

### **SAMUEL BONFIM FERNANDES**

### IDENTIFICAÇÃO DE POPULAÇÕES DE FEIJOEIRO COM GRÃOS TIPO CARIOCA E ALTO TEOR DE CÁLCIO

LAVRAS – MG 2012

### **SAMUEL BONFIM FERNANDES**

### IDENTIFICAÇÃO DE POPULAÇÕES DE FEIJOEIRO COM GRÃOS TIPO CARIOCA E ALTO TEOR DE CÁLCIO

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação Genética e Melhoramento de Plantas, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora

Dra. Ângela de Fátima Barbosa Abreu

LAVRAS - MG 2012

## Ficha Catalográfica Elaborada pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca da UFLA

Fernandes, Samuel Bonfim.

Identificação de populações de feijoeiro com grãos tipo carioca e alto teor de cálcio / Samuel Bonfim Fernandes. — Lavras : UFLA, 2012.

59 p.: il.

Dissertação (mestrado) — Universidade Federal de Lavras, 2012. Orientador: Ângela de Fátima Barbosa Abreu. Bibliografia.

1. Dialelo parcial. 2. Interação genótipos x ambientes. 3. Minerais. 4. Melhoramento genético. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD - 631.523

### **SAMUEL BONFIM FERNANDES**

## IDENTIFICAÇÃO DE POPULAÇÕES DE FEIJOEIRO COM GRÃOS TIPO CARIOCA E ALTO TEOR DE CÁLCIO

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação Genética e Melhoramento de Plantas, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 20 de julho de 2012. Dr. Magno Antônio Patto Ramalho Dra. Flávia Barbosa Silva Botelho

UFLA UFMT

Dra. Ângela de Fátima Barbosa Abreu Orientadora

> LAVRAS - MG 2012

			OFEREÇO
Aos meus pais, Vileste e irmãos, Márcia e Lucas,			ca e aos meus

### **AGRADECIMENTOS**

A DEUS, por me dar forças para concluir este trabalho.

Aos meus pais, por me apoiarem em todos os momentos.

À UFLA e ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, por terem me dado oportunidade de realizar o curso, e a Capes, pela concessão da bolsa de estudos.

À minha orientadora, Dra. Ângela de Fátima Barbosa Abreu, pela paciência durante esses dois anos, pelos ensinamentos, pelo apoio em todos os momentos do curso e pela amizade.

Ao professor e co-orientador, Dr. Magno Antonio Patto Ramalho, pelo auxílio em todos os momentos.

Aos membros da banca examinadora, professor Magno e professora Flávia Barbosa, pela participação, disponibilidade e pela contribuição feita a este trabalho além da colaboração para o enriquecimento deste trabalho.

Aos professores do DBI pelos ensinamentos transmitidos.

Aos amigos do GEN, pela companhia durante esses dois anos.

A todos os colegas e amigos da pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, pelos agradáveis momentos de convivência.

A todos os funcionários do Departamento de Biologia, em especial D. Irondina, Dú, Zélia e Rafaela,

À Professora Nara, por ser a responsável pela minha vinda para a UFLA e por ter me incentivado a me tornar um melhorista.

**MUITO OBRIGADO A TODOS!** 

#### **RESUMO**

Este trabalho foi realizado com os objetivos de identificar populações promissoras de feijão visando à seleção de linhagens com grãos do tipo carioca e com alto teor de cálcio e verificar se a safra e a interação safras x linhagens e populações afetam o teor de cálcio. Foram utilizadas sete linhagens de feijão que foram cruzadas no esquema de dialélico parcial três x quatro, sendo três linhagens de grãos tipo carioca e com boas características agronômicas (BRSMG Majestoso, MA-II-22 e RP-1) e quatro com alto teor de cálcio, porém com grãos fora do padrão comercial (CNF 05, Ouro, Safira e Fortuna 1895). As sementes das gerações F<sub>1's</sub> e dos genitores foram semeadas nas safras da "seca" de 2011 e "águas" 2011/2012. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com seis repetições e as parcelas constituídas por um vaso com três plantas/vaso. Para a determinação dos teores de cálcio, as sementes colhidas foram secas em estufa até atingirem 13% de umidade e, posteriormente, moídas em micro-moinho até obter partículas inferiores a um mm. Os teores de cálcio quantificados por digestão nítrica-perclórica e espectrofotômetro de absorção atômica. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e análise dialélica conjunta, considerando as duas safras, utilizando-se o método IV de Griffing (1956). Concluiu-se que: A RP-1 é uma linhagem que apresenta alto teor de cálcio, além de possuir grãos tipo carioca, porte ereto com boa produtividade de grãos; para incrementar ainda mais o teor de cálcio da linhagem RP-1 a melhor opção é o cruzamento com as linhagens CNF-05 e Safira; embora tenha ocorrido interação populações x safras, ela não interferiu na identificação das melhores ou piores populações para alto teor de cálcio.

Palavras-chave: Minerais. Interação genótipos x ambientes. Dialelo parcial.

#### **ABSTRACT**

The aim with this study was to identify promising populations of beans in order to select inbred lines with "carioca" grains and high calcium content and verify whether growth season and growth seasons x lines and populations interaction affect calcium content. We used seven lines of common beans that were crossed in 3 x 4 partial diallel design, with three lines with "carioca" grain type and good agronomic characteristics (BRSMG Majestoso, MA-II-22 and RP-1) and four with high calcium content, but with grains out of commercial standard (CNF 05, Ouro, Safira and Fortuna 1895). The F<sub>1</sub> seeds and parents were sown in the "dry" 2011 and "water" 2011/2012 seasons. The experimental design was completely randomized with six replications and plots consisting of a pot with three plants / pot. To determine the calcium content the seeds were dried in an oven until reaching 13% moisture and, later, ground in a micro-mill to obtain particles smaller than 1mm. Calcium contents were quantified by nitric-perchloric digestion and data were collected by an atomic absorption spectrophotometer. The data were submitted to analysis of variance and joint diallel analysis considering the two growth seasons using the Griffing method IV (1956). It was concluded that: The RP-1 is an inbred that has a high calcium content, besides having "carioca" grain type, upright plant with good yield; to further increase the calcium content of inbred RP-1 the best option is the crossing with the CNF-05 and Safira lines; although there was population x growth season interaction, it did not interfere in the identification of populations for better or worse high calcium content.

Keywords: Minerals. Genotypes x environment interaction. Partial diallel.

### SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1	Morfologia e composição química das sementes de feijão	13
2.2	Cálcio e sua importância na alimentação humana	19
2.3	Aspectos relacionados ao melhoramento visando ao aumento do	teor (
	de cálcio no feijão	22
2.4	Cruzamentos dialélicos no melhoramento de plantas visando à	
	melhoria da qualidade nutricional	26
3	MATERIAL E MÉTODOS	32
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
5	CONCLUSÕES	43
	REFERÊNCIAS	44

### 1 INTRODUÇÃO

O feijão, juntamente com o arroz, é um dos alimentos mais consumidos pela população brasileira, não só pelas classes sociais de menor poder aquisitivo, mas também pelas classes mais favorecidas, que se têm preocupado cada vez mais em ter uma dieta saudável. Juntos, esses alimentos se complementam, por ser o feijão pobre em aminoácidos sulfurados, que estão presentes no arroz. Por outro lado, o feijão apresenta alto conteúdo de lisina, aminoácido para o qual o arroz é deficiente. Sendo assim, o hábito do povo brasileiro de ingerir arroz com feijão torna o valor biológico da proteína da dieta próximo ao das proteínas de origem animal (BENINGER; HOSFIELD, 2003; BLAIR et al., 2009; BROUGHTON et al., 2003).

Além de ser uma excelente fonte proteica, o feijão também é rico em minerais que, apesar de encontrados de forma biodisponível, principalmente nos alimentos de origem animal (COSTA; LIBERATO, 2003), apresentam, nesse caso, elevado custo, sendo inacessíveis a muitas pessoas. Assim, o consumo de feijão torna-se uma alternativa interessante, em função do elevado teor de minerais como cálcio, potássio, fósforo, ferro, cobre, zinco e magnésio nos grãos e o seu baixo custo (JOST et al., 2006; MESQUITA et al., 2007; RIBEIRO et al., 2008).

Os minerais são necessários ao organismo em diferentes quantidades e são essenciais para o desempenho de diversas funções. Entre esses minerais destaca-se o cálcio, em virtude de sua importância na formação dos ossos e dentes, além de participar no crescimento e ser um co-fator/regulador em várias reações bioquímicas (FRANCO, 1999; MIGLIORANZA et al., 2003). As principais fontes de cálcio são os produtos lácteos, contudo, muitas pessoas não gostam ou não podem ingeri-los por serem intolerantes à lactose. Estima-se que 25% da população americana e 75% dos adultos em todo o mundo são

intolerantes à lactose (NICKLAS, 2003). Para essas pessoas o feijão é uma excelente opção por conter boa quantidade do mineral em questão (FROSSARD et al., 2000; PENNINGTON, 1998).

Recentemente tem havido tendência mundial em obter alimentos biofortificados. A biofortificação consiste em aumentar a biodisponibilidade de minerais em porções comestíveis das plantas (WHITE; BROADLEY, 2005). O alimento fortificado é considerado a melhor estratégia, em longo prazo, para a prevenção de deficiências dos nutrientes, haja vista que uma alimentação equilibrada ajuda na prevenção de doenças (EUROPEAN COMMISSION, 2010; FROSSARD et al., 2000). Entre esses alimentos, conforme já comentado, destaca-se o feijão por apresentar alto valor nutricional e funcional e ser consumido praticamente todos os dias por grande parte da população brasileira. Uma boa alternativa, então, seria obter cultivares melhoradas com maior teor de nutrientes. A obtenção de cultivares com melhor qualidade nutricional permitiria que o consumidor tivesse disponível um produto melhor sem nenhum ônus adicional e sem modificações nos seus hábitos alimentares e na forma de preparo do alimento.

Em vários trabalhos, utilizando linhagens dos bancos de germoplasma das instituições que trabalham com melhoramento genético do feijoeiro, foi demonstrado que existe variabilidade genética para os caracteres que conferem qualidade nutricional ao feijão e que esses são influenciados pelo ambiente (BEEBE et al., 2000; MESQUITA et al., 2007; RIBEIRO et al., 2008; SILVA et al., 2012; ZACHARIAS et al., 2012). No entanto, as linhagens identificadas com maior teor do mineral são mal adaptadas e/ou apresentam características agronômicas e tipo de grão que não estão de acordo com as preferências dos consumidores e agricultores. No caso dos grãos a preferência é pelo tipo carioca, que é aquele caracterizado pela cor bege com rajas marrons. Dessa forma, seria importante a obtenção de linhagens que associassem grãos tipo carioca, boa

adaptação à região de cultivo e alto teor de cálcio. Para isso é preciso que sejam identificadas as linhagens mais promissoras para serem utilizadas nas hibridações e assim concentrar os esforços nas populações oriundas do cruzamento entre essas linhagens, principalmente no caso onde a característica de interesse se refere à qualidade nutricional, em que as análises de laboratório são dispendiosas.

Existem várias metodologias para identificação de genitores e/ou populações mais promissoras para a obtenção de linhagens em plantas autógamas (RAMALHO et al., 2012a). Entre elas, os cruzamentos dialélicos têm sido muito empregados na cultura do feijoeiro, principalmente quando o objetivo é a obtenção de linhagens com alta produtividade de grãos (ABREU; RAMALHO; FERREIRA, 1999; MENDES; RAMALHO; ABREU, 2011; RAMALHO; SANTOS; PEREIRA FILHO, 1988). No entanto, não há relatos da utilização dos cruzamentos dialélicos no melhoramento visando ao aumento do teor do cálcio nos grãos.

Do exposto, o presente trabalho foi realizado com os objetivos de identificar populações promissoras de feijão visando à seleção de linhagens com grãos do tipo carioca e com alto teor de cálcio, bem como verificar se a safra e a interação safras x linhagens e populações afetam o teor de cálcio.

