

Análises genéticas para proteína total em dois cruzamentos de feijão caupi

Carlos Antonio Fernandes Santos¹; Danielle Carolina Campos da Costa²; Samila Samea da Silva Souza²; Layana Alves do Nascimento²; Weslany Roberto da Silva Vitorino¹

¹ Embrapa Semiárido. CP 23, 56302-970 Petrolina – PE. Email: casantos@cpatsa.embrapa.br, weslany.silva@cpatsa.embrapa.br. ²Bolsista PIBIC CNPq/Embrapa Semiárido. CP 23, 56302-970 Petrolina- PE. E-mails: daniellecarolina_58@hotmail.com, samila_upe@hotmail.com, layana_alves@hotmail.com

RESUMO

Parâmetros genéticos, herdabilidades e número mínimo de genes foram estimados para proteína total no grão usando as médias e variâncias dos parentais, F1s, F2s, BC1s e BC2s de dois cruzamentos de feijão caupi (*Vigna unguiculata*), para auxiliar no desenvolvimento de cultivares com alto teor de proteína. A quantificação de proteínas total nos grãos foi realizada pelo método químico de Kjeldhal. Na F2 do cruzamento IT97K-1042-3 x Canapu, foi encontrada uma planta com 34% de proteína. Herdabilidades no sentido amplo e restrito foram de moderada (60,5%) a alta (89,4%) nos dois cruzamentos. As análises genéticas indicaram a importância dos efeitos aditivos dos genes e da média dos parentais para proteína nos dois cruzamentos. O número mínimo de genes pode ser maior do que três e menor do que sete no cruzamento IT97K-1042-3 x Canapu e maior do que três e menor do que 35 no cruzamento IT97K-1042-3 x BRS Tapaihum, pelo método generalizado do Lande e por intervalo de confiança a 5% da variância das plantas F2 pela técnica do bootstrapping. Esses dados sugerem que o teor de proteína em feijão caupi pode ser aumentado de forma relativamente simples, aplicando-se métodos padrões de melhoramento de plantas autógamas.

PALAVRAS-CHAVE: *Vigna unguiculata*, proteína crua, parâmetros genéticos, número de genes.

ABSTRACT

Genetic analyzes of total proteins in two cowpea crosses

Genetic parameters, heritabilities and minimum number of genes were estimated for total seed protein content using generation mean and variance analyzes of parent1, parent2, F1s, F2s, BC1s and BC2s data from two cowpea crosses (*Vigna unguiculata*), in order to help to develop cultivars with a high protein profile. Dried seed total proteins were quantified by the chemical method of Kjeldhal. One 'IT97K-1042-3 x Canapu' F2 plant was found with 34.1% protein content. Broad and narrow sense heritabilities were moderate (60.5%) and high (89.4%) in the IT97K-1042-3 x BRS Tapaihum and IT97K-1042-3 x Canapu crosses, respectively. The analysis indicated the importance of additive gene effects and the parental mean for total protein in both crosses. The minimum gene number can be higher than three and lower than seven in the IT97K-1042-3 x Canapu cross and higher than three and lower than 25 in the IT97K-1042-3 x BRS Tapaihum cross, by a Lande generalized method and bootstrapping confidence interval at 5% probability of F2 plant variances. These data suggest that cowpea protein content can be easily improved, applying standard breeding methods largely used on self-pollinated crops.

Keywords: *Vigna unguiculata*, crude protein, genetic parameters, gene number.

A má nutrição de proteínas e calorias é uma síndrome que afeta mais do que 170 milhões de crianças em idade pré escolar e mulheres em lactação em países da África e da Ásia, pois a provisão de proteínas de origem animal é difícil e cara. Leguminosas, como o feijão caupi, são importantes para a alimentação humana, pois elas são ricas em proteínas, calorias e certos minerais e vitaminas (Iqbal et al., 2006). O conteúdo nutricional do feijão caupi é similar ao do feijão comum (*Phaseolus*

vulgaris L.), sendo que o feijão caupi tem maiores níveis de ácido fólico e menor níveis de fatores anti nutricionais e fatores produtores da flatulência (Ehlers and Hall, 1997). O feijão caupi é a principal fonte de proteína de origem vegetal na região semiárida brasileira (Vasconcelos et al., 2010). A maioria das cultivares atualmente em uso contem de 22 a 25% de proteínas nos seus grãos (Boukar et al., 2011), e considerando a variabilidade existente esse valor pode ser elevado para até 34% (Lambot, 2002).

