

Novo gene produzindo cotilédone verde em feijão-caupi¹

New gene producing green cotyledon in cowpea

Francisco Rodrigues Freire Filho², Maurisrael de Moura Rocha³, Valdenir Queiroz Ribeiro⁴, Semiramis Rabelo Ramalho Ramos⁵ e Cristina de Fátima Machado⁶

Resumo- O objetivo deste trabalho foi estudar a genética da cor verde do cotilédone da cultivar de feijão-caupi 'Todo-verde', utilizando dois grupos de cruzamentos. No primeiro grupo, a cultivar Todo-verde foi cruzada com as cultivares Bettergreen e Green Dixie Blackeye para realizar o teste de alelismo em relação ao gene *gc* (*green cotyledon*) presente nessas cultivares. No segundo, a cultivar Todo-verde foi cruzada com as cultivares BRS-Guariba e BR2-Bragança para estudar a herança do caráter. Os cruzamentos foram realizados em casa-de-vegetação e o experimento de campo foi realizado sob cultivo irrigado por aspersão convencional, na Embrapa Meio-Norte, em Teresina, Piauí, no ano de 2004. O delineamento experimental foi o de blocos aumentados, com quatro repetições. Os parentais constituíram os tratamentos comuns e as demais gerações os tratamentos regulares. Foi usado o teste do χ^2 para a análise dos dados. O teste de alelismo indicou que o gene que condiciona o cotilédone verde na cultivar Todo-verde não é alelo do gene que produz cotilédone verde nas cultivares Bettergreen e Green Dixie Blackeye. O estudo da herança indicou que a cor verde na cultivar Todo-verde é um caráter monogênico recessivo. Foram sugeridos para esse gene o nome *green cotyledon-2* e o símbolo *gc-2*.

Termos para indexação: Grão verde, Teste de alelismo, *Vigna unguiculata*

Abstract- This work aimed to study the genetics of green cotyledon of Todo-verde cultivar using two groups of crossing. The first one the Todo-verde cultivar was crossed with Bettergreen and Green Dixie Blackeye cultivars to test allelic relationship between Todo-verde cultivar gene and the *gc* gene present in these cultivars. The second one the Todo-verde cultivar was crossed with BRS-Guariba and BR2-Bragança cultivars to study the inheritance of the green cotyledon. All the crosses were performed in greenhouse and the experiment was carried out in the field, under irrigation by a conventional aspersion system at Embrapa Meio-Norte, in Teresina, Piaui, in 2004. We used a completely randomized design with four blocks. The parental constituted the common treatments and the generations F₁, F₂ and the backcrossing the regular treatments. Qui Square test was used to analyze the data. The allelism test indicated that the gene that produces the green cotyledon presented by Todo-verde cultivar is not allelic with *gc* gene which produce the same trait in Bettergreen and Green Dixie Blackeye cultivars. The inheritance study showed that Todo-verde cultivar green cotyledon is controlled by a single recessive gene. The name *green cotyledon-2* and the symbol *gc-2* were suggested to the new gene.

Index terms: *Vigna unguiculata*, Allelism test, Green seed

¹ Recebido para publicação em 15/09/2006; aprovado em 12/05/2007

² Eng. Agrônomo, D. Sc., Embrapa Meio-Norte. Av. D. de Caxias, 5650, CEP: 64006-220, Teresina - PI, freire@cpamn.embrapa.br

³ Eng. Agrônomo, D. Sc., Embrapa Meio-Norte. Av. D. de Caxias, 5650, CEP: 64006-220, Teresina - PI, mmrocha@cpamn.embrapa.br

⁴ Eng. Agrônomo, M. Sc., Embrapa Meio-Norte. Av. D. de Caxias, 5650, CEP: 64006-220, Teresina - PI, valdenir@cpamn.embrapa.br

⁵ Eng. Agrônomo, D. Sc., Embrapa Meio-Norte. Av. D. de Caxias, 5650, CEP: 64006-220, Teresina - PI, srrramos@cpamn.embrapa.br