### 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Morfologia e composição química das sementes de feijão

A semente de feijão é exalbuminosa, originada de um óvulo campilótropo, constituída de um tegumento ou testa, hilo, micrópila e rafe e, internamente, de um embrião formado pela plúmula, duas folhas primárias, hipocótilo, dois cotilédones e radícula (Figura 1) (DEBOUCK, 1991). O tegumento representa cerca de 7,6 a 9,7% na matéria seca (MS), cotilédones, 88 a 91%, e eixo embrionário, apenas 0,6 a 1,8% da MS (ARIZA-NEITO et al., 2007; MESQUITA, 1989). A semente pode ter várias formas: arredondada, elíptica, reniforme ou oblonga e tamanhos que variam de muito pequenas (< 20g) a grandes (> 40g/100 sementes). Apresenta ampla variabilidade de cores, variando do preto, bege, roxo, róseo, vermelho, marrom, amarelo, até o branco, podendo o tegumento ter uma cor uniforme (cor primária), ou duas, uma primária e uma cor secundária, expressa em forma de estrias, manchas ou pontuações. Pode ser brilhosa, ter brilho intermediário ou ser opaca, sem brilho (SILVA; COSTA, 2003).

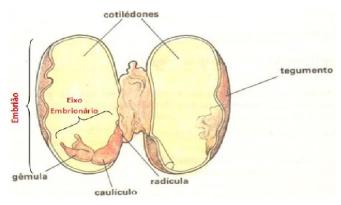


Figura 1. Morfologia da semente de feijão. Fonte: Universidade Estadual de Ponta Grossa - UEPG (2011)

A semente de feijão é considerada uma excelente fonte de proteína, carboidratos complexos, além de vitaminas e minerais (BROUGHTON et al., 2003; OLIVEIRA, 2005; SAHA et al., 2009). O teor de proteína pode variar amplamente (Tabela 1). É importante destacar, além da quantidade a excelente qualidade da proteína do grão de feijão, haja vista que apresenta grande parte dos aminoácidos essenciais. Em ordem decrescente os seguintes aminoácidos essenciais foram encontrados por Ribeiro et al. (2007) na avaliação da composição proteica de 19 cultivares de feijão: leucina, lisina, fenilalanina, valina, isoleucina, treonina, histidina e metionina. A deficiência de metionina no feijão pode ser compensada pelo seu consumo juntamente com arroz, que é rico nesse aminoácido, mas deficiente em lisina (BASSINELLO et al., 2011). O consumo combinado de arroz e feijão (cereal e leguminosa) torna a dieta equilibrada, principalmente quando os cereais e legumes são consumidos na proporção de 2:1 (BRESSANI, 1983).

Tabela 1 Variação na composição química dos grãos de feijão secos.

Composição química	Conteúdo	Autores
Proteína Bruta (%)	16,00 a 36,28	Geil e Anderson (1994),
		Maldonado e Sammám (2000),
		Mesquita et al. (2007), Osborn
		(1988), Samman et al. (1999) e
		Silva et al. (2010)
Fibra bruta (%)	2,8 a 9,2	Antunes et al. (1995), Geil e Anderson (1994), Londero et al. (2006), Prolla (2006) e Vieira
		(1964)
Carboidratos totais (%)	60,00 a 77,00	Geil e Anderson (1994) e Pires et
		al. (2005)
Lipídeos (%)	0,80 a 3,00	Geil e Anderson (1994) e Pires et al. (2005)

Tabela 1, continuação		
Composição química	Conteúdo	Autores
Fósforo (g 100 g <sup>-1</sup> )	0,295 a 0,542	Barampama e Simard (1993), Beebe et al. (2000), Geil e Anderson (1994), Ribeiro et al. (2008), Rosa (2009) e Samman et al. (1999)
Potássio (g 100 g <sup>-1</sup> )	1,55 a 5,25	Barampama e Simard (1993), Geil e Anderson (1994) e Ribeiro et al. (2008)
Cálcio (g 100 g <sup>-1</sup> )	0,0069 a 0,4065	Acosta-Gallegos (2000), Akond et al. (2011), Barampama e Simard (1993), Barnabas e Arnott (1990), Esteves (2000), Geil e Anderson (1994), Guzmán-Maldonado et al. (2000), Koehler et al. (1987), Meiners et al. (1976), Mesquita et al. (2007), Moraghan, Etchevers e Padilha (2006), Moraghan e Grafton (1997), Moura (1998), Núcleo de Estudos e Pesquisa em Alimentação - NEPA (2011), Pinheiro et al. (2010), Pires et al. (2005), Ribeiro et al. (2008), Sebastiá et al. (2001), Shimelis e Rakshit (2005) e United States Department of Agriculture - USDA (2001)
Magnésio (g 100 g <sup>-1</sup> )	0,20 a 0,28	Barampama e Simard (1993), Geil e Anderson (1994) e Ribeiro et al. (2008)
Ferro (mg kg <sup>-1</sup> )	30,00 a 202,6	Barampama e Simard (1993), Chiaradia e Gomes (1997), Geil e Anderson (1994), Ribeiro et al. (2008) e Samman et al. (1999)

Tabela 1, conclusão

Composição química	Conteúdo	Autores
Zinco (mg kg <sup>-1</sup> )	10,00 a 87,90	Barampama e Simard (1993), Geil e Anderson (1994), Ribeiro et al. (2008), Rosa (2009) e Samman et al. (1999)
Manganês (mg kg <sup>-1</sup> )	8,20 a 18,88	Barampama e Simard (1993), Beebe et al. (2000), Geil e Anderson (1994) e Ribeiro et al. (2008)
Cobre (mg kg <sup>-1</sup> )	4,40 a 15,5	Barampama e Simard (1993), Geil e Anderson (1994), Ribeiro et al. (2008) e Samman et al. (1999)
Cinzas (g 100 g <sup>-1</sup> )	3,36 a 4,50	Barampama e Simard (1993) e Pires et al. (2005)

Além dos teores de aminoácidos essenciais e não essenciais adequados para suprir as necessidades nutricionais diárias, o feijão apresenta, também, outras substâncias nutritivas como vitaminas e substâncias funcionais pouco estudadas (OLIVEIRA, 2005). De acordo com a Recommended Daily Allowances (RDA), para adultos, uma xícara de feijão seco cozido pode suprir 30% do ácido fólico, 25% de tiamina, 10-12% de piridoxina e menos de 10% de niacina e riboflavina, 29% de ferro para mulheres e 55% para homens, 20 a 25% de fósforo, magnésio e manganês, aproximadamente 20% de potássio e cobre e 10% de cálcio e zinco para ambos (GEIL; ANDERSON, 1994).

Os grãos de feijão também são ricos em fibra alimentar. Haro et al. (1995) avaliaram a composição química, fibra dietética e conteúdo mineral de 15 alimentos frequentemente consumidos no noroeste do México. O feijão foi o alimento que apresentou os maiores teores de fibra (Tabela 1). Do total de fibra, três partes são de fibra insolúvel para uma parte de fibra solúvel (LONDERO et al., 2006).

O teor de cinzas do feijão pode chegar a 4,5 g/100 g, sendo os principais componentes o potássio (cerca de 1%, correspondente a 25-30% do conteúdo total de minerais), fósforo (cerca de 0,4%), ferro (cerca de 0,007%), cálcio, cobre, zinco e magnésio, entre outros, e pobre em sódio, o que acarreta vantagens nutricionais (BARAMPAMA; SIMARD, 1993). Tem sido verificado que há variabilidade genética para o teor de minerais no feijão (BEEBE et al., 2000; MESQUITA et al., 2007; RIBEIRO et al., 2008). Contudo, tem sido verificado também que, além da variação genética, os teores de minerais nos grãos são influenciados pelas condições ambientais de cultivo, especialmente tipo de solo e pela interação genétipos x ambientes (CICHY et al., 2005; MORAGHAN; GRAFTON, 2002). Na Tabela 1 é apresentada a relação de nutrientes presentes no feijão, obtidos por vários autores, podendo ser verificada a grande amplitude de variação, em razão do exposto acima.

Entre os minerais constituintes do grão de feijão, destaque deve ser dado para o ferro, zinco e cálcio. Em humanos o ferro é essencial na prevenção de anemia e no funcionamento de vários processos metabólicos, enquanto o zinco é essencial para adequar o desenvolvimento e maturação sexual, resistência gastro-intestinal e infecções respiratórias, especialmente em crianças (BOUIS, 2003). Com relação ao teor de cálcio no grão, em trabalho com 39 espécies de origem vegetal foi verificado que o feijão é a terceira melhor opção como fonte de cálcio (STEVENS, 1974). Quando comparado a outras leguminosas, o feijão apresenta 50% a mais de cálcio que o grão-de-bico e 100% a mais que a lentilha (SEBASTIÁ et al., 2001).

Como comentado, existe grande variabilidade para o teor de minerais em feijão. No caso do cálcio, foi verificado que sementes de feijão navy (sementes pequenas com massa inferior a 16,9 g por 100 sementes), pertencentes ao pool gênico mesoamericano, contêm, em média, 90% mais cálcio do que os feijões kidney e cranberry (sementes grandes com massa de 47,8 g e 43,1 g por

100 sementes, respectivamente) (MORAGHAN; GRAFTON, 1997). Ribeiro et al. (2012) também afirmam que genótipos de origem mesoamericana têm teor de minerais superior quando comparados com genótipos andinos. No entanto, a correlação negativa entre tamanho e o teor de cálcio nas sementes envolvendo os feijões navy, pinto, feijão do norte, rosa grande, kidney e cranberry sugere que tamanho de semente por si só é um fator de controle mais importante que a associação com pools gênicos diferentes (MORAGHAN; GRAFTON, 2001). Apesar dessa associação entre pool gênico, tamanho de grão e o teor de cálcio, em trabalho conduzido por Akond et al. (2011), verificaram-se maiores concentrações de cálcio em genótipos andinos (Jalo EEP558 e G122) que em genótipos mesoamericanos (CIAT XAN176 e MIB217). Por outro lado, Lombardi-Boccia et al. (1998) observaram que o teor de cálcio foi superior em uma cultivar de feijão colorido, quando comparada à cultivar de grãos brancos.

Na composição do grão de feijão merecem destaque também o baixo teor de gordura e de sódio, e a ausência de colesterol (HOSFIELD, 1991; MORROW, 1991), além do alto teor de substâncias antioxidantes encontradas em feijões pretos que são comparáveis às encontradas na uva (ANTUNES; SILVEIRA; SILVA, 2007). Quanto ao aporte de calorias, o feijão ocupa o terceiro lugar entre os alimentos consumidos, totalizando 11,2% das calorias ingeridas/dia (SOARES; DELLA-MODESTA; CARVALHO, 1996). Contém, também, alguns componentes bioativos relacionados como benéficos à saúde, tais como polifenóis, lectinas e carboidratos.

Diante do exposto fica evidente que o feijão constitui-se em excelente fonte de minerais e proteína para a alimentação e que a variabilidade existente para os diferentes constituintes do grão permite antever a possibilidade de sucesso em um programa de melhoramento visando à melhoria da qualidade nutricional. Nessa revisão maior ênfase será dada ao cálcio em razão dos objetivos quanto ao trabalho.

### 2.2 Cálcio e sua importância na alimentação humana

O cálcio individualmente é o mineral mais abundante no organismo, constituindo de 1,5 a 2,0% do peso corpóreo e 39% dos minerais do corpo humano. O conteúdo total varia em média de 25 a 39 g ao nascimento e 1000 a 1500 g na maturidade, e essa diferença precisa vir da alimentação (ANDERSON, 2002; BAIRD, 2011; HEANEY, 2006). A taxa de acúmulo de Ca é de cerca de 150 mg por dia, durante o crescimento do esqueleto humano até a massa pré-determinada geneticamente, por volta dos 20 anos. A massa óssea é estável até por volta dos 50 anos em homens e até após a menopausa nas mulheres. Depois disso o balanço do Ca começa a ficar negativo e a massa óssea é associada ao risco de fraturas em ambos os sexos, mas principalmente nas mulheres (FROSSARD et al., 2000).

