



ARTIGO ORIGINAL

Joana Neres da Cruz Baldissera<sup>1\*</sup>  
Giseli Valentini<sup>1</sup>  
Marlon Mathias Dacal Coan<sup>1</sup>  
Altamir Frederico Guidolin<sup>2</sup>  
Jefferson Luís Meirelles Coimbra<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Estadual de Maringá – UEM,  
Av. Colombo, 5790, 87020-900,  
Maringá, PR, Brasil

<sup>2</sup>Universidade do Estado de Santa Catarina –  
UDESC, Av. Madre Benvenuta, 2007,  
88035-001, Florianópolis, SC, Brasil

**Autor Correspondente:**

\*E-mail: [jondcb@gmail.com](mailto:jondcb@gmail.com)

**PALAVRAS-CHAVE**

*Phaseolus vulgaris*  
Herdabilidade  
Variância genotípica  
Controle genético

**KEYWORDS**

*Phaseolus vulgaris*  
Heritability  
Genotypic variance  
Genetic control

## Herança da capacidade de regeneração *in vitro* do feijão

### *Inheritance of the in vitro regeneration ability in beans*

**RESUMO:** Na cultura do feijão, a regeneração *in vitro* é um processo difícil e tem sido pouco utilizada, em razão da falta de conhecimento sobre controle genético da característica, aliado ao fato de esta leguminosa ser recalcitrante. O objetivo deste trabalho foi realizar um estudo da herança genética da capacidade de regeneração *in vitro* em populações de feijão obtidas a partir dos genitores Xan 159 e Pérola. As sementes foram levadas ao laboratório de cultura de tecidos, onde foram avaliadas quanto ao potencial de regeneração. Após a obtenção dos dados, foram calculadas as médias e as variâncias, e a partir destas foram estimados os componentes ambiental, genético e fenotípico, a herdabilidade e o número de genes. O genitor Xan 159 apresentou maior média. A interação alélica é não aditiva. O componente ambiental possui uma maior contribuição no fenótipo das sementes avaliadas. O valor encontrado para herdabilidade no sentido amplo foi intermediário. Contudo, pôde-se concluir que há contribuição do fator genético (efeitos aditivos e dominantes) na expressão da capacidade de regeneração *in vitro* do feijão. O efeito recíproco se mostrou importante para esta característica. A estimativa do número de genes detectou a influência de pelo menos um gene nuclear de efeito maior.

**ABSTRACT:** In bean crop, *in vitro* regeneration is a difficult process and it has been little used due to the lack of knowledge on genetic control traits, coupled with the fact that this leguminous plant is recalcitrant. The objective of this study was to investigate the genetic inheritance of the *in vitro* regeneration capacity in bean populations obtained from the parents Xan 159 and Perola. Seeds were brought to the laboratory of tissue culture, where they were evaluated regarding their regeneration potential. After data collection, means and variances were calculated and based on them, the following components were estimated: environmental, genetic and phenotypic, as well as heritability and number of genes. The parent Xan 159 showed the highest mean. The allelic interaction was not additive. The environmental component presented major contribution to the phenotype of seeds. The value found for broad-sense heritability was intermediate. However, it was possible to conclude that the genetic factor (dominant and additive effects) actually contributes to the expression of the *in vitro* regenerative capacity of beans. The reciprocal effect was important to this trait. The estimated number of genes detected the influence of at least one nuclear gene of major effect.

## 1 Introdução

O feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) faz parte da dieta da maioria da população brasileira (ARELLANO et al., 2008). Frente às tendências atuais de crescimento da população e do aumento no consumo do feijão, é prevista uma demanda crescente do mesmo, a qual só poderá ser suprida se novas cultivares forem desenvolvidas.

