deficiência de um ou mais micronutrientes é considerada um grave problema de saúde pública e atinge, desde as crianças pequenas até idosos, de ambos os sexos e de todos os níveis sociais, que possuem uma dieta não adequada e desbalanceada em micronutrientes, principalmente aquelas baseadas em cereais, “*junk food*” e baixo consumo de carnes (KAIDAR-PERSON et al., 2008; ROOHANI et al., 2013; CLEMENS, 2014). Várias estratégias são utilizadas no combate à desnutrição, e, uma delas é o desenvolvimento de cultivares com maior concentração de nutrientes biodisponíveis em suas frações comestíveis, conhecidas como cultivares biofortificadas (CLEMENS, 2014). Esta estratégia tem se mostrado mais eficiente e sustentável do que as outras alternativas, como a suplementação de minerais (WHO, 2006; RIOS et al., 2009). Isso porque a suplementação oral por tempo prolongado, além de ser onerosa, acarreta reações indesejáveis, tais como a irritação do aparelho gastrointestinal, fazendo com que muitos pacientes desistam do tratamento (SENA; PEDROSA, 2005; BORTOLINI; VITOLLO, 2007; CANÇADO, 2009).

O ferro e o zinco são minerais essenciais para o bom funcionamento do organismo humano e a carência de um ou de ambos pode resultar em prejuízos à saúde (ROOHANI et al., 2013; IOM, 2001). O ferro é um importante componente da hemoglobina e é constituinte de um grande número de enzimas relacionadas ao metabolismo oxidativo (WHO, 2006; NUTTI et al., 2006). Sua deficiência causa anemia e traz debilitações cognitivas e físicas, tanto para crianças, quanto para adultos (LA FRANO et al., 2014). O zinco está presente em todos os órgãos, tecidos e fluídos corporais, sendo um elemento básico da bioquímica celular, além de ser essencial para a manutenção das funções do sistema imunológico (DESHPANDE et al., 2013; ROOHANI et al., 2013). A carência de zinco proporciona complicações durante a gestação (como problemas no crescimento e no desenvolvimento do feto) e o parto (trabalho de parto ineficiente e risco de parto prematuro), atraso no crescimento infantil, além de impactar negativamente em vários sistemas do corpo humano, deixando o indivíduo suscetível a infecções (BLACK, 2003; DESHPANDE et al., 2013; ROOHANI et al., 2013).

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é um alimento que está presente na dieta diária de grande parte da população brasileira e seu consumo aparente *per capita* é de 17,60 kg hab<sup>-1</sup>

ano<sup>-1</sup> (MESQUITA et al., 2007; WANDER; CHAVES, 2011). O consumo de 170,00 gramas de feijão cozido, com 65,00% de umidade, é capaz de atender 29,00 e 55,00% do consumo diário recomendado de ferro para mulheres e homens adultos, respectivamente, e 10,00% do requerimento diário de zinco (SATHE et al., 1984). De acordo com as recomendações da *Dietary Reference Intake* (DRI's), homens de 19 a 50 anos necessitam da ingestão de 8 mg diários de ferro e 11 mg diários de zinco (IOM, 2001). Já, mulheres na faixa etária de 19 a 50 anos, de acordo com a mesma fonte, necessitam uma ingestão diária de 18 e 8 mg diários de ferro e de zinco, respectivamente. Assim, o feijão é uma cultura importante e promissora para a biofortificação, visto que apresenta em sua composição ferro e zinco, e é um alimento de fácil acesso e bastante consumido no Brasil e em outros países em desenvolvimento atingidos pela desnutrição (NUTTI et al., 2006; HOGH-JENSEN et al., 2013).

O ponto de partida para o desenvolvimento de cultivares biofortificadas de feijão consiste na existência de variabilidade genética para a concentração dos minerais de interesse (BEEBE; GONZALEZ; RENGIFO, 2000; MORAGHAN; GRAFTON, 2001; CICHY et al., 2005; MESQUITA et al., 2007; BLAIR et al., 2009; JOST et al., 2009a). Beebe; Gonzalez; Rengifo (2000), analisando 1.031 acessos de feijão do Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), observaram que a concentração média de ferro nas sementes de feijão foi de 55,00 mg kg<sup>-1</sup> de matéria seca – MS, variando de 34,00 a 89,00 mg kg<sup>-1</sup> de MS, e a concentração média de zinco foi de 35,00 mg kg<sup>-1</sup> de MS, com variação de 21,00 a 54,00 mg kg<sup>-1</sup> de MS. Akond et al. (2011), avaliando 29 linhagens de feijão de centros de origens distintos, verificaram que a concentração de ferro nas sementes variou de 8,00 a 112,90 mg kg<sup>-1</sup> de MS, e que a concentração de zinco foi de 30,90 a 64,60 mg kg<sup>-1</sup> de MS. Segundo Mesquita et al. (2007), estudando 21 linhagens de feijão cultivadas no Brasil, observaram que as concentrações de ferro variaram de 71,37 a 126,90 mg kg<sup>-1</sup> de MS e de zinco, de 36,67 a 69,90 mg kg<sup>-1</sup> de MS, em estudos conduzidos durante a safra das águas na Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais (MG), região sudeste Brasileira.

De maneira geral, a seleção de plantas de feijão com altas concentrações de ferro e de zinco nas sementes tende a conferir uma maior biodisponibilidade desses micronutrientes, trazendo maiores benefícios aos consumidores, tais como a melhoria na saúde e na qualidade de vida, e contribuindo significativamente para o combate das carências de minerais (WELCH et al., 2000a; WELCH et al., 2000b; HOUSE et al., 2002; TAKO; BLAIR; GLAHN, 2011). De acordo com Ribeiro et al. (2013), foi possível selecionar cultivares de feijão com alta concentração de ferro nas sementes, igual ou maior a 95,00 mg kg<sup>-1</sup> de MS. Também, foi

possível identificar cultivares de feijão com alta concentração de zinco nas sementes, superior a 30,00 mg kg<sup>-1</sup> de MS (CICHY et al., 2005; TRYPHONE; NCHIMBI-MSOLLA, 2010).

A concentração de ferro e de zinco nas sementes de feijão varia de acordo com o ambiente de cultivo, as cultivares avaliadas e o centro de origem (BEEBE; GONZALEZ; RENGIFO, 2000; MORAGHAN; GRAFTON, 2001; ISLAM et al., 2002; MORAGHAN; GRAFTON 2002; MORAGHAN et al., 2002; ARAÚJO et al., 2003; JOST et al., 2009a; AKOND et al., 2011; RIBEIRO et al., 2012; SILVA et al., 2012). Fatores referentes ao local de cultivo, como a disponibilidade de ferro e a acidez do solo, influenciaram a concentração deste mineral nas sementes de feijão e podem dificultar o processo de seleção, sendo, portanto, recomendado praticá-la em um grande número de ambientes (MORAGHAN; GRAFTON, 2002; MORAGHAN et al., 2002; BISSANI et al., 2008; RIBEIRO et al., 2012).

De acordo com Moraghan; Grafton (2002) e Moraghan et al. (2002), a acidez do solo influencia a acumulação de ferro de forma que os solos ácidos propiciaram a maior acumulação deste mineral nas sementes de feijão. O resultado obtido por esses autores pode estar relacionado com a menor disponibilidade do ferro em solos alcalinos (BISSANI et al., 2008). Para a concentração de zinco, o ambiente parece exercer menor influência na expressão deste mineral, em razão da não ocorrência de interação genótipo x ambiente, o que é favorável para o melhoramento genético deste caráter (RIBEIRO et al., 2012). De acordo com Silva et al. (2012), em experimentos realizados em Lavras – MG, comparando 10 linhagens de feijão em três épocas de semeadura (semeadura em novembro, fevereiro e julho), relataram que houve diferença na concentração de minerais nas sementes de feijão, de forma que a semeadura realizada em novembro (safra das secas) proporcionou a maior concentração de ferro e de zinco nas sementes de feijão. Os resultados obtidos por esses autores podem ser explicados pelo fato de que o estresse hídrico esteve relacionado com a maior concentração de ferro nas sementes de feijão.

Com relação ao centro de origem, as cultivares de feijão provenientes do centro de origem Andino tendem a apresentar maior concentração de ferro e menor concentração de zinco do que as cultivares do centro de origem Mesoamericano (ISLAM et al., 2002). Além disso, os feijões do centro de origem Andino apresentam outras características importantes, tais como sementes de tamanho grande (> 40,00 g 100 sementes<sup>-1</sup>), diversas colorações de tegumento, presença de genes de resistência ao crestamento bacteriano (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*), à mancha angular (*Phaeoisariopsis griseola*) e ao vírus do mosaico comum (VMDF), e presença de genes de adaptação a climas frios e úmidos (SINGH et al., 1991; STRALIOTTO; TEIXEIRA, 2000; BLAIR et al., 2010). Desta forma, tais

características são favoráveis ao desenvolvimento de cultivares de feijão Andinas com alto potencial de exportação (DEL PELOSO; MELO, 2005) e com melhor adaptação as condições de cultivo de safrinha do Estado do Rio Grande do Sul, em decorrência das baixas temperaturas observadas, em especial, durante o período de floração a maturação (MALUF et al., 2001).

Outro fator importante para o desenvolvimento de cultivares de feijão biofortificadas consiste no conhecimento do local de acumulação do mineral na semente (BLAIR, 2013). O fato do mineral estar mais concentrado no tegumento ou no tecido cotiledonar afeta diretamente sua biodisponibilidade, em razão da presença de fatores antinutricionais nestes tecidos, como por exemplo, os taninos (presentes no tegumento) e os fitatos (presentes nos cotilédones), os quais prejudicam a absorção de alguns minerais, dentre eles o ferro e o zinco (MORAGHAN; GRAFTON, 2002; BLAIR, 2013). De acordo com Petry et al. (2013), taninos e fitatos formam complexos não absorvíveis com esses minerais, dentro do trato gastrointestinal dos seres humanos, causando, desta forma, a redução de sua biodisponibilidade. Para a agricultura, estes estudos são importantes para o desenvolvimento de cultivares biofortificadas por influenciar a ocorrência de efeito materno da concentração de minerais nas sementes.

A maior acumulação de minerais no tegumento das sementes resulta na ocorrência de efeito materno, que é caracterizado como um tipo especial de herança que faz com que a expressão de alguns caracteres dos descendentes seja independente dos genes doados pelo parental masculino por uma, ou até duas gerações (RAMALHO et al., 2012). Nesse caso, segundo os mesmos autores, isso ocorre em razão de que o tegumento das sementes de feijão é tecido proveniente da parede do ovário (tecido materno), e não produto da fecundação. Portanto, esse caráter se expressa apenas na geração seguinte e faz com que o tegumento e o embrião fiquem em gerações distintas na mesma semente. A principal implicação no processo de seleção causada pela ocorrência de efeito materno, é que a seleção só poderá ser praticada a partir da geração F<sub>3</sub>, onde será possível acessar a variabilidade genética (RAMALHO et al., 2012). Assim, o estudo da ocorrência de efeito materno é muito importante para o melhoramento de plantas, pois implica diretamente nas estratégias de condução das populações segregantes, em razão do fenótipo dos descendentes serem dependentes do genótipo materno (JOST et al. 2009a).