Cerca de 99% do cálcio do corpo é incorporado no osso como hidroxiapatita, [Ca3 (PO4) 2 (OH) 2], para dar força e flexibilidade ao sistema esquelético e para servir como um reservatório de cálcio e fósforo por meio do processo de remodelação óssea (MACKOWIAK, 2011). As funções do cálcio estão diretamente relacionadas à formação dos ossos e dos dentes, além de participar no crescimento e ser um co-fator/regulador em várias reações bioquímicas (FRANCO, 1999). A absorção do cálcio é influenciada pelos hormônios sexuais, acontecendo de forma diferenciada em homens e mulheres. Após sua absorção a relação entre o teor de cálcio e os níveis hormonais no organismo se mantêm. Um exemplo disso é a influência que o mineral tem sobre os níveis de hormônio da paratireoide (AKESTRO et al., 2005).

Como mencionado, a necessidade de cálcio para ambos os sexos varia mais amplamente durante os períodos da infância, puberdade e maturidade. Na infância, o cálcio é necessário para a mineralização e crescimento ósseo

adequado. O desenvolvimento esquelético, durante a adolescência, pode ser influenciado ainda, pela saúde óssea, sendo dependente de uma variedade de nutrientes. Na gestação e amamentação ocorrem mudanças no metabolismo de Ca que favorecem a transferência deste elemento para o bebê. A fração de cálcio absorvida no trato gastrointestinal é aumentada durante esses períodos, e maiores quantidades de cálcio na dieta são recomendadas durante essas fases da vida (ROSS et al., 2011).

O National Institute Health - NIH (2000) dos Estados Unidos estabeleceu que a ingestão "ótima" de cálcio deve ser de 800mg/dia para crianças de três a oito anos e 1300mg/dia para crianças e adolescentes de nove a 17 anos, sendo recomendada a manutenção de 1000 a 1500mg/dia, após essa fase da vida (NIH, 2000). Em 2010, Mackowiak (2011) constatou que, para os homens entre 51 e 70 anos, a recomendação de 1000 mg de cálcio seria suficiente. Contudo, tem sido observado que o cálcio é muito frequentemente limitado nas dietas dos setores de baixa renda e particularmente é uma preocupação para pré-escolares, crianças, adolescentes, grávidas e mulheres lactantes (ABBO et al., 2000).

A adequada ingestão de cálcio seria uma maneira de reduzir a perda de massa óssea além de outras doenças como osteoporose (FROSSARD et al., 2000; HEANEY, 2000) que é, sem dúvida, a principal doença causada pela deficiência de cálcio no organismo. Essa doença reduz a massa óssea, resultando na fragilidade do esqueleto, e afeta 25 a 30 milhões de americanos. Aproximadamente 25% das mulheres de origem anglo-saxônica, por volta da idade dos 50 anos têm osteoporose (BRYANT; CADOGAN; WEAVER, 1999). No Brasil as taxas de ocorrência de osteoporose também apresentam grande amplitude, com os valores variando entre 0,4% em mulheres em pré-menopausa até 40% naquelas com 70 anos (FRAZÃO; NAVEIRA, 2006). Além da osteoporose a deficiência do cálcio é relacionada com a hipertensão (GRIFFITH

et al., 1999), o câncer de cólon (HOLT, 1999), o câncer de mama (XUE et al., 1996), pedras nos rins (CURHAN et al., 1993), síndrome do Ovário Policístico (THYS-JACOBS et al., 1999), câncer de ovário (GOODMAN et al., 2002), síndrome pré-menstrual (THYS-JACOBS et al., 1998), obesidade (DAVIES, 2000; ZEMEL et al., 2000). Essas doenças têm muitas causas, mas a comunidade cientifica concorda que dietas com quantidades corretas de cálcio podem ajudar a preveni-las (GUÉGUEN; POINTILLART, 2000; SILVA; TEIXEIRA; GOLDBERG, 2004).

Diante do exposto fica evidente que o consumo de dietas que atendam as recomendações de cálcio e nas quais este nutriente esteja biodisponível deve ser incentivado como uma das estratégias da prevenção de muitas doenças (LANZILLOTTI, 2003). Nesse sentido, o feijão contribui de forma significativa no suprimento das necessidades de ingestão de minerais, já que é consumido diariamente por grande parcela da população. No caso de aumentar a disponibilidade de Ca no feijão, seria possível usufruir de outros benefícios advindos desse alimento, como a aparente redução no câncer de mama principalmente, por meio de indução de apoptose e modificação das principais redes de sinalização metabólicas ligadas à sobrevivência e crescimento celular (FROSSARD et al., 2000; THOMPSON et al., 2012). Essas estratégias de mitigação de deficiências nutricionais seriam de grande importância principalmente em países em desenvolvimento, onde o consumo de alimentos de origem animal pode ser deficiente em uma parcela da população, em razão do custo mais elevado.

# 2.3 Aspectos relacionados ao melhoramento visando ao aumento do teor de cálcio no feijão

Os programas de melhoramento genético do feijoeiro comum no Brasil são restritos e concentrados, predominantemente no setor público, sendo o número de melhoristas ainda reduzido. O interesse das empresas privadas de sementes em ter os seus próprios programas de melhoramento é também pequeno e, mesmo no setor público, o foco dos programas de melhoramento têm sido sempre a resistência aos patógenos como o vírus do mosaico comum, mancha angular, antracnose e, obviamente, a produtividade de grãos, mas raramente a qualidade nutricional (MATOS; RAMALHO; 2007: **SCIENCE AND POST-HARVEST** ABREU. FOOD TECHNOLOGY - FSPT, 2001). Os consumidores progressivamente têm mostrado algumas preferências quanto ao tamanho, forma e cor de sementes e vagens de feijão e o mercado reflete essa tendência dando preferência a tipos com boa qualidade (SANTALLA et al., 1999). Assim, obter feijões com alto teor de cálcio vem de encontro às novas tendências do mercado.

O melhoramento para qualidade nutricional do feijoeiro encontra-se aquém do esperado. Quando se trata de teor de cálcio, a situação é pior, haja vista que não se têm relatos na literatura de trabalhos visando ao aumento desse mineral nos grãos de feijão. Muito tem sido realizado visando ao estudo da variabilidade existente para o teor, não só desse nutriente, mas também de todos os outros minerais encontrados no grão de feijão (BARAMPAMA; SIMARD, 1993; GUZMÁN-MALDONADO et al., 2000; MESQUITA et al., 2007; SILVA et al., 2010). O estudo da variabilidade para o teor de cálcio pode ser considerado o ponto de partida para que seja iniciado um programa de melhoramento visando ao aumento do teor desse nutriente no feijão. Mas, para que a população se beneficie, é necessário

que os resultados de tais estudos sejam utilizados em programas de melhoramento.

Os padrões de distribuição de Ca entre a semente e o embrião indicam que o movimento do Ca é restrito durante o desenvolvimento da semente. Alguns trabalhos dão como justificativa a presença de cristais de oxalato de cálcio insolúveis no tegumento de grãos maduros (BARNABAS; ARNOTT, 1990; MORAGHAN; ETCHEVERS; PADILHA, 2006). Verifica-se que, após ser absorvido pela planta, o cálcio tem uma baixa redistribuição nos tecidos das folhas jovens, frutos, sementes e tubérculos, pois a transpiração é baixa e, consequentemente, o transporte de Ca também. Assim o mineral é transportado pelo xilema, mas, não redistribuído, estes tecidos são os primeiros a mostrar sintomas de deficiência se o fornecimento de Ca para a planta é insuficiente (FROSSARD et al., 2000; PALTA, 1996). E mesmo que não ocorra a deficiência, altos teores de Ca no solo não necessariamente resultam em altos teores de Ca nas vagens e possivelmente no grão (QUINTANA et al., 1996).

Para iniciar um programa de melhoramento é importante também o conhecimento do controle genético da característica em questão, para que se opte pela melhor estratégia de seleção (SANTALLA; AMURRIO; RON, 2001). Para características que se expressam no grão, como é o caso do teor de cálcio, em primeiro lugar é importante que seja verificado se existe efeito materno na expressão do caráter. A presença de efeito materno no controle do caráter é um complicador uma vez que o tegumento e cotilédones estarão em gerações diferentes durante a condução das populações segregantes. Ou seja, logo após a hibridação, os cotilédones manifestam o resultado do cruzamento, geração F<sub>1</sub>, enquanto o tegumento, por ter sido formado antes da fertilização, apresenta o genótipo materno (RIBEIRO; RAMALHO; ABREU, 2006). Isto tem implicações diretas na seleção de progênies, em programas de melhoramento, haja vista que, na presença de efeito materno, se a seleção for realizada na

geração  $F_2$  será ineficiente, pois o tegumento será  $F_1$ , não apresentando, portanto, variabilidade para que haja sucesso com a seleção. Nesse caso, a seleção só será eficiente se for realizada da geração  $F_3$  (tegumento  $F_2$ ) em diante.

No feijão tem sido verificado que a maioria do Ca é acumulado no tegumento das sementes e muito pouco translocado para os cotilédones, sendo a deposição de cálcio na semente um processo complexo, já que não há conexão vascular entre a planta mãe e o novo embrião (BOESEWINKEL; BOUMAN, 1995; MORAGHAN; GRAFTON, 1997). Alguns estudos foram realizados para comprovar a ocorrência de efeito materno na expressão do teor de cálcio no feijão. Foi verificado que o tegumento da semente é rico em cálcio, apesar de o tegumento corresponder a menos de 10% do peso total da semente (MORAGHAN; ETCHEVERS; PADILHA, 2006). Nesses estudos, onde o tegumento foi analisado separadamente do restante da semente, os teores de cálcio contidos no tegumento variaram de 43 a 96,8% em relação ao total de cálcio da semente (BURATTO, 2012; LOMBARDI-BOCCIA et al., 1998; MORAGHAN; GRAFTON, 2002; RIBEIRO et al., 2012; SINGH; SINGH; SIKKA, 1968).

A existência de efeito materno pode também ser analisada, sem remoção do tegumento, por meio de hibridações entre linhagens contrastantes. Este tipo de trabalho foi conduzido por Jost et al. (2009) que realizaram cruzamentos entre cultivares de feijão diferindo no teor de cálcio e contrastaram as sementes  $F_1$  obtidas, ora utilizando uma cultivar como genitor feminino, com os dois genitores e, também, pelo contraste entre a geração  $F_1$  e  $F_1$  recíproco. Verificaram que não houve diferença entre a geração  $F_1$  e o genitor feminino utilizado no cruzamento e que as gerações  $F_1$  e  $F_1$  recíproco diferiam entre si. Esses resultados permitiram inferir que o teor de cálcio das sementes  $F_1$  obtidas não representava o produto da hibridação entre os genitores, confirmando que o

cálcio no grão de feijão se concentra, principalmente, no tegumento, ou seja, que existe efeito materno na expressão dessa característica.

A obtenção de estimativas de herdabilidade também é importante para que se tenha conhecimento das chances de sucesso na seleção. A herdabilidade pode ser conceituada como a proporção da variância genética presente na variância fenotípica total. Portanto, ela estima a confiabilidade do valor fenotípico como indicador do valor reprodutivo. Contudo, é importante mencionar que a herdabilidade de certa característica não é imutável. Ela depende da variabilidade genética encontrada na população, da divergência entre os genitores para a característica em questão quando da realização de hibridação e, também, da uniformidade do ambiente em que as plantas serão cultivadas (RAMALHO et al., 2012b). No caso do teor de cálcio, Silva et al. (2010) encontraram herdabilidade de 96,8% na avaliação de 100 linhagens de feijoeiro do banco de germoplasma da UFLA, indicando a grande variabilidade entre elas e a baixa influência do ambiente. Já em cruzamentos entre linhagens contrastantes para o teor desse mineral foram obtidas estimativas de herdabilidade mais moderadas, variando de 47,0 a 74,6% (JOST et al., 2009). Esses resultados mostram que o aumento do teor desse mineral pode ser alcançado por meio do melhoramento genético (GRAHAM; WELCH, 1996). Vale ressaltar que esses trabalhos foram conduzidos em um único ambiente e tem sido verificada grande influência do ambiente no teor de cálcio no feijoeiro, além de interação genótipos x ambientes (BARAMPAMA; SIMARD, 1993; QUENZER; HUFFMAN; BURNS, 1978; QUINTANA, 1999). Isso indica que essas estimativas de herdabilidade podem estar inflacionadas pela interação e que seria importante que os trabalhos dessa natureza fossem conduzidos em mais ambientes (locais e/ou safras) para se obter estimativas livres da interação.