O melhoramento genético vegetal utiliza algumas ferramentas para desenvolver cultivares de feijão com características agrônomicas desejáveis e adaptadas a diversas regiões. Dentre essas ferramentas, está a cultura de tecidos que, por meio do potencial de regeneração *in vitro* das plantas, é possível realizar a transformação genética, auxiliando, dessa forma, no desenvolvimento de cultivares adaptadas a diversas condições ambientais.

A utilização da técnica de cultura de tecidos tem sido limitada a um número restrito de genótipos (SHARMA; BELLO; SAPRA, 1980; HANZEL et al., 1985); assim, ocorre uma restrição do germoplasma a ser trabalhado pelas técnicas biotecnológicas, além de impossibilitar a utilização de alguns genótipos com características desejáveis, porém com um baixo potencial para ser cultivado *in vitro* (MILACH et al., 1991). Segundo Vendruscolo et al. (2008), a engenharia genética de qualquer espécie depende do desenvolvimento de calos viáveis para a regeneração de plantas *in vitro*.

A regeneração *in vitro* do feijão é um processo difícil, com baixa repetibilidade e eficiência, pois esta leguminosa é recalcitrante tanto para a regeneração quanto para a transformação genética (BROUGHTON et al., 2003; HAMMATT; GHOSE; DAVEY, 1986); entretanto, o feijão pode ser regenerado *in vitro* apesar da baixa eficiência (VELTCHEVA et al., 2005).

Diversos trabalhos têm sido realizados para conhecer o controle genético da regeneração de plantas *in vitro*, sendo constatado que esta característica é controlada geneticamente (TOMES; SMITH, 1985; MONTEIRO et al., 2000; NOGUEIRA et al., 2001; LANNES et al., 2004; AZEVEDO; HOULLOU-KIDOO; BENKO-ISEPPON, 2007).

A etapa inicial do estudo da herança genética de uma característica são os cruzamentos artificiais, que recombinam a variabilidade genética existente (BERNARDO; BOHN, 2007), dando origem às populações que são utilizadas para estimar os parâmetros genéticos, baseados nas médias e variâncias (CRUZ; REGAZZI, 1997) como os componentes ambiental e genético, bem como a herdabilidade no sentido amplo e restrito, e o número de genes que controlam essa característica. A partir dos parâmetros genéticos, é possível conhecer o tipo de herança que controla o caráter, podendo-se, assim, escolher o método mais adequado a ser aplicado no desenvolvimento de novas cultivares (LOBO; GIORDANO; LOPES, 2005).

O objetivo foi estudar a herança genética da capacidade de regeneração *in vitro* em populações fixas e segregantes de feijão, obtidas a partir dos cruzamentos entre os genitores Xan 159 e Pérola.

## 2 Material e Métodos

Este experimento foi constituído de duas etapas, sendo que, na primeira, foram escolhidos os genótipos de feijão Xan 159

(com capacidade de regeneração *in vitro*) e Pérola (recalcitrante para a regeneração *in vitro*), os quais foram semeados em casa de vegetação; após a emergência dos botões florais, foram realizados os cruzamentos artificiais de acordo com Vieira (1967), para obtenção das sementes  $F_1$ , que foram semeadas e deram origem às sementes  $F_2$ .

A segunda etapa do trabalho, realizada no laboratório de cultura de tecidos vegetais, consistiu na utilização das sementes obtidas nos cruzamentos para a realização do estudo da herança da capacidade de regeneração *in vitro* do feijão, sendo 36 sementes de  $F_1$ , 26 do  $F_1$  recíproco ( $F_{1r}$ ), 210 de  $F_2$  e 246 do  $F_2$  recíproco ( $F_{2r}$ ), juntamente com 103 sementes do Xan 159 e 110 do Pérola.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com quatro repetições, sendo que cada semente foi considerada uma repetição.