Em feijão de origem Mesoamericana, foi relatada a ocorrência de efeito materno significativo para a concentração de cálcio e de ferro (JOST et al., 2009a; JOST et al., 2009b), em razão desses minerais estarem mais concentrados no tegumento das sementes de feijão

(MORAGHAN et al., 2002; RIBEIRO et al., 2012). De acordo com Jost et al. (2009a), a ocorrência de efeito materno foi observada pelo contraste significativo entre as gerações  $F_1$  e  $F_1$  recíproco em razão de que o tegumento, local onde houve maior acumulação de ferro, é tecido de origem materna. Já, para a concentração de zinco não foi observado efeito materno significativo em sementes de feijão de origem Mesoamericana (ROSA et al., 2010). Entretanto, Silva et al. (2013) relataram a ocorrência de efeito materno para zinco em sementes de feijão em 12 das 16 combinações híbridas avaliadas. Isso se justifica pelo fato de que a acumulação de ferro e de zinco no tegumento ou no embrião das sementes de feijão varia acentuadamente de acordo com a cultivar e o centro de origem das sementes (MORAGHAN et al., 2002; CVITANICH et al., 2010; RIBEIRO et al., 2012).

O estudo da genética da concentração de minerais em sementes de feijão é uma ferramenta de auxílio aos melhoristas no desenvolvimento de cultivares biofortificadas, pois o conhecimento dos parâmetros genéticos dos caracteres de interesse é necessário para que se obtenha sucesso no melhoramento de plantas (BURATTO, 2012). Em feijão de origem Mesoamericana foi constatado que a concentração de ferro e de zinco nas sementes apresenta herança quantitativa (BEEBE; GONZALEZ; RENGIFO, 2000; GUZMAN-MALDONADO et al., 2003; BLAIR et al., 2009; JOST et al., 2009a; ROSA et al., 2010). No entanto, segundo Cichy et al. (2005), estudando a herança da concentração de zinco na geração  $F_2$  proveniente do cruzamento entre duas cultivares de feijão do tipo *navy bean* (um tipo de feijão Mesoamericano de sementes pequenas e brancas), esse é um caráter de herança monogênica que apresenta dominância parcial para maior concentração do mineral, o que implica em facilidades para o melhoramento desta característica. No entanto, não foram encontrados trabalhos a respeito do estudo dos parâmetros genéticos para a concentração de minerais em sementes de feijão Andino.

Uma das estimativas de grande importância para os melhoristas é a herdabilidade ( $h^2$ ), a qual é utilizada para a previsão dos ganhos com a seleção, e pode ser estimada em sentido amplo ( $h^2_a$ ), pela relação entre a variância genética e a variância fenotípica, ou em sentido restrito ( $h^2_r$ ), pela relação entre a variância aditiva e a variância fenotípica (RAMALHO et al., 2012). A herdabilidade em sentido restrito ( $h^2_r$ ), entretanto, apresenta maior utilidade para o melhoramento de plantas autógamas, como o feijão, pois a variância aditiva é fixada de geração para geração, proporcionando maior sucesso na seleção (CARVALHO et al., 2001). Em estudos realizados em populações  $F_2$  de feijão Mesoamericano, visando a estimação de parâmetros genéticos da concentração de minerais, houve o predomínio da variância genética aditiva tanto para a concentração de ferro (JOST et al., 2009a; BURATTO, 2012), quanto

para a concentração de zinco nas sementes (GRAHAM et al., 1999; CICHY et al., 2005; ROSA et al., 2010; BURATTO, 2012; SILVA et al., 2013).

Dessa forma, para o caractere concentração de ferro nas sementes de feijão Mesoamericano, são relatadas estimativas de herdabilidade em sentido restrito, na população  $F_2$ , variando de magnitude intermediária ( $h^2_r = 45,70\%$ ), predita por Buratto (2012), a alta ( $h^2_r = 98,93\%$ ), segundo Jost et al. (2009a). Para zinco, a herdabilidade em sentido restrito, também, foi estimada a partir de populações  $F_2$  de feijão Mesoamericano e foi, geralmente, de alta magnitude (CICHY et al., 2005; ROSA et al., 2010). Entretanto, Buratto (2012) obteve estimativas de herdabilidade em sentido restrito de magnitude intermediária ( $h^2_r = 42,48$  a  $57,47\%$ ) a baixa ( $h^2_r = 29,48$ ), para o mesmo caractere em populações  $F_2$  de feijão Mesoamericano. As diferenças observadas com relação aos valores de herdabilidade apresentados se justificam pelo fato de que suas estimativas não são valores fixos, ou seja, as estimativas de herdabilidade variam de acordo com a população avaliada, o ambiente de cultivo, o método de estimação e a precisão experimental (CARVALHO et al., 2001; RAMALHO et al., 2012). Para feijão de origem Andina, não foram encontrados estudos voltados à obtenção de herdabilidade em sentido restrito, estimada a partir de populações  $F_2$ .

Heterose ou vigor híbrido (H%) é definido como a superioridade do híbrido ( $F_1$ ) em relação à média dos seus parentais e sua estimativa pode resultar em valores positivos ou negativos, sendo interpretados conforme o caractere em questão. Com relação a concentração de minerais em sementes de feijão, espera-se que valores positivos sejam obtidos, pois é um indicativo de que a geração híbrida tem maior concentração de minerais do que a média dos parentais utilizados (CRUZ, 2005).

A manifestação do vigor híbrido ocorre em razão da heterozigose e da interação alélica dominante e/ou sobredominante e sempre será máxima na geração  $F_1$ , quando ocorre a máxima heterozigose por consequência da hibridação (RAMALHO et al., 2012). Segundo os mesmos autores, a heterose é dependente da capacidade de combinação dos parentais empregados na hibridação e sua estimativa será tanto maior quanto mais divergentes forem os parentais empregados na hibridação. No entanto, a heterose é explorada em apenas algumas espécies autógamas em razão delas disporem de mecanismos que dificultam a polinização cruzada e a obtenção de sementes híbridas, tais como a cleistogamia, dificultando, assim, a obtenção de sementes híbridas em grande escala (GUERRA; BESPALHOK, 2006).

Para a concentração de ferro nas sementes de feijão Mesoamericano, estimativas negativas de heterose na geração  $F_1$  foram obtidas por Buratto (2012) (H% = -6,40%), e positivas por Jost et al. (2009a) e Buratto (2012), H% = 51,94 e 11,26%, respectivamente. O

mesmo foi observado para a concentração de zinco nas sementes de feijão Mesoamericano, onde valores de heterose negativos foram obtidos por Buratto (2012) ( $H\% = -3,41\%$ ) e positivos por Rosa et al. (2010) e Buratto (2012),  $H\% = 9,24$  e  $3,68$ , respectivamente. Em feijão pertencente ao centro de origem Andino, não foram encontrados estudos abordando a heterose.

Com relação às estimativas de ganhos com a seleção encontradas na literatura, incrementos significativos para a concentração de ferro e de zinco nas sementes foram relatados em populações segregantes oriundas de cruzamento intraespecífico de feijão do centro de origem Mesoamericano (JOST et al., 2009a; ROSA et al., 2010; BURATTO, 2012). Dessa forma, segundo estimativas obtidas por Buratto (2012), foi possível aumentar a concentração de ferro em até  $15,48\%$ , em relação à média da população  $F_2$  obtida neste estudo, realizando a seleção de plantas  $F_2$ . De acordo com Jost et al. (2009a), ganhos de até  $30,05\%$ , em relação à população  $F_2$  obtida a partir de cruzamento entre feijão do centro de origem Mesoamericano, foram preditos com a seleção de plantas  $F_2$ . Para a concentração de zinco nas sementes de feijão, de acordo com Buratto (2012) e Rosa et al. (2010), foi possível o incremento de até  $18,96\%$  e  $12,22\%$ , respectivamente, realizando a predição dos ganhos com seleção de plantas da população segregante. Contudo, ressalta-se que os ganhos com a seleção variam, pois, sua predição é dependente de estimativas de herdabilidade e da intensidade de seleção (CRUZ; REGAZZI, 2004). Dessa forma, as estimativas de ganhos com a seleção obtidos com a prática de seleção precoce com feijão de origem Mesoamericana indicam que o desenvolvimento de cultivares de feijão biofortificadas para ferro e zinco é uma alternativa promissora.

Frente ao exposto, há dúvidas se ocorre expressão de efeito materno e se a herança da concentração de ferro e de zinco em sementes de feijão Andino é quantitativa. Assim, os objetivos desse trabalho foram investigar se ocorre efeito materno para a concentração de ferro e de zinco em sementes de feijão Andino, obter estimativas de parâmetros genéticos para esses minerais e selecionar recombinantes para o programa de biofortificação de feijão.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Para o estudo dos parâmetros genéticos da concentração de ferro e de zinco nas sementes de feijão foram utilizadas três cultivares do grupo gênico Andino (IAC Boreal, Light Red Kidney e Ouro Branco) do Banco de Germoplasma de Feijão da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), as quais foram selecionados com base na coloração do tegumento e na concentração de ferro e de zinco nas sementes (RIBEIRO et al., 2014, adaptado pelo autor) e estão caracterizadas na Tabela 1.

Tabela 1 – Características das linhagens utilizadas como parentais no estudo dos parâmetros genéticos da concentração de ferro e de zinco com suas respectivas concentrações médias de ferro ( $\text{mg kg}^{-1}$  de matéria seca – MS) e de zinco ( $\text{mg kg}^{-1}$  de MS) nas sementes, coloração do tegumento das sementes, massa de 100 sementes (M100S – g) e hábito de crescimento (HC)

Cultivar	Ferro ( $\text{mg kg}^{-1}$ de MS)	Zinco ( $\text{mg kg}^{-1}$ de MS)	Cor do Tegumento	M100S (g)	HC <sup>1</sup>
IAC Boreal	106,50	38,95	Vermelho Escuro com Rajas	54,40	I
Light Red Kidney	86,85	24,75	Vermelho Claro	51,47	III
Ouro Branco	133,80	29,65	Branco	52,80	II

<sup>1</sup>HC: I: refere-se as plantas com hábito de crescimento determinado do tipo I; II: refere-se as plantas com hábito de crescimento indeterminado com guias curtas; III: refere-se as plantas com hábito de crescimento indeterminado com guias longas.

Fonte: RIBEIRO et al. (2014), adaptado pelo autor.