⁶ Eng. Agrônomo, D. Sc., Bolsista/CNPq, Embrapa Meio-Norte. Av. D. de Caxias, CEP: 5650, 64006-220, Teresina - PI, crisagronoma@yahoo.com.br

Introdução

Há um grande consumo de feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] na forma de feijão-verde na região Nordeste. Na verdade a palavra verde se refere mais ao estágio em que a vagem é colhida do que propriamente à cor dos grãos. É um produto que tem um grande potencial para a expansão do consumo, como também para processamento industrial. Todo o comércio é realizado em forma vagem ou de grãos debulhados, sem nenhum processamento. Embora estudos tenham identificado cultivares altamente produtivas (OLIVEIRA et al., 2002, 2003; NASCIMENTO et al., 2004), o feijão-verde ainda não é comprado pela cultivar e nem pelos seus atributos de qualidade; o que determina a escolha do consumidor é o preço (OLIVEIRA et al., 2001). Poucos trabalhos têm mencionado a preocupação com a qualidade do feijão-verde (MIRANDA; ANUNCIACÃO FILHO, 2001).

Para a produção de feijão-verde, geralmente são preferidas cultivares de grãos brancos ou do tipo sempre-verde. Entretanto, também são usados cultivares com grãos de outras cores, como mulato, azulada e corujinha (FREIRE FILHO et al., 2002). Com exceção da cor branca, nas demais cores, na medida em que a vagem ou grão debulhado vai perdendo a umidade, o grão vai adquirindo a cor natural de grão seco, ou seja, vai escurecendo e isso deprecia o produto. Alguns trabalhos têm sido realizados visando resolver esse problema por meio de técnicas de processamento dos grãos (FORTUNATO; MAGALHÃES, 2000; LIMA et al., 2000; LIMA et al., 2003). Outra alternativa para resolver esse problema é por meio genético com a obtenção de cultivares com grãos com tegumento e cotilédones de cor verde, que não tenham uma forte descoloração com a perda gradativa da umidade (FREIRE FILHO et al., 2002).

Dois genes foram identificados produzindo grão verde em feijão-caupi e conferindo um excelente padrão comercial ao produto. O gene *gt* (*green testa*) identificado por Chambliss (1974), condiciona o tegumento de cor verde, e o gene *gc* (*green cotyledon*), que condiciona cotilédone de cor verde, foi identificado por Fery e Dukes (1994). No mercado americano há cultivares com o gene *gt*, Freezegreen (CHAMBLISS, 1979), e Genegreen (CHAMBLISS; HUNTER, 1992). Com gene *gc*, Bettergreen (FERY et al., 1993), Charleston Greenpack (FERY, 1998), Petite-N-green (FERY, 1999), Green Pixie (FERY, 2000) e Green Dixie Blackeye (FERY, 2002) e com ambos, Dublegreen Delight (FERY, 2002).

O objetivo deste trabalho foi determinar se a cor verde dos cotilédones presente na cultivar Todo-verde, é condicionada pelo gene *gc* e estudar a herança desse caráter.

Material e Métodos

A cultivar de feijão-caupi Todo-verde, foi coletada na fazenda Castelano, no município de Palmeiras, Piauí, em 1981. Foi registrada no Banco Ativo da Embrapa Meio-Norte com o código TE-636 e no Banco Base de Germoplasma da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, com o código BRA 091669. Apresenta hábito de crescimento indeterminado, folha globosa, flor roxa, vagem imatura de cor verde e levemente esverdeada, quando seca, grão com tegumento marrom e cotilédones verdes (Figura 1).