Primeiramente, foram preparadas as soluções estoque de macronutrientes, micronutrientes, FeEDTA, vitaminas B5, AIA (ácido indolacético), BAP (6- benzilaminopurina cinetina) e CPPU (forchlorfenuron). Para o preparo dos meios de cultura, foi utilizada água autoclavada acrescida com as soluções estoques, agar e sacarose, de acordo com Murashige e Skoog (1962). O pH foi ajustado a 5,8 e, a seguir, o meio de cultura foi autoclavado a 120 °C por 17 minutos. Todos os materiais, antes de ser utilizados na cultura de tecido, foram autoclavados a 120 °C por 17 minutos. Além disso, todas as etapas do trabalho foram realizadas na câmara de fluxo laminar, para evitar a contaminação dos materiais e das sementes.

As sementes foram desinfestadas utilizando-se álcool 70%, água destilada autoclavada e hipoclorito 2%; em seguida, foram colocadas no meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) para germinação, onde permaneceram por três dias. As sementes germinadas foram cortadas ao meio, com o auxílio de um bisturi, para retirar o tegumento e o embrião, e separar os dois cotilédones.

Os cotilédones foram transferidos para o meio de cultura MS (MURASHIGE; SKOOG, 1962) de indução de calo, no qual permanecem por 24 dias, sendo 7 dias no escuro e 14 dias no fotoperíodo de 16 h, 50  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , em temperatura de 22 a 24 °C.

As avaliações dos cotilédones quanto à formação de calo foram realizadas após os 21 dias de permanência no meio de cultura de indução de calo, com o auxílio de um Microscópio Estereoscópico Stemi 2000C. As sementes que apresentaram calo obtiveram nota um (1) e as que não apresentaram, nota zero (0), seguindo um sistema binomial.

Em função do grande número de observações, os dados tendem a uma distribuição normal. Sendo assim, foi aplicado o teste de normalidade para verificar a condição de distribuição dos dados. Comprovada a normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk (W), foram realizadas as análises de médias e variâncias. As médias dos genitores, das gerações  $F_1$  e  $F_2$ , e dos  $F_1$  e  $F_2$  recíprocos foram comparadas com contraste entre duas médias por meio do teste t-student, utilizando-se o software SAS 9.1.3 (SAS, 2007).

Foram estimadas variâncias ambiental ( $\sigma_e^2$ ), genética ( $\sigma_g^2$ ) e fenotípica ( $\sigma_p^2$ ), e a herdabilidade no sentido amplo ( $h_a^2$ ), segundo Mather e Jinks (1984); o número de genes foi estimado de acordo com Cruz e Regazzi (1997).

### 3 Resultados e Discussão

O genótipo Xan 159 apresentou a maior média (0,708) e a cultivar Pérola, a menor (0), para a presença de calos (Tabela 1). A partir das médias e variâncias apresentadas, fica evidente que o genitor Xan 159 possui um desempenho superior quanto à capacidade de regeneração *in vitro*, o que justifica o seu estudo em relação à herança genética desta característica.

Por meio das médias das gerações  $P_1$ ,  $P_2$ ,  $F_1$  e  $F_2$ , é possível conhecer os tipos de interações alélicas predominantes que estão envolvidas no controle genético da característica. Com base nas médias obtidas (Tabela 1), pode-se observar que a regeneração *in vitro* é influenciada por interações alélicas não aditivas, uma vez que a média do heterozigoto não corresponde à média dos genitores (MATHER; JINKS, 1984), o que dificulta a previsão do comportamento desses genótipos quanto ao potencial de regeneração nas gerações seguintes.

O número de sementes  $F_1$  e  $F_1r$  utilizadas neste trabalho foi limitado em virtude da grande porcentagem de aborto das flores quando se realizavam os cruzamentos entre os dois genótipos, justificando, assim, os valores baixos das estimativas.

Os índices de indução de calos se diferenciaram significativamente pelo teste t a 5% de probabilidade de erro entre os genótipos Xan 159 e Pérola, demonstrando que existe variabilidade genética entre os genitores utilizados para o estudo da capacidade de regeneração *in vitro*.

