

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CAMPUS CURITIBANOS
SIBILA GRIGOLO

**POTENCIAL NA HIBRIDAÇÃO ENTRE CULTIVARES DE FEIJÃO DO GRUPO
ANDINO E MESOAMERICANO**

Curitibanos
2015

SIBILA GRIGOLO

**POTENCIAL NA HIBRIDAÇÃO ENTRE CULTIVARES DE FEIJÃO DO GRUPO
ANDINO E MESOAMERICANO**

Trabalho de Conclusão de curso apresentado ao Curso de Agronomia, do Centro de Curitibanos da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

Orientadora: Prof. Dra Ana Carolina da Costa Lara Fioreze.

Curitibanos
2015



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA

Coordenação do Curso de Graduação em Agronomia

Rodovia Ulysses Gaboardi km3

CP: 101 CEP: 89520-000 - Curitibanos - SC

TELEFONE (048) 3721-2178 E-mail: agronomia.cbs@contato.ufsc.br.

SIBILA GRIGOLO

POTENCIAL NA HIBRIDAÇÃO ENTRE CULTIVARES DE FEIJÃO DO GRUPO ANDINO E MESOAMERICANO

Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) apresentado ao Colegiado do Curso de Agronomia, do Campus Curitibanos da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito para obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

Orientador: Ana Carolina da Costa Lara Fioreze

Data da defesa: 03 de Dezembro de 2015

MEMBROS COMPONENTES DA BANCA EXAMINADORA:

Ana Carolina da C. L. Fioreze

Presidente e Orientador: Ana Carolina da Costa Lara Fioreze

Titulação: Doutorado

Área de concentração em Agricultura

Universidade Federal de Santa Catarina

Membro Titular: Jefferson Luís Meirelles Coimbra

Titulação: Doutorado

Área de concentração em Agronomia

Instituição: Universidade do Estado de Santa Catarina

JL Meirelles

Membro Titular: Patrícia Maria Oliveira Pierre Castro

Titulação: Doutorado

Área de concentração em Genética Vegetal

Instituição: Universidade Federal de Santa Catarina

Local: Universidade Federal de Santa Catarina
Campus de Curitibanos

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Grigolo, Sibila

Potencial na hibridação entre cultivares de feijão do grupo andino e mesoamericano / Sibila Grigolo ; orientador, Ana Carolina da Costa Lara Fioreze - Curitibanos, SC, 2015.

41 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Campus Curitibanos. Graduação em Agronomia.

Inclui referências

1. Agronomia. 2. Phaseolus Vulgaris L.. 3. Cruzamentos recíprocos. 4. Pool gênico. 5. Incompatibilidade Genética. I. , Ana Carolina da Costa Lara Fioreze. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Agronomia. III. Título.

RESUMO

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma espécie não cêntrica, tendo dois centros de domesticação, o andino e o mesoamericano. Há grande variabilidade de características entre esses pools gênicos, que podem ser exploradas, visando unir em um único genótipo tais características através do cruzamento artificial. Devido ao isolamento geográfico sugere-se que há incompatibilidade quando realizada as hibridações entre genótipos andino e mesoamericano. O objetivo do presente trabalho foi avaliar o potencial na hibridação entre cultivares de feijão do grupo andino e do grupo mesoamericano. O experimento foi realizado em casa de vegetação, utilizando como genitores as cultivares BRS Executivo e BRS Embaixador do grupo andino, e BRS Campeiro e IPR Tangará do grupo mesoamericano. O delineamento experimental utilizado foi de blocos casualizados com quatro repetições. Após a realização dos cruzamentos e seus recíprocos, foram contabilizadas: porcentagem de vagens normais, de vagens sem sementes, de vagens não formadas, comprimento da vagem, número de sementes por vagem, massa da semente, comprimento, largura e espessura da semente e aspectos da germinação das sementes híbridas, como: dias para germinação, porcentagem de germinação normal e porcentagem de sementes não germinadas. Houve diferença significativa para as características porcentagem de vagem sem semente, comprimento médio da vagem, sementes por vagem, massa de sementes e comprimento médio das sementes. Evidenciaram-se valores médios divergentes entre os cruzamentos e seus recíprocos, sugerindo que as variáveis são influenciadas pelo genitor materno, caracterizando efeito citoplasmático. Não houve diferenças nas avaliações na germinação das sementes híbridas, demonstrando que não houve incompatibilidade entre os grupos andino e mesoamericano para as características avaliadas.

Palavras chaves: *Phaseolus vulgaris* L.. Cruzamentos recíprocos. Pool gênico. Incompatibilidade genética.

ABSTRACT

The common bean (*Phaseolus vulgaris*) is a non-centric specie, having two centers of domestication: the Andean and the Mesoamerican. There is a great variability in the characteristics between these gene pools that can be exploited in order to unite into a single genotype such characteristics by artificially crossing. Due to geographical isolation is suggested that there is an incompatibility when performed hybridizations between Andean and Mesoamerican genotypes. The objective of this study was to evaluate the potential hybridization between common bean cultivars of the Andean and the Mesoamerican groups. The experiment was conducted in a green house, using as parents the Andean group's cultivars BRS Executivo and BRS Embaixador and the Mesoamerican group's cultivars BRS Campeiro and IPR Tangara. The experimental design was a randomized block with four replications. Once completed the crosses and their reciprocal, were analyzed: percentage of normal pods, seedless pods, not formed pods, pod length, number of seed per pod, seed mass, length, width and thickness, and germination aspects of hybrid seeds such as germination time, percentage of normal germination and non-germinated seeds. There was a significant difference for the characteristics percentage of seedless pod, average length of pods, seeds per pod, seed weight and average length of seeds. Different mean values between the crosses and their reciprocal were evident suggesting that the maternal parent influences the variables, featuring cytoplasmic effect. There were no differences in the avaliationson the germination of hybrid seeds, demonstrating that there was no incompatibility between the Andean and Mesoamerican groups for the evaluated characteristics.

Key words: *Phaseolus vulgaris* L.. Reciprocal crosses. Gene pool. Genetic incompatibility.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Disposição dos vasos em casa de vegetação	22
Figura 2. Etapas da emasculação do botão floral do feijoeiro comum.....	23
Figura 3. Obtenção do pólen para fertilização do botão emasculado	24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características das cultivares utilizadas no desenvolvimento do projeto.	21
Tabela 2. Quadrados médios para as características avaliadas na hibridação das cultivares de feijão comum (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	26
Tabela 3. Comparação entre as médias das características avaliadas na hibridação das cultivares de feijão comum (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	27
Tabela 4. Quadrados médios para as características avaliadas na germinação das sementes híbridas de feijão comum (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.).....	31

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	8
1.1	OBJETIVOS.....	10
1.2	JUSTIFICATIVA.....	11
2	REFERENCIAL TEÓRICO	13
2.1	CENTRO DE DOMESTICAÇÃO E ASPECTOS BOTÂNICOS DO FEIJÃO COMUM	13
2.2	IMPORTÂNCIA ECONÔMICA E SOCIAL DA CULTURA DO FEIJÃO COMUM	15
2.3	MELHORAMENTO GENÉTICO DO FEIJÃO COMUM.....	18
3	MATERIAL E MÉTODOS	21
3.1	LOCAL DO EXPERIMENTO.....	21
3.2	IDENTIFICAÇÃO DO INTERVALO FLORESCIMENTO	22
3.3	HIBRIDAÇÃO ENTRE OS GENITORES	23
3.4	AVALIAÇÕES REALIZADAS.....	25
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
5	CONCLUSÃO	35
	REFERÊNCIAS	36

1 INTRODUÇÃO

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma espécie pertencente à família *Fabaceae* e gênero *Phaseolus*, o qual engloba aproximadamente 55 espécies onde apenas cinco são conhecidas por serem domesticadas (MEDEIROS, 2004). Considerada uma espécie não cêntrica, ou seja, não possui um centro específico de origem, sua domesticação foi de forma independente dando origem a dois *pools* gênicos, o andino e o mesoamericano, considerados os dois centros primários de diversidade da cultura do feijoeiro. Esses dois grupos gênicos foram reconhecidos em estudos baseando-se na morfologia, características agrônômicas, fração protéica da semente e diferentes tipos de marcadores moleculares que deram a indicação de dois eventos de domesticação independentes nos dois hemisférios (BITOCCHI, 2011).

Considerada uma planta herbácea, trepadeira ou rasteira, o feijoeiro pode apresentar quatro tipos de hábito de crescimento sendo um tipo chamado de determinado e os outros três definidos como indeterminados. Seu ciclo vegetativo pode durar de 65 a 120 dias variando de acordo com o genótipo e das condições da época de cultivo (AFONSO, 2010). A inflorescência do feijão comum é composta por flores perfeitas que variam sua coloração de acordo com sua cultivar. Devido à estrutura da flor, sua reprodução de modo preferencial é a autofecundação, sendo que as flores permanecem fechadas após o amadurecimento dos órgãos reprodutivos caracterizando o mecanismo de cleistogamia (BORÉM, 2009).