Apesar da sua importância, poucos estudos têm sido publicados sobre o controle genético de proteínas de feijão caupi, o que poderia ajudar no planejamento de projetos de melhoramento para elevar esse caráter. Emebiri (1991) reportou que a herdabilidade no sentido amplo variou de 0,70 a 0,78, com a presença de fatores aditivos e não aditivos envolvidos no controle do caráter. Nielsen et al. (1993) reportaram herdabilidade no sentido amplo de 0,95 para proteína do grão e correlação negativa com carboidratos e gorduras. Tchiagam et al. (2011) reportaram herdabilidades no sentido amplo e restrito de 0,74 e 0,28, respectivamente, com a proporção de 0,65 de genes dominantes.

O número mínimo de genes para proteína no grão não foi ainda estimado para feijão caupi, o que pode ser associado com trabalhos de mapeamento genômico, resultando no desenvolvimento de cultivares com alto teor de proteína pela seleção assistida por marcadores. O número mínimo de genes foi estimado para os principais carotenóides em cenoura (Santos & Simon, 2006).

O objetivo do presente estudo foi estimar parâmetros genéticos, tais como herdabilidade, modelo de efeito de genes e número mínimo de genes para teor de proteína na semente em dois cruzamentos de feijão caupi, para auxiliar no desenvolvimento de novas cultivares com alto teor de proteína para a região do semiárido brasileiro.

MATERIAL E MÉTODOS

Gerações F1s, F2s e retrocruzamento (BC) foram obtidas para dois cruzamentos: 'IT97K-1042-3' x 'BRS Tapaihum' e 'IT97K-1042-3' x 'Canapu'. IT97K-1042-3 é uma cultivar do grupo fradinho, desenvolvida e lançada pelo International Institute for Tropical Agriculture (IITA) para o continente africano e tem teor de proteína, estimado em 30% (Singh, 2007). BRS Tapaihum é uma cultivar de grãos de tegumento preto, com teor de proteína em torno de 24%, de porte ereto e crescimento determinado, desenvolvida do cruzamento entre Epace 11 x 293588 pela Embrapa Semiárido e recomendada para o vale do São Francisco. Canapu, uma cultivar local, selecionada e mantida por agricultores do Nordeste do Brasil, apresenta grão de tegumento marrom e teor de proteína em torno de 24%.

A quantificação de proteínas total em feijão seco foi realizada pelo método químico de Kjeldhal. Aproximadamente 10 g de sementes de cada planta foram trituradas no moinho MA 630/1

(Marconi, Brasil) para obter uma farinha fina de cada amostra. As farinhas foram analisadas em duplicadas para cada amostra, de acordo com procedimento padrão da Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1995). A porcentagem de nitrogênio foi calculada usando a fórmula: $\% N = 0.14 * \text{fator de correção da solução de HCl} * \text{volume usado para titular HCl}$. A proteína foi determinada multiplicando a porcentagem de nitrogênio pelo fator 6.25. A proteína total foi corrigida para a matéria seca, que foi obtida após a secagem das amostras a 106°C por 12h. Todas as análises foram realizadas no laboratório de nutrição animal da Embapa Semiárido.

Parâmetros genéticos, incluindo herdabilidades no sentido amplo e no sentido restrito, foram estimados com base nas médias e variâncias das gerações dos cruzamentos IT97K-1042-3 x Canapu e IT97K-1042-3 x BRS Tapaihum. Efeitos gênicos aditivos e de dominância foram estimados pelo método dos quadrados mínimos ponderados das médias das gerações para cada cruzamento. Todas as análises foram realizadas no programa Genes (Cruz, 2006), usando a opção gerações segregantes e não segregantes, disponível no procedimento biometria do programa.