É interessante mencionar também que, em várias oportunidades, tem sido verificada correlação entre os minerais constituintes do grão de feijão

(BEEBE et al., 2000; GELIN et al., 2007; RIBEIRO et al., 2008). A ocorrência de correlação genética, positiva ou negativa, entre dois caracteres é em virtude da pleiotropia ou à ligação entre os genes responsáveis por estas características (RAMALHO et al., 2012b). Se for em decorrência da pleiotropia ela será permanente, mas, se for em decorrência da ligação gênica poderá ser dissipada à medida que ocorrer permuta entre os genes ligados. No caso de correlação positiva, indica que o melhoramento para um determinado constituinte acarretará aumento em outro também, o que seria uma grande vantagem. Contudo, se for observada correlação negativa será um complicador para o trabalho de melhoramento. Felizmente muitas correlações entre minerais importantes têm sido positivas, como as entre Ca e Mg (QUENZER; HUFFMAN; BURNS, 1978); Fe e Zn (BEEBE et al., 2000); Zn e Ca (GELIN et al., 2007); Ca e Cu e Ca e Mn (SILVA, 2011), indicando a possibilidade de obter também resposta correlacionada em outro mineral com a seleção para um determinado mineral.

# 2.4 Cruzamentos dialélicos no melhoramento de plantas visando à melhoria da qualidade nutricional

Conforme comentado anteriormente, existe grande variabilidade para os diversos minerais constituintes do grão de feijão (BEEBE et al., 2000; SILVA et al., 2010). Contudo, muitas linhagens são não adaptadas e/ou apresentam grãos que estão fora do padrão de aceitação pelos consumidores. Assim, uma opção é utilizar essas linhagens como genitores em programas de hibridação com outras que reúnam características de interesse e, assim, obter populações que sejam promissoras para a obtenção de linhagens que reúnam os caracteres desejados.

A escolha dos genitores é relativamente simples, quando o caráter em questão é de herança qualitativa e de pouca influência do ambiente, realizandose normalmente a hibridação de genitor portador do alelo de interesse com outro de boas características agronômicas. Porém, quando o caráter a ser selecionado é quantitativo, como, ao que tudo indica, ocorre com os constituintes minerais do grão de feijão, espera-se que seja controlado por muitos genes e que a influência do ambiente seja normalmente grande, conforme tem sido observado (BARAMPAMA; SIMARD, 1993; BASSINELLO et al., 2010). Nesse caso, a escolha correta dos genitores não é fácil. É preciso encontrar aqueles que gerem populações segregantes que associem média alta e grande variabilidade para o caráter sob seleção (ABREU; RAMALHO; FERREIRA, 1999).

Só no banco de germoplasma do feijoeiro da UFLA existem quase 1000 entradas. Dessas, 100 já foram avaliadas por Silva et al. (2010) quanto à qualidade nutricional de seus grãos. Se todas essas linhagens fossem cruzadas duas a duas seria possível a obtenção de 4500 combinações, isso sem considerar os cruzamentos recíprocos. Entretanto, o número de populações que podem ser mensuradas é limitado, porque os programas de melhoramento, normalmente possuem número máximo de progênies e/ou parcelas que podem ser trabalhadas por safra. Principalmente no caso onde a característica de interesse se refere à qualidade nutricional, em que as análises de laboratório são dispendiosas, é preciso que sejam identificadas as linhagens mais promissoras e, assim, concentrar os esforços nas populações oriundas do cruzamento entre essas linhagens. Uma maneira eficiente de identificar essas linhagens é avaliar o comportamento das mesmas em cruzamentos dialélicos, que também possibilitam o estudo do controle genético de caracteres de interesse (SILVA et al., 2009).

O termo dialelo tem sido utilizado para todos os casos em que n genitores são cruzados dois a dois. Os tipos de cruzamentos dialélicos variam, entretanto, têm sido mais utilizados (RAMALHO et al., 2012a): i) Dialelos completos ou balanceados: são os dialelos que incluem os híbridos nas geração  $F_1$  ou  $F_2$ , ou qualquer outra geração entre todos os pares de combinações dos

genitores; ii) Dialelos parciais: são assim denominados aqueles dialelos que envolvem dois grupos de genitores (I e J). Tem como vantagem a possibilidade de incluir maior número de genitores; iii) Dialelos circulantes: são incluídos nessa categoria os dialelos em que os genitores são representados nas combinações híbridas em número menor de cruzamentos que nos demais tipos. Por isso, para ser denominado circulante o número de vezes que um genitor participa dos cruzamentos é sempre inferior a *n-1*. iv) Dialelos desbalanceados: são aqueles em que algumas das combinações híbridas programadas não foram obtidas.

Para a análise dos dialelos, vários métodos foram propostos, como os de Gardner e Eberhart (1966), Griffing (1956) e Hayman (1954). O método de Hayman (1954) é particularmente usado, quando os genitores representam uma amostra de uma população, efeito aleatório e deseja-se obter informações a respeito do controle genético do caráter. O de Gardner e Eberhart (1966) é particularmente útil para se obter informações a respeito da heterose. Já o de Griffing (1956) estima a capacidade geral e específica de combinação dos genitores. Esse é o método mais útil, quando o objetivo é a escolha de genitores para obtenção de populações segregantes promissoras, sendo observada uma alta correlação entre o testcross, que nesse caso seria cada linha do dialelo nas primeiras gerações, com as linhagens futuramente obtidas (BERNARDO, 1991; MALIK et al., 2004; WASSIMI; HOSFIELD; UEBERSAX, 1990).

Para a análise dos dialelos completos, ou seja, aquele em que n genitores são cruzados dois a dois, Griffing (1956) propôs quatro métodos, que podem ser utilizados considerando o modelo fixo ou aleatório. O método I inclui todas as combinações n², ou seja, os híbridos, seus recíprocos e os genitores; o método II é semelhante ao anterior não incluindo os recíprocos; o método III inclui os híbridos e seus recíprocos sem os genitores e o método IV apenas as combinações híbridas. Apesar desses métodos de análise terem sido propostos

originalmente para os dialelos completos, podem ser utilizados também para os demais tipos de dialelos e a literatura dispõe de várias informações a respeito (CRUZ; REGAZZI; CARNEIRO, 2004; GERALDI; MIRANDA FILHO, 1988).

As estimativas dos efeitos da capacidade geral de combinação (CGC), obtidas pelo método de Griffing (1956), fornecem informações a respeito das potencialidades do parental em gerar combinações favoráveis. Quanto mais altas forem essas estimativas, positivas ou negativas, determinado parental será considerado superior ou inferior aos demais incluídos no dialelo, e, se próximas a zero, seu comportamento não difere da média geral dos cruzamentos (CRUZ; REGAZZI; CARNEIRO, 2004). Assim é possível selecionar os genitores que, quando cruzados, contribuirão de forma mais eficiente para que se alcance o objetivo proposto. Já a capacidade específica de combinação (CEC) permite identificar as combinações que se mostram relativamente melhores ou piores do que poderia ser esperado com base no desempenho médio dos dois genitores de um referido híbrido (GRIFFING, 1956).

Vencovsky (1987) comenta que, considerando apenas um loco com o gene B, e os alelos B e b, a CGC é função de:

$$CGC = (p_i - \overline{p})[a_B + (1 - 2t)d_B]$$
(1)

em que  $p_i$  é a frequência do alelo favorável na linhagem sendo cruzada; p é a frequência alélica média do alelo favorável no grupo de linhagens, sendo testada;  $a_B$  é o desvio dos homozigotos em relação à média;  $d_B$  o desvio dos heterozigotos em relação à média; t é a frequência do alelo favorável no genitor utilizado como testador dos demais. É comum na literatura mencionar que, quando a CGC é de maior magnitude que a CEC, há predomínio dos efeitos

aditivos no controle do caráter. Entretanto, de acordo com Ramalho et al. (2012a), pela expressão da *CGC* apresentada por Vencovsky (1987), fica claro que essa observação só é válida se a frequência alélica média do testador, ou seja, a frequência alélica média dos genitores for de 0,5. Nesse caso a contribuição dos locos em heterozigose, o *d*, não contribui com a estimativa da *CGC*. Contudo, quando há dominância e a frequência média dos genitores é diferente de 0,5, o que deve ser a maioria dos casos, não é correto inferir que a ocorrência de *CGC* indica predomínio de efeitos aditivos como é frequentemente propalado.

Já, a capacidade específica de combinação (*CEC*), como comentado anteriormente, identifica as combinações que se mostram relativamente melhores ou piores do que poderia ser esperado com base no desempenho médio dos genitores. Ou seja, indica quanto do comportamento do híbrido não pode ser explicado apenas pela *CGC* dos genitores (RAMALHO et al., 2012a). Segundo Vencovsky (1987), a *CEC* pode ser estimada por meio da expressão:

$$CEC = 2\left[\left(\overline{p} - p_i\right)\left(r_i - \overline{r}\right)d\right]$$
(2)

Nessa expressão p e  $p_i$  já foram descritos, o  $r_i$  e r têm o mesmo significado de p e  $p_i$ , somente que se referem a outro genitor. O d é a contribuição dos locos em heterozigose, efeito de dominância. Portanto, a CEC só será diferente de zero quando ocorrer dominância no controle do caráter.

De acordo com Ramalho et al. (2012a), na escolha da população segregante entre aquelas avaliadas do dialelo, a decisão deve ser concentrada nas estimativas da *CGC* e da *CEC*. O ideal é identificar uma população em que os dois genitores apresentem as maiores estimativas de CGC e CEC. Isso porque, quando isso ocorre, a população tem média alta, pois a CGC dos parentais são

associadas à alta frequência dos alelos favoráveis e CEC alta indica que os dois genitores se complementam bem. Ou seja, a população teria grande número de locos em heterozigose e, consequentemente, maior variabilidade genética potencial. Estariam assim associados os dois critérios fundamentais na escolha da população: média alta e maior variância genética possível em  $F_{\infty}$ .

A análise dialélica tem sido útil em programas de melhoramento de diferentes espécies cultivadas, como arroz (PEREIRA; BRESEGHELLO, 2008), aveia (LORENCETTI et al., 2005), feijão (ABREU; RAMALHO; FERREIRA, 1999; MENDES; RAMALHO; ABREU, 2009; RAMALHO; SANTOS; PEREIRA FILHO, 1988; SILVA, 2011), pimentão (GOMIDE; MALUF; GOMES, 2008), soja (CHO; SCOTT, 2000), tomate (AMARAL JÚNIOR et al., 1996), trigo (SOUZA; RAMALHO, 2001). Na maioria dos casos foi utilizada a geração F<sub>1</sub> na análise dialélica. No entanto, em autógamas, onde as hibridações devem ser feitas manualmente, às vezes é difícil obter sementes F<sub>1</sub> suficientes, fazendo-se necessária a utilização de gerações mais avançadas. Tem sido relatado que a análise de F<sub>2</sub> é viável e pode fornecer informações melhores do que as da F<sub>1</sub> (CHO; SCOTT, 2000). No caso do teor de cálcio nos grãos de feijão, em que, conforme já mencionado, há evidências de que existe efeito materno no controle da característica (JOST et al., 2009), a análise dialélica deve ser realizada preferencialmente utilizando sementes F<sub>2</sub>, cujo tegumento será F<sub>1</sub>. Isso porque, se for utilizada a semente F<sub>1</sub>, o tegumento será materno e, portanto, estar-se-á avaliando o embrião híbrido, enquanto o tegumento será do genitor utilizado como fêmea na hibridação. Essa estratégia foi utilizada com sucesso por Silva (2011) na identificação de populações promissoras para a obtenção de linhagens com altos teores de ferro e zinco. Contudo, não se tem relatos da utilização de cruzamentos dialélicos visando à melhoria do teor de cálcio nas sementes de feijão.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido em casa de vegetação e laboratório do Departamento de Biologia e no Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, MG. Lavras está situada a 21°14' de latitude Sul e 45° de longitude Oeste, numa altitude média de 910 m.