O feijão comum faz parte do hábito alimentar da maioria da população brasileira, tendo uma significativa importância no âmbito social por proporcionar alta qualidade nutritiva fazendo parte da dieta de combate à fome e à desnutrição. Além do papel relevante na alimentação brasileira, é um dos produtos agrícolas de maior importância econômico-social onde durante o período de cultivo gera ocupação e renda principalmente em pequenas propriedades (NORA, 2012). Segundo dados da Conab (2015), a área utilizada para produção da cultura teve um decréscimo em relação à safra de 2013/2014, fato característico da cultura do feijão comum. A produtividade de grãos não acompanhou a queda acentuada com a redução da área plantada, contudo a produção brasileira do feijoeiro não supre o consumo nacional sendo necessária a importação do grão.

Com a necessidade de elevar a produtividade nacional do grão de feijão, os programas de melhoramento genético apresentam importância no desenvolvimento de novas cultivares que possuam características agronômicas favoráveis resultando em uma maior produção por área. Além disso, busca-se também aprimorar o potencial nutricional dos grãos resgatando tais características perdidas devido a domesticação da espécie (BERTOLDO, 2011). A busca pelo ideótipo de planta é oneroso e pode durar anos para incorporar características desejáveis em um único genótipo. A definição de métodos adequados é o primeiro passo para alcançar o objetivo desejado aliando sempre a busca por variabilidade genética como fomento de características desejáveis.

A integração de características desejáveis em um único genótipo muitas vezes requer a utilização de técnicas, como por exemplo, o cruzamento artificial. Em consequência do isolamento geográfico durante a domesticação do feijão comum, os grupos andino e mesoamericano possuem características distintas que se agrupadas podem resultar em uma planta superior (BORÉM, 2009). Contudo, um obstáculo na hibridação entre genitores de grupos gênicos diferentes é a incompatibilidade que pode existir em algumas combinações de feijões andinos e mesoamericanos, que em consequência impediriam o desenvolvimento e crescimento da geração F_1 (BRUZI et al, 2007). Segundo Borém (2009), essa incompatibilidade pode resultar na fraqueza do híbrido F_1 ou nanismo sendo governada por dois genes dominantes.

De acordo com o exposto, esse trabalho teve como objetivo avaliar o potencial na hibridação entre cultivares de feijão do grupo andino e mesoamericano.

1.1 OBJETIVOS

Avaliar o potencial na hibridação direcionada entre cultivares de feijão do grupo andino e do grupo mesoamericano.

1.2 JUSTIFICATIVA

O feijão é um dos grãos mais importantes do Brasil, sendo uma grande fonte de proteína e aminoácidos, que quando aliado ao arroz torna-se símbolo da gastronomia brasileira. É um cultivo bastante difundido em todo território nacional, tanto solteiro como consorciado, sendo considerada uma cultura de subsistência para pequenos agricultores gerando ocupação e renda durante as três safras de cultivo. Uma das características marcantes da cultura do feijão é a oscilação na sua produção, onde os agricultores levam em consideração a demanda e as condições climáticas para optar pelo cultivo, e o consumo específico do grão em cada região. Devido a isso, o melhoramento genético vem com o objetivo de adequar em um genótipo características favoráveis que supram a necessidade tanto dos agricultores como dos consumidores.

As pesquisas destinadas ao melhoramento genético do feijoeiro comum já são desenvolvidas há algum tempo por instituições públicas e privadas. Primeiramente buscando uma cultivar que além de proporcionar adequada produtividade apresente alta estabilidade de produção. Apesar da existência de cultivares comerciais que apresentem parcialmente essas características, a cultura ainda possui algumas limitações aquém do potencial. Além disso, com as exigências do consumidor, atualmente os programas de melhoramento além de unir em um único genótipo características agrônomicas adequadas, buscam aliar qualidade nutricional e tempo de cozimento do grão.

A domesticação do feijoeiro ocorreu de forma independente em dois centros primários, andino e mesoamericano, os quais apresentam características divergentes entre si, que se aliadas podem resultar em um genótipo superior. A morfologia da planta, o hábito de crescimento, duração de ciclo e principalmente o tamanho e cor dos grãos de feijão são diferenças entre genótipos encontrados nesses dois grupos gênicos. Essa variabilidade encontrada nos dois grupos permite aos melhoristas a busca por um genótipo que alie características que atendam as preferências do consumidor com a facilidade de cultivo para o agricultor, específico para cada região. Contudo, devido à domesticação independente desses dois grupos gênicos estudos sugerem que pode ocorrer determinada incompatibilidade entre eles, resultando em anomalias ou na fraqueza do híbrido F_1 , não desenvolvendo assim as plantas segregantes. A fraqueza do híbrido F_1 é governada

por dois genes dominantes, onde um deles é encontrado em sementes pequenas caracterizando o grupo mesoamericano e o outro gene encontrado em sementes grandes, caracterizando o grupo andino. Contudo, cultivares comerciais de ambos os grupos, por já terem passado por anos de melhoramento genético, podem não apresentar os genes de incompatibilidade entre os grupos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 CENTRO DE DOMESTICAÇÃO E ASPECTOS BOTÂNICOS DO FEIJÃO COMUM

O feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma espécie anual diplóide ($2n = 2x = 22$), pertencente à família *Fabaceae* e gênero *Phaseolus*. O gênero *Phaseolus* possui cerca de 55 espécies das quais apenas cinco são conhecidas por serem domesticadas: *P. vulgaris* L., *P. lunatus* L., *P. coccineus* L., *P. acutifolius* A. Gray e *P. polyanthus* Greenman (MEDEIROS, 2004).

Atualmente a hipótese mais aceita é que as espécies de feijão foram originadas das Américas, caracterizado por não possuir um centro específico de origem e com centros de domesticação independentes (CHIORATTO, 2004). Com base em métodos fitogeográficos, Vavilov, nas primeiras décadas do século passado, propôs dois centros primários de diversidade genética para o feijoeiro: o Mesoamericano que se estende do sul dos Estados Unidos até o Panamá; e o Andino que abrange desde o norte do Peru até o noroeste da Argentina. Tais centros citados por Borém (2009) foram comprovadas por evidências botânicas, bioquímicas, arqueológicas, fisiológicas e históricas.

A domesticação das espécies, de forma independente em áreas Andinas e Mesoamericanas, resultou em dois *pools* gênicos considerados assim, dois centros primários de diversidade. Esses *pools* gênicos têm sido validados por vários marcadores morfológicos, como: tamanho de grão, morfologia da planta (SILVA, 2011) e principalmente através de análise eletroforética, pelos tipos de faseolina – principal fração proteica das sementes de feijão- sendo predominantemente o tipo “S” e sementes pequenas nos centros mesoamericanos e norte andino; e tipo “T” e sementes grandes no centro sul andino (CHIORATO, 2004).

Em razão do feijão comum ser cultivado em diversos ambientes, ele é uma das espécies que contém maior variabilidade de características. Por essa razão, dentro dos centros primários de domesticação, andino e mesoamericano, Singh, Nodari e Gepts (1991) propuseram que para cada grupo genético três raças podem ser distinguidas levando em consideração as diferenças nas plantas, morfologia de

semente, regimes de adaptação, hábitos de crescimento, entre outras características.

O feijoeiro comum é uma planta herbácea que pode apresentar hábito de crescimento determinado ou indeterminado. A proposta pelo CIAT (1978) é amplamente aceita para classificação das espécies e compreende quatro tipos de hábito de crescimento. O tipo I é caracterizado por ter um hábito de crescimento determinado com gemas terminais reprodutivas no caule principal e nos ramos e os tipos II, III e IV possuem hábito de crescimento indeterminado com gemas terminais vegetativas no caule principal e nos ramos. O critério que diferencia esses três tipos está no porte da planta, onde o tipo II é caracterizado por ter um porte ereto, tipo III porte prostrado e tipo IV planta que possui grande capacidade trepadora.

O grupo andino foi subdividido em três raças: Nueva Granada com sementes de tamanho médio a grande, faseolina tipo "T" e hábitos de crescimento tipo I e II; Peru com sementes de tamanho grande, faseolina tipo "T", "C", "H" e "A" com hábito de crescimento tipo III e IV; e a raça Chile, compostas por espécies que tem como hábito de crescimento tipo III, sementes de tamanho médio e ovais e padrões de faseolina tipo "C" e "H". As raças pertencentes ao grupo mesoamericano predominantemente possuem faseolina tipo "S" e diferenciam-se pelo hábito de crescimento. A raça Mesoamérica é caracterizada por sementes pequenas e hábitos de crescimento tipo II e III; a raça Durango apresenta crescimento tipo III e sementes médias; e a raça Jalisco, sendo a única raça com hábito de crescimento trepador, característica do tipo IV e com sementes de tamanho médio (CHIORATO, 2004).

O racemo, considerado a inflorescência do feijoeiro, é composto por flores perfeitas. Cada flor possui uma corola composta de cinco pétalas brancas, rosadas ou violetas, variável de acordo com a cultivar. A maior das pétalas e mais exposta é denominada de estandarte, as asas são as pétalas menores e as duas últimas soldadas uma a outra formam a quilha (BORÉM, 2009). A quilha é retorcida em forma de espiral e envolve completamente os órgãos reprodutores masculino (androceu) e feminino (gineceu) da flor do feijoeiro. O androceu é formado por dez estames considerados diadelfos, ou seja, nove aderentes ao filete e um livre. O gineceu é formado por um ovário em média possuindo de cinco a dez óvulos e um estilete terminado em um estigma recurvado, provido de pelos (RAMALHO, 1982).