Estimativa adicional para o número mínimo de genes foi obtida pela generalização apresentada por Lande (1981). Essa estimativa assume que os parentais apresentam alguma variação para o caráter e que nem todos os locos são homocigotos. Para estimar o número mínimo de locos e parâmetros genéticos os dados das gerações dos dois cruzamentos foram transformados para raiz quadrada + 1 para tornar a variância aditiva, como sugerido por Lande (1981).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As médias de proteínas foram muito diferentes entre os parentais dos dois cruzamentos: IT97K-1042-3 apresentou valores 1.41x e 1.28x maior do que Canapu e BRS Tapaihum, respectivamente (Tabela 1). A maior variância foi encontrada no parental BRS Tapaihum, que é uma cultivar recentemente desenvolvida, com menor número de autofecundações quando comparada com os outros dois parentais. A média de proteína na cultivar IT97K-1042-3, de 31,15% (Tabela 1), foi muito próxima do valor reportado para essa cultivar, 30%, (Singh, 2007), indicando que o protocolo de proteínas adotado e as condições laboratoriais foram adequados. O maior valor de proteína, 34,12%, foi encontrado na população F2 do cruzamento IT97K-1042-3 x Canapu F2 (Tabela 2), que foi superior ao valor reportado por Nielsen et al. (1993), 32%, entre 100 linhas desenvolvidas pelo IITA.

Herdabilidade ampla e restrita apresentaram valor moderado no cruzamento IT97K-1042-3 x BRS Tapaihum e alto no cruzamento IT97K-1042-3 x Canapu (Tabela 2). Altos valores de herdabilidades para proteína no grão de feijão caupi têm sido reportados por Emebiri (1991),

SANTOS CAF; COSTA DCC da; SOUZA, SS da S; NASCIMENTO LA do. 2012. Análises genéticas para proteína total em dois cruzamentos de feijão caupi. Horticultura Brasileira 30: S4301-S4307.

Nielsen et al. (1993) e Tchiagam et al. (2011). Entretanto, herdabilidade restrita para proteína foi baixa de acordo com Tchiagam et al. (2011).

As análises indicaram a importância dos efeitos gênicos aditivos (a) e o efeito da média parental (m) para o total de proteínas, nos dois cruzamentos, quando comparado com o efeito de dominância (d) (Tabela 3). Essa situação sugere que linhas derivadas podem ser obtidas em gerações avançadas e que o ganho de ciclos de seleções será vantajoso.

Estimativas pelas equações propostas por Lande (1981) variaram de 2,5 a 3,7 genes ou fatores nos dois cruzamentos analisados. Essas estimativas variaram de cinco a sete, com e sem 'bootstrapping' nos dois cruzamentos (Tabela 4). Analisando em conjunto, esses dados sugerem que um pequeno número de genes estão envolvidos no controle genético do teor de proteína em feijão caupi, apesar do alto intervalo de confiança no cruzamento IT97K-1042-3 x BRS Tapaihum.

Apesar de teor de proteína ser um caráter poligênico, o número de genes não foi muito alto, podendo ser maior do que três e menor do que sete no cruzamento IT97K-1042-3 x Canapu e maior do que três e menor do que 25 no cruzamento IT97K-1042-3 x BRS Tapaihum, pelo intervalo de confiança a 5% do 'bootstrapping' (Tabela 4). As estimativas pelas equações de Lande (1981) são apropriadas para parentais geneticamente heterogêneos ou selvagens. As estimativas com base nas variâncias de F2 foram superiores às estimativas pelo método de Lande (1981), provavelmente porque o último método considera a diferença de valores entre os parentais.