Foram utilizadas sete linhagens de feijão, sendo três com grãos tipo carioca e com boas características agronômicas e quatro com alto teor de cálcio, porém com grãos fora do padrão comercial (Tabela 2). As linhagens com alto teor de cálcio foram escolhidas com base na avaliação do teor desse mineral em 100 linhagens do banco de germoplasma de feijão da UFLA, realizada por Silva et al. (2010). Essas linhagens foram semeadas na safra das "águas" 2010/2011 (semeadura em outubro de 2010). Por ocasião do florescimento foram cruzadas no esquema dialélico parcial três x quatro, obtendo-se 12 combinações híbridas. Essas sementes foram utilizadas para condução dos experimentos nas safras da "seca" de 2011 (semeadura em fevereiro) e "águas" 2011/2012 (semeadura em outubro de 2011).

Tabela 2 Linhagens de feijoeiro de diferentes tipos de grãos utilizadas nos cruzamentos dialélicos.

Linhagem/Grupo	Tipo de grão
Grupo 1	
BRSMG Majestoso	Carioca
MA-II-22	Carioca
RP-1	Carioca
Grupo 2	
CNF 05	Vermelho
Emgopa 201 – Ouro	Creme
Safira	Vermelho
Fortuna 1895	Mulatinho

Nos experimentos foram avaliadas as 12 populações obtidas, juntamente com os genitores em casa de vegetação. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com seis repetições e as parcelas constituídas por um vaso com três plantas/vaso. Como adubação foram empregados, na semeadura, 20 g do adubo super fosfato simples, e 7,5 g da formulação 8-28-16 de N, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e K<sub>2</sub>O em cada vaso. Em cobertura foram feitas três adubações a partir do 20º dia, cada uma com 0,74 g de sulfato de amônio. A irrigação dos vasos foi realizada automaticamente por microaspersores de três em três horas por um período de cinco minutos.

Em cada safra as sementes colhidas foram secas em estufa a 65° C até atingirem 13% de umidade, sendo então moídas em micro-moinho, até obter tamanho de partícula inferior a ummm. Posteriormente, as amostras foram armazenadas em sacos de pipoca, impermeáveis, devidamente vedados com fita adesiva, identificados e enviados ao laboratório para que se procedessem às análises.

Para a determinação dos teores de cálcio, realizou-se a digestão nítricaperclórica (HNO3 + HClO4, na proporção 3:1). Os teores foram quantificados em espectrofotômetro de absorção atômica (chama) utilizando-se os procedimentos descritos por Malavolta, Vitti e Oliveira (1997).

Os teores de Ca das populações e dos pais foram submetidos à análise de variância individual e conjunta, considerando o delineamento inteiramente casualizado com seis repetições, com o auxilio do programa estatístico SAS, versão 9.0 da Statistical Analysis Systems Institute - SAS Institute (2008). Para que fossem atendidos todos os pressupostos da análise de variância, os dados foram transformados, utilizando-se a seguinte expressão, sugerida por Box e Cox (1964):

$$y' = \frac{y^{\lambda - 1}}{\lambda} + 5 \tag{3}$$

A constante foi adicionada para tornar todos os valores positivos. A transformação foi feita com o auxilio do programa estatístico R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2011). As médias foram comparadas pelo teste de agrupamento de médias Scott e Knott (1974) empregando o software Genes (CRUZ, 2006). Posteriormente, estimou-se a acurácia seletiva por meio da metodologia apresentada por Resende e Duarte (2007).

A interação das populações e genitores por safras foi desdobrada em parte simples e complexa, pela seguinte expressão apresentada por Ramalho et al. (2012a):

$$V_{LA} = \frac{1}{2} \left( \sqrt{V_{L_1}} - \sqrt{V_{L_2}} \right)^2 + \left( 1 - r_{G_{12}} \right) \sqrt{V_{L_1} V_{L_2}}$$
(4)

em que:  $V_{LA} = \frac{1}{2} \left( \sqrt{V_{L_1}} - \sqrt{V_{L_2}} \right)^2$  corresponde à parte simples da

interação; e  $(1-r_{G_{12}})\sqrt{V_{L_1}V_{L_2}}$  refere-se à parte complexa da interação, sendo  $r_{G_{12}}$  a correlação genética entre tratamentos nas safras da "seca" e das "águas".

Utilizando os dados médios do teor de cálcio de cada população foi realizada a análise dialélica individual e conjunta considerando as duas safras. Para tanto foi utilizado o método IV de Griffing (1956), que considera apenas os híbridos sem os genitores, e o seguinte modelo apresentado por Ferreira, Rezende e Ramalho (1993), adaptado para o dialelo parcial, conforme realizado por Abreu, Ramalho e Ferreira (1999):

$$Y_{ijk} = m + a_k + g_i + g_j + s_{ij} + (ag)_{ik} + (ag)_{jk} + (as)_{ijk} + e_{ijk}$$
 (5)

em que:

 $Y_{ijk}$ : é a média da população proveniente do cruzamento da i-ésima linhagem do grupo um (i= 1, 2, 3) com a j-ésima linhagem do grupo dois (j= 1, 2, 3, 4) na k-ésima safra (k = 1, 2);

m: é a média das populações considerando todos os ambientes;

a<sub>k</sub>: é o efeito da k-ésima safra;

 $g_i$  e  $g_j$ : é a capacidade geral de combinação da i-ésima e j-ésima linhagem do grupo um e dois, respectivamente;

 $s_{ij}$ : é a capacidade específica de combinação entre a i-ésima linhagem do grupo um e j-ésima linhagem do grupo dois;

e<sub>ijk</sub>: é o erro associado a Y<sub>ijk</sub>.

Os demais parâmetros correspondem às interações com as safras.

### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tem sido verificado que até 81% do cálcio contido na semente de feijão se concentra no tegumento (BURATTO, 2012; LOMBARDI-BOCCIA et al., 1998; MORAGHAN; ETCHEVERS; PADILHA, 2006; SINGH; SINGH; SIKKA, 1968). Como o tegumento, que é tecido materno, e o embrião e cotilédone, que são produtos de cruzamento, estão em gerações diferentes, optou-se por ter como referência a geração do tegumento para avaliação do teor de cálcio nos grãos. Assim, como foram colhidos grãos de plantas F<sub>1</sub>, a geração do tegumento é F<sub>1</sub>. Poder-se-ia argumentar que o restante do cálcio, que está no embrião e/ou cotilédone poderia alterar os resultados. Contudo, a média utilizada na análise dialélica envolveu no mínimo 1200 grãos, ou seja, 18 plantas/tratamento com aproximadamente 65 grãos/planta. Nessa condição, provavelmente não ocorre variação dentro da geração F<sub>2</sub>, ou seja, a amostra é representativa.

O efeito de maior magnitude na análise de variância foi o de safras, que foi altamente significativo pelo teste F (P=0,000) (Tabela 3), sendo o teor médio de cálcio na safra da "seca" 2,6 vezes superior ao obtido na safra das "águas" (Tabela 4). É evidente que as condições ambientais entre as safras variam bastante. Apesar de o presente trabalho ter sido conduzido em casa de vegetação

visando tornar o ambiente mais homogêneo, é importante mencionar que a cobertura de telado não impedia a passagem de água proveniente da chuva. Além do mais a temperatura e umidade relativa do ar na safra das "águas" são superiores às da safra da "seca". A forte influência da safra foi verificada também em outros minerais, como por exemplo, nos teores de ferro e zinco (SILVA, 2011).

Tabela 3 Resumo da análise de variância conjunta do teor de cálcio (g 100 g<sup>-1</sup>), obtido na avaliação de 12 populações de feijoeiro e seus genitores nas safras da "seca" e "águas" de 2011 em Lavras, MG.

genitores na	is samas da	seca e aguas de 2011		
		Conji	Conjunta	
FV	GL	QM	P	
Tratamentos (Trat)	18	0,2559	0,000	
Populações F <sub>1</sub>	11	0,3649	0,000	
Pais	6	0,0933	0,023	
Grupo 1 (G1)	2	0,1189	0,099	
Grupo 2 (G2)	3	0,0541	0,363	
G1 vs G2	1	0,1596	0,078	
Pais vs F <sub>1</sub>	1	0,0325	0,423	
Safras (S)	1	42,458	0,000	
Trat x S	18	0,1599	0,000	
$F_1 \times S$	11	0,1911	0,000	
Pais x S	6	0,1073	0,054	
G1 x S	2	0,2147	0,098	
G2 x S	3	0,0563	0,362	
G1 vs G2 x S	1	0,0428	0,358	
Pais vs $F_1$ x S	1	0,1139	0,135	
Erro	131	0,0504		
Média F <sub>1</sub>		0,2595		
Média pais G1		0,2300		
Média pais G2		0,2491		
Acurácia		0,90		

Tabela 4 Teor médio de cálcio (g 100 g<sup>-1</sup>), obtido na avaliação de 12 populações de feijoeiro e seus genitores nas safras da "seca" e "águas" de 2011 em Lavras, MG.

		Safra		
Genitores/populações	Seca		1	Águas
Majestoso	0,3333	b	0,1067	e
RP-1	0,3967	b	0,1433	b
MAII-22	0,2500	c	0,1500	b
CNF05	0,3700	b	0,1533	b
Emgopa 201 – Ouro	0,3667	b	0,1500	b
Safira	0,2833	c	0,1700	b
Fortuna	0,3400	b	0,1567	b
Majestoso x CNF05	0,4510	a	0,1113	e
Majestoso x Ouro	0,3005	c	0,1175	d
Majestoso x Safira	0,3574	b	0,1374	c
Majestoso x Fortuna	0,2837	c	0,1048	e
RP-1 x CNF05	0,4558	a	0,2023	a
RP-1 x Ouro	0,4353	a	0,1279	c
RP-1 x Safira	0,4324	a	0,1961	a
RP-1 x Fortuna	0,3239	c	0,1548	b
MAII-22 x CNF05	0,3781	b	0,1474	b
MAII-22 x Ouro	0,3833	b	0,1172	d
MAII-22 x Safira	0,4048	b	0,1531	b
MAII-22 x Fortuna	0,2948	c	0,1824	a
Média	0,3744		0,1464	

Houve diferença significativa entre os genitores (P=0,023) (Tabela 3). Quando foi feito o desdobramento da soma de quadrados dos genitores nos grupos um e dois, verificou-se diferença significativa apenas entre os genitores do grupo um (P=0,099), ou seja, aqueles que foram incluídos no dialelo por possuírem grãos tipo carioca e boas características agronômicas, independente do teor de cálcio, indicando que entre os pais do grupo carioca pode-se escolher algum com maior teor que os demais. Destaque deve ser dado para o contraste entre os genitores dos grupos um e dois, em que o teor médio de cálcio das

linhagens do grupo dois foi superior ao do grupo um (P≤0,08), resultado esse favorável para esse tipo de trabalho, onde se espera que os alelos presentes nos genitores sejam diferentes para que seja possível obter ganhos com seleção. Essa diferença observada era esperada, já que os genitores do grupo dois foram utilizados nos cruzamentos dialélicos pelo alto teor de cálcio nas avaliações realizadas por Silva et al. (2012), confirmando os resultados obtidos por esses autores.

Foi constatada também diferença significativa entre as populações  $F_1$  (P=0,000), mostrando que as combinações híbridas apresentam diferentes teores de cálcio (Tabela 3). Outro resultado importante é o contraste entre Pais e  $F_1$ . Como ele foi não significativo (P $\leq$ 0,43), ou seja, a média dos pais não foi estatisticamente diferente da média dos híbridos, indica predominância de efeitos aditivos no controle do caráter (RAMALHO et al., 2012b), o que facilita a seleção precoce, pois é possível separar os homozigotos dos heterozigotos.