O feijoeiro comum, devido à estrutura de sua flor, tem como modo preferencial de reprodução a autogamia, favorecida pelo mecanismo de

cleistogamia, onde as flores permanecem fechadas mesmo após o amadurecimento dos órgãos reprodutores. Em consequência disso, a deiscência de pólen e a autopolinização ocorrem quando o botão floral está prestes a se abrir (BORÉM, 2009). Apesar de sua estrutura floral favorecer a autofecundação, uma taxa de fecundação cruzada natural pode ocorrer, sendo variável com o ambiente e com o genótipo. Estudos realizados no Brasil por Vieira (1960) com o plantio de cultivares de feijão permitiram concluir que a taxa de alogamia encontrada na cultura do feijão variou de 0,18 a 6,0%, na região de Viçosa-MG. Essa amplitude encontrada depende muito das condições do meio que resultarão na quantidade e presença de insetos polinizadores e da cultivar utilizada devido ao tamanho de suas flores e da maior ou menor coincidência do período de floração.

2.2 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA E SOCIAL DA CULTURA DO FEIJÃO COMUM

O feijão é uma das leguminosas mais estudadas na América Latina. O feijão comum é consumido em grande quantidade por todas as classes sociais, sendo uma excelente fonte de proteína, além de possuir bom conteúdo de carboidratos e ser rico em ferro (RECK, 2010). Devido as suas propriedades nutritivas e terapêuticas, o feijão é altamente desejável como componentes em dietas de combate à fome e à desnutrição. O consumo alimentar de feijão da população brasileira combinado com cereais, especialmente o arroz, proporciona os oito aminoácidos essenciais ao nosso organismo (EMBRAPA, 2003).

Segundo dados da CONAB (2014), no Brasil a participação do feijão na alimentação diminui com o aumento da renda. Seu consumo na dieta alimentar por famílias de baixa renda é mais que a metade em comparação às famílias que possuem uma renda superior. Uma das hipóteses levantadas para justificar tal fato, refere-se ao maior número de pessoas fazendo suas refeições fora do lar, à substituição do feijão por outras fontes de proteína e o consumo de produtos industrializados e menos saudáveis. De acordo com Ramos Junior et al (2005), o processo de urbanização ocorrido nos últimos anos juntamente ao papel da mulher no mercado de trabalho fora do lar e na diminuição da disponibilidade de tempo para

o preparo da alimentação da família, geraram como consequência mudanças nos hábitos alimentares de parte da população.

O cultivo dessa leguminosa é bastante difundido por todo o território no sistema solteiro ou consorciado com outras culturas. A cadeia de produção, beneficiamento e comercialização geram ocupação e renda principalmente para as classes menos privilegiadas, sendo reconhecido como uma cultura de subsistência em pequenas propriedades, onde a agricultura familiar é considerada grande responsável pela produção de feijão no país (SILVA, 2011). Em um estudo realizado por Da Silva e Wander (2013), avaliando a evolução da cultura do feijão comum no Brasil, estimou-se que 99,08% dos produtores cultivam menos de 50 hectares de feijão, 0,77% dos produtores cultivam entre 50 a 200 hectares de feijão e apenas 0,15% dos produtores cultivam acima de 200 hectares de feijão comum. Os produtores da cultura do feijoeiro com área colhida de 200 hectares são responsáveis por 78,29% da produção nacional.

A partir de 1980 quando no Brasil a irrigação tornou-se propriedade das políticas públicas com a criação do Ministério da Irrigação, o quadro do cultivo do feijão passou por modificações. Antes predominantemente um produto típico de agricultura de subsistência, hoje o perfil do produtor pode ser dividido em três categorias. Os pequenos produtores cuja alternativa econômica é a exploração de feijão, um grupo que abrange tanto os pequenos como os grandes produtores que cultivam ou não de acordo com a perspectiva do mercado e os produtores tecnificados que investem em grandes lavouras, com controle fitossanitário, irrigação e colheita mecanizada (SILVA et al, 2008).

No Brasil há o predomínio da agricultura familiar no cultivo do grão do feijão. O feijão é cultivado ao longo do ano em três safras: a safra da seca, com semeadura de janeiro a fevereiro; a safra de inverno, com semeadura de maio a junho e a safra das águas com semeadura em agosto a setembro. Considerando as três safras, a safra de 13/2014 foi estimada em uma área total de feijão de 3.333,4 mil hectares, um valor 8,4% acima que a safra anterior, resultando em uma produção nacional de 3.444,1 mil toneladas de feijão, 22,7% maior que a última safra (CONAB, 2014). Para a safra de 2014/15 considerando as três safras, estima-se que a área total reduzirá em 9,8% em relação à safra anterior compreendendo 3.034,4 mil hectares, tendo uma produção nacional de 3.185,4 mil toneladas, 7,8% menor que a safra passada (CONAB, 2015).

A oscilação de área cultivada e produção é característica da cultura do feijão, e tal fato é consequência da instabilidade dos produtores que se baseiam na perspectiva do mercado e nas previsões climáticas do ano para tomada de decisão de semear ou não a cultura. Outra conclusão a partir dos dados, é que mesmo com a diminuição da área na safra de 2014/15 a produtividade de grãos não teve uma queda acentuada. Mesmo não sendo uma das principais culturas exportadas no nosso país, a implantação de novas tecnologias, a utilização de irrigação, o uso de sementes melhoradas e um manejo mais minucioso vem sendo estratégias adotadas pelos produtores visando uma melhor produtividade/área. Segundo dados da Conab (2015), atualmente essa produção não supre o consumo nacional, sendo necessária a importação de grãos de feijão, principalmente da Argentina. Entretanto as perspectivas são que ocorra gradativamente uma maior produção dessa cultura podendo vir ser exportado nos próximos anos. Ou seja, o Brasil é de grande importância no cenário mundial do feijão tanto como produtor como consumidor.

Esse aumento na produção do cultivo do feijão não é de forma uniforme para os tipos de grãos. As regiões brasileiras são bem definidas quanto a essa preferência do grão do feijão consumido, características como cor, tamanho e o brilho do grão determinam o seu consumo. O feijão preto é mais aceito no Rio Grande do Sul, Santa Catarina, sul e leste do Paraná, Rio de Janeiro, sudeste de Minas Gerais e sul do Espírito Santo. No restante do país este tipo de grão é pouco representativo apresentando pouco valor comercial ou aceitação (RIBEIRO, 2007). Esse fato ocasiona uma dificuldade de venda do feijão preto, mesmo apresentando a mesma qualidade. Nas outras regiões do estado de Minas Gerais as preferências são pelos feijões de cor principalmente os de tipo mulatinho, roxinho, pardo e rosinha. No nordeste o maior consumo é de *Vigna unguiculata* L. ou quando há o consumo de *Phaseolus* a preferência é por feijão do tipo mulatinho. Embora haja diferenças quanto à cor dos grãos consumidos no Brasil, a preferência predomina sobre o feijão tipo carioca, apresentando aceitação em todo o Brasil sendo responsável por 53% da área cultivada e corresponde a 85% das vendas. As variações na preferência dos consumidores norteiam a pesquisa tecnológica e direcionam a produção e comercialização do produto (LOPES, 2011).

2.3 MELHORAMENTO GENÉTICO DO FEIJÃO COMUM

Várias são as instituições que realizam o melhoramento genético de feijão comum no Brasil, grande parte do desenvolvimento de novas cultivares está ligada ao setor público. A Embrapa e as universidades vêm introduzindo germoplasma em seus programas, desenvolvendo novas cultivares e conduzindo testes comparativos para recomendação do cultivo em diversas regiões (BÓREM, 2009). Destacam-se, com programas de melhoramento dessa cultura, a Universidade Federal de Viçosa, a Universidade Federal de Lavras, a Embrapa Arroz e Feijão, a Embrapa Clima Temperado, a Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado de Minas Gerais (Epaming), o Instituto Agrônomo de Campinas, o Instituto Agrônomo do Paraná, além de outras instituições que buscam o desenvolvimento de novas cultivares adequadas para cada região.

A maior coleção mundial de germoplasma do feijão reúne mais de 38 mil acessos e encontra-se no Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). No Brasil, a Embrapa Arroz e Feijão em conjunto com a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia é detentora da maior coleção com aproximadamente 14.100 acessos. A Universidade Federal de Viçosa também conta com um Banco de Germoplasma Ativo, contendo uma média de 600 acessos. Essa ampla variabilidade genética do feijoeiro proporciona facilidade na escolha de genótipos adequados no melhoramento genético da cultura para atingir o objetivo de cada programa (CELIN, 2011).

Com o desenvolvimento de novas cultivares através dos programas de melhoramento genético, aprimorou-se características específicas direcionado ao aspecto agrônomo. A qualidade nutricional não era empregada como objetivo principal dentro de um programa de melhoramento do feijoeiro o que ocasionou redução nos teores de macro e micronutrientes do grão de feijão (BERTOLDO, 2011). Estudos realizados pelo mesmo autor ressaltam a importância de incorporar o potencial nutricional do feijão, aprimorando não apenas os aspectos agrônomo como também o seu potencial nutricional, utilizando variedades crioulas como fonte de variabilidade genética por possuírem maiores teores desses nutrientes.