Foram realizados dois grupos de cruzamentos, em casa-de-vegetação, na Embrapa Meio-Norte, em Teresina - Piauí. Um grupo para o teste de alelismo e outro para o estudo da herança da cor verde dos cotilédones. Para o teste de alelismo, a cultivar Todo-verde, de cotilédone verde, foi cruzada com as cultivares Bettergreen (Fery et al., 1993) e Green Dixie Blackeye (Fery, 2002), ambas também de cotilédones verdes e portadoras do gene *gc*. Nesses cruzamentos, foram obtidas as gerações F_1 e a F_2 , estas por auto fecundação natural das gerações F_1 . Para saber se se tratava de um mesmo gene ou de genes diferentes foram formuladas as seguintes hipóteses: H_0 - a cultivar Todo-verde tem o mesmo gene *gc* dos dois parentais avaliados, as sementes F_1 apresentam cotilédones verdes e não há segregação na geração F_2 ; H_1 - a cultivar Todo-verde tem um gene diferente do *gc*, de efeito dominante, e as sementes F_1 apresentam cotilédones verdes e há segregação na geração F_2 ; H_2 - a cultivar Todo-verde tem um gene diferente do *gc*, de efeito recessivo, e as sementes F_1 têm cotilédones cremes e há segregação na geração F_2 .

Para o estudo da herança da cor do cotilédone, a cultivar Todo-verde foi cruzada com as cultivares BRS-



Figura 1 - Vagens e grãos da cultivar Todo-verde

Guariba, que tem grãos com tegumento branco e cotilédone creme e, com a BR2-Bragança, que tem grãos e cotilédones cremes. Em cada um desses cruzamentos, foram obtidas as gerações F_1 e F_2 , os retrocruzamentos com ambos os parentais (Figura 2).



Figura 2 - Cores de cotilédones: (a) cotilédone verde, gene *gc*; (b) cotilédone verde, gene *gc-2*; (c) cotilédone creme, gene *GC*

O experimento com os parentais, gerações F_1 , F_2 e retrocruzamentos foi realizado em campo, em cultivo irrigado por aspersão convencional, no segundo semestre de 2004. O delineamento experimental foi o de blocos aumentados (FEDERER, 1961), com quatro repetições. Os

parentais constituíram os tratamentos comuns; as gerações F_1 , usadas no teste de alelismo, e as gerações F_1 , F_2 e retrocruzamentos, usadas no estudo da herança, constituíram os tratamentos regulares. Cada parcela foi representada por uma fileira de 4,0 m. O espaçamento entre fileiras foi de 1,0 m e entre covas, dentro da fileira, de 0,40 m, sendo cultivada uma planta por cova. Para os parentais foram semeadas 3 fileiras por bloco e para as gerações F_2 , 10 fileiras. Em todos os tratamentos, as plantas foram colhidas individualmente e a cor dos cotilédones foi determinada retirando-se o tegumento dos grãos. Os dados observados foram analisados por meio do teste do χ^2 .

O teste de heterogeneidade para as sementes F_2 , envolvendo os três cruzamentos, mostrou que não houve homogeneidade na segregação. Entretanto, considerando-se somente os cruzamentos 'Todo-verde' x 'Bettergreen' e 'Green Dixie Blackeye' x 'Todo-verde', as segregações mostraram-se homogêneas, na proporção de 9 cremes:7 verdes (Tabela 1).

Com base no fenótipo das sementes F_1 e na segregação observada nas sementes F_2 , confirma-se a Hipótese-2, ou seja, a cultivar Todo-verde tem um gene recessivo diferente do *gc* identificado por Fery e Dukes (1994).

Os resultados do estudo da herança da cor do cotilédone são apresentados na Tabela 2. As gerações F_1 , em ambos os cruzamentos, apresentaram todas as plantas com cotilédones cremes.

Tabela 1 - Cor dos cotilédones das sementes dos parentais e das sementes F_1 e F_2 dos cruzamentos para o teste de alelismo.