No primeiro semestre de 2013 foram instalados os blocos de cruzamentos em casa-de-vegetação não climatizada do Departamento de Fitotecnia da UFSM, situada no município de Santa Maria, no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil (latitude 29°43'S, longitude 53°43'W e 95 m altitude). Neste período foram obtidas as sementes  $F_1$  ( $P_1 \times P_2$ ) e  $F_1$  recíproco ( $P_2 \times P_1$ ) pelo cruzamento entre as cultivares IAC Boreal x Light Red Kidney e Ouro Branco x Light Red Kidney, utilizando o método de entrelaçamento, com emasculação prévia do botão floral, de acordo com a metodologia descrita por Peternelli; Borém; Carneiro (2009).

No segundo semestre de 2013 foram semeados os parentais e parte das sementes  $F_1$  e  $F_1$  recíproco, para a obtenção de sementes das gerações  $F_2$  (autofecundação natural das plantas  $F_1$ ),  $F_2$  recíproco (autofecundação natural das plantas  $F_1$  recíproco) e retrocruzamentos ( $RC_{11}$ : ♀  $F_1 \times$  ♂ parental<sub>1</sub> e  $RC_{12}$ : ♀  $F_1 \times$  ♂ parental<sub>2</sub>). Nesse período, foram obtidas, novamente,

sementes  $F_1$  e  $F_1$  recíproco, a fim de que houvesse quantidade de sementes suficientes para compor o experimento de campo.

Em todas as etapas dos experimentos conduzidos em casa-de-vegetação, foram utilizados vasos de polipropileno com capacidade de 5 litros, os quais foram preenchidos com uma mistura de solo (Argissolo Bruno-Acinzentado alítico típico), substrato comercial H. Decker®, casca de arroz carbonizada e cinzas, na proporção volumétrica de 3:1:1:1, respectivamente. Os vasos foram dispostos aleatoriamente sobre as bancadas da casa-de-vegetação. A semeadura foi realizada utilizando cinco sementes de cada genótipo e, após a emergência, foi realizado o desbaste de três plântulas de maneira aleatória, a fim de que permanecessem apenas duas plantas por vaso. No experimento conduzido no primeiro semestre de 2013 foram conduzidos cerca de 35 vasos de cada parental e no segundo semestre de 2013, foram conduzidos 10 vasos de cada parental e 16 vasos para cada combinação  $F_1$  e  $F_1$  recíproco.

Ao longo do desenvolvimento da cultura, foram realizados manejos fitossanitários a fim de manter a integridade dos botões florais, tais como a aplicação de inseticida e fungicida. A temperatura interna foi monitorada a partir de um termômetro digital e as janelas eram abertas sempre que seu valor superasse os 25 °C e fechadas sempre que seu valor fosse inferior a 15 °C, visando adequar a temperatura ambiente àquela sugerida como ótima para a prática de cruzamentos descrita por Peternelli; Borém; Carneiro (2009).

No estágio de maturação ( $R_9$ ), as vagens foram colhidas individualmente, debulhadas manualmente e identificadas. As sementes das gerações obtidas e dos parentais foram secas em estufa ( $\pm 65$  °C) (Odontobras 1.5, Odontobras, Ribeirão Preto, SP, Brasil) até que atingissem umidade média de 13%. Após, as sementes permaneceram armazenadas em câmara fria ( $\pm 2$ °C), com umidade relativa de aproximadamente 65%, por um período de aproximadamente um mês, antes da semeadura do experimento de campo.

As sementes obtidas de cada geração ( $F_1$ ,  $F_1$  recíproco,  $F_2$ ,  $F_2$  recíproco,  $RC_{11}$  e  $RC_{12}$ ) e dos parentais (IAC Boreal, Light Red Kidney e Ouro Branco) compuseram o experimento de campo semeado no dia 17 de fevereiro de 2014, em cultivo de safrinha agrícola. O clima da região é classificado como Cfa, subtropical úmido, segundo a classificação de Köppen (KUNINCHTNER; BURIOL, 2001) e alguns dados das condições climatológicas observadas no período de condução do experimento são apresentadas na Tabela 2.

O local de instalação do experimento de campo foi a área experimental do Departamento de Fitotecnia da UFSM, em solo classificado como Argissolo Bruno-Acinzentado alítico típico, pertencente à unidade de mapeamento Santa Maria (SANTOS et

al., 2006). A composição química do solo antes da semeadura foi a seguinte: pH (H<sub>2</sub>O) = 6,50; matéria orgânica = 1,80%; P (Mehlich-1) = 18,00 mg dm<sup>-3</sup>; K = 116,00 mg dm<sup>-3</sup>; Ca<sup>+2</sup> = 8,70 cmolc dm<sup>-3</sup>; Mg<sup>+2</sup> = 4,50 cmolc dm<sup>-3</sup>; H<sup>+</sup>+Al<sup>3+</sup> = 1,70 cmolc dm<sup>-3</sup>; Cu = 0,90 mg dm<sup>-3</sup>; Zn = 0,50 mg dm<sup>-3</sup>; e Fe = 2267,40 mg dm<sup>-3</sup>. O preparo do solo ocorreu de maneira convencional e a adubação foi realizada conforme a análise química, com a aplicação de 275 kg ha<sup>-1</sup> de adubo NPK de formulação 5-20-20 (uréia: 45% de nitrogênio, superfosfato: 18% P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e cloreto de potássio: 60% K<sub>2</sub>O), no sulco da semeadura, sendo incorporado para não entrar em contato direto com a semente. A adubação nitrogenada de cobertura foi realizada no estágio de primeira folha trifoliolada (V<sub>3</sub>), aplicando-se 67 kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio, utilizando uréia (45% de nitrogênio) como fonte. As sementes foram tratadas com inseticida e fungicida, utilizando Tiametoxan e Metalaxil- M + Fludioxonil na dose de 1 ml L<sup>-1</sup> de cada produto.

Tabela 2 – Dados de temperatura máxima (Temp. max. - °C) e temperatura mínima média mensal (Temp. min. - °C), precipitação total acumulada mensal (Precipitação - mm) e umidade relativa (UR - %) no período de cultivo de safrinha 2014, coletados na Estação Meteorológica de Santa Maria, Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Santa Maria – RS, UFSM, 2014

Variáveis	Safrinha 2014				
	Fevereiro	Março	Abril	Maiο	Junho
Temp. max.	26,06	22,37	20,49	16,07	14,29
Temp. min.	24,71	21,22	19,44	15,14	13,54
Precipitação	123,20	241,80	116,00	193,80	304,80
UR	77,00	82,00	83,00	89,00	91,00

Fonte: INMET, Instituto Nacional de Meteorologia (2014).

O delineamento genético utilizado foi o de análise de gerações (CRUZ, 2005), com dois blocos. No primeiro bloco foram avaliadas as gerações obtidas no cruzamento IAC Boreal x Light Red Kidney, apresentando um total de 81 linhas, sendo: sete linhas de geração F<sub>1</sub>, nove linhas de F<sub>1</sub> recíproco, quatro linhas de RC<sub>11</sub>, três linhas de RC<sub>12</sub>, 14 linhas de F<sub>2</sub>, 23 linhas de F<sub>2</sub> recíproco e sete linhas de cada um dos parentais (IAC Boreal, Light Red Kidney e Ouro Branco). No segundo bloco foram avaliadas as gerações obtidas no cruzamento Ouro Branco x Light Red Kidney, sendo: sete linhas de geração F<sub>1</sub>, nove linhas de F<sub>1</sub> recíproco, 26 linhas de F<sub>2</sub>, 15 linhas de F<sub>2</sub> recíproco, cinco linhas de RC<sub>11</sub>, cinco de RC<sub>12</sub> e sete linhas de cada um dos parentais, totalizando 88 linhas.

Em ambos os blocos foram usadas linhas de 1 m de comprimento, com espaçamento de 0,5 m. A densidade de semeadura utilizada foi de 15 sementes por linha para os parentais, 10 sementes por linha para gerações  $F_1$  e retrocruzamentos e oito sementes por linha para as gerações  $F_2$ , em razão da quantidade de sementes obtidas para cada geração e por haver maior variabilidade genética na geração  $F_2$  em relação aos parentais e demais gerações avaliadas (RAMALHO et al., 2012).

No decorrer do desenvolvimento das plantas, foram feitas capinas periódicas a fim de controlar a presença de plantas invasoras e, para o controle de insetos, fez-se uma aplicação de Tiametixam + Lambda-cialotrina, na dose de 125 ml ha<sup>-1</sup> no estágio fenológico de terceira folha trifoliolada ( $V_4$ ). Para o controle de doenças utilizou-se Trifloxistrobina + Tebuconazol na dose de 0,75 L ha<sup>-1</sup>, realizando a primeira aplicação preventivamente no estágio fenológico de terceira folha trifoliolada ( $V_4$ ) e a segunda e terceira aplicações com intervalo médio de 14 dias.

No estágio de maturação ( $R_9$ ), procedeu-se a colheita das plantas de maneira individual e manual para evitar a contaminação por metais, sendo realizado posteriormente, o beneficiamento das plantas de feijão colhidas, também, de maneira manual. As sementes colhidas foram secas em estufa ( $\pm 65^\circ\text{C}$ ) até que a umidade média padrão de 13% fosse atingida.

A determinação da concentração de ferro e de zinco nas sementes foi determinada nas sementes obtidas em cada planta individual, no laboratório do Núcleo de Pesquisa em Ecofisiologia da UFSM. Para isso, foram retiradas amostras de aproximadamente 5 g das sementes de cada planta, as quais foram moídas em um moedor elétrico (MDR301, Cadence, Navegantes, SC, Brasil), separadamente, até que uma farinha de feijão cru muito fina (com partículas de cerca de 1 mm de diâmetro, não peneirada) fosse obtida. Após moída, pesou-se 0,5 g da farinha de feijão obtida e esta foi submetida ao processo de digestão nítrica-perclórica na proporção volumétrica de 3:1, seguindo o procedimento descrito por Miyazawa et al. (1999). A leitura da concentração de ferro e de zinco foi realizada no Laboratório de Análise de Solos da UFSM, em um espectrofotômetro de absorção atômica de chama (932AA, GBC Scientific Equipment Pty. Ltd., Braeside, Austrália), utilizando comprimento de onda de 248,30 nm e 213,90 nm, respectivamente.

Todos os procedimentos estatísticos foram feitos para cada uma das combinações híbridas realizadas e para cada mineral avaliado. A comparação entre as médias foi realizada utilizando o teste t, bilateral, a 1% de significância, comparando as gerações  $P_1$  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. Já, os parâmetros genéticos foram estimados a partir das variâncias dos parentais ( $P_1$  e  $P_2$ ) e das gerações  $F_1$ ,  $F_2$ ,  $RC_{11}$  e  $RC_{12}$ .