Segundo Ramalho (1982), os objetivos dos programas de melhoramento do feijão são a obtenção de cultivares com alta produtividade, que sejam resistentes as principais pragas e doenças e que os grãos possuam características aceitáveis no

mercado consumidor. Carneiro et al (2005), complementam que outras características, além das agrônômicas, tem sido incorporadas como objetivo dos programas de melhoramento como características físicas e sensoriais dos grãos dos cultivares: uniformidade da cor, sabor característico, menor tempo de cocção, dureza, altos teores de fibras, entre outras. A busca por um ideótipo de planta que alie várias características desejáveis é oneroso e trabalhoso, antes mesmo de iniciar o melhoramento deve-se planejar o ideótipo de planta a ser alcançado, visto que para cada região terão características específicas.

Para obtenção de um genótipo superior, o primeiro passo é definir qual o melhor método de melhoramento para a cultura. Dificilmente é utilizado apenas um método, mas sim a interação entre vários. Tsutsumi et al (2015) cita alguns métodos que vem sendo utilizados no melhoramento genético do feijoeiro, entre eles destaca-se a seleção massal que é um dos métodos clássicos de melhoramento de plantas, onde a seleção realizada é favorecida quando se trabalha com variáveis de alta herdabilidade; o método Single Seed Descent (SSD), amplamente utilizado para o feijão selecionando em gerações mais avançadas; e a seleção recorrente quando busca-se obter uma nova população a partir da recombinação de famílias ou populações, objetivando o aumento de alelos favoráveis.

Um processo utilizado citado também por Tsutsumi et al (2015) é a hibridação. Essa técnica permite obter populações com maior variabilidade genética devido ao cruzamento entre duas variedades ou linhagens escolhidas pelo grau de complementação de caracteres importantes (DE SOUZA, 2012). Cada método apresenta sua eficiência variada, e o método escolhido deve levar em consideração quais são as características que se busca para a planta do feijoeiro. Como exemplo o autor sugere que o método SSD é o mais indicado para condução de várias características, já a hibridação aliada ao retrocruzamento são eficientes quando o objetivo é precocidade e aumento da qualidade nutricional.

Para o desenvolvimento de cultivares superiores é importante ter ampla variabilidade genética, pois cada genótipo pode apresentar aspectos desejáveis em alguma característica. Sendo assim buscam-se métodos de melhoramento que unam essas características em um genótipo apenas. Em consequência do isolamento geográfico durante a domesticação do feijão comum, ocorreu a formação de dois *pools* gênicos adaptados a diferentes ambientes. As diferenças entre esses grupos, andino e mesoamericano, despertaram interesse dos melhoristas na

utilização de hibridações inter “*pools*” gênicos. Esses dois grupos divergem em várias características: morfologia da planta, cor e tamanho dos grãos e a resistência a patógenos, tendo características desejáveis em ambos (ARANTES et al, 2008). Contudo, a hibridação entre genitores dos dois grupos gênicos nem sempre é possível, podendo apresentar incompatibilidade na hibridação entre algumas combinações de feijões andinos e mesoamericanos impedindo o desenvolvimento e crescimento da geração F₁ (BRUZI et al, 2007).

Segundo Borém (2009) o cruzamento entre determinados genótipos distintos de cada região podem originar anormalidades como nanismo ou fraqueza do híbrido F₁. Essas plantas que apresentam essa anormalidade podem incluir esterilidade, ausência de raízes, crescimento reduzido e provocam até a morte da planta. A fraqueza do híbrido F₁ é governada por dois genes dominantes denominados DL₁ e DL₂. Arantes et al (2008) em trabalho realizado para verificar o controle genético da incompatibilidade do cruzamento entre cultivares andinas e mesoamericanas em feijão, constatou que a segregação da geração F₁ foi de três plantas normais para uma planta anormal, evidenciando que são dois genes (DL₁ e DL₂) que controlam essa fraqueza do híbrido F₁. As cultivares que possuem sementes pequenas e faseolina tipo ‘S’ carregam o gene DL₁ e cultivares com sementes grandes e faseolina tipo ‘T’ ou ‘C’, o gene DL₂. Devido a esse fator, a fraqueza do híbrido F₁ só ocorrerá quando se cruzam cultivares originários do México e da América Central com cultivares dos Andes.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 LOCAL DO EXPERIMENTO

O presente trabalho foi desenvolvido na Universidade Federal de Santa Catarina, campus Curitibanos, no ano de 2015 no mês de fevereiro. O experimento foi conduzido em casa de vegetação com temperatura controlada. A temperatura foi mantida próximo à 25°C. Foram utilizadas quatro cultivares de feijão, duas pertencentes ao grupo andino, cultivar BRS - Embaixador (Dark red kidney) e a cultivar BRS - Executivo (Cranberry); e duas pertencentes ao grupo mesoamericano: BRS - Campeiro (grupo preto) e a cultivar IPR Tangará (grupo carioca) descritas na Tabela 1.

Tabela 1. Características das cultivares utilizadas no desenvolvimento do projeto

Cultivar	Ciclo (dias)	Porte	Cor do Grão	Produtividade (kg/ha)
BRS Embaixador	75-85	Ereto	Vermelho Escuro	3.113
BRS Executivo	85 - 95	Semi-ereto	Bege com estrias e pontuações vermelho-escura	1.896
BRS Campeiro	75-85	Ereto	Preto	4.917
IPR Tangará	87	Ereto	Bege com listras marrom-claras	3.326

Fonte: BRASIL, 2015; IAPAR, 2015

O experimento foi desenvolvido em delineamento experimental de blocos casualizados, onde foram realizados os cruzamentos entre as cultivares e seus recíprocos: BRS - Embaixador x BRS - Executivo, BRS – Embaixador x BRS - Campeiro, BRS – Embaixador x IPR Tangará, BRS - Executivo x BRS - Campeiro, BRS – Executivo x IPR Tangará e BRS – Campeiro x IPR Tangará, com quatro repetições. As cultivares foram semeadas em vasos de polietileno com volume de solo de 5 litros/vaso. Foi realizada a adubação de base com 687 mg dm⁻³ de P₂O₅ (superfosfato simples) e 78 mg dm⁻³ de K₂Cl (cloreto de potássio). Foram semeadas quatro sementes por vaso com posterior desbaste para duas plantas.

3.2 IDENTIFICAÇÃO DO INTERVALO FLORESCIMENTO

Para obter sincronia no florescimento das cultivares, foi realizado uma avaliação prévia para identificação do intervalo do período de florescimento entre as mesmas. As cultivares do grupo mesoamericano (BRS - Campeiro e IPR Tangará) foram semeadas no dia 11/02/2015, 10 dias antes do que as cultivares do grupo andino (BRS - Embaixador e BRS – Executivo) semeadas no dia 21/02/2015. As sementes foram tratadas com inseticida (imidacloprida + tiodicarbe) e fungicida (carbendazim). Os vasos foram dispostos em fila contínua e única, onde cada fila representou um bloco, como representado na Figura 1.

Figura 1. Disposição dos vasos em casa de vegetação.