O efeito recíproco se mostrou importante para a regeneração *in vitro*, pois houve diferença entre as gerações  $F_2$  do cruzamento Xan 159 vs Pérola e a  $F_2$  do cruzamento recíproco Pérola vs Xan 159. O efeito recíproco deve-se a efeitos de genes nucleares da mãe, a efeitos de genes citoplasmáticos e/ou a interações destes. Os genes de efeito materno não são autoperpetuantes e se mantêm apenas por uma ou, no máximo, duas gerações; entretanto, são responsáveis por certas condições no citoplasma do óvulo, que determinam a expressão fenotípica de algumas características do filho, sendo estas independentes dos genes doados pelo pai. Por sua vez, os genes citoplasmáticos são considerados permanentes, pois são transmitidos exclusivamente pela mãe de geração para geração (RAMALHO; SANTOS; PINTO, 2008).

A partir da diferença entre as médias do Xan 159 e da  $F_1$  (Xan 159 vs Pérola), acredita-se que alguns genes estão mascarando a expressão do fenótipo do híbrido que deveria expressar o genótipo da mãe, visto que ocorreu uma pequena taxa de formação de calos na geração  $F_1$ . A igualdade entre as médias do genitor Pérola e da geração  $F_1r$  indica que o

fenótipo do filho é influenciado pelo genótipo da mãe, pois, nas sementes da geração  $F_1r$ , não houve a formação de calos.

As gerações  $F_1$  vs.  $F_1r$ ,  $F_1$  vs.  $F_2r$ ,  $F_1r$  vs.  $F_2r$  (Tabela 2), quando comparadas entre si, não apresentaram diferença. Isso pode ser decorrente da baixa taxa de indução de calos obtida nessas gerações, indicando que os genótipos apresentaram respostas diferenciadas tanto entre si quanto entre seus tecidos (AZEVEDO; HOULLOU-KIDOO; BENKO-ISEPPON, 2007). Segundo Bordallo et al. (2005), se a herança de um determinado caráter é controlada por genes nucleares, os resultados de um cruzamento e seu recíproco serão similares. Se houver efeitos citoplasmáticos, os resultados dos cruzamentos recíprocos serão diferentes, em que o fenótipo dos descendentes será influenciado pelo genitor feminino que contribuiu com o citoplasma.

A diferença que existe entre as médias das gerações  $F_1$  vs.  $F_2$ ,  $F_1r$  vs.  $F_2$  e  $F_2$  vs.  $F_2r$  indica que a regeneração *in vitro* pode ser controlada por genes do núcleo, sendo eles de efeito simples ou de efeito materno, por genes citoplasmáticos ou ainda pela ação conjunta dos genes nucleares e citoplasmáticos.

As estimativas dos componentes da variância, da herdabilidade e do número de genes da capacidade de regeneração *in vitro* para o cruzamento Xan 159 vs. Pérola estão apresentadas na (Tabela 3). O estudo destes componentes é importante para saber o quanto da variabilidade existente no cruzamento é em razão de causas genéticas, pois assim é possível conhecer o controle genético da característica e o potencial da população avaliada (RAMALHO; SANTOS; PINTO, 2008).

**Tabela 2.** Teste de significância entre as médias dos genitores Xan 159 e Pérola, e entre as médias das gerações.

Contraste <sup>1</sup>	Diferença entre as médias	Probabilidade > t
Xan 159 vs Pérola	0,708	0,0001
Xan 159 vs $F_1$	0,625	0,0001
Pérola vs $F_1r$	0	1,0000
$F_1$ vs $F_2$	-0,145	0,0121
$F_1$ vs $F_1r$	0,083	0,3120
$F_1$ vs $F_2r$	0,026	0,6437
$F_1r$ vs $F_2$	-0,229	0,0006
$F_1r$ vs $F_2r$	-0,057	0,3888
$F_2$ vs $F_2r$	0,172	0,0001

<sup>1</sup> $F_1$  - Xan 159 vs Pérola;  $F_1r$  - Pérola vs Xan 159;  $F_2$  - Xan 159 vs Pérola;  $F_2r$  - Pérola vs Xan 159.  $H_0$ :  $t_1 = 0$  igualdade entre as médias e  $H_A$ :  $t_1 \neq 0$  diferença entre as médias. ( $p \leq 0,05$ ) estatisticamente significante.