A herdabilidade em sentido amplo ( $h_a^2 = \frac{\sigma_g^2}{\sigma_F^2}$ ) e a herdabilidade em sentido restrito ( $h_r^2 = \frac{\sigma_A^2}{\sigma_F^2}$ ) foram estimadas considerando a variância fenotípica:  $\sigma_F^2 = \sigma_{F_2}^2$ , a variância aditiva:  $\sigma_A^2 = 2\sigma_{F_2}^2 - (\sigma_{RC_{11}}^2 + \sigma_{RC_{12}}^2)$ ; e a variância do ambiente em  $F_2$ :  $\sigma_{F_2}^2 = (0,5 \sigma_{F_1}^2 + 0,25 \sigma_{P_1}^2 + 0,25 \sigma_{P_2}^2)$ , de acordo com o método dos retrocruzamentos proposto por Warner (1952). A heterose na geração  $F_1$  foi quantificada pela forma percentual, em relação a média dos parentais ( $H\% = \frac{F_1 - P}{P} \times 100$ ), e para a heterobeltiose ( $HT\% = \frac{F_1 - MP}{MP} \times 100$ ), com:  $P = \frac{P_1 + P_2}{2}$  e  $MP =$  melhor parental.

Para a predição dos ganhos com a seleção, foi considerada a seleção de 20% das plantas  $F_2$  com as maiores concentrações de ferro e de zinco nas sementes. O ganho esperado foi estimado pela expressão:  $\Delta G = DS \times h_r^2$  e  $\Delta G(\%) = \frac{\Delta G \times 100}{\bar{F}_2}$ , com  $DS =$  diferencial de seleção, calculado pela diferença entre a média das plantas  $F_2$  selecionadas e a média das plantas  $F_2$ .

Os histogramas e as análises de assimetria, curtose e normalidade foram realizados com base nas informações obtidas em plantas  $F_2$ , considerando cada combinação híbrida e cada mineral avaliado. O número de classes utilizado na distribuição de frequência foi calculado utilizando a fórmula  $\sqrt{n}$ , onde  $n =$  número de observações. Para testar a normalidade dos dados foi empregado o teste de Shapiro-Wilk, com nível de significância de 5%. As análises estatísticas foram feitas com o auxílio dos aplicativos Office Excel e Action e do programa Genes (CRUZ, 2013).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Parâmetros genéticos da concentração de ferro em sementes de feijão

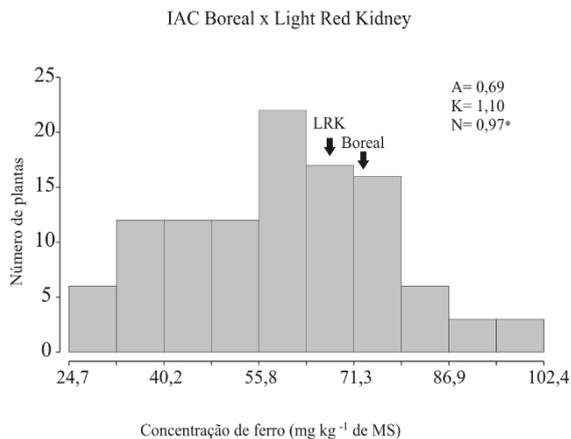
As distribuições de frequência das plantas  $F_2$  obtidas nos cruzamentos entre IAC Boreal x Light Red Kidney e Ouro Branco x Light Red Kidney para a concentração de ferro nas sementes de feijão Andino demonstraram que este caractere é uma variável aleatória contínua, sendo indicativo de herança quantitativa (Figura 1A e 1B). Segundo Martins; Donaire (2012) e Griffiths et al. (2013), uma variável contínua é aquela, geralmente, determinada por medição e pode assumir um número potencialmente infinito de estados dentro de uma faixa contínua de variação, como acontece com a altura de plantas, apresentando, geralmente, herança complexa, envolvendo muitos genes, além de fatores ambientais. Em populações  $F_{5;7}$  provenientes do cruzamento entre duas linhagens de feijão do centro de origem Andino, Cichy et al. (2009), relataram que a herança da concentração de ferro nas sementes foi quantitativa em razão dos *quantitative trait locus* (QTL's) identificados. Da mesma forma, Blair et al. (2009), estudando populações  $F_{7;11}$  provenientes do cruzamento entre linhagens Mesoamericana e Andina, e Beebe; Gonzalez; Rengifo (2000), avaliando 1.031 acessos de feijão do Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), constataram que a concentração de ferro nas sementes de feijão é um caractere quantitativo.

No presente estudo, apenas a distribuição de frequência dos recombinantes obtidos no cruzamento entre Ouro Branco x Light Red Kidney apresentou distribuição normal e simetria da curva (Figura 1B), o que permite inferir a presença de aditividade neste caractere. A simetria da curva é caracterizada quando a média, a moda e a mediana da distribuição coincidem e os quartis ficam equidistantes da mediana, o que não ocorre em uma curva assimétrica (MARTINS; DONAIRE, 2012).

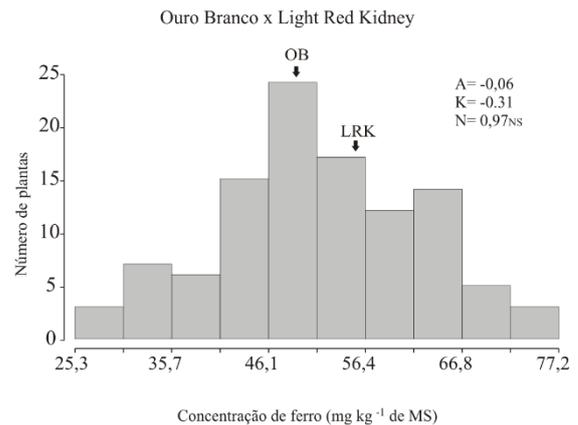
As medidas de curtose (K) passam a ideia do grau de achatamento da curva, neste caso, um valor positivo indica um pico mais agudo e um corpo mais fino do que a distribuição normal (leptocúrtica), um valor negativo indica um maior achatamento da curva e um corpo mais grosso do que a distribuição normal (platicúrtica) e um valor igual a zero indica que a curva possui o mesmo achatamento que a curva normal (mesocúrtica) (ESTATCAMP, 2014). Sendo assim, a curva de distribuição de frequência dos recombinantes obtidos no cruzamento entre IAC Boreal x Light Red Kidney pode ser classificada como leptocúrtica e a curva de

distribuição de frequência dos recombinantes obtidos no cruzamento entre Ouro Branco x Light Red Kidney apresentou-se levemente mais achatada do que a curva de distribuição normal.

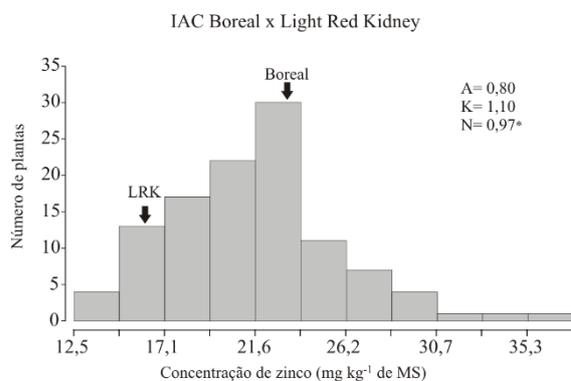
A)



B)



C)



D)

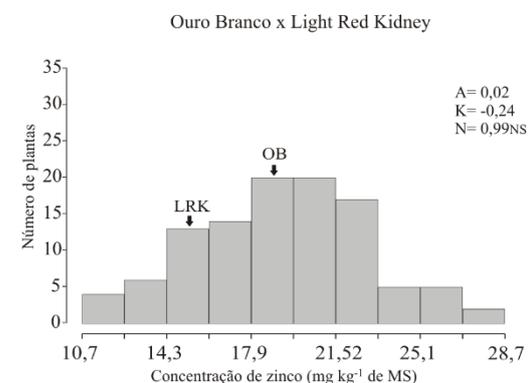


Figura 1 – Distribuição de frequência das plantas  $F_2$  obtidas a partir dos cruzamentos entre IAC Boreal x Light Red Kidney para as concentrações de ferro (Figura 1A) e de zinco (Figura 1C), e Ouro Branco x Light Red Kidney para as concentrações de ferro (Figura 1B) e de zinco (Figura 1D), e as estatísticas dos testes de assimetria (A), curtose (K) e normalidade (N) (\*significância a 5% de probabilidade) para a concentração de ferro ( $\text{mg kg}^{-1}$  de massa seca - MS) e zinco ( $\text{mg kg}^{-1}$  de MS), em cultivo de safrinha 2014.

\*\*As setas referem-se às médias dos parentais de seu respectivo cruzamento.

Os contrastes entre as concentrações de ferro acumuladas nas sementes de feijão dos parentais IAC Boreal x Light Red Kidney e Ouro Branco x Light Red Kidney não foram significativos pelo teste t a 1% (Tabela 3), dessa forma, não houve diferença significativa para este caractere entre os parentais avaliados. De maneira geral, busca-se a utilização de

parentais contrastantes em hibridações em razão deste ser um dos princípios utilizados no melhoramento para a obtenção de maior variabilidade genética nas populações segregantes (CRUZ; REGAZZI, 2004). No entanto, cruzamentos convergentes podem ser utilizados visando a recombinação de características de interesse entre duas linhagens. Dessa forma, foi obtida variabilidade genética em ambos os cruzamentos realizados em geração F<sub>2</sub>, o que possibilita a seleção de genótipos de interesse (Tabela 4).

Tabela 3 – Número de plantas (NP), concentração média de ferro e de zinco com respectivo desvio padrão obtidos nos parentais (P<sub>1</sub> e P<sub>2</sub>) e nas gerações F<sub>1</sub>, F<sub>1</sub> recíproco, F<sub>2</sub>, F<sub>2</sub> recíproco e retrocruzamentos (RC<sub>11</sub> e RC<sub>12</sub>) nos cruzamentos entre as linhagens IAC Boreal (IAC B, P<sub>1</sub>) x Light Red Kidney (LRK, P<sub>2</sub>) e entre Ouro Branco (OB, P<sub>1</sub>) x Light Red Kidney (LRK, P<sub>2</sub>) e probabilidade pelo teste t para os contrastes P<sub>1</sub> vs. P<sub>2</sub>, P<sub>1</sub> vs. F<sub>1</sub>, P<sub>2</sub> vs. F<sub>1</sub> recíproco, F<sub>1</sub> vs. F<sub>1</sub> recíproco e F<sub>2</sub> vs. F<sub>2</sub> recíproco. Santa Maria – RS, 2014