Fonte: Própria

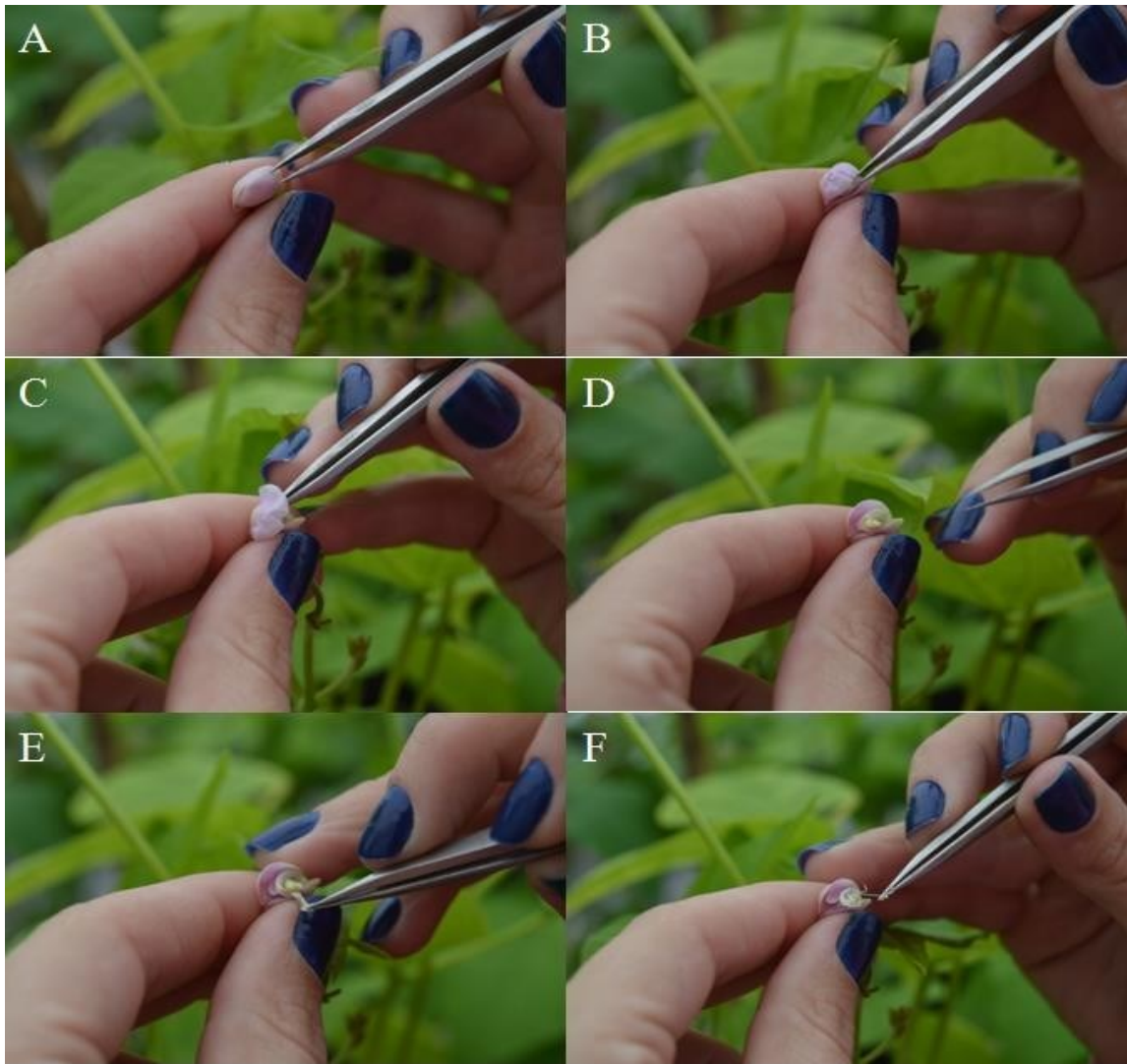
Foram realizadas irrigações diárias de acordo o desenvolvimento das plantas. Houve a necessidade de aplicação do fungicida FOX, na dose de 1 mL da substância diluído em 500 mL de água, borrifado sobre as plantas, para controle de oídio (*Erysiphe polygoni*). A adubação de cobertura foi realizada em duas etapas, nos estádios V4 e R6 da planta. Em cada etapa foi dissolvido 6 gramas de uréia em

2,4 L de água, e cada vaso recebeu 100 mL da solução, totalizando 0,250 g/vaso de uréia.

3.3 HIBRIDAÇÃO ENTRE OS GENITORES

Na época do florescimento, os cruzamentos foram realizados sempre no início da manhã e final da tarde, por serem os horários mais frescos do dia. Foi adotada a metodologia de hibridação com a emasculação do botão floral (PETERNELLI et al, 2009). Utilizando uma pinça, abriu-se o estandarte partindo da base da linha de sutura em direção ao ápice (Figura 2A), em seguida dobrou-se um de seus lados expondo completamente a asa que cobre a quilha (Figura 2B). Manteve-se o estandarte dobrado com ajuda do polegar, e com auxílio da pinça, a asa do lado direito e parte visível da asa do lado esquerdo foram removidas (Figura 2C) colocando à mostra a quilha enrolada (Figura 2D). Novamente com a pinça, prendeu-se uma parte da base da quilha puxando cuidadosamente para cima, arrancando todo o seu comprimento, com o cuidado de não danificar o estilete ou o estigma (Figura 2E). Com a remoção total da quilha os estames estavam bem visíveis, podendo assim ser retirados e o estigma polinizado (Figura 2F).

Figura 2. Etapas da emasculação do botão floral do feijoeiro comum



Fonte: Própria

A próxima etapa consistiu na obtenção de pólen. A seleção do genitor masculino ocorreu através da observação visual, dando preferência a flores recém abertas, de coloração intensa, pois flores com a coloração mais fraca, são aquelas que já foram já autopolinizadas. Assim, pressionou-se para abaixo as asas da flor, forçando a saída do estigma (Figura 3A). Este foi retirado (Figura 3B), devido ao fato de ter ocorrido a polinização, o estigma estava envolto por pólen, assim sendo, esfregado no estigma do botão emasculado, deixando os dois estigmas entrelaçados (Figura 3C). Terminado o procedimento, a flor fecundada foi recomposta da melhor forma possível, cobrindo o estigma com as pétalas remanescentes e sendo identificado o cruzamento realizado, com genitores e data (Figura 3D). Botões, flores e vagens que não foram oriundos de cruzamento foram

eliminados para evitar competição e confusão por ocasião da colheita das sementes híbridas.

Figura 3. Obtenção do pólen para fertilização do botão emasculado



Fonte: Própria

As hibridações foram realizadas no período de 26 de março ao dia 14 abril de 2015.

3.4 AVALIAÇÕES REALIZADAS

Na maturação, as vagens identificadas com os cruzamentos foram colhidas e foram realizadas as seguintes avaliações:

- a) Porcentagem de vagens normais: número de vagens normais dividido pelo número de cruzamentos realizados;
- b) Porcentagem de vagens sem sementes: número de vagens anormais (sem sementes) dividido pelo número de cruzamentos realizados;
- c) Porcentagem de vagens não formadas: porcentagem de vagens normais e anormais subtraído do total de cruzamentos.

- d) Comprimento da vagem: em centímetros com o auxílio de uma régua graduada;
- e) Número de sementes por vagem: contabilizou o número de sementes obtidas de cada vagem;
- f) Massa da semente: as amostras foram deixadas dentro de dessecadores durante 48 horas para padronização da umidade das sementes, seguida de pesagem em balança semi-analítica;
- g) Comprimento, largura e espessura das sementes em milímetros, com o uso do paquímetro digital.

Posterior a essas avaliações, as sementes híbridas foram previamente tratadas com inseticida (imidacloprida + tiodicarbe) e fungicida (carbendazim), colocadas em bandejas de isopor preenchidas com substrato vegetal, para avaliar a germinação das mesmas. Foram contabilizados: dias para germinação, porcentagem de germinação normal e porcentagem de sementes não germinadas das sementes híbridas resultantes de cada cruzamento, ou seja, foi avaliada a incompatibilidade até as plântulas F₁. Considerou-se germinação normal, as plântulas com todas as suas estruturas essenciais bem desenvolvidas (hipocótilo reto, dois cotilédones) (BRASIL, 2009).

Os dados obtidos foram analisados com base na análise de variância pelo teste F a 5% de probabilidade, e as médias serão comparadas pelo teste de Scott Knott a 5% de probabilidade, utilizando o software SISVAR. Foi realizada a transformação dos dados, $\sqrt{x+1}$, das características relativas à porcentagem: vagens formadas, vagens sem sementes, vagens não formadas, germinação normal dos híbridos e não germinação dos híbridos.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância com os quadrados médios para as características avaliadas nos cruzamentos de feijão estão apresentadas na Tabela 2. É possível observar que os quadrados médios das características vagem sem semente, comprimento médio da vagem, sementes por vagem, peso médio das sementes e comprimento médio das sementes apresentaram significância ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F, mostrando que houve diferença entre os cruzamentos para essas características.

Tabela 2. Quadrados médios para as características avaliadas na hibridação das cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.)

F.V	GL	VF ¹	VSS ¹	VNF ¹	CMV ¹	S/V ¹	MS ¹	CMS ¹	LMS ¹	EMS ¹
Cruzamentos	11	4,60 ^{ns}	11,60*	3,91 ^{ns}	9,83*	4,60*	0,17*	37,78*	3,25 ^{ns}	2,67 ^{ns}
Erro	33	2,17	2,50	3,54	4,84	1,84	0,02	8,93	2,1	1,12
C.V (%)		21,00	66,08	30,79	18,37	38,53	27,25	20,52	17,07	17,97
Média		7,02	2,38	6,11	11,97	3,52	0,55	14,56	8,49	5,89

* Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

^{ns} não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

¹Nota: VF (% de vagem formada), VSS (% vagem sem semente), VNF (% vagem não formada), CMV (comprimento médio da vagem em centímetros), S/V (semente por vagem), MS (massa média das sementes em gramas), CMS (comprimento médio das sementes em milímetros), LMS (largura média das sementes em milímetros), EMS (espessura média das sementes em milímetros).

Para a variável vagem sem semente é possível verificar que as maiores médias foram representadas quando as cultivares andinas foram utilizadas como genitores maternos. Em contrapartida, quando o genitor materno foi do grupo mesoamericano, as médias de vagens sem semente foram menores (Tabela 3), mostrando que os cruzamentos recíprocos foram diferentes. Resultados divergentes entre cruzamentos e seus recíprocos caracterizam efeito citoplasmático, do contrário os cruzamentos deveriam ser iguais aos seus recíprocos, representando assim que a herança do caráter é controlada por genes nucleares (RAMALHO; SANTOS; PINTO, 2008). Segundo Wu & Matheson (2001), há a necessidade de considerar o

controle de genes nucleares e não nucleares na característica para seleção de plantas, pois quando ocorre o efeito citoplasmático é de fundamental importância a escolha do genitor feminino.

Tabela 3. Comparação entre as médias das características avaliadas na hibridação das cultivares de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.)