Também foi verificada interação significativa dos tratamentos por safras, evidenciando o efeito diferenciado do ambiente sobre o teor de cálcio das diferentes linhagens, conforme também tem sido verificado por outros autores (BARAMPAMA; SIMARD, 1993; QUENZER; HUFFMAN; BURNS, 1978; QUINTANA, 1999; ZACHARIAS et al., 2012). O desdobramento da interação em suas partes simples e complexa mostrou que ela foi predominantemente complexa (74%). Em princípio pode-se dizer que essa é uma condição desfavorável para a seleção, pois altera a classificação dos tratamentos nos diferentes ambientes (RAMALHO et al., 2012a). Contudo, a interação safras x genitores do grupo dois foi não significativa (P=0,362) (Tabela 3), confirmando a boa qualidade nutricional dessas linhagens quanto a esse mineral, independente do ambiente. Esses resultados podem ser confirmados na tabela 4, onde se verifica que os teores de cálcio dos genitores do grupo dois se mantiveram praticamente no mesmo agrupamento pelo teste de Scott e Knott

(1974) nas duas safras. Já no caso das combinações híbridas a interação por safras foi significativa, evidenciada pela mudança no ranqueamento das médias de uma safra para outra (Tabela 4).

Na análise dialélica foi constatado efeito significativo (P≤0,05) da capacidade geral de combinação (CGC) dos genitores do grupo um e grupo dois, comprovando que os pais dos dois grupos diferem quanto às frequências de alelos favoráveis para o teor de cálcio (Tabela 5). No caso de dialelos parciais, a CGC é indicativa da divergência genética existente entre genitores de um mesmo grupo. Isso se deve ao fato da CGC ser estimada por meio da comparação da frequência alélica do genitor de um grupo com a frequência alélica de todos os genitores pertencentes ao grupo oposto (PIMENTEL, 2010). Pela análise dialélica também foi possível confirmar a predominância dos efeitos aditivos no controle do teor de cálcio, pois a proporção da soma de quadrados explicada pelas CGC dos grupos um e dois (R²) foi de 89,4%, enquanto a CEC explicou apenas 10,6% (Tabela 5).

Tabela 5 Resumo da análise dialélica parcial conjunta do teor de cálcio (g 100 g¹), obtido na avaliação de 12 populações de feijoeiro nas safras da "seca" e "águas" de 2011 em Lavras - MG.

FV	GL	QM	$\mathbb{R}^2$	
Safras	1	33,8799**		
Populações F <sub>1</sub>	11	0,3436**		
CGC I	2	1,0399**	55,0	
CGC II	3	0,4332**	34,4	
CEC	6	0,0667ns	10,6	
F <sub>1</sub> x Safras (S)	11	0,1839**		
CGC I x S	2	0,1699*		
CGC II x S	3	0,2308**		
CEC x S	6	0,1651**		
Erro	105	0,0554		

<sup>\*</sup> e \*\*: significativo pelo teste F ao nível de 5 e 1% e probabilidade, respectivamente.

Considerando que os pais eram divergentes e que a contribuição de cada loco é a mesma, a não significância da CEC também confirma a predominância de efeito aditivo (RAMALHO et al., 2012a). Ou seja, os efeitos não aditivos, dominância ou epistasia, na expressão do caráter teor de cálcio não são de grande importância, haja vista que a CEC é dependente da divergência genética e da dominância (CRUZ; REGAZZI; CARNEIRO, 2004; LORENCETTI et al., 2005). Quando o efeito da CEC é significativo, quanto maior a capacidade específica de uma determinada combinação (s<sub>ii</sub>), maior a frequência de locos em heterozigose na população considerada, ou seja, é possível obter maior variabilidade de tal população (RAMALHO et al., 2012a). O ideal é identificar uma população em que os dois genitores apresentem as maiores estimativas de capacidade geral de combinação e alta capacidade específica de combinação. Isto porque, quando isto ocorre, a população tem média alta, pois os g's dos parentais são associados à alta frequência dos alelos favoráveis e os dois genitores se complementam bem, associando dessa forma, média alta e variabilidade. O ideal é que, dentro do possível, sejam realizados cruzamentos apenas entre bons genitores, conforme enfatizado por diversos melhoristas (DUDLEY, 1997; RAMALHO et al., 2012a; RASMUSSON; PHILLIPS, 1997). No presente trabalho, apesar dos genitores terem diferido quanto ao teor de cálcio (Tabela 3), os genitores do grupo um não foram escolhidos por serem divergentes quanto ao teor de cálcio em relação aos genitores do grupo dois, conforme já enfatizado, mas sim, por apresentarem grãos tipo carioca e outras características agronômicas de interesse. Sendo assim alguns deles também podem contribuir para elevar o teor de cálcio das populações em que participarem como genitores. Esse fato é realçado quando se observa a média do teor de cálcio da cultivar RP-1, do grupo um, que foi equiparável a dos genitores com alto teor do nutriente (Tabela 4).

Diante do exposto fica claro que, para identificação das combinações promissoras entre as linhagens genitoras aqui empregadas, visando à obtenção de progênies que reúnam grãos tipo carioca e alto teor de cálcio, a informação de interesse se refere à capacidade geral de combinação das linhagens (g<sub>i</sub>). As estimativas de gi são apresentadas na tabela 6. Como a interação tratamentos x safras foi predominantemente complexa, optou-se por apresentar as estimativas de capacidade geral de combinação por safra. Observa-se que, entre as linhagens de grãos tipo carioca (grupo um), a RP-1 é a mais promissora, pois apresentou a maior estimativa de capacidade geral de combinação nas duas safras, indicando que foi a que apresentou o melhor desempenho nas combinações híbridas de que participou. O grupo dois teve como destaque os genitores Safira e CNF-05. Observa-se também o bom desempenho "per se" dos três genitores (Tabela 4), indicando que possuem frequência de alelos favoráveis acima da média e que seus desempenhos não foram afetados pelo ambiente. Deduz-se então que, mesmo a interação tendo sido predominantemente do tipo complexa, não dificultou a identificação das melhores e piores linhagens quanto a capacidades de combinação.

Tabela 6 Estimativas da capacidade geral  $(g_i)$  e específica  $(s_{ij})$  de combinação e respectivos desvios-padrão (DP) para o teor de cálcio  $(g\ 100\ g^{-1})$ , obtidas na avaliação de 12 populações de feijoeiro, oriundas da hibridação entre três linhagens de grãos tipo carioca  $(grupo\ um)$  e quatro com alto teor de cálcio  $(grupo\ dois)$ , nas safras da "seca" e "águas" de 2011 em Lavras, MG.

	"Seca" <sup>1</sup>			
Genitor	BRSMG Majestoso	RP-1	MAII-22	g <sub>i</sub> grupo 2
CNF-05	0.151	-0.022	-0.129	0,147
Emgopa 201	10.137	0.057	0.080	-0,011
Ouro				
Safira	-0.038	-0.005	0.043	0,076
Fortuna	0.024	-0.030	0.006	-0,212
g <sub>i</sub> grupo 1	-0,087	0,125	-0,038	

TC 1 1 /	. •	~
Tabela 6.	COnfini	1222
i abcia o.	. COIILIIIL	iacao

Tubera o, commi	3			
	"Águas" <sup>2</sup>			_
Genitor	BRSMG	RP-1	MAII-22	g <sub>i</sub> grupo
	Majestoso			2
CNF-05	-0.105	0.164	-0.059	0,051
Emgopa 201 -	0.194	-0.113	-0.081	-0,184
Ouro				
Safira	0.046	0.046	-0.092	0,133
Fortuna	-0.135	-0.097	0.232	0,001
g <sub>i</sub> grupo 1	-0,233	0,184	0,049	

<sup>1</sup>Grupo 1: DP ( $g_i$ )= 0,050; DP ( $g_i$  -  $g_{i'}$ )= 0,086; G ( $g_{i'}$ )=0,100

Grupo 2: DP  $(g_i)$ =0,061; DP  $(g_i$  -

 $DP(s_{ii})=0.037$ ; DP(Sij-Sik)=0.061; DP(Sij-Skj)=0.064; DP(Sij-Skl)=0.048

<sup>2</sup>Grupo 1: DP ( $g_i$ )= 0,032; DP ( $g_i$  -  $g_i$ )= 0,056; Grupo 2: DP ( $g_i$ )=0,040; DP ( $g_i$  -  $g_i$ )=0,065

 $DP(s_{ii}) = 0.024 DP(Sij-Sik) = 0.039; DP(Sij-Skj) = 0.042; DP(Sij-Skl) = 0.031$ 

O bom desempenho dos genitores RP-1, Safira e CNF-05 em combinações híbridas pode ser confirmado pelas médias do teor de cálcio apresentadas na tabela quatro. As duas populações com maior média nas duas safras e na média das safras são provenientes do cruzamento entre o genitor RP-1 com as linhagens Safira e CNF-05. Portanto, é esperado que dessas populações possam ser obtidas linhagens que apresentem alto teor de cálcio. É importante mencionar que a linhagem RP-1, além de apresentar grãos tipo carioca, destacou-se nas avaliações realizadas em Minas Gerais também para a produtividade de grãos e, principalmente, arquitetura ereta da planta (ABREU et al., 2011) estando em processo de registro para cultivo no estado. Sendo assim, os resultados aqui obtidos são bastante promissores, pois se antevê a possibilidade de reunir mais um fenótipo desejável, que é o alto teor de cálcio, aos já apresentados pela linhagem RP-1.

## **5 CONCLUSÕES**

A RP-1 é uma linhagem que apresenta alto teor de cálcio, além de possuir grãos tipo carioca, porte ereto com boa produtividade de grãos.

Para incrementar ainda mais o teor de cálcio da linhagem RP-1 a melhor opção é o cruzamento com as linhagens CNF-05 e Safira.

Embora tenha ocorrido interação populações x safras, ela não interferiu na identificação das melhores ou piores populações para alto teor de cálcio.

## REFERÊNCIAS

- ABBO, S. et al. Genetic control of seed weight and calcium concentration in chickpea seed. **Plant Breeding**, Berlin, v. 119, n. 5, p. 427-431, Oct. 2000.
- **ABREU, A. de F. B.** et al. Valor de cultivo e uso de feijoeiro comum de grãos tipo carioca em Minas Gerais no período de 2007 a 2009. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 6., 2011, Búzios. **Anais...** Campos: SBMP-UENF, 2011. 1 CD-ROM.
- ABREU, A. de F. B.; RAMALHO, M. A. P.; FERREIRA, D. F. Selection potential for seed yield from intra and inter-racial populations in common bean. **Euphytica**, Wageningen, v. 108, n. 1, p. 121-127, Apr. 1999.
- ACOSTA-GALLEGOS, J. Protein and mineral content of a novel collection of wild and weedy common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 1881, p. 1874-1881, Nov. 2000.
- AKESTRO, M. G. et al. Westin G. Parathyroid glands in calcium regulation and human disease. **Annals of the New York Academy Science**, New York, n. 1040, p. 53-58, 2005.
- AKOND, A. S. M. G. M. et al. Minerals (Zn, Fe, Ca and Mg) and antinutrient (Phytic Acid) constituents in common bean. **American Journal of Food Technology**, New York, v. 6, n. 3, p. 235-243, July 2011.
- AMARAL JÚNIOR, A. T. et al. Análise dialélica da capacidade combinatória de cultivares de tomateiro. **Bragantia**, Campinas, v. 55, n. 1, p. 67-73, 1996.
- ANDERSON, J. J. B. Minerais. In: MAHAN, L. R.; SCOTT-STUMP, S. (Ed.). **Krause alimentos, nutrição & dietoterapia**. São Paulo: Roca, 2002. p. 106-145.