**Tabela 1.** Número de sementes avaliadas (N), média ( $\bar{x}$ ) e variância ( $\sigma^2$ ) para a presença de calos.

Geração	N	Média ( $\bar{x}$ )	Variância ( $\sigma^2$ )
$P_1$ Xan 159	103	0,708	0,208
$P_2$ Pérola	110	0	0
$F_1$ Xan 159 vs Pérola	36	0,083	0,078
$F_1r$ Pérola vs Xan 159	26	0	0
$F_2$ Xan 159 vs Pérola	210	0,228	0,178
$F_2r$ Pérola vs Xan 159	246	0,057	0,054

**Tabela 3.** Estimativa dos componentes da variância fenotípica, genotípica e ambiental, da herdabilidade no sentido amplo e do número de genes para o cruzamento Xan 159 × Pérola.

Parâmetro	Xan 159 × Pérola
Variância genotípica ( $\sigma_g^2$ )	0,08
Variância ambiental ( $\sigma_c^2$ )	0,10
Herdabilidade no sentido amplo ( $h_a^2$ )	46,62
Número de genes ( $n$ )	1

A variância fenotípica total da geração  $F_2$  é muito útil e pode ser decomposta em subcomponentes: a variância genética, que corresponde à segregação e à recombinação dos genes, e a variância ambiental, que é devida a fatores ambientais bióticos e/ou abióticos. O valor da variância fenotípica proveniente dos cruzamentos Xan 159 vs. Pérola foi de 0,18 calo. Fracionando-se esse valor fenotípico total, obteve-se o valor de 0,08 calo, que corresponde à fração mais importante do componente fenotípico, a variância genética.

A variância ambiental, por sua vez, apresentou valor de 0,10 calo, o que indica que o ambiente possui uma maior contribuição sobre o fenótipo das sementes avaliadas quando comparado com o componente genotípico, pois os tecidos vegetais respondem de forma diferenciada ao meio em que se encontram. Além disso, as condições ideais de cultivo são quase que específicas para cada genótipo (PETERS; BOBROWSKI; ROSINHA, 1999), denotando que a regeneração *in vitro* é influenciada pela interação Genótipo  $\times$  Ambiente.

A herdabilidade reflete a presença dos componentes genéticos que contribuem na expressão do fenótipo (ROCHA et al., 2003) e, por ser uma propriedade do caráter, é válida apenas à população nas condições ambientais a que os indivíduos foram submetidos (CRUZ; REGAZZI, 1997). Neste trabalho, a herdabilidade, no sentido amplo, apresentou valor de 46,6%, considerado um valor intermediário, semelhante aos encontrados por Aryeetey e Laing (1973). Mostra-se, dessa forma, que houve contribuição do fator genético na expressão da capacidade de regeneração *in vitro*, pois está associada à variância genética total (aditiva e não aditiva).

A ocorrência de variância genética com valores médios a altos de herdabilidade e baixa influência ambiental indica a possibilidade de obtenção de ganhos genéticos mediante a seleção fenotípica de indivíduos com capacidade de formar calos em populações segregantes.

A partir da estimativa do número de genes, pode ser constatado que a característica capacidade de regeneração *in vitro* é influenciada por pelo menos um gene nuclear de efeito maior. Quando a característica é controlada por poucos genes, o seu estudo é facilitado, pois quando são muitos os genes que controlam um caráter, maior deve ser o número de indivíduos avaliados. Isto se deve à manifestação da característica, que depende da combinação de vários genes em um único genótipo e não apenas da reorganização dos alelos presentes no gene, como ocorre na herança monogênica (VARGAS; MORAES; BERTO, 2007).