Tratamento	VSS ¹	CMV ¹	S/V ¹	MS ¹	CMS ¹
Vermelho x Preto	5,44 a	9,81 b	1,50 b	0,58 a	14,42 b
Cranberry x Vermelho	5,39 a	12,59 a	2,55 b	0,68 a	16,36 a
Vermelho x Cranberry	4,22 a	14,54 a	2,88 b	0,77 a	18,34 a
Vermelho x Carioca	2,46 b	13,43 a	2,32 b	0,90 a	20,53 a
Cranberry x Carioca	2,40 b	14,54 a	3,78 a	0,78 a	16,95 a
Cranberry x Preto	1,90 b	13,40 a	3,35 a	0,68 a	16,26 a
Carioca x Preto	1,80 b	12,18 a	4,12 a	0,42 b	12,57 b
Preto x Carioca	1,00 b	10,88 b	5,18 a	0,34 b	11,25 b
Preto x Cranberry	1,00 b	10,58 b	4,68 a	0,31 b	11,48 b
Carioca x Vermelho	1,00 b	10,55 b	3,80 a	0,44 b	12,80 b
Preto x Vermelho	1,00 b	10,47 b	4,58 a	0,32 b	11,49 b
Carioca x Cranberry	1,00 b	11,38 b	3,58 a	0,38 b	12,29 b

** Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Scott Knott

¹Nota: VSS (%vagem sem semente), CMV (comprimento médio da vagem em centímetros), S/V (semente por vagem), MS (massa média das sementes em gramas), CMS (comprimento médio das sementes em milímetros)

Atenta-se ao fato que para o grupo formado pelas maiores médias na variável porcentagem de vagem sem sementes, duas delas são representadas pelo cruzamento entre as cultivares andinas (BRS – Embaixador e BRS - Executivo) (Tabela 3). Com esse fato, sugere-se que algum fator genético nessas cultivares ocorra para resultar em uma maior quantidade de vagens sem sementes. Com isso, percebe-se que não necessariamente, há uma incompatibilidade ente os grupos andino e mesoamericano, mas pode estar relacionado com a sensibilidade floral das cultivares andinas. Uma alta porcentagem de vagens sem semente prejudica o rendimento final de grãos.

Em relação ao comprimento médio da vagem, houve predominância de valores maiores quando o genitor materno foi uma das cultivares do grupo andino, exceto o cruzamento entre a cultivar do grupo comercial vermelho (genitor materno) e preto (genitor masculino), que obteve a menor média dentre todos os tratamentos (9,81 cm) (Tabela 3). Esse resultado sugere que houve incompatibilidade no cruzamento da cultivar BRS - Embaixador com a cultivar BRS - Campeiro, onde o

crescimento em comprimento da vagem pode ter sido prejudicado. Outra explicação viável refere-se que nesse caso específico, houve predominância do controle de genes nucleares. O cruzamento e seu recíproco não apresentaram diferença significativa para o comprimento de vagem, sendo assim, a escolha do genitor feminino não teve influência na hibridação entre essas cultivares já que a segregação é mendeliana. A característica comprimento de vagem do ponto de vista de seleção, não é uma característica de grande importância, já que não resulta, necessariamente, em maior número de grãos. Fato verificado por Santos et al (2002), avaliando *Phaseolus lunatus* L., que relatam que variedades de feijão que apresentaram maiores comprimentos das vagens, apresentaram as menores produtividades. Esse fato também foi verificado no presente trabalho.

Visando determinar os tipos principais de ações gênicas de alguns caracteres da vagem entre cruzamentos de feijão de vagem e feijão comum, Mariguele et al (2008) relataram que a característica comprimento de vagem é controlada, principalmente, por alelos dominantes. Porém nem sempre esses alelos atuam no mesmo sentido, alguns tendem a aumentar o tamanho da vagem, mas também há alelos dominantes que atuam diminuindo o comprimento. Em contrapartida, Rodrigues et al. (1998) afirmam que para o feijão de vagem os efeitos gênicos aditivos foram superiores aos de dominância para a variável comprimento de vagem. A mesma conclusão foi obtida por Dos Santos (2013), que afirma que os efeitos aditivos são mais importantes que os de dominância na expressão dessa característica, indicando ganhos satisfatórios com a seleção em gerações segregantes.

Para a característica sementes por vagem foi formado dois grupos entre os cruzamentos e seus recíprocos. Quatro cruzamentos formam o grupo que resultou nas menores médias de sementes por vagem, dentre esses, em três cruzamentos o genitor materno é a cultivar BRS – Embaixador (vermelho) (Tabela 3). O outro cruzamento que compõem esse grupo é entre as cultivares andinas, ou seja, mesmo a cultivar do BRS - Embaixador não sendo o genitor materno, o fato dela estar envolvida na hibridação resultou nas menores médias. De maneira geral, as cultivares do grupo andino produzem uma média de 2,9 (DA SILVA et al, 2008). Para as cultivares do grupo mesoamericano, o feijão carioca produz em média 6,0 sementes/vagem (DE CARVALHO, 2012) e o feijão preto 7,6 sementes/vagem (SALGADO et al, 2011). Com as médias obtidas no presente trabalho para cada

cruzamento, observa-se que a característica número de sementes por vagem tende a refletir a média do genitor materno. Em contrapartida, Baldissera et al (2012) realizando cruzamentos dialélicos no feijoeiro, relatou não haver efeito recíproco para número de grãos por vagem, admitindo que o efeito citoplasmático da mãe não está influenciando a característica.

O número de sementes por vagem é um dos caracteres de maiores potencialidades para seleção e identificação de genótipos superiores para rendimento de grãos do feijoeiro (Cabral et al., 2011). Pereira Filho et al (1987), avaliando progênies de feijão observaram que a seleção para o aumento do número de vagens e número de sementes por vagem contribui para o incremento na produção de grãos da cultura. De maneira semelhante, Barili et al (2010), analisando a produtividade de grãos e seus componente primários, evidenciaram uma associação significativa e positiva com a característica número de sementes por vagem com o rendimento de grãos. Com relação à herança da característica número de sementes por vagens em feijão, Dos Santos et al (1985) relatam que a ação gênica aditiva foi predominante em relação à dominância. Da mesma forma, Gonçalves (2013) constatou a predominância de efeitos de aditividade na herança do caráter para a característica sementes por vagem. A presença de efeito aditivo é favorecida no melhoramento genético de plantas autógamas, pois é possível obter ganhos genéticos satisfatórios (VALENTINI, 2011).

Em relação à variável massa média de semente, as cultivares do grupo andino quando utilizadas como genitores materno, foram responsáveis pelas maiores médias de massa de cada grão, variando entre 0,58 a 0,90 gramas. As cultivares mesoamericanas quando utilizadas como genitor materno, apresentaram a massa da semente variando entre 0,31 a 0,44 gramas, havendo assim a formação de dois grupos para essa variável (Tabela 3). Segundo Ribeiro et al (2001), o peso de grãos é um dos caracteres que contribui para o aumento do rendimento de grãos de feijoeiro comum, por apresentar correlação positiva. Além disso, é um caráter que tem grande relevância para separação de grupos na diversidade genética (COELHO et al, 2007). As cultivares do grupo carioca e preto, pertencentes ao pool gênico mesoamericano, tem peso médio de 0,29 (IAPAR, 2015) e 0,25 gramas/semente (BRASIL, 2015), respectivamente. Diferentemente, as cultivares do grupo vermelho e cranberry, pertencentes ao pool gênico andino, tem peso médio de 0,75 gramas (EMBRAPA, 2007; AIDAR et al, 2008).

Essa diferença encontrada para a variável massa de sementes, entre os cruzamentos e seus recíprocos, assim como ocorreu em outras características do presente trabalho, sugere que há efeito citoplasmático na herança dessas características. Dos Santos (2009) indica haver herança materna envolvida no peso de sementes, sugerindo que a escolha do genitor feminino para a realização de cruzamentos dirigidos deve ser levada em consideração, quando os genótipos divergem no peso de grãos. Esse caráter apresenta grande variação genética e ambiental (MENEZES et al, 1994; COIMBRA et al, 1999) e há predominância de ação gênica aditiva (SOUZA & RAMALHO, 1995). Borel et al (2012) confirmou o predomínio de variância aditiva no controle genético na massa de 100 grãos, além de resultar em uma herdabilidade no sentido amplo de 87,93%. Quando há efeito aditivo de genes, os genótipos com maiores médias devem ser selecionados para a característica em um programa de melhoramento. Esse fato possui importância no melhoramento genético de plantas, uma vez que, os efeitos de aditividade são herdáveis sendo fixados ao longo de sucessivas gerações (DE CARVALHO et al, 1999).