Geração	Ferro (mg kg <sup>-1</sup> de MS)				Zinco (mg kg <sup>-1</sup> de MS)			
	IAC B x LRK		OB x LRK		IAC B X LRK		OB X LRK	
	NP	Média	NP	Média	NP	Média	NP	Média
P <sub>1</sub>	24	71,86 ±9,65	16	49,33 ±7,33	25	22,47 ±2,92	24	18,13 ±2,38
P <sub>2</sub>	21	69,03 ±10,02	16	56,21 ±7,49	25	16,98 ±2,68	24	16,39 ±2,02
F <sub>1</sub>	17	77,94 ±9,74	11	60,96 ±7,31	17	24,62 ±2,35	15	19,63 ±1,76
F <sub>1r</sub>	19	74,69 ±11,20	12	59,70 ±8,76	20	22,63 ±3,00	16	20,17 ±2,59
F <sub>2</sub>	55	53,88 ±17,65	56	52,86 ±10,11	55	20,98 ±4,00	56	19,78 ±3,39
F <sub>2r</sub>	54	65,08 ±15,01	50	50,50 ±11,22	56	21,97 ±4,50	50	18,71 ±4,15
RC <sub>11</sub>	12	68,20 ±12,12	20	52,52 ±9,45	12	21,28 ±4,02	17	19,83 ±2,73
RC <sub>12</sub>	20	76,48 ±17,72	20	47,94 ±10,78	20	23,91 ±3,83	17	20,11 ±3,48
Probabilidade (%)								
P <sub>1</sub> vs. P <sub>2</sub>	65,68 <sup>ns</sup>		1,29 <sup>ns</sup>		0,00*		0,87*	
P <sub>1</sub> vs. F <sub>1</sub>	5,22 <sup>ns</sup>		0,05*		1,47 <sup>ns</sup>		4,00 <sup>ns</sup>	
P <sub>2</sub> vs. F <sub>1r</sub>	9,62 <sup>ns</sup>		26,55 <sup>ns</sup>		0,00*		0,00*	
F <sub>1</sub> vs. F <sub>1r</sub>	63,42 <sup>ns</sup>		71,28 <sup>ns</sup>		1,59 <sup>ns</sup>		50,10 <sup>ns</sup>	
F <sub>2</sub> vs. F <sub>2r</sub>	0,07*		25,56 <sup>ns</sup>		22,60 <sup>ns</sup>		14,28 <sup>ns</sup>	

\*: Significativo a 1% de probabilidade pelo teste t. <sup>ns</sup>: não significativo.

A priori, no momento da escolha dos parentais utilizados neste estudo, esperava-se que esses fossem contrastantes para a concentração de ferro nas sementes, no entanto, as concentrações médias de ferro observadas nas sementes deste trabalho foram inferiores aquelas relatadas por Ribeiro et al. (2014), possivelmente em razão da ocorrência de interação genótipo x ambiente. A interação genótipo x ambiente é caracterizada quando o desempenho dos genótipos varia conforme o ambiente de cultivo (DESTRO; MONTÁLVAN, 1999; CRUZ; REGAZZI, 2004). De acordo com Destro; Montálvan (1999), sua ocorrência afeta os ganhos com a seleção, impondo dificuldades no melhoramento. Araújo et al. (2003), já relataram a ocorrência de interação genótipo x ambiente para a concentração de ferro nas

sementes de feijão do centro de origem Mesoamericano. Em feijão de origem Andina, a ocorrência de interação genótipo x ambiente, também, foi relatada por Cichy et al. (2009). Em decorrência disto, Ribeiro et al. (2012) recomendaram que a seleção para a concentração de ferro nas sementes fosse realizada em vários ambientes.

O contraste  $F_1$  vs.  $F_1$  recíproco não foi significativo pelo teste t a 1% para as combinações híbridas IAC Boreal x Light Red Kidney e Ouro Branco x Light Red Kidney para a concentração de ferro nas sementes de feijão. O contraste entre as gerações  $F_1$  e  $F_1$  recíproco é utilizado para detectar a ocorrência de efeito materno e a sua não significância revela a não ocorrência de efeito materno, indicando que o fenótipo da geração  $F_1$  não é dependente do parental feminino utilizado (BURATTO, 2012; RAMALHO et al., 2012). Dessa forma, no presente estudo, não houve efeito materno para a concentração de ferro nas sementes de feijão Andino avaliadas.

Em feijão de origem Mesoamericana, Jost et al. (2009a), observaram a presença de efeito materno para a concentração de ferro nas sementes, nos cruzamentos entre as cultivares Minuano x Diamante Negro e Diamante Negro x IAPAR 44. Isso indica que o ferro está localizado no tegumento das sementes estudadas. Como o local de acumulação do ferro nas sementes de feijão varia entre o tegumento e o tecido cotiledonar, e essa é uma característica intrínseca de cada cultivar, do centro de origem e da combinação híbrida testada (MORAGHAN et al., 2002; JOST et al., 2009; CVITANICH et al., 2010; RIBEIRO et al., 2012; POSSOBOM, 2014), isso justifica as diferenças observadas no presente estudo e no trabalho de Jost et al. (2009a). Além disso, de acordo com Buratto (2012) e Ariza-Nieto et al. (2007), em estudos sobre o local de maior concentração de ferro nas sementes de feijão, verificou-se que as linhagens Andinas apresentaram 83,2 a 85,8% do ferro concentrado no tecido cotiledonar, explicando assim a não ocorrência de efeito materno para a concentração de ferro verificada no presente estudo.

Com relação a geração  $F_2$ , a seleção de progênie superiores será facilitada e poderá ser realizada diretamente nessa geração, em razão de que a mesma expressa de fato a variabilidade genética obtida.

Tabela 4 – Estimativas dos parâmetros genéticos e predição dos ganhos com a seleção para a concentração de ferro ( $\text{mg kg}^{-1}$  de massa seca- MS) e de zinco ( $\text{mg kg}^{-1}$  de MS) em sementes de feijão obtidas dos cruzamentos entre IAC Boreal (IAC B) x Light Red Kidney (LRK) e Ouro Branco (OB) x Light Red Kidney (LRK), no cultivo de safrinha 2014. Santa Maria – RS, 2014

Parâmetros genéticos	Ferro ( $\text{mg kg}^{-1}$ de MS)		Zinco ( $\text{mg kg}^{-1}$ de MS)	
	IAC B x LRK	OB x LRK	IAC B x LRK	OB x LRK
Variância $P_1$	93,08	53,75	8,54	5,67
Variância $P_2$	100,39	56,10	7,20	4,08
Variância $F_1$	94,95	53,40	5,50	3,09
Variância fenotípica ( $\sigma^2_F$ )	297,92	113,69	18,25	14,35
Variância de ambiente ( $\sigma^2_E$ )	95,85	54,16	6,68	3,99
Variância genética ( $\sigma^2_G$ )	202,07	59,52	11,56	10,36
Variância aditiva ( $\sigma^2_A$ )	134,93	21,64	5,66	9,12
Herdabilidade ampla ( $h^2_a$ )	67,83	52,36	63,36	72,22
Herdabilidade restrita ( $h^2_r$ )	45,29	19,04	31,04	63,60
Heterose (H%)	10,63	15,54	24,84	13,75
Heterobeltiose (HT%)	8,46	8,46	9,59	8,28
Valor mínimo nos parentais	52,20	36,80	12,10	12,99
Valor máximo nos parentais	94,90	65,70	27,30	22,68
Valor mínimo na $F_2$	24,70	25,30	12,50	10,73
Valor máximo na $F_2$	102,40	77,20	37,50	28,71
Média original na $F_2$	59,43	51,75	21,48	19,27
----- Seleção para maiores valores -----				
Indivíduos a serem selecionados em seus respectivos bancos de dados	109; 55; 108; 54; 107; 53; 106; 105; 104; 52; 103; 102; 51; 101; 50; 100; 49; 99; 98; 97; 96	106; 105; 104; 103; 102; 101; 100; 99; 98; 97; 96; 95; 94; 93; 92; 91; 90; 89; 88; 86; 87	91; 21; 77; 60; 86; 02; 59; 52; 29; 89; 92; 102; 84; 101; 33; 47; 58; 53; 34; 72; 36	106; 105; 104; 103; 102; 101; 100; 99; 98; 97; 96; 95; 93; 94; 92; 91; 90; 89; 88; 87; 86
Média das plantas selecionadas	83,82	66,75	27,72	24,48
Diferencial de seleção (DS)	24,39	15,00	6,25	5,21
Ganho por seleção ( $\Delta G$ )	11,04	2,86	1,94	3,31
Ganho por seleção ( $\Delta G\%$ )	18,58	5,52	9,03	17,21
Média predita para o primeiro ciclo após a seleção	70,48	54,60	23,42	22,59

Além disso, o local de maior concentração de ferro nas sementes possui importância, pois, estudos revelaram que o ferro presente no tegumento das sementes de feijão é mais biodisponível que aquele encontrado no tecido cotiledonar (LOMBARDI-BOCCIA et al., 1995; MORAGHAN et al., 2002). Uma das explicações para isso seria que fitatos (um dos fatores antinutricionais que diminuem a biodisponibilidade de minerais) estariam mais concentrados no tecido cotiledonar, assim como o ferro, prejudicando a sua absorção (ARIZA-NIETO et al., 2007). No entanto, de acordo com os mesmos autores, a adição de ascorbato (vitamina C), no momento da cocção, proporcionou o incremento do ferro biodisponível. Além disso, é importante ressaltar que, o aumento geral da concentração de ferro nas sementes de feijão está correlacionado com o aumento da biodisponibilidade deste mineral (WELCH et al. 2000a) e que feijões Andinos tendem a apresentar menor concentração de fitatos e taninos do que as cultivares pertencentes ao centro de origem Mesoamericano, sendo esperado, portanto, a maior disponibilidade deste ferro para os seres humanos (ARIZA-NIETO et al., 2007).

As estimativas de herdabilidade em sentido amplo ( $h^2_a$ ) são muito importantes para os programas de melhoramento, pois permitem prever se a seleção de plantas terá sucesso (RAMALHO et al., 2012). De acordo com Cruz; Regazzi (2004), essas estimativas indicam a natureza da causa de variação fenotípica observada (fatores genéticos ou ambientais). Dessa forma, as variâncias genéticas obtidas para as combinações híbridas IAC Boreal x Light Red Kidney e Ouro Branco x Light Red Kidney foram superiores as variâncias ambientais, evidenciando assim a obtenção de variabilidade genética para a concentração de ferro nas sementes de feijão Andino (Tabela 4). Assim, estimativas de herdabilidade em sentido amplo de magnitude intermediária e alta foram obtidas, variando de  $h^2_a = 52,36\%$  no cruzamento Ouro Branco x Light Red Kidney a  $h^2_a = 67,83\%$  para IAC Boreal x Light Red Kidney. Em geração  $F_2$  em feijão Mesoamericano, também, foram obtidas estimativas de herdabilidade em sentido amplo de magnitude intermediária ( $h^2_a \geq 48,45$  a  $59,99\%$ ) e alta ( $h^2_a \geq 60,00\%$ ) para a concentração de ferro nas sementes por Jost et al. (2009a) e Buratto (2012), respectivamente. Dessa forma, espera-se que a seleção das plantas de feijão com maior concentração de ferro nas sementes tenha sucesso em razão de que mais da metade da causa de variação da acumulação de ferro nas sementes é de natureza genética (CARVALHO et al., 2001).