População	Número de sementes	Cor do cotilédone		Frequência esperada	χ^2	P
		Creme	Verde			
Sementes dos parentais	-	-	-	-	-	-
Todo-verde	82	1	81	-	-	-
Bettergreen	7	-	7	-	-	-
Green Dixie Blackeye	5	-	5	-	-	-
Sementes F_1	-	-	-	-	-	-
Todo-verde x Bettergreen	15	15	0	-	-	-
Bettergreen x Todo-verde	23	23	0	-	-	-
Green Dixie Blackeye x Todo-verde	40	40	0	-	-	-
Sementes F_2	-	-	-	-	-	-
Todo-verde x Bettergreen	235	144	91	9:7	2,41	0,20-0,10
Bettergreen x Todo-verde	367	241	126	9:7	13,23	<0,01
Green Dixie Blackeye x Todo-verde	717	402	315	9:7	0,01	0,95-0,90
Heterogeneidade	-	-	-	9:7	9,39	<0,01
Heterogeneidade ⁽¹⁾	-	-	-	9:7	1,95	0,20-0,10

⁽¹⁾ Teste de heterogeneidade sem o cruzamento Bettergreen x Todo-verde.

Tabela 2 - Segregação para cor do cotilédone em dois cruzamentos de feijão-caupi

População	Número de plantas	Cor do cotilédone		Frequência esperada	χ^2	P
		Creme	Verde			
Todo-verde (TV)	46	0	46	-	-	-
BRS-Guariba (BG)	78	78	0	-	-	-
F ₁ (BG x TV)	80	80	0	-	-	-
F ₂ (TV x BG)	266	210	56	3:1	2,21	0,20-0,10
RC ₁ (F ₁ x TV)	29	16	13	1:1	0,31	0,70-0,50
RC ₂ (F ₁ x BG)	76	76	0	-	-	-
Todo-verde (TV)	36	0	36	-	-	-
BR2-Bragança (BB)	38	38	0	-	-	-
F ₁ (TV x BB)	29	29	0	-	-	-
F ₂ (TV x BB)	203	165	38	3:1	4,27	0,05-0,02
RC ₁ (F ₁ x TV)	39	21	18	1:1	0,23	0,80-0,50
RC ₂ (F ₁ x BB)	8	8	0	-	-	-
Heterogeneidade (F ₂)	-	-	-	3:1	0,334	0,70-0,50
Heterogeneidade (RC ₁)	-	-	-	1:1	0,011	0,95-0,90

Na geração F₂ o teste do χ^2 foi aplicado para a segregação 3 cremes: 1 verde. Ambos os cruzamentos ajustaram-se a essa proporção. Nos retrocruzamentos com o parental ‘Todo-verde’, ambos os cruzamentos também se ajustaram à proporção esperada de 1 creme:1 verde.

O teste de heterogeneidade para as gerações F₂ e para os retrocruzamentos com o parental ‘Todo-verde’ mostrou que ambos os cruzamentos segregaram de forma homogênea. Esse resultado confirma o obtido no teste de alelismo, ou seja, a cor verde do cotilédone da cultivar Todo-verde tem herança monogênica recessiva. Desse modo, seguindo as normas para nomenclatura de genes em feijão-caupi (FREIRE FILHO, 1988), sugere-se para esse gene, presente na cultivar Todo-verde, o nome *green cotyledon-2* e o símbolo *gc-2*.

Conclusão

O cotilédone de cor verde da cultivar Todo-verde é controlado por um gene recessivo diferente do gene *gc* identificado na literatura. Sugere-se para o novo gene o nome *green cotyledon-2* e o símbolo *gc-2*.

Referências Bibliográficas

CHAMBLISS, O. L. “Freezegreen” southernpea. **HortScience**, v. 14, n. 2, 1979.

CHAMBLISS, O. L. Green seed coat: a mutant in southernpea of value to processing industry. **HortScience**, v. 9, p. 126, 1974.

CHAMBLISS, O. L.; HUNTER, A. G. Genegreen: a unique southernpea variety released by AAES. **Highlights of Agricultural Research**, v. 39, p. 16, 1992.

FEDERER, W. T. Augmented designs with one-way elimination of heterogeneity. **Biometrics**, v.17, p. 447-473, 1961.

FERY, R. L. “Charleston greenpack”, a pinkeye type, southernpea with green cotyledon phenotype. **HortScience**, v. 33, p.907-908,1998.

FERY, R. L. “Doublegreen Delight”, a cream type, southernpea with an enhanced persistent green seed phenotype. **HortScience**, v. 37, p. 991-992, 2002.