A variável comprimento médio da semente, através do teste de comparação de médias, resultou na formação de dois grupos. O grupo responsável por médias maiores, variando de 16,26 a 20,52 cm, foi composto basicamente quando o genitor materno era do grupo andino. E o outro grupo composto, quando utilizado o genitor materno do grupo mesoamericano, resultou nas menores médias, variando de 11,25 a 14,42 cm. Como em outras características anteriores, ressalta-se o cruzamento entre as cultivares BRS – Embaixador (vermelho) e BRS – Campeiro (preto), que mesmo o genitor materno sendo do grupo andino, o comprimento da semente se assemelhou estatisticamente dos cruzamentos quando o genitor materno era mesoamericano. Tal fato reforça a ideia de que o feijão preto, sendo genitor paterno, quando cruzado com o feijão vermelho, sendo genitor materno, exerce um efeito genético maior quando comparado aos outros cruzamentos. Outra consideração sobre o comprimento da semente, refere-se a diferença encontrada entre os cruzamentos e seus recíprocos. Novamente aqui sugere-se a presença do efeito citoplasmático para a característica. O tamanho da semente é um exemplo conhecido onde o efeito materno é considerado a principal explicação de resultados de cruzamentos recíprocos (DE PAULA, 2004). O comprimento da semente é uma das características utilizadas para definir o tamanho da semente, porém não foram

encontrados trabalhos direcionados especificamente para a característica comprimento da semente.

Na Tabela 4 são apresentados os quadrados médios para as características relacionadas à germinação das sementes híbridas, resultantes do cruzamento entre as cultivares. Observa-se que para as características dias para germinação, porcentagem de germinação normal e porcentagem de não germinadas não houve diferença para os híbridos avaliados dos cruzamentos e seus recíprocos.

Tabela 4. Quadrados médios para as características avaliadas na germinação das sementes híbridas de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*L.)

F.V	GL	DPG	GERM	N GERM
Tratamentos	11	1,44 ^{ns}	2,66 ^{ns}	1,73 ^{ns}
Erro	33	3,07	2,29	1,88
C.V (%)		18,00	13,46	79,85
Média		9,00	9,54	1,90

* Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

^{ns} não significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

¹Nota: DPG (dias para germinação), GERM (porcentagem de germinação normal), N GERM (porcentagem de sementes não germinadas).

A semente do feijoeiro comum leva em média cinco dias para germinar (DINIZ, 2006). As cultivares utilizadas (BRS – Embaixador, BRS – Executivo, BRS – Campeiro e IPR Tangará) germinaram aos sete dias após a semeadura (Dados não apresentados). Para os híbridos obtidos dos cruzamentos e seus recíprocos realizados no presente trabalho, a média de dias para germinação foi de nove dias. Não ocorrendo atraso na germinação e não resultando em diferença significativa nos cruzamentos e seus recíprocos, sugere-se que não ocorreu incompatibilidade entre os pool gênicos nessa característica. Da mesma forma, a porcentagem de germinação normal e porcentagem de sementes não germinadas não apresentaram diferença estatística entre os cruzamentos e seus recíprocos. A média de germinação foi de 92% (dados não transformados), sugerindo que o cruzamento entre os pools gênicos andino e mesoamericano não apresentaram incompatibilidade. Ressalta-se que essa incompatibilidade sugerida foi avaliada até a germinação dessas sementes, não podendo afirmar que essa característica seja ausente nos híbridos. Há a necessidade de estudos direcionados à planta híbrida para verificação desse efeito entre os cruzamentos andino e mesoamericano.

De maneira geral, no presente trabalho, as características avaliadas mostraram comportamento diferencial nos cruzamentos recíprocos. Quando a característica de interesse no melhoramento genético apresenta efeito citoplasmático, é de grande importância à escolha de quem será o genitor feminino da hibridação, diferentemente de quando a característica é governada por genes nucleares que apresentam segregação mendeliana. O efeito citoplasmático pode ser oriundo do efeito materno ou herança extracromossômica. O efeito materno é um caso de herança controlado pelos genes nucleares da mãe que irão determinar algumas características fenotípicas do filho independentemente dos genes doados pelo pai, por serem responsáveis por certas condições no citoplasma do óvulo. Salienta-se que o efeito materno se dará apenas uma ou duas gerações na expressão dos caracteres nos descendentes (DOS SANTOS, 2009). Algumas variáveis como o teor de proteína (LELEJI et al, 1972), tempo de cocção dos grãos (RIBEIRO et al, 2006) e o teor de cálcio (JOST, 2008) apresentam efeito materno na cultura do feijão comum. A herança extracromossômica deriva de genes situados em organelas do citoplasma (mitocôndrias e/ou cloroplastos), o descendente de um cruzamento recebe essencialmente o citoplasma do óvulo, os caracteres que possuem essa herança apresentam assim, o mesmo fenótipo da mãe (RAMALHO; SANTOS; PINTO, 2008).

Do exposto, fica evidente a divergência nos resultados dos cruzamentos e seus recíprocos, sugerindo que a seleção do genitor materno é de grande importância nos cruzamentos entre feijoeiro comum para essas características, devido a influência do efeito citoplasmático. Para tanto, é necessário dar continuidade ao estudo das gerações seguintes, definindo se esse efeito citoplasmático é oriundo do efeito materno ou herança extracromossômica. Ambos os pools gênicos possuem características interessantes a serem combinadas em um único genótipo. Devido aos cruzamentos, no presente trabalho, não apresentarem incompatibilidade entre os grupos, a hibridação se torna um método eficaz para obtenção da variabilidade genética, seguido de seleção dos híbridos. Além disso, salienta-se que na literatura é relatado que a maior parte das características desse estudo, possui interação aditiva, ou seja, a seleção de genitores superiores irá produzir uma descendência também superior devido as características serem herdáveis. Com isso, possibilita a escolha de métodos adequados no programa de melhoramento de feijão, obtendo assim ganhos genéticos satisfatórios. Valério et al

(2009), relata que em plantas autógamas, a importância de efeitos aditivos na expressão do caráter é mais pronunciada, uma vez que os alelos são fixados após sucessivas gerações de autofecundação, salientando, novamente, na continuidade de estudos das gerações segregantes a partir dos híbridos.

5 CONCLUSÃO

Das características avaliadas, aquelas com diferenças significativas, apresentaram valores médios diferentes entre os cruzamentos e seus recíprocos, com possível herança por efeito citoplasmático.

A incompatibilidade entre os pools gênicos não foi verificada, já que houve formação de vagens e com sementes com potencial de germinação normal nos cruzamentos entre os dois grupos.

REFERÊNCIAS

- AFONSO, Sílvia Marlene Esteves. **Caracterização físico-química e atividade antioxidante de novas variedade de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)**. 2010. 44 p. Dissertação (Mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar) – Escola Superior Agrária de Bragança, Bragança , 2010.
- AIDAR, Homero, et al. **BRS Executivo: feijão comum com tipo de grão cranberry para o mercado internacional**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, dez 2008.
- ARANTES, Lúcio de Oliveira et al. Controle genético da incompatibilidade do cruzamento entre cultivares andinas e mesoamericanas de feijoeiro comum. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 32, n. 3, p. 978-980, maio/junho. 2008.
- BALDISSERA, Joana Neres da Cruz, et al. Capacidade combinatória e efeito recíproco em características agrônômicas do feijão. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 2, p. 471-480, abr, 2012.
- BARILI, Leiri Daiane, et al. Componentes de rendimento em acessos de feijão. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v. 9, n. 2, p. 125-133. 2010.
- BERTOLDO, Juliano Garcia. **Melhoramento de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) para condições de cultivo da Serra Catarinense com o uso de germoplasma promissores: ciclo de planta prolongado e elevada estatura**. 2011, 166 p. Tese (Doutorado Recursos Genéticos Vegetais) – Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2011.
- BITOCCHI, E. et al. Mesoamerican origin of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is revealed by sequence data. **PNAS**, Washington, v.109, n.14, p.788-796, jul. 2012.
- BOREL, Jerônimo Constantino, et al. Componentes da variância genética no cruzamento de feijões andinos e mesoamericanos. In: **Congresso Nacional de Pesquisa de Feijão**, 10, 2011, Goiânia. Anais... Goiânia: Embrapa Arroz e Feijão, 2011. 2012.
- BORÉM, Aluizio. **Melhoramento de Espécies Cultivadas**. Ed 2, Viçosa, Editora UFV. 969 p. 2009.
- BRASIL. Embrapa. Embrapa Transferência de Tecnologia (Org.). **Catálogo de Produtos e Serviços**. 2015. Disponível em: <http://www.catalogosnt.cnptia.embrapa.br/catalogo20/catalogo_de_produtos_e_servicos/arvore/CONTAG01_582_27112006163237.html>. Acesso em: 10 nov. 2015.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes** / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília, Mapa/ACS, 2009. 399 p.

BRUZI, Adriano Teodoro, et al. Desempenho de famílias do cruzamento entre linhagens de feijões andinos e mesoamericanos em produtividade e resistência a *Phaeoisariopsis griseola*. **Ciências e Agrotecnologia**, Lavras, vol.31, n.3, p. 650-655, jun. 2007.

CABRAL, Pablo Diego Silva, et al. Análise de trilha do rendimento de grãos de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) e seus componentes. **Revista Ciência Agronômica**, Fortaleza, v. 42, n. 1, p. 132-138, mar. 2011.

CARNEIRO, J.C, et al. Perfil sensorial e aceitabilidade de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n.1, p.18-24, mar. 2005.

CELIN, Elaine Facco. **Caracterização morfoagronômica de acessos do banco ativo de germoplasma de feijão da UFV**. 2011. 43 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2011.

CHIORATO, Alisson Fernando. **Divergência genética em acessos de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) do banco de germoplasma do Instituto Agrônomo – IAC**. 2004. 85 p. Tese (Mestrado em Melhoramento Vegetal) – Instituto Agrônomo, Campina, 2004.