As estimativas de herdabilidade em sentido restrito ( $h^2_r$ ) refletem a porção da variância fenotípica que é atribuída à aditividade, que é facilmente fixada pela seleção de plantas, e possui grande utilidade para o melhoramento de plantas autógamas (CRUZ; REGAZZI, 2004; RAMALHO et al., 2012). A herdabilidade em sentido restrito da concentração de ferro nas

sementes de feijão no cruzamento entre IAC Boreal x Light Red Kidney foi de magnitude intermediária ( $h^2_r= 45,29\%$ ), indicando facilidade na fixação do caráter, sendo favorável ao desenvolvimento de cultivares biofortificadas. No entanto, espera-se dificuldade para a fixação desse caractere na seleção precoce realizada nas progênes obtidas da combinação híbrida Ouro Branco x Light Red Kidney, pois a estimativa de herdabilidade em sentido restrito foi de baixa magnitude ( $h^2_r= 19,04\%$ ). Em cruzamentos envolvendo linhagens de feijão Mesoamericano, Jost et al. (2009a) obtiveram estimativas de herdabilidade em sentido restrito variando de magnitude intermediária ( $h^2_r= 50,60\%$ ) a alta ( $h^2_r= 98,93\%$ ). Herdabilidade em sentido restrito variando de magnitude intermediária ( $h^2_r= 45,7$  a  $59,27\%$ ) a alta ( $h^2_r= 62,04\%$ ) foram constatadas, também, para a concentração de ferro em sementes de feijão Mesoamericano por Buratto (2012). No entanto, salienta-se que as estimativas de herdabilidade, de maneira geral, se referem estritamente às populações avaliadas e às condições ambientais as quais foram submetidas, não sendo valores definitivos (CARVALHO et al., 2001; JOST et al., 2009a; BURATTO, 2012; RAMALHO et al., 2012).

Heterose tradicional de 10,63 e 15,54% foi observada nos híbridos de IAC Boreal x Light Red Kidney e Ouro Branco x Light Red Kidney, respectivamente, indicando que é possível obter híbridos com maior concentração de ferro do que a média de seus parentais. Com relação a heterobeltiose, a população  $F_1$  de ambos os cruzamentos foi 8,46% superior ao parental de maior concentração de ferro nas sementes. Valores de heterose positivos, também, foram obtidos por Silva et al. (2013), realizando o estudo dos parâmetros genéticos da concentração de ferro em sementes feijão, principalmente de origem Mesoamericana. A ocorrência de heterose ou vigor híbrido ocorre em razão da heterozigose e apresenta sua máxima expressividade na geração  $F_1$ , sendo que a cada geração de autofecundação, ocorre a redução de 50% dos heterozigotos de uma população (BESPALHOK et al., 2006; RAMALHO et al., 2012). Assim, como o feijão é uma planta autógama, espera-se a redução gradativa da frequência de locus em heterozigose na população conforme o avanço das gerações.

A combinação híbrida que resultou em maior variabilidade na concentração de ferro nas sementes da geração  $F_2$  foi entre IAC Boreal x Light Red Kidney, onde a concentração de ferro variou de 24,70 a 102,40  $\text{mg kg}^{-1}$  de MS. A outra combinação híbrida (Ouro Branco x Light Red Kidney) apresentou menor amplitude de concentração de ferro nas sementes de feijão do que a primeira, variando de 25,30 a 77,20  $\text{mg kg}^{-1}$  de MS. Em ambas as combinações houve a ocorrência de segregação transgressiva para menor e maior concentração de ferro nas sementes. A ocorrência de segregação transgressiva é relatada para

ferro, para baixa ou alta acumulação desse mineral, e pode ser atribuída a expressão de genes menores, ou em razão da existência de variabilidade no solo, e sua ocorrência é considerada favorável para o desenvolvimento de cultivares superiores (GUZMÁN-MALDONADO et al., 2003; BLAIR et al., 2009; JOST et al., 2009a). Segregação transgressiva foi observada envolvendo cruzamentos entre feijão de origem Mesoamericana (GUZMÁN-MALDONADO et al., 2003; JOST et al., 2009) e hibridações envolvendo feijões de origem Mesoamericana e Andina (BLAIR et al., 2009).

Visando a seleção de genótipos superiores, apenas na combinação híbrida entre IAC Boreal x Light Red Kidney foi possível a obtenção de três plantas com concentração de ferro nas sementes igual ou maior que 95,00 mg de ferro kg<sup>-1</sup> de MS, que caracteriza alta concentração desse mineral de acordo com a classificação apresentada por Ribeiro et al. (2013). Assim, cultivares biofortificadas para ferro nas sementes de feijão poderão ser desenvolvidas pelo programa de melhoramento para contribuir no combate da anemia e de outras doenças associadas com a carência de ferro no organismo. No entanto, em ambas as combinações híbridas realizadas foram observadas progênies com baixa concentração de ferro nas sementes de feijão, que segundo Tryphone; Nchimbi-Msolla (2010) é caracterizado quando essa concentração for inferior a 42,00 mg kg<sup>-1</sup> de MS. A seleção de plantas de feijão com baixa concentração de ferro nas sementes pode ser utilizada futuramente pelo programa de melhoramento, visando o desenvolvimento de cultivares que podem ser utilizadas para o consumo de pessoas portadoras de hemocromatose hereditária, uma condição patológica relacionada a um distúrbio no metabolismo do ferro em seres humanos (CANÇADO; CHIATTONE, 2010).

A média original na população F<sub>2</sub> foi de 59,43 e de 51,75 mg kg<sup>-1</sup> de MS de ferro no cruzamento IAC Boreal x Light Red Kidney e Ouro Branco x Light Red Kidney, respectivamente. Utilizando para a predição dos ganhos, intensidade de seleção de 20% das plantas F<sub>2</sub> com maior concentração de ferro nas sementes obtidas, haverá um potencial de aumento na concentração deste mineral de 11,04 mg kg<sup>-1</sup> de MS, o qual representa um acréscimo de 18,58%, a partir do cruzamento entre IAC Boreal x Light Red Kidney. A predição da seleção de recombinantes na geração F<sub>2</sub> obtida no cruzamento entre Ouro Branco x Light Red Kidney proporcionou um acréscimo de apenas 2,86 mg kg<sup>-1</sup> de MS, em decorrência da herdabilidade em sentido restrito estimada ser de baixa magnitude, representando, assim, um ganho de 5,52% na concentração de ferro nas sementes de feijão, em relação à média da geração F<sub>2</sub>. Dessa forma, espera-se que a concentração média de ferro para o primeiro ciclo após a seleção seja de 70,48 mg kg<sup>-1</sup> de MS e de 54,60 mg kg<sup>-1</sup> de MS

nos recombinantes obtidos no cruzamento entre IAC Boreal x Light Red Kidney e Ouro Branco x Light Red Kidney, respectivamente. Os ganhos de seleção estimados para ferro foram superiores aos observados por Buratto (2012) e inferiores aos obtidos Jost et al. (2009), ambos estimados em populações  $F_2$ , em feijão Mesoamericano.

Desta forma, a partir das estimativas de parâmetros genéticos obtidas no presente estudo, acredita-se que o desenvolvimento de germoplasma de feijão biofortificado para ferro seja possível a partir dos cruzamentos testados, em especial com a seleção dos recombinantes obtidos no cruzamento entre IAC Boreal x Light Red Kidney. Isso se justifica pelas altas estimativas de herdabilidade e de ganhos com a seleção preditos observados.

### **3.2 Parâmetros genéticos da concentração de zinco em sementes de feijão**

De maneira similar ao que foi observado para o caractere concentração de ferro nas sementes de feijão, os gráficos de distribuição de frequência de  $F_2$  evidenciaram que a concentração de zinco nas sementes de feijão Andino, também, é uma variável aleatória contínua, para as duas combinações híbridas (IAC Boreal x Light Red Kidney e Ouro Branco x Light Red Kidney), indicando ser um caractere quantitativo. Griffiths et al. (2013), destacaram que os caracteres contínuos apresentam, em geral, herança complexa, sendo governados por mais de dois genes, e são influenciados pelo ambiente. Cichy et al. (2009), em estudos com populações  $F_{5:7}$  derivadas de um cruzamento entre duas linhagens de feijão Andino, constataram que a concentração de zinco nas sementes apresenta herança quantitativa. A concentração de zinco nas sementes de feijão, também, comportou-se como um caractere quantitativo em estudos com 87 populações  $F_{7:11}$  oriundas de um cruzamento entre uma linhagem de feijão Andino com uma Mesoamericano (BLAIR et al., 2009), e em 120 populações segregantes  $F_{2:3}$  derivadas de um cruzamento entre uma linhagem de feijão cultivado com um acesso selvagem (GUZMÁN-MALDONADO et al., 2003).

Com relação à normalidade, simetria e curtose das distribuições de frequência obtidas, apenas a combinação entre Ouro Branco x Light Red Kidney apresentou distribuição normal, curva simétrica e pouco achatamento, fatores que indicam a ocorrência de aditividade (Figura 1D). O genótipo de menor concentração de zinco nas sementes desta população segregante apresentou  $10,70 \text{ mg kg}^{-1}$  de MS e o genótipo de maior concentração, foi  $28,70 \text{ mg kg}^{-1}$  de MS, mostrando a existência de segregação transgressiva para baixa e alta concentração de

zinco nas sementes. No entanto, apesar disso, não foram obtidas plantas com alta concentração de zinco nas sementes ( $> 30,00 \text{ mg kg}^{-1}$  de MS), de acordo com as classes propostas por Cichy et al. (2005) e Tryphone; Nchimbi-Msolla (2010).

A distribuição de frequência da população segregante proveniente do cruzamento entre IAC Boreal x Light Red Kidney, pode ser classificada como leptocúrtica e assimétrica, fatores indicativos da ocorrência de dominância parcial (Figura 1C). As sementes da população segregante desta combinação híbrida apresentaram concentração de zinco variando de 12,50 a 37,50  $\text{mg kg}^{-1}$  de MS, indicando a ocorrência de segregação transgressiva tanto para baixa quanto para alta concentração de zinco nas sementes de feijão Andino. A presença de segregação transgressiva é favorável em programas de melhoramento (CICHY et al., 2005) e possibilitou a identificação de plantas de feijão com alta concentração de zinco nas sementes ( $>30,00 \text{ mg kg}^{-1}$  de MS) (TRYPHONE; NCHIMBI-MSOLLA, 2010). Desta forma, três plantas poderão ser selecionadas e contribuirão para o desenvolvimento de cultivares enriquecidas para zinco e para o combate da deficiência deste mineral nos seres humanos. Segregação transgressiva para a baixa e alta concentração de zinco é frequentemente relatada na literatura ocorrendo em populações segregantes obtidas a partir de hibridações controladas por Guzmán-Maldonado et al. (2003), Cichy et al. (2005), Gelin et al. (2007), Blair et al. (2009) e Rosa et al. (2010).