Existem claras oportunidades para o desenvolvimento industrial de produtos tendo como matéria-prima proteica o feijão caupi, mas um forte apoio governamental é necessário para organizar a cadeia primária de processamento (Lambot, 2002). Os valores de herdabilidades, a presença de efeitos aditivos e dos parentais e o reduzido número de genes envolvidos no controle genético do conteúdo de proteínas do feijão caupi indicam que o aumento desse caráter pode ser alcançado com relativa facilidade, aplicando métodos largamente usados em espécies de autopolinização. O cenário do feijão caupi sendo uma importante cultura para produção de produtos proteicos, como ocorre com as cultivares de soja no cerrado brasileiro, é possível.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pelo apoio financeiro

SANTOS CAF; COSTA DCC da; SOUZA, SS da S; NASCIMENTO LA do. 2012. Análises genéticas para proteína total em dois cruzamentos de feijão caupi. *Horticultura Brasileira* 30: S4301-S4307.

REFERÊNCIAS

AOAC. 1995. *Official Methods of Analysis*. Arlington: AOAC

BOUKAR O, MASSAWE F; MURANAKA S; FRANCO J; MAZIYA-DIXON B; SINGH BB; FATOKUN C. 2011. Evaluation of cowpea germplasm lines for protein and mineral concentrations in grains. *Plant Genetic Resources: Characterization & Utilization*, :1-8.

CRUZ CD. 2006. *Programa Genes: Biometria*. Viçosa: Editora UFV. 382p.

EMEBIRI L.C. 1991. Inheritance of protein content in seeds of selected crosses of cowpea *Vigna unguiculata* L. Walp. *Journal of Science Food and Agriculture* 54: 1-7.

EHLERS JD, HALL AA. 1997. Cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.). *Field Crop Research* 53: 187-204

IQBAL A, KHALIL IA, ATEEQ N, KHAN M.S. 2006. Nutritional quality of important food legumes. *Food Chemistry* 97:331-335.

LAMBOT C. 2002. Industrial potential of cowpea. In: World Cowpea Conference III. *Annals ...* Ibadan: IITA. p. 367-375.

LANDE R. 1981. The minimum number of genes contributing to quantitative variation between and within populations. *Genetics* 99: 541-553.

NIELSEN SS, BRANDT WE, SINGH BB. 1993. Genetic variability for nutritional composition and cooking time in improved cowpea lines. *Crop Science* 33: 469-472.

SANTOS CAF, SIMON PW. 2006. Heritabilities and minimum gene number estimates of carrot carotenoids. *Euphytica* 151:79-86.

SINGH BB 2007. Recent progress in cowpea genetics and breeding. *Acta Horticulturae* 752:69-76

TCHIAGAM JBN, BELL JM, NASSOUROU AM, NJINTANG NY, YOUMBI E. 2011. Genetic analysis of seed proteins contents in cowpea *Vigna unguiculata* L. Walp. *African Journal of Biotechnology* 1016: 3077-3086

VASCONCELOS IM, MAIA FMM, FARIAS DF, CAMPELLO CC, CARVALHO AFO, MOREIRA RA, OLIVEIRA JT A de. 2010. Protein fractions, amino acid composition and antinutritional constituents of high-yielding cowpea cultivars. *Journal of Food Composition and Analysis* 23: 54-60.

Tabela 1. Número de plantas (N), médias e variâncias transformadas e sem transformação para raiz quadrada + 1 (Sqrt) para seis gerações de dois cruzamentos de feijão caupi analisadas para teor de proteínas nas sementes (Plant numbers (N), means and variances with and without transformations for square root + 1 (Sqrt) for six cowpea generations of two crosses for protein seed contents). Embrapa Semiárido, Petrolina, 2011.