CIAT. **Anual report 1977**. Cali. P. B-83.

COELHO, Cileide Maria Medeiros, et al. Diversidade genética em acessos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 5, p. 1241-1247, out. 2007.

COIMBRA, J.L.M., GUIDOLIN, A.F., CARVALHO, F.I.F. Parâmetros genéticos do rendimento de grãos e seus componentes na seleção indireta em genótipos de feijão. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n. 1, p. 1-6, 1999.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. v 2 – Safra 2014/15, n. 12 – Décimo Segundo Levantamento, set 2015.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos**. v 1 – Safra 2013/14, n. 12 – Décimo Segundo Levantamento, set 2014.

DA SILVA, Corival Cândido et al. **Feijão comum cultivar BRS Embaixador: espaçamento e densidade de semeadura**. 4p. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, dez. 2008 (Circular Técnica, 80).

DA SILVA, Osmira Fátim; WANDER, Alcido Elenor. **O feijão-comum no Brasil: passado, presente e futuro**. 63 p. Ed Embrapa Arroz e Feijão, Goiás, 2013.

DE CARVALHO, Ana Cristina P. P., et al. Capacidade de combinação para oito caracteres agrônômicos em cultivares de feijão-de-vagem de crescimento determinado. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 17, n. 2, p. 102-105, jul. 1999.

DE CARVALHO, Orlei Amilton. **Relações entre a classificação e a qualidade das sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)**. 2012. 64 p. Dissertação (Mestrado em Agricultura) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa. 2012.

DE PAULA, Sílvia Regina Rodrigues. **Efeito materno associado à capacidade de cozimento do feijoeiro**. 2004. 54 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.

DE SOUZA, Carolina Maria Palácios. **Análise dialéctica para caracteres quantitativos e qualitativos entre genótipos de feijão-de-vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) de porte determinado**. 2012. 85 p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campo dos Goytacazes. 2012.

DINIZ, Belisia Lúcia Moreira T.. **Cultura do feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.)**. 2006. Centro de Ciências Agrárias – Fitotecnia, Fortaleza. 2006.

DOS SANTOS, Fernanda Raquel Camilo. **Obtenção de Linhagens de grãos do tipo especial em *Phaseolus vulgaris* por meio de retrocruzamentos**. 2009. 61 p. Dissertação (Mestrado em Genética, Melhoramento Vegetal e Biotecnologia) – Instituto Agrônomo, Campinas. 2009.

DOS SANTOS, João Bosco, et al. Controle genético da produção de grãos e de seus componentes primários em feijoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 20, n. 10,, p. 12003-1211, out. 1985.

DOS SANTOS, Marilene Hilma. **Melhoramento do feijão-de-vagem: herança da resistência a *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* e potencial agrônomo de linhas parcialmente endogâmicas obtidas pelo método SSD**. 2013. 117 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campo dos Goytacazes. 2013.

EMBRAPA, Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão – CNPAF. **BRS Embaixador: cultivar de feijão comum com tipo de grão para exportação**. Goiás: Embrapa Arroz e Feijão. 2007.

EMBRAPA, Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão – CNPAF. **Cultivo do feijoeiro comum**. Goiás: Embrapa Arroz e Feijão: Sistemas de produção, 2, 2003.

GONÇALVES, João Guilherme Ribeiro. **Identificação de linhagens de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) tolerantes à seca**. 2013. 82 p. Tese (Doutorado em Genética, Melhoramento Vegetal e Biotecnologia) – Instituto Agrônomo, Campinas. 2013.

IAPAR - Instituto Agrônomo do Paraná (Paraná) (Org.). **Principais características das cultivares de feijão com sementes disponíveis no mercado**. 2015. Disponível em: <<http://www.iapar.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=1363>>. Acesso em: 10 nov. 2015.

JOST, E., et al. Genetic effects of the calcium content in common bean. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 1, p. 31-37, fev. 2009.

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

LOPES, Rodrigo Lorencetti. **Características tecnológicas de genótipos de feijoeiro em razão de épocas de cultivo e períodos de armazenamento**. 2011, 64 p. Dissertação (Mestrado em Genética, Melhoramento Vegetal e Biotecnologia) – Instituto Agronômico, Campinas. 2011.

MARIGUELE, Keny Henrique, et al. Controle genético da qualidade de vagem em cruzamento de feijão-vagem e feijão-comum. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 1, p. 47-52, jan. 2008.

MEDEIROS, Luis Aquiles Martins. **Resistência Genética do Feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) ao *Colletotrichum lindemuthianum***. 2004. 84 p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2004.

MENEZES, N. L., MANARA, W., PASINATTO, P. R. Caracterização de vagens e sementes em genótipos de feijão. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 24, n. 1, p. 193-196, 1994.

NORA, Gracieli Dalla. **Caracterização citogenética de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.)**. 2012. 37 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2012.

PEREIRA FILHO, Israel AlexandrE, et al. Avaliação de progênies de feijão e estimativas de parâmetros genéticos na região do Alto São Francisco em Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 9/10, p. 987-993, set/out. 1987.

PETERNELLI, Luiz Alexandre et al. Hibridação do Feijão. In: ALUÍZIO BORÉM. **Hibridação artificial de plantas**. 2 ed. Atual. Ampl. – Viçosa, MG: Ed. UFV, 2009.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; PINTO, C. A. B. P. **Genética na Agropecuária**. 4. ed. Lavras: UFLA. p. 460. 2008.

RAMALHO, Magno A., SANTOS, João Bosco. Melhoramento do Feijão. **Informativo Agropecuário**, Belo Horizonte, v 8, n. 90, p. 16-19, jun. 1982.

RAMOS JUNIOR, Edison U. et al. Componentes da produção, produtividade de grãos e características tecnológicas de cultivares de feijão. **Bragantia**, Campinas, vol. 64, n.1, p. 75-82, 2005.

RECK, Sandra Aparecida Camacho. **Avaliação de cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) em resposta à adubação silicatada**. 2010. 52 p. Dissertação (Mestre em Genética e Melhoramento) – Universidade Estadual do Paraná, Maringá, 2010.

RIBEIRO, Elba Honorato. **Avaliação de linhagens endogâmicas recombinadas de feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.) obtidas pelo método SSD (Single Seed Descent)**. 2007. 66 p. Dissertação (Mestre em Genética e Melhoramento) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campo dos Goytacazes. 2007.

RIBEIRO, S.R.R.P. , et al. Maternal effect associated to cooking quality of common bean. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.6, n.4, p.304-310, 2006.

RIBEIRO, Nerinéia D., et al. Correlações genéticas de caracteres agromorfológicos e suas implicações na seleção de genótipos de feijão carioca. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 7, n. 2, p. 93-99, mai/ago. 2001.

RODRIGUES, Rosana et al. Análise dialélica de seis características agronômicas em *Phaseolus vulgaris* L. **Bragantia**, Campinas, v. 57, n. 2, p. 241-250. 1998.

SALGADO, Fabricio Henrique Moreira, et al. Comportamento de genótipos de feijão, no período da entressafra , no sul do Estado de Tocantins. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 27, n. 1, p. 52-58, jan/feb. 2011.

SANTOS, Djail, et al. Produtividade e morfologia de vagens e sementes de variedades de fava no Estado de Paraíba. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 10, p. 1407-1412, out. 2002.

SILVA, Eduardo Luiz da., et al. Viabilidade financeira da produção de feijão nos sistema automatizado de irrigação. In: **XLVI Congresso da Sociedade Brasileira de Economia, administração e sociologia rural**. Viçosa – Minas Gerais, 2008.

SILVA, Gliciane Micaele Borges. **Formação de um painel de diversidade genética em feijão comum**. 2011. 50 p. Tese (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) - Instituto Agronômico, Campinas, 2011.

SINGH, Shree P.; NODARI, R.; GEPTS, P.. Genetic diversity in cultivated common bean: I. Allozymes. **Crop Science**, vol. 31, p. 19-23, January-February. 1991.

SOUZA, E.A ., RAMALHO, M.A . P. Estimates of genetic and phenotypic variance of some traits of dry bean using a segregant population from the cross “Jalo x Small White “ **Revista Brasileira de Genética** , Ribeirão Preto, v.18, n.1, p.87-91, 1995.

TSUTSUMI, Claudio Yuji et al. Melhoramento Genético do feijoeiro: avanços, perspectivas e novos estudos, no âmbito nacional. **Nativa**. Sinop, v. 03, n. 03, p. 217-223, jul/set. 2015.

VALENTINI, Giseli. **Fontes de resistência e herança genética da murcha de *Curtobacterium* causada por *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens* em feijão**. 2011. 61 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2011.

VALÉRIO, I.P., et al. Combining ability of wheat genotypes in two models of diallel analyses. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.9, n.2, p.100-107, 2009.

VIEIRA, C. Sobre a hibridação natural em *Phaseolus vulgaris* L. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 11, n. 63, p. 103-107, jul/dez. 1960.

WU, H. X.; MATHESON, A. C. Reciprocal, maternal and nonmaternal effects in radiata pine diallel mating experiment on four Australia sites. **Forest genetics**, v. 8, n. 3, p. 205-212, 2001.