Na combinação híbrida entre IAC Boreal x Light Red Kidney, o contraste entre  $P_1$  vs.  $P_2$  foi significativo pelo teste t a 1% de probabilidade, revelando que os parentais utilizados diferiram quanto à concentração de zinco nas sementes (Tabela 3). De maneira similar, os parentais utilizados na combinação híbrida entre Ouro Branco x Light Red Kidney, também, diferiram estatisticamente, sendo contrastantes entre si. Dessa forma, foi possível obter variabilidade genética em geração  $F_2$  para a concentração de zinco nas sementes de feijão Andino em ambos os cruzamentos realizados. Assim, Light Red Kidney apresentou a menor concentração de zinco nas sementes, com uma diferença média de 5,78  $\text{mg kg}^{-1}$  de MS de IAC Boreal (Tabela 3). Da mesma forma, os parentais utilizados na combinação híbrida entre Ouro Branco x Light Red Kidney, apresentaram diferença média de 1,74  $\text{mg kg}^{-1}$  de MS de zinco nas sementes.

Para a comprovação da ocorrência de efeito materno para a concentração de zinco nas sementes, foi realizado o contraste entre as gerações  $F_1$  e  $F_1$  recíproco para ambas as combinações híbridas. Assim, foi verificado que as gerações híbridas não diferiram estatisticamente pelo teste t nas combinações IAC Boreal x Light Red Kidney e Ouro Branco x Light Red Kidney, descartando a hipótese de efeito materno para a concentração de zinco

em sementes de feijão Andino. Rosa et al. (2010), também não constatarem efeito materno para a concentração de zinco em sementes de feijão Mesoamericano. Dessa forma, os resultados obtidos indicam que a acumulação de zinco nas sementes não foi dependente do tegumento das sementes. De acordo com Moraghan; Grafton (2002), Ribeiro et al. (2012) e Buratto (2012), o local de acumulação de zinco nas sementes de feijão pode variar de acordo com a cultivar e o centro de origem avaliados, o que justifica a investigação da ocorrência de efeito materno para este mineral. No entanto, muitos autores observaram que a maior parte da acumulação de zinco nas sementes de feijão ocorreu principalmente no tecido cotiledonar (MORAGHAN; GRAFTON, 2002; BURATTO, 2012; RIBEIRO et al., 2012; BLAIR, 2013), o que consente com os resultados obtidos neste estudo.

De maneira geral, o tegumento e o embrião das sementes de feijão estão em gerações diferentes (RAMALHO et al., 2012). Dessa forma, no presente estudo, a não ocorrência de efeito materno proporcionará facilidades na realização da seleção de plantas com maior concentração de zinco nas sementes, pois permite que seja realizada a seleção precoce já nas sementes  $F_2$ . Na combinação híbrida entre IAC Boreal x Light Red Kidney e Ouro Branco x Light Red Kidney, o contraste não foi significativo entre as gerações  $F_2$  e  $F_2$  recíproco, e isso é outro indicativo de que elas podem ser consideradas como uma única população. Dessa forma, a não ocorrência de efeito materno para a concentração de zinco nas sementes de feijão Andino permite que a seleção das melhores plantas seja iniciada na geração  $F_2$ . Além disso, espera-se que a biodisponibilidade de zinco seja reduzida em razão de que a maior parte dos fitatos encontra-se concentrado no tecido cotiledonar das sementes de feijão (ARIZA-NIETO et al., 2007; BLAIR, 2013). Apesar disso, deve-se levar em conta que feijões pertencentes ao centro de origem Andino apresentam, em geral, menor concentração de fitatos nas sementes (ARIZA-NIETO, et al., 2007), e que a seleção de plantas com maior concentração de zinco nas sementes é capaz de proporcionar um aumento indireto da biodisponibilidade deste mineral (WELCH et al., 2000b).

A estimativa de herdabilidade em sentido amplo é a porção da variância genética total (incluindo aditividade, dominância e epistasia) em relação à variância fenotípica (CARVALHO et al., 2001; CRUZ, 2005). Dessa forma, foi observado que a variância genética foi superior a variância ambiental e foram obtidas estimativas de herdabilidade em sentido amplo de alta magnitude para ambas as combinações híbridas, sendo  $h^2_a = 63,36\%$  para a combinação híbrida IAC Boreal x Light Red Kidney e  $h^2_a = 72,22\%$  para a combinação Ouro Branco x Light Red Kidney (Tabela 4). Em sementes de feijão Mesoamericano, estimativas de herdabilidade em sentido amplo obtidas em geração  $F_2$  variaram de  $h^2_a =$

45,14% (BURATTO, 2012) a  $h^2_a = 85,00\%$  (CICHY et al., 2005), para o mesmo caractere. Desta forma, a partir das estimativas de herdabilidade em sentido amplo obtidas neste estudo, espera-se sucesso na seleção de plantas com maior concentração de zinco nas sementes de feijão e no desenvolvimento de cultivares biofortificadas, pois são indicativos de que o caractere possui pouca influência do ambiente, de forma que a maior parte da causa da variação deste mineral pode ser atribuída a causas genéticas.

A herdabilidade em sentido restrito representa a porção da variância fenotípica que ocorre em razão da variância genética aditiva (CARVALHO et al., 2001). Segundo os mesmos autores, a ocorrência de aditividade é favorável em programas de melhoramento, pois desta forma, a seleção dos melhores indivíduos será facilitada, uma vez que a aditividade é fixada com o avanço das gerações. Assim exposto, as estimativas de herdabilidade em sentido restrito para a concentração de zinco em sementes de feijão Andino variaram de magnitude intermediária ( $h^2_r = 31,04\%$ ) no cruzamento entre IAC Boreal x Light Red Kidney a alta ( $h^2_r = 63,60\%$ ) no cruzamento entre Ouro Branco x Light Red Kidney. Dessa forma, espera-se sucesso na realização da seleção precoce de plantas de feijão com alta concentração de zinco nas sementes, auxiliando no desenvolvimento de cultivares biofortificadas. Em feijão Mesoamericano e em geração precoce, foi relatada a obtenção de estimativas de herdabilidade em sentido restrito variando de intermediária (ROSA et al., 2010; BURATTO, 2012) a alta magnitude (CICHY et al., 2005; ROSA et al., 2010; BURATTO, 2012).

As estimativas de heterose se referem a superioridade da geração híbrida em relação à média dos parentais utilizados (RAMALHO et al., 2012). Desta forma, valores positivos foram encontrados para ambos os cruzamentos indicando que as concentrações médias de zinco nas sementes de feijão das gerações híbridas foram maiores que as médias de seus parentais. Com relação a heterobeltiose, no cruzamento IAC Boreal x Light Red Kidney, valor positivo de 9,59% foi obtido, indicando que a média da geração  $F_1$  foi superior ao melhor parental (IAC Boreal). De maneira similar, a combinação híbrida Ouro Branco x Light Red Kidney, também, apresentou valor positivo de 8,28%, indicando que a média da geração híbrida foi maior que o parental Ouro Branco. No entanto, apesar de demonstrar desempenhos promissores, a heterozigose não pode ser fixada, e espera-se sua redução gradativa nas populações conforme o avanço dessas gerações.

Com relação à predição dos ganhos com a seleção, na combinação entre IAC Boreal x Light Red Kidney, considerando a seleção de 20% das plantas  $F_2$ , o ganho com a seleção esperado da concentração de zinco nas sementes de feijão representou um acréscimo de 9,03%, com incremento de  $1,94 \text{ mg kg}^{-1}$  de MS. Para a combinação entre Ouro Branco x

Light Red Kidney, estima-se o incremento da concentração de zinco das sementes em 3,31 mg kg<sup>-1</sup> de MS, correspondendo a um aumento de 17,21%. Os ganhos com a seleção preditos neste estudo, quando comparados com os ganhos estimados em feijão de origem Mesoamericana por outros autores, foram similares aos relatados por Rosa et al. (2010) e inferiores aos descritos por Buratto (2012), que estimaram ganhos de até 4,09 e 5,91 mg kg<sup>-1</sup> de MS, respectivamente.

Das hibridações realizadas neste estudo, o cruzamento mais promissor para a seleção de recombinantes foi Ouro Branco x Light Red Kidney, em decorrência dos altos valores de herdabilidade em sentido amplo e restrito e de ganhos com a seleção estimados para a concentração de zinco nas sementes de feijão Andino. A seleção dos recombinantes obtidos e o avanço dessas gerações poderão contribuir para o desenvolvimento de cultivares de feijão biofortificadas para zinco.

## 4 CONCLUSÕES

As concentrações de ferro e de zinco nas sementes de feijão Andino apresentam herança quantitativa.

A concentração de ferro e de zinco em sementes de feijão Andino varia de 24,70 a 102,40 mg kg<sup>-1</sup> de matéria seca – MS e de 10,70 a 37,50 mg kg<sup>-1</sup> de MS respectivamente, em geração F<sub>2</sub>, e não ocorre a expressão de efeito materno.

A herdabilidade em sentido amplo estimada na geração F<sub>2</sub> varia de 52,36 a 67,83% para a concentração de ferro e de 63,36 a 72,22 para zinco em sementes de feijão Andino.

A herdabilidade em sentido restrito estimada na geração F<sub>2</sub> de feijão Andino varia de 19,04 a 45,29% para a concentração de ferro e de 31,04 a 63,60% para a concentração de zinco.

Heterose tradicional de 15,54% e de 24,84% é observada para a concentração de ferro e de zinco em feijão Andino.

Ganhos com a seleção preditos de até 18,58% e de 17,21% são verificados para as concentrações de ferro e de zinco nas sementes de feijão Andino.

A seleção de recombinantes na população F<sub>2</sub> com maior concentração de ferro e de zinco nas sementes no cruzamento IAC Boreal x Light Red Kidney é promissora para o desenvolvimento de germoplasma de feijão biofortificado.

## REFERÊNCIAS

AKOND, A. S. M. et al. Minerals (Zn, Fe, Ca and Mg) and antinutrient (phytic acid) constituent in Common Bean. **American Journal of Food Technology**, New York, v.6, n.3, p.235-243, 2011.

ARAÚJO, R. et al. Genotype x environment interaction effects on the iron contents of common bean grains. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v.3, n.4, p.269-274, 2003.

ARIZA-NIETO, M. et al. Screening of iron bioavailability patterns in eight bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes using the caco-2 cell in vitro model. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Ithaca, v.55, n.19, p.7950-7956, 2007.

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

BESPALHOK, F. et al. Endogamia e heterose. In: BESPALHOK F., J.C.; GUERRA, E.P.; OLIVEIRA, R. **Melhoramento de plantas**. 2006, p.01-05; Disponível em <[www.bespa.agrarias.ufpr.br](http://www.bespa.agrarias.ufpr.br)>. Acesso em: 10 jan. 2013.

BISSANI, C. A. et al. **Fertilidade dos solos e manejo da adubação de culturas**. Porto Alegre: Metrópole, 2008. 344p.