Geração	N	Média		Variância	
		Normal	Sqrt	Normal	Sqrt
IT97K-1042-3 x Canapu					
IT97K-1042-3	21	31.15	5.670	0.17	0.0013
Canapu	31	22.00	4.804	0.64	0.0069
F1	46	23.88	4.988	0.70	0.0072
F2	194	25.20	5.114	4.85	0.0457
BC1 (F1x IT97K- 1042-3)	48	25.74	5.169	2.30	0.0218
BC2 (F1xCanapu)	84	22.41	4.836	1.83	0.0196
IT97K-1042-3 x BRS Tapaihum					
Geração	N	Média		Variância	
		Normal	Sqrt	Normal	Sqrt
IT97K-1042-3	21	31.15	5.670	0.17	0.0013
BRS Tapaihum	23	24.35	5.033	1.08	0.0107
F1	15	26.90	5.281	1.69	0.0154
F2	138	26.17	5.210	2.87	0.0262
BC1 (F1x IT97K-1042-3)	64	27.92	5.386	1.94	0.0166
BC2 (F1xBRS Tapaihum)	57	25.15	5.112	2.05	0.0195

Tabela 2. Estimativas de parâmetros genéticos, de acordo com o método de análise de médias e variâncias de gerações, para dois cruzamentos de feijão caupi, com dados transformados para raiz quadrada +1 (Genetic parameter estimates according to the generation means and variances for two cowpea crosses, with original data transformed for square root + 1). Embrapa Semiárido, Petrolina, 2011.

Parâmetros genéticos	Cruzamento	
	IT97K-1042-3 x Canapu	IT97K-1042-3 x BRS Tapaihum
Variância fenotípica	0.0558	0.0271
Variância ambiental	0.0057	0.0107
Variância genotípica	0.0499	0.0164
Variância aditiva	0.0499	0.0164
Variância dominância	-0.0098	-0.0008
Herdabilidade ampla / restrita	89.40	60.50
Maior valor parental	32.02*	32.02*
Menor valor parental	20.47*	22.50*
Maior valor F2	34.12*	31.10*
Menor valor do F2	20.18*	22.90*

*Dado original, sem transformação para raiz quadrada + 1

Tabela 3. Decomposição não ortogonal da soma de quadrados de parâmetros pelo método de eliminação de Gauss para total de proteínas em dois cruzamentos de feijão caupi, usando dados de seis gerações: parentais, F, F1, F2 e retrocruzamentos. (Analysis of variance by non-orthogonal mean square partitioning applying the Gauss elimination method for total protein in two *Vigna unguiculata* crosses using means of six generations: two parental lines, F1, F2 and two backcross populations). Embrapa Semiárido, Petrolina, 2011.

Fonte de variação ¹	IT97K-1042-3 x Canapu		IT97K-1042-3 x BRS Tapaihum	
	Quadrado médio	Coefficiente de determinação (R ²)	Quadrado médio	Coefficiente de determinação (R ²)
m	3369.1	54.9	4002.1	83.9
a	2672.7	43.6	762.7	16.0
d	36.9	0.6	0.1	0.0
aa	21.9	0.4	2.8	0.1
ad	7.4	0.1	2.7	0.0
dd	7.5	0.4	0.3	0.0

m = efeito parental, a = efeito aditivo, d = efeito dominância, aa, ad, dd = efeito de interações epistáticas.

Tabela 4. Estimativas do número mínimo de genes ou fatores com diferentes estimadores para proteína total em dois cruzamentos de feijão caupi. (Estimated minimum number of genes or factors based on different estimators, for total protein in two different cowpea crosses). Embrapa Semiárido, Petrolina, 2011.

Cross	Baseado em Lande (1981)*				Baseado na Variância	
	n1	n2	n3	n4	Com bootstrapping	Sem bootstrapping
IT97K-1042-3 x Canapu	2.4	2.3	1.9	3.1	4.4	4.3 (2.9;6.9)*
IT97K-1042-3 x BRS Tapaihum	4.7	3.3	3.1	3.5	4.6	6.4 (2.4;25)*

* Lande R (1981). Genetics 99: 541-553. *Intervalo de confiança a 5% de probabilidade

Agroindustrialização de hortaliças:
geração de emprego e renda no campo

Salvador-BA
16 a 20 de julho de 2012