FERY, R. L. “Green Dixie Blackeye”, a green cotyledon, blackeye type southernpea. **HortScience**, v. 37, n. 1, 233-234, 2002.

FERY, R. L. “Green pixie”, a small-seeded, green cotyledon, cream type southernpea. **HortScience**, v. 35, p. 954-955, 2000.

FERY, R. L. “Petite-N-green”, a small-seeded, fullseason, green cotyledon, pinkeye type southernpea. **HortScience**, v. 34, p. 938-939, 1999.

FERY, R. L.; DUKES, P. D. Genetic analysis of green cotyledon trait in southernpea (*Vigna unguiculata* (L.) walp.). **Journal American of Horticultural Science**, v. 119, n. 5, p. 1054-1056, 1994.

FERY, R. L. DUKES, P. D., MAGUIRE, F. P. “Bettergreen” southernpea. **HortScience**, v. 28, p. 856, 1993.

- FORTUNATO, A. A.; MAGALHÃES, M. M. dos A.; Estudo do feijão verde (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) minimamente processado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 20, n. 3, 2000.
- FREIRE FILHO, F. R. Genética do caupi. In: ARAÚJO, J. P. P. de; WATT, E. E. (Org.). **O caupi no Brasil**. Goiânia: Embrapa-CNPAP; Ibadan: IITA, 1988. p. 158-229.
- FREIRE FILHO, F. R.; CHAMBLISS, O. L.; HUNTER, A. G. Crossing potential in the production of persistent green seeds in cowpea using *gt* and *gc* genes. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 2, n. 2, p. 205-212, 2002.
- LIMA, E. D. P. de; JERÔNIMO, E. de S.; LIMA, C. A. de; GONDIM, P. J. de S.; ALDRIGUE, M. L.; CAVALCANTE, L. F. Características físicas e químicas de grãos verdes de linhagens e cultivares de feijão caupi para processamento tipo conserva. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 7, n. 1, p. 129-134, 2003.
- LIMA, N. L.; EMANUELLE, C.; SILVA, C. L. da; DINIZ, M. do C.; OLIVEIRA, M. R. T. de; GADELHA, T. S. Estudo sobre a conservação de quatro variedades de feijão macassar verde (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.): submetidos a temperaturas de refrigeração e congelamento. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 2, n. 2, p. 57-69, 2000.
- MIRANDA, P.; ANUNCIAÇÃO FILHO, C. J. da. Competição de linhagens de caupi de grãos verdes. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE CAUPI, 5, 2001, Teresina. **Avanços tecnológicos no feijão caupi**: Anais... Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2001. p. 195-198. (Embrapa Meio-Norte. Documento, 56).
- NASCIMENTO, J. T.; PEDROSA, M. B.; TAVARES SORINHO, J. Efeito da variação de níveis de água disponível no solo sobre o nascimento e produção de feijão-caupi, vagens e grãos verdes. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 2, p. 174-177, 2004.
- OLIVEIRA, A. P.; SILVA, V. R. F.; ARRUDA, F. P.; NASCIMENTO, I. S.; ALVES, A. U. Rendimento de feijão-caupi em função de doses e formas de aplicação de nitrogênio. **Horticultura Brasileira**, v. 25, n. 1, p. 77-80, 2003.
- OLIVEIRA, A. P.; TAVARES SOBRINHO, J. T.; NASCIMENTO, J. T.; ALVES, A. U.; ALBUQUERQUE, I. C.; BRUNO, G. B. Avaliação de linhagens e cultivares de feijão-caupi, em Areia, PB. **Horticultura Brasileira**, v. 20, n. 2, p. 180-182, 2002.
- OLIVEIRA, M. R. T. de; BORTOLUZZIA, P.; C. R.; BARACUHY, J. G. de V.; DANTAS JUNIOR, O. R. O agronegócio do feijão macassar verde: alternativas para o pequeno produtor. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ADMINISTRAÇÃO RURAL, 3., 2001. Goiânia. **Anais...** Goiânia: ABAR, 2001. DAF 1001.