O valor da estimativa da herdabilidade no sentido amplo indica que efeitos genéticos contribuem mais para a regeneração *in vitro* do que os fatores ambientais. O efeito de genes nucleares do genitor utilizado como mãe e a interação com genes citoplasmáticos são importantes para a regeneração *in vitro* do feijão. As interações alélicas que estão envolvidas com esta característica são do tipo não aditivas.

## 4 Conclusões

A herdabilidade no sentido amplo estimada indica que há contribuição do fator genético na expressão da capacidade de regeneração *in vitro*, porém não há como identificar se a contribuição maior é dos efeitos aditivos ou dominantes. O

efeito recíproco se mostrou importante para a regeneração *in vitro* do feijão. A estimativa do número de genes foi influenciada por pelo menos um gene nuclear de efeito maior.

## Agradecimentos

Agradecemos à UDESC, ao CNPq e à CAPES pela concessão de Bolsa e pelo apoio financeiro para o desenvolvimento deste trabalho.

## Referências

- ARELLANO, J.; FUENTES, S. I.; CASTILLO-ESPAÑA, P.; HERNÁNDEZ, G. Regeneration of different cultivars of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) via indirect organogenesis. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture An International Journal on Biotechnology of Higher Plants*, Dordrecht, v. 48, p. 61-69, 2008.
- ARYEETAY, A. N.; LAING, E. Inheritance of yield components and their correlation with yield in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). *Euphytica*, Wageningen, v. 22, p. 386-393, 1973. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00022651>
- AZEVEDO, H.; HOULLOU-KIDOO, L.; BENKO-ISEPPON, A. M. Análise do potencial regenerativo *in vitro* de diferentes cultivares de Feijão-Caupi. *Revista Brasileira de Biociências*, Porto Alegre, v. 5, p. 528-530, 2007.
- BERNARDO, R.; BOHN, M. O. Plant Breeding in Times of Change. *Crop Science*, Madison, v. 47, n. 3, p. 2-3, 2007.
- BORDALLO, P. N.; PEREIRA, M. G.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; GABRIEL, A. P. C. Análise dialélica de genótipos de milho doce e comum para caracteres agronômicos e proteína total. *Horticultura Brasileira*, v. 23, p. 123-127, 2005. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-05362005000100026>
- BROUGHTON, W. J.; HERNÁNDEZ, G.; BLAIR, M.; BEEBE, S.; GEPTS, P.; VANDERLEYDEN, J. Beans (*Phaseolus* spp.) – model food legumes. *Plant and Soil*, Dordrecht, v. 252, p. 55-128, 2003.
- CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. *Modelos Biométricos aplicados ao melhoramento genético*. 2. ed. Viçosa: UFV, 1997. 390 p.
- HAMMATT, N.; GHOSE, T. K.; DAVEY, M. R. Regeneration of legumes. In: VASIL, I. K. (Ed.) *Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants*. Academic Press, 1986. v. 3, p. 67-95.
- HANZEL, J. J.; MILLER, J. P.; BRINKMAN, M. A.; FENDOS, E. Genotype and media effects on callus formation and regeneration in barley. *Crop Science Society of America*, Madison, v. 25, p. 27-31, 1985.
- LANNES, S. D.; ZIMMER, P. D.; OLIVEIRA, A. C.; CARVALHO, F. I. F.; VIEIRA, E. A.; MAGALHÃES JUNIOR, A. M.; KOPP, M. M.; FREITAS, F. A. Regeneração *in vitro* de anteras de arroz irrigado (*Oryza sativa* L.) e mapeamento de QTL associado. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 34, p. 1355-1362, 2004. <http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782004000500006>
- LOBO, V. L. S.; GIORDANO, L. B.; LOPES, C. A. Herança da resistência à mancha-bacteriana em tomateiro. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 30, p. 343-349, 2005. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-41582005000400002>
- MATHER, K.; JINKS, J. L. *Introdução a genética biométrica*. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1984. 242 p.