BLACK, R. E. Zinc deficiency, infectious disease and mortality in the developing world. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 133, n. 5, p. 1485-1489, 2003.

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

BLAIR, M. W. et al. Genetic diversity, inter-gene pool introgression and nutritional quality of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) from Central Africa. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.121, n.2, p.237-248, 2010.

BLAIR, M. W. Mineral biofortification strategies for food staples: the example of common bean. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Ithaca, v.61, n. 35, p. 8287-8294, 2013.

BORTOLINI, G. A.; VITOLO, M. R. Baixa adesão à suplementação de ferro entre lactentes usuários de serviço público de saúde **Pediatria**, São Paulo, v.29, n.3, p176-182, 2007.

BURATTO, J. S. **Teores de minerais e proteínas em grãos de feijão e estimativas de parâmetros genéticos**. 2012. 148f. Tese (Doutorado), Universidade Federal de Lavras, Lavras. 2012.

CANÇADO, R. D. Tratamento da anemia ferropênica: alternativas ao sulfato ferroso. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São José do Rio Preto, v.31, n.3, p.121-122, 2009.

CANÇADO, R. D.; CHIATTONE, C. S. Visão atual da hemocromatose hereditária. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**. São José do Rio Preto, v.32, n.6, p.469-475, 2010.

CARVALHO, F. I. F. et al. **Estimativas e implicações da herdabilidade**. Pelotas: UFPel Editora Universitária, 2001. 99p.

CICHY, K. A. et al. Inheritance of seed zinc accumulation in navy bean. **Crop Science**, Madison, v.45, n.3, p.864-870, 2005.

CICHY, K. A. et al. QTL analysis of seed iron, zinc, and phosphorus levels in an Andean bean population. **Crop Science**, v.49, n.5, p.1742-1750, 2009.

CLEMENS, S. Zn and Fe biofortification: The right chemical environment for human bioavailability. **Plant Science**, Ireland, v.225, n.53, p.52-57, 2014.

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

CRUZ, C. D. Genes – a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**, Maringá, v.35, n.3, p. 271-276, 2013.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 2004, 300p.

CVITANICH, C. et al. Iron and ferritin accumulate in separate cellular locations in *Phaseolus* seeds. **Plant Biology**, Stuttgart, v.10, n.26, p.1-14, 2010.

DEL PELOSO, M. J.; MELO, L. C. **Potencial de rendimento da cultura do feijoeiro comum**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2005. 131 p.

DESHPANDE, J. D. et al. Zinc: The trace elements of major importance in human nutrition and health. **International Journal of Medical Science and Public Health**, India, v.2, n.1, p.1-6. 2013.

DESTRO, D.; MONTALVAN, E. **Melhoramento de plantas**. Londrina: EDUEL. 1999. 818p.

ESTATCAMP. **Portal Action: Estatística básica – outras medidas descritivas**. São Paulo, 2014. Disponível em < <http://www.portalaction.com.br/>>. Acesso em 10 jun. 2014.

FAO. **The state of food insecurity in the world 2014: Strengthening the enabling environment for food security and nutrition**. Rome: FAO, 2014a, 57p.

FAO. **Food and nutrition in numbers**. Rome: FAO, 2014b, 249p.

GELIN, J. R. et al. Analysis of seed zinc and other minerals in a recombinant inbred population of navy bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Crop Science**, Madison, v.47, n.4, p.1361-1366, 2007.

GRAHAM, R. et al. Breeding for micronutrients density in edible portions of staple food crops: Conventional approaches. **Field Crops Research**, Netherlands, v.60, n.1, p.57-80, 1999.

GRIFFITHS, A. J. F. et al. **Introdução à genética**. 10ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013. 764p.

GUERRA, E. P.; BESPALHOK, F. J. C. et al. Híbridos em espécies autógamas. In: BESPALHOK F., J.C.; GUERRA, E.P.; OLIVEIRA, R. **Melhoramento de plantas**. 2006, p.65-69; Disponível em <[www.bespa.agrarias.ufpr.br](http://www.bespa.agrarias.ufpr.br)>. Acesso em: 25 fev. 2015.

GUZMÁN-MALDONADO, S. H. et al. Putative quantitative trait loci for physical and chemical components of common bean. **Crop Science**, Madison, v.43, n.3, p.1029-1035, 2003.

HOGH-JENSEN, H. et al. The Bean – Naturally bridging agriculture and human wellbeing. In. Dr. Innocenzo Muzzalupo (Ed.). **Food Industry**, Croatia: InTech, p.23-38. 2013.

HOUSE, W. A. et al. Potential for increasing the amounts of bioavailable zinc in dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.) through plant breeding. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v.81, n.1, p.452-457, 2002.

IOM. **Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc : a report of the Panel on Micronutrients**. United States of America: National Academy of Sciences, 2001. 733p.

ISLAM, F. et al. Seed compositional and disease resistance differences among gene pools in cultivated common bean. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v.49, n.3, p.285-293, 2002.

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

JOST, E. et al. Efeitos gênicos do teor de cálcio em grãos de feijão. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.1, p.31-37, 2009b.

KUINCHTNER, A.; BURIOL, G. A. Clima do Estado do Rio Grande do Sul segundo a classificação climática de Köppen e Thornthwaite. **Disciplinarum Scientia**, Santa Maria, v.2, n.1, p.171-182, 2001.

LA FRANO, M. R. et al. Bioavailability of iron, zinc and provitamin A carotenoids in biofortified staple crops. **Nutrition Reviews**, United States, v.72, n.5, p.289-307, 2014.

LOMBARDI-BOCCIA, G. et al. Impact of processing on Fe dialysability from bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Food Chemistry**, Easton, v.53, n.2, p.191-195, 1995.

MALUF, J. R. T. et al. Zoneamento de riscos climáticos para a cultura do feijão no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, Passo Fundo, v.9, n.3, p.468-476, 2001.

MARTINS, A.; DONAIRE, G. **Princípios de estatística**, 4ed. São Paulo: Atlas, 2012. 255p.

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

MIYAZAWA, A. M. et al. Análises químicas de tecido vegetal. In: SILVA, F. C. (Ed.). **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Brasília: Embrapa Solos, p.171-223. 1999.

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

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

MORAGHAN, J. T.; GRAFTON, K. Distribution of selected elements between the seed coat and embryo of two black bean cultivars. **Journal of Plant Nutrition**, Philadelphia, v.25, n.1, p.169–176, 2002.

NUTTI, M. et al. **A biofortificação como ferramenta para combate a deficiências em micronutrientes**. [s.l.] CPRM - Serviço Geológico do Brasil, 2006.

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

PETRY, N. et al. Genetic reduction of phytate in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seeds increases iron absorption in young women. **The Journal of Nutrition**, Rockville, v.143, n.8, p.1219-1224, 2013.

POSSOBOM, M. T. D. F. **Controle genético da coloração do tegumento e da concentração de ferro em sementes de feijão Mesoamericano e Andino**. 2014. 73f. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de Santa Maria. 2014.

RAMALHO, M. A. et al. **Genética na Agropecuária**. 5ed. Lavras: UFLA, 2012. 566p.

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

RIBEIRO, N. D. et al. Selection of common bean lines with high agronomic performance and high calcium and iron concentrations. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.48, n.10, p.1368-1375, 2013.

RIBEIRO, N. D. et al. Evaluation of special grain beans lines for grain yield, cooking time and mineral concentrations. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v.14, n.1, p.15-22, 2014.

RIOS, S. A. et al. Biofortificação: culturas enriquecidas com micronutriente pelo melhoramento genético. **Revista Ceres**, Viçosa, v.56, n.6, p.713-718, 2009.

ROOHANI, N. et al. Zinc and its importance for human health: An integrative review. **Journal of Research in Medical Sciences**, Iran, v.18, n.2, p.144-157, 2013.

ROSA, S. S. et al. Potential for increasing the zinc content in common bean using genetic improvement. **Euphytica**, Wageningen, v.175, n.2, p.207-213, 2010.

SANTOS, H. G. dos et al. **Sistema Brasileiro de classificação de solos**. 2.ed. Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 2006. 306p.

SATHE, S. K.; DESHPANDE, S. S.; SALUNKHE, D. K. Dry beans of *Phaseolus*. A review. Part 2. Chemical composition: carbohydrates, fiber, minerals, vitamins and lipids. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Cleveland, v.21, n.2, p.41-91, 1984.

SENA, K. C. M.; PEDROSA, L. F. C. Efeitos da suplementação com zinco sobre o crescimento, sistema imunológico e diabetes. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.18, n.2, p.251-259, 2005.

SILVA, C. A. et al. Interaction genotype by season and its influence on the identification of beans with high content of zinc and iron. **Bragantia**, Campinas, v.71, n.3, p.336-341, 2012.

SILVA, C. A. et al. Genetic control of zinc and iron concentration in common bean seeds. **African Journal of Agricultural Research**, Nigeria, v.8, n.11, p. 1001-1008, 2013.

SINGH, S. P. et al. Races of common bean (*Phaseolus vulgaris*, Fabaceae). **Economic Botany**, New York, v.45, n.3, p.379-396, 1991.

STRALIOTTO, R.; TEIXEIRA, M.G. **A variabilidade genética do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.): aplicações nos estudos das interações simbióticas e patogênicas**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2000, 59p.

TAKO, E.; BLAIR, M. W.; GLAHN, R. P. Biofortified red mottled beans (*Phaseolus vulgaris* L.) in a maize and bean diet provide more bioavailable iron than standard red mottled beans:

Studies in poultry (*Gallus gallus*) and an in vitro digestion/ Caco-2 model. **Nutrition Journal**, London, v.10, n.113, p.1-10, 2011.

THOMPSON, B.; AMOROSO, L. **Improving Diets and Nutrition: Food-Based Approaches**. Rome: FAO, 2014, 454p.

TRYPHONE, G. M.; NCHIMBI-MSOLLA, S. Diversity of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes in iron and zinc contents under screenhouse conditions. **African Journal of Agricultural Research**, Nigeria, v.5, n.8, p.738-747, 2010.

WANDER; A. E.; CHAVES, M. O. Consumo per capita de feijão no brasil de 1998 a 2010: uma comparação entre consumo aparente e consumo domiciliar. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 10, 2011, Goiânia. **Anais...** Goiânia: Embrapa Arroz e Feijão, 2011.

WARNER, J. N. A method for estimating heritability. **Agronomy Journal**, Madison, v. 44, n. 8, p. 427-430, 1952.

WELCH, R. M. et al. Genetic selection for enhanced bioavailable levels of iron in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seeds, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Ithaca, v.48, n. 8, p. 3576–3580, 2000a.

WELCH, R. M. et al. Testing iron and zinc bioavailability in genetically enriched beans (*Phaseolus vulgaris* L.) and rice (*Oryza sativa* L.) in a rat model. **Food and Nutrition Bulletin**, Boston, v.21, n.4, p.428-433, 2000b.

WHO. **Guidelines on food fortification with micronutrients**. France: WHO, 2006. 376p.