- ANTUNES, I. F.; SILVEIRA, E. P.; SILVA, H. T. Novas cultivares BRS Expedito: nova cultivar de feijão de grãos pretos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 1, p. 135-136, jan. 2007.
- ANTUNES, P. L. et al. Valor nutricional de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), cultivares Rico 23, Carioca, Piratã-1 e Rosinha-G2. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 1, n. 1, p. 12-18, jan. 1995.
- ARIZA-NIETO, M. et al. Screening of iron bioavaliability patterns in eight bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes using the Caco-2 cell in vitro model. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 55, n. 19, p. 7950-7956, Oct. 2007.
- BAIRD, G. S. Ionized calcium. **Clinica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 412, n. 9/10, p. 696-701, 2011.
- BARAMPAMA, Z.; SIMARD, R. E. Nutrient composition, protein quality and antinutritional factors of some varieties of dry beans (*Phaseolus vulgaris*) grown in Burundi. **Food Chemistry**, London, v. 47, n. 1, p. 159-167, Feb. 1993.
- BARNABAS, A. D.; ARNOTT, H. J. Calcium oxalate crystal formation in the bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seed coat. **Botanical Gazette**, Chicago, v. 151, n. 3, p. 331-341, Sept. 1990.
- BASSINELLO, P. Z. et al. Characterization of cookies formulated with rice and black bean extruded flours. **Procedia Food Science**, New York, v. 1, n. 1, p. 1645-1652, 2011.
- \_\_\_\_\_. Effect of the environment on zinc and iron levels in common beans. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 53, p. 146-147, 2010.
- BEEBE, S. et al. Research on trace minerals in the common bean. **Food and Nutrition Bulletin**, Boston, v. 21, n. 4, p. 387-391, Aug. 2000.

- BENINGER, C. W.; HOSFIELD, G. L. Antioxidant activity of extracts, condensed tannin fractions, and pure flavonoids from *Phaseolus vulgaris* L. seed coat color genotypes. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, Michigan, v. 51, n. 12, p. 7879-7883, Dec. 2003.
- BERNARDO, R. Correlation between testcross performance of lines at early and late selfing generations. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 82, n. 1, p. 17-21, Jan. 1991.
- BLAIR, M. W. et al. Inheritance of seed iron and zinc concentrations in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Molecular Breeding**, Dordrecht, v. 23, n. 2, p. 197-207, Oct. 2009.
- BOESEWINKEL, F. D.; BOUMAN, F. The seed: structure and function. In: KIGEL, J.; GALILI, G. (Ed.). **Seed development and germination**. New York: M. Dekker, 1995. p. 1-44.
- BOUIS, H. E. Micronutrient fortification of plants through plant breeding: can it improve nutrition in man at low cost? **Proceedings of the Nutrition Society**, Cambridge, v. 62, n. 1, p. 403-411, Jan. 2003.
- BOX, G. E. P.; COX, D. R. An analysis of transformations. **Journal of the Royal Statistical Society, Series B**, London, v. 26, p. 211-252, 1964.
- BRESSANI, R. Research needs to up-grade the nutritional quality of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Qualitas Plantarum Plant Foods for Human Nutrition**, Wageningen, v. 32, n. 3, p. 101-110, July 1983.
- BROUGHTON, W. J. et al. Beans (*Phaseolus* spp): model food legumes. **Plant and Soil**, The Hague, v. 252, n. 1, p. 55-128, 2003.
- BRYANT, R. J.; CADOGAN, J.; WEAVER, C. M. The new dietary reference intakes for calcium: implications for osteoporosis. **Journal of the American College of Nutrition**, New York, v. 18, n. 5, p. 406-412, Sept. 1999.

- BURATTO, J. S. Estimativas de parâmetros genéticos e potencial de ganhos na seleção para teores de minerais em sementes de feijão. Lavras: UFLA, 2012. 166 p.
- CHIARADIA, A. C. N.; GOMES, J. C. **Feijão:** química, nutrição e tecnologia. Viçosa, MG: Fundação Artur Bernardes, 1997. 180 p.
- CHO, Y.; SCOTT, R. A. Combining ability of seed vigor and seed yield in soybean. **Euphytica**, Wageningen, v. 112, n. 2, p. 145-150, Apr. 2000.
- CICHY, K. A. et al. Inheritance of seed zinc accumulation in navy bean. **Crop Science**, Madison, v. 45, n. 3, p. 864-870, Mar. 2005.
- COSTA, N. M. B.; LIBERATO, S. C. Biotecnologia na nutrição e saúde. In: COSTA, N. M. B.; BORÉM, A. (Ed.). **Biotecnologia e nutrição:** saiba como o DNA pode enriquecer os alimentos. São Paulo: Nobel, 2003. p. 71-127.
- CRUZ, C. D. **Programa Genes:** estatística experimental e matrizes. Viçosa, MG: UFV, 2006. 285 p.
- CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos** aplicados ao melhoramento genético. 3. ed. Viçosa, MG: UFV, 2004. v. 1, 480 p.
- CURHAN, G. C. et al. A prospective study of dietary calcium and other nutrients and the risk of symptomatic kidney stones. **New England Journal of Medicine**, Waltham, v. 328, n. 12, p. 833-838, Mar. 1993.
- DAVIES, K. M. Calcium intake and body weight. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, Stanford, v. 85, n. 12, p. 4635-4638, Dec. 2000.
- DEBOUCK, D. G. Systematics and morphology. In: SCHOONHOVEN, A. van; VOYSEST, O. (Ed.). **Common beans:** research for crop improvement. Cali: CIAT, 1991. p. 55-118.
- DUDLEY, J. W. Quantitative genetics and plant breeding. **Advances in Agronomy**, New York, v. 59, n. 1, p. 1-23, Feb. 1997.

ESTEVES, A. M. Comparação química e enzimática de seis linhagens de feijão. 2000. 55 p. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2000.

EUROPEAN COMMISSION. **Food, agriculture & fisheries & biotechnology**. Luxembourg, 2010. 24 p.

FERREIRA, D. F.; REZENDE, G. D. S. P.; RAMALHO, M. A. P. An adaptation of Griffing's method IV of complete diallel cross analysis for experiments repeated in several environments. **Brazilian Journal of Genetics**, Ribeirão Preto, v. 16, n. 1, p. 357-366, Jan./Feb. 1993.

FOOD SCIENCE AND POST-HARVEST TECHNOLOGY. **Research strategy**. Addis Ababa: Ethiopian Agricultural Research Organization, 2001. 26 p.

FRANCO, G. **Tabela de composição química dos alimentos**. 9. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 1999. 307 p.

FRAZÃO, P.; NAVEIRA, M. Prevalência de osteoporose: uma revisão crítica. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, São Paulo, v. 9, n. 2, p. 206-214, jun. 2006.

FROSSARD, E. et al. Potential for increasing the content and bioavailability of Fe, Zn and Ca in plants for human nutrition. **Journal of Science and Food Agriculture**, London, v. 80, n. 7, p. 861-879, Dec. 2000.

GARDNER, C. O.; EBERHART, S. A. Analysis and interpretation of the variety cross diallel and related populations. **Biometrics**, Raleigh, v. 22, p. 439-452, 1966.

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

- GELIN, J. R. et al. 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, Apr. 2007.
- GERALDI, I. O.; MIRANDA FILHO, J. B. Adapted models for the analysis of combining ability of varieties in partial diallel crosses. **Brazilian Journal of Genetics**, Ribeirão Preto, v. 2, p. 419-430, 1988.
- GOMIDE, M. L.; MALUF, W. R.; GOMES, L. A. A. Capacidade de combinação de linhagens elite de pimentão (*Capsicum annuum* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 3, p. 740-748, maio/jun. 2008.
- GOODMAN, M. T. et al. Association of dairy products, lactose, and calcium with the risk of ovarian cancer. **American Journal of Epidemiology**, Oxford, v. 156, n. 1, p. 148-157, Jan. 2002.
- GRAHAM, R. D.; WELCH, R. M. **Breeding for staple food crops with high micronutrient density**. Washington: International Food Policy Research Institute, 1996. 79 p.
- GRIFFING, B. Concept of general and specific combining ability in relation to diallell crossing systems. **Australian Journal of Biological Science**, Melbourne, v. 9, n. 3, p. 463-493, 1956.
- GRIFFITH, L. E. et al. The influence of dietary and nondietary calcium supplementation on blood pressure: an updated metaanalysis of randomized con-trolled trials. **American Journal of Hypertension**, New York, v. 12, n. 1, p. 84-92, Mar. 1999.
- GUÉGUEN, L.; POINTILLART, A. The bioavailability of dietary calcium. **Journal of the American College of Nutrition**, New York, v. 19, n. 2, p. 119-136, Apr. 2000.
- GUZMÁN-MALDONADO, S. H. et al. Protein and mineral content of a novel collection of wild and weedy common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 80, n. 13, p. 1874-1881, Oct. 2000.

HARO, M. I. et al. Chemical composition, dietary fiber and mineral content of frequently consumed foods in northwest Mexico. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, Caracas, v. 45, n. 2, p. 145-150, 1995.

HAYMAN, B. I. The analysis of variance of diallel tables. **Biometrics**, Raleigh, v. 10, p. 235-244, 1954.

HEANEY, R. P. Calcium, dairy products and osteoporosis. **Journal of the American College of Nutrition**, New York, v. 19, n. 2, p. 83S-99S, 2000. Supplement.

\_\_\_\_\_. Calcium intake and disease prevention. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, São Paulo, v. 50, n. 4, p. 685-693, dez. 2006.

HOLT, P. R. Dairy foods and prevention of colon cancer: human studies. **Journal of the American College of Nutrition**, New York, v. 18, n. 5, p. 379S-391S, 1999. Supplement.

HOSFIELD, G. L. Genetic control of production and food quality factors in dry bean. **Food Technology**, Oxford, v. 45, n. 1, p. 98-103, June 1991.

JOST, E. et al. Composição de macronutrientes em grãos de cultivares de feijão. In: REUNIÃO SULBRASILEIRA DE FEIJÃO, 8., 2006, Londrina. **Anais...** Londrina: IAPAR, 2006. p. 199-201.

\_\_\_\_\_. Efeitos gênicos do teor de cálcio em grãos de feijão. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 1, p. 31-37, jan./fev. 2009.

KOEHLER, H. H. et al. Nutrient composition, protein quality, and sensory properties of thirty six cultivars of dry beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of Food Science**, Chicago, v. 52, n. 5, p. 1335-1340, Sept. 1987.

LANZILLOTTI, H. S. Osteoporose em mulheres na pós-menopausa, cálcio dietético e outros fatores de risco. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 16, n. 2, p. 181-193, jun. 2003.

- LOMBARDI-BOCCIA, G. et al. Dialysable, soluble and fermentable calcium from beans (*Phaseolus vulgaris* L.) as model for in vitro assessment of the potential calcium availability. **Food Chemistry**, London, v. 61, n. 1/2, p. 167-172, June 1998.
- LONDERO, P. M. G. et al. Herdabilidade dos teores de fibra alimentar e rendimento de grãos em populações de feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n. 1, p. 51-58, jan. 2006.
- LORENCETTI, C. et al. Capacidade combinatória e heterose em cruzamento dialélico de aveia (*Avena sativa* L.). **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 11, n. 2, p. 143-148, abr./jun. 2005.
- MACKOWIAK, E. D. Calcium: an essential mineral. **Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine**, Thousand Oaks, v. 17, n. 1, p. 4-8, Jan. 2011.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, A. S. **Avaliação do estado nutricional das plantas:** princípios e aplicações. Piracicaba: FEALQ, 1997. 319 p.
- MALDONADO, S.; SAMMÁM, N. Composición química y contenido de minerales de leguminosas y cereales producidos em el noroeste argentino. **Archivos Latino Americanos de Nutrición**, Caracas, v. 50, n. 2, p. 195-199, feb. 2000.
- MALIK, S. I. General and specific combining ability studies in maize diallel crosses. **International Journal of Agriculture & Biology**, Faisalabad, v. 6, n. 5, p. 856-859, 2004.
- MATOS, J. W.; RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B. Trinta e dois anos de melhoramento genético do feijoeiro comum em Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 6, p. 1749-1754, nov./dez. 2007.

MEINERS, C. R. et al. The content of nine mineral elements in raw and cooked mature dry legumes. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Easton, v. 24, p. 1126-1130, 1976.

MENDES, F. F.; RAMALHO, M. A. P.; ABREU, Â. F. B. Eficiência do sistema de nove covas na seleção de progênies de feijoeiro tipo carioca para arquitetura ereta. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 46, n. 9, p. 1029-1034, set. 2011.