- MILACH, S. C. K.; FEDERIZZI, L. C.; CARVALHO, F. I. F.; BARBOSA NETO, J. F. Variabilidade genética para a regeneração de plantas no cultivo de calos de trigo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v. 26, p. 1969-1974, 1991.
- MONTEIRO, A. C. B. A.; NAKAZAWA, G. T.; MENDES, B. M. J.; RODRIGUEZ, A. P. M. Regeneração *in vitro* de *Passiflora suberosa* a partir de discos foliares. *Scientia Agricola*, Piracicaba, v. 57, p. 571-573, 2000.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A. A. Revised medium for a rapid growth and bioassays with tobacco tissues cultures. *Plantarum Physiologia*, Copenhagen, v. 15, p. 473-479, 1962. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- NOGUEIRA, F. T. S.; COSTA, M. G.; FIGUEIRA, M. L.; OTONI, W. C.; FINGER, F. L. Regeneração *in vitro* de plantas de tomateiros ‘Santa Clara’ e seu mutante natural ‘forme’. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 25, n. 1, p. 63-71, 2001.
- PETERS, J. A.; BOBROWSKI, V. L.; ROSINHA, G. M. S. Produção de haplóides e duplo-haplóides. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. *Cultura de tecidos e transformação genética de plantas*. Brasília: Embrapa, 1999. v. 2, p. 569-611.
- RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; PINTO, C. A. B. P. *Genética na Agropecuária*. 4. ed. Lavras: UFLA, 2008. 461 p.
- ROCHA, M. M.; CAMPELO, J. E. G.; FREIRA FILHO, F. R.; RIBEIRO, V. Q.; LOPES, A. C. Estimativas de parâmetros genéticos em genótipos de caupi de tegumento branco. *Revista Científica Rural*, Bagé, v. 8, p. 135-141, 2003.
- STATISTICAL ANALISYS SYSTEM INSTITUTE – SAS. *SAS® 9.1.3 (TS1M3) for Windows Microsoft*. Cary: SAS Institute Inc., 2007. 212 p.
- SHARMA, G. C.; BELLO, L. L.; SAPRA, V. T. Genotypic differences in organo genesis from callus often triticale lines. *Euphytica*, Wageningen, v. 29, p. 751-754, 1980. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00023222>
- TOMES, D. T.; SMITH, O. S. The effect of parental genotypic on initiation of embryogenic callus from elite maize (*Zea mays* L.) germplasm. *Theoretical and Applied Genetics*, Berlin, v. 70, p. 505-509, 1985. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00305983>
- VARGAS, L.; MORAES, R. M. A.; BERTO, C. M. Herança da Resistência de Azevém (*Lolium multiflorum*) ao Glyphosate. *Planta daninha*, Londrina, v. 25, n. 3, p. 567-571, 2007.
- VELTCHEVA, M.; SVETLEVA, D.; PETKOVA, S. P.; PERI, A. *In vitro* regeneration and genetic transformation of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) – Problems and progress. *Scientia Horticulturae*, Amsterdam, v. 107, p. 2-10, 2005. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2005.07.005>
- VENDRUSCOLO, E. C. G.; SCHUSTER, I.; NEGRA, E. S.; SCAPIM, C. A. Callus induction and plant regeneration by brazilian new elite wheat genotypes. *Crop Breeding and Applied Biotechnology*, Viçosa, v. 8, n. 3, p. 195-201, 2008.
- VIEIRA, C. *O Feijoeiro comum: cultura, doenças e melhoramento*. Viçosa: UFV, 1967. 220 p.