\_\_\_\_\_. Índice de seleção para escolha de populações segregantes de feijoeiro-comum. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 10, p. 1312-1318, out. 2009.

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

MESQUITA, I. A. **Efeito materno na determinação do tamanho da semente do feijoeiro** (*Phaseolus vulgaris* L.). 1989. 70 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1989.

MIGLIORANZA, E. et al. Teor de cálcio em frutos de diferentes cultivares de feijão-vagem. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 2, p. 158-161, abr./jun. 2003.

MORAGHAN, J. T.; ETCHEVERS, J. D.; PADILHA, J. Contrating accumulations of calcium and magnesium in seed coats and embryos of common bean and soybean. **Food Chemistry**, London, v. 95, n. 4, p. 554-561, Aug. 2006.

MORAGHAN, J. T.; GRAFTON, K. Accumulation of calcium in bean cultivars differing in seed size. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 74, n. 2, p. 251-256, June 1997.

\_\_\_\_\_\_. Distribution of selected elements between the seed coat and embryo of two black bean cultivars. **Journal of Plant Nutrition**, Monticello, v. 25, n. 1, p. 169-176, Oct. 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, Mar. 2001.

MORROW, B. The rebirth of legumes. **Food Technology**, Oxford, v. 45, n. 1, p. 96-121, Mar. 1991.

MOURA, A. C. de C. Análises físico-químicas e enzimáticas antes e após armazenamento em grãos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) submetidos a diferentes tempos e tipos de secagem. 1998. 70 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1998.

NATIONAL INSTITUTE HEALTH. Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. **NIH Concensus Statement**, Washington, v. 17, p. 1-36, 2000.

NICKLAS, T. A. Calcium intake trends and health consequences from childhood through adulthood. **Journal of the American College of Nutrition**, New York, v. 22, n. 5, p. 340-356, Oct. 2003.

NÚCLEO DE ESTUDOS E PESQUISA EM ALIMENTAÇÃO. **Tabela brasileira de composição de alimentos**. Versão 2. São Paulo: NEPA/UNICAMP, 2011. 161 p.

OLIVEIRA, J. E. D. de. O feijão na alimentação/nutrição do brasileiro: ontem e amanhã. In: CONGRESSO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 8., 2005, Goiânia. **Anais...** Goiânia: CONAFE, 2005. 1 CD-ROM.

OSBORN, T. C. Genetic control of bean seed protein. **CRC Critical Reviews in Plant Science**, Cleveland, v. 7, n. 1, p. 93-116, 1988.

- PALTA, J. P. Role of calcium in plant responses to stresses: linking basic research to the solution of practical problems. In: WISNIEWSKI, M. (Ed.). **Recent advances in plant responses to stress:** bridging the gap between science and technology. London: Horticultural Science, 1996. p. 51-57.
- PENNINGTON, J. **Bowers & Church's food values of portions commonly used**. 17<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincott, 1998. 481 p.
- PEREIRA, J. A.; MORAIS, O. P.; BRESEGHELLO, F. Análise da heterose de cruzamentos entre variedades de arroz-vermelho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 9, p. 1135-1142, set. 2008.
- PIMENTEL, A. J. B. **Seleção de genitores e predição do potencial genético de populações segregantes de trigo**. Viçosa, MG: UFV, 2010. 34 p.
- PINHEIRO, C. et al. Diversity of seed mineral composition of *Phaseolus vulgaris* L. germplasm. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 23, n. 4, p. 319-325, June 2010.
- PIRES, C. V. et al. Physicochemical composition of different cultivars of beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 16, n. 2, p. 157-162, abr./jun. 2005.
- PROLLA, I. R. D. Características físico-químicas de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* l.), e efeitos biológicos da fração fibra solúvel. 2006. 113 p. Dissertação (Mestrado em Bioquímica Toxicológica) Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2006.
- QUENZER, N. M.; HUFFMAN, V. L.; BURNS, E. E. Some factors affecting pinto bean quality. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 43, p. 1059-1061, 1978.
- QUINTANA, J. M. et al. Comparison of pod calcium concentration between two snap bean populations. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 124, n. 3, p. 273-276, 1999.

QUINTANA, J. M. et al. Variation in calcium concentration among sixty S 1 families and four cultivars of snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 19, n. 5, p. 789-793, 1996.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R:** a language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2011. Disponível em: <a href="http://www.R-project.org/">http://www.R-project.org/</a>>. Acesso em: 10 nov. 2011.

RAMALHO, M. A. P. et al. **Aplicações da genética quantitativa no melhoramento de plantas autógamas**. Lavras: UFLA, 2012a. 522 p.

\_\_\_\_\_. **Genética na agropecuária**. 5. ed. Lavras: UFLA, 2012b. 564 p.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; PEREIRA FILHO, I. A. Choice of parents for dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) breeding: I., interations of mean componentes by generation and by location. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 11, n. 2, p. 391-400, jun. 1988.

RASMUSSON, D. C.; PHILLIPS, R. L. Plant breeding progress and genetic diversity from de novo variation and elevated epistasis. **Crop Science**, Madison, v. 37, n. 2, p. 303-310, Mar. 1997.

RESENDE, M. D. V.; DUARTE, J. B. Precisão e controle de qualidade em experimentos de avaliação de cultivares. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 37, n. 3, p. 182-194, 2007.

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

\_\_\_\_\_. Composição de microminerais em cultivares de feijão e aplicações para o melhoramento genético. **Bragantia**, Campinas, v. 67, n. 2, p. 267-273, ago. 2008.

- 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 Mar. 2012.
- RIBEIRO, S. R. R. P.; RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B. Maternal effect associated to cooking quality of common bean. **Crop Breeding** and **Applied Biotechnology**, Londrina, v. 6, n. 4, p. 304-310, Sept. 2006.
- ROSA, S. S. Genética dos teores de fósforo e zinco em sementes de feijão comum. 2009. 46 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.
- ROSS, A. C. et al. **Dietary reference intakes for calcium and vitamin D**. Washington: National Academy of Sciences, 2011. 4 p.
- SAHA, S. et al. Variability of nutritional and cooking quality in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) as a function of genotype. **Plant Foods for Human Nutrition**, Dordrecht, v. 64, n. 2, p. 174-180, June 2009.
- SAMMAN, N. et al. Composition of different bean varieties (*Phaseolus vulgaris*) of northwestern Argentina (region NOA): cultivation zone influence. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 47, n. 7, p. 2685-2689, July 1999.
- SANTALLA, M.; AMURRIO, J. M.; RON, A. M. D. Interrelationships between cropping systems for pod and seed quality components and breeding implications in common bean. **Plant Breeding**, Berlin, v. 1, p. 45-51, Oct. 2001.
- SANTALLA, M. et al. Breeding for culinary and nutritional quality of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in intercropping systems with maize (*Zea mays* L.). **Biotechnologie, Agronomie, Societe et Environment**, Gembloux, v. 3, n. 4, p. 225-229, 1999.
- SCOTT, A. J.; KNOTT, M. A. Cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, Raleigh, v. 30, p. 507-512, 1974.

- SEBASTIÁ, V. et al. Effects of legume processing on calcium, iron and zinc contents and dialysabilities. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, v. 81, n. 12, p. 1180-1185, Sept. 2001.
- SHIMELIS, E. A.; RAKSHIT, S. K. Proximate composition and physicochemical properties of improved dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties grown in Ethiopia. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, London, v. 38, n. 4, p. 331-338, July 2005.
- SILVA, C. A. Potencial de linhagens de feijão com relação aos teores de proteína e minerais nas sementes. 2011. 95 p. Tese (Doutorado em Agronomia) Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.
- SILVA, C. A. et al. Chemical composition as related to seed color of common bean. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v. 12, n. 1, p. 132-137, Jan. 2012.
- \_\_\_\_\_. Genetic variability for protein and minerals content in common bean lines (*Phaseolus vulgaris* L.). **Annual Report of Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 53, p. 144-145, 2010.
- SILVA, C. C.; TEIXEIRA, A. S.; GOLDBERG, T. B. L. Impacto da ingestão de cálcio sobre a mineralização óssea em adolescentes. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 17, n. 3, p. 351-359, set. 2004.
- SILVA, G. O. da et al. Estimativa de capacidades de combinações em gerações iniciais de seleção de batata. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 3, p. 275-279, maio/jun. 2009.
- SILVA, H. T.; COSTA, A. O. Caracterização botânica de espécies silvestres do gênero *Phaseolus* L. (Leguminosae). Santo Antônio de Goiás: EMBRAPA Arroz e Feijão, 2003. 40 p. (Documentos, 156).
- SINGH, S.; SINGH, H. D.; SIKKA, K. C. Distribution of nutrients in the anatomical parts of common Indian pulses. **Cereal Chemistry**, Saint Paul, v. 45, p. 13-18, 1968.

SOARES, A. G.; DELLA-MODESTA, R. C.; CARVALHO, J. L. V. Avaliação tecnológica de algumas cultivares de feijão visando avaliar as suas reais potencialidades de consumo. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 5., 1996, Goiânia. **Anais...** Goiânia: EMBRAPA/CNPAS, 1996. v. 1, p. 495-497.

SOUZA, M. A.; RAMALHO, M. A. P. Controle genético e tolerância ao estresse de calor em populações híbridas e em cultivares de trigo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 36, n. 10, p. 1245-1253, out. 2001.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM INSTITUTE. **SAS/STAT® 9.2:** user's guide. Version 9.2. Cary, 2008. 584 p.

STEVENS, M. A. Varietal influence on nutritional value. In: WHITE, P. L.; SELVEY, N. (Ed.). **Nutritional quality of fresh fruits and vegetables**. New York: Futura, 1974. p. 87-110.

THOMPSON, M. D. et al. Cell signaling pathways associated with a reduction in mammary cancer burden by dietary common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Carcinogenesis**, Oxford, v. 33, n. 1, p. 226-232, Jan. 2012.

THYS-JACOBS, S. et al. Calcium carbonate and the premenstrual syndrome: effects on premenstrual and menstrual symptoms: premenstrual syndrome study group. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, Saint Louis, v. 179, n. 2, p. 444-452, Aug. 1998.

\_\_\_\_\_. Vitamin D and calcium dysregulation in the polycystic ovar- ian syndrome. **Steroids**, Stoneham, v. 64, n. 6, p. 430-435, June 1999.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Agricultural Research Service. **Nutrient database for standard reference**. Release 14. Washington, 2001.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA. **Frutos:** definição, desenvolvimento e função. Ponta Grossa, 2011. Disponível em: <a href="http://aulasdebotanica.blogspot.com.br/2011\_12\_01\_archive.html">http://aulasdebotanica.blogspot.com.br/2011\_12\_01\_archive.html</a>>. Acesso em: 10 mar. 2012.

VENCOVSKY, R. Herança quantitativa. In: PATERNIANI, E.; VIEGAS, G. P. (Ed.). **Melhoramento e produção do milho**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p. 135-214.

VIEIRA, C. Melhoramento do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) no estado de Minas Gerais. Viçosa, MG: UFV, 1964. 68 p.

XUE, L. et al. Model of mouse mammary gland hyperproliferation and hyperplasia induced by a western style diet. **Nutrition and Cancer**, London, v. 26, n. 3, p. 281-287, Aug. 1996.

WASSIMI, N. N.; HOSFIELD, G. L.; UEBERSAX, M. A. Inheritance of physico-chemical seed characters related to culinary quality in dry bean. **Journal of American Society for Horticultural Science**, Mount Vernon, v. 115, n. 3, p. 492-499, 1990.

WHITE, P. J.; BROADLEY, M. R. Biofortifying crops with essencial mineral elements. **Trends in Plant Science**, Oxford, v. 10, n. 12, p. 586-593, Dec. 2005.

ZACHARIAS, J. et al. Genetic variability of mineral composition in common bean seed. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v. 55, p. 146-147, 2012.

ZEMEL, M. B. et al. Regulation of adiposity by dietary calcium. **FASEB Journal**, Bethesda, v. 14, n. 9, p. 1132-1138, June 2000.