



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE AGRONOMIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA**

**DISSERTAÇÃO**

**Diversidade Genética Entre Acessos de Feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.)  
Mensurada via Caracteres Morfoagronômicos e Marcadores ISSR**

**ISABELA PEREIRA DIEGUES**

**2014**



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE AGRONOMIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA**

**DIVERSIDADE GENÉTICA ENTRE ACESSOS DE FEIJÃO-FAVA  
(*Phaseolus lunatus* L.) MENSURADA VIA CARACTERES  
MORFOAGRONÔMICOS E MARCADORES ISSR**

**ISABELA PEREIRA DIEGUES**

*Sob a Orientação do Professor*  
**Pedro Corrêa Damasceno Junior**

Dissertação submetida como requisito  
parcial para a obtenção do grau de  
**Mestre em Ciências**, no Curso de  
Pós-Graduação em Fitotecnia

Seropédica, RJ  
Fevereiro de 2014

635.65

D559d

Diegues, Isabela Pereira, 1988-

T

Diversidade genética entre acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) mensurada via caracteres morfoagrômicos e marcadores ISSR / Isabela Pereira Diegues. - 2014.

v, 61 f.: il.

Orientador: Pedro Corrêa Damasceno Junior.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia, 2014.

Bibliografia: f. 53-61.

1. Feijão - Teses. 2. Feijão - Genética - Teses. 3. Feijão - Análise - Teses. 4. Vagem - Teses. 5. Fitotecnia - Teses. I. Damasceno Junior, Pedro Corrêa, 1973-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia. III. Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE AGRONOMIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA**

**ISABELA PEREIRA DIEGUES**

Dissertação submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre em Ciências, no Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia.**

DISSERTAÇÃO APROVADA EM / /

---

Pedro Corrêa Damasceno Junior. D.Sc. Genética e Melhoramento de Plantas. UFRRJ  
(Orientador)

---

Telma Nair Santana Pereira. D.Sc. Melhoramento de Plantas. UENF

---

Luiz Beja Moreira. D.Sc. Fitotecnia. UFRRJ

## RESUMO

DIEGUES, Isabela Pereira. **Diversidade Genética Entre Acessos de Feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) Mensurada via Caracteres Morfoagronômicos e Marcadores ISSR**. 2014. 61p. Dissertação (Mestrado Fitotecnia). Instituto de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2014.

O feijão-fava (*Phaseolus lunatus*) tem apresentado expressivos resultados econômicos e grande importância social dentro do contexto da agricultura familiar. As plantas pertencem ao gênero *Phaseolus*, família Fabaceae e apresentam uma enorme variedade de formatos e tamanhos de sementes. Estudos relacionados à diversidade se fazem necessários, para que se conheça melhor e de forma mais profunda a espécie. Desta maneira o trabalho de pesquisa teve por objetivo avaliar a diversidade genética presente entre 15 acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus*), bem como conhecer o potencial produtivo de cada um destes. Foram feitas análises em casa de vegetação e posteriormente no campo, ao todo foram avaliados 34 variáveis, de onde foram feitas análises uni e multivariadas, com a formação de dendrogramas via método de agrupamento UPGMA, gráficos de dispersão e correlação. Para análise genotípica foram utilizados 15 *primers* ISSR, para a análise de diversidade genética, por fim foi realizada uma análise conjunta entre todos os dados obtidos ao longo do trabalho. Inicialmente as sementes avaliadas apresentaram altas taxas de germinação, variando de 87 a 100%, além de uma boa velocidade de germinação com média de 5,7 dias. Variáveis importantes como peso de uma semente (PuS) e peso total de sementes (PTS) apresentaram altos valores de herdabilidade e variabilidade genética, sendo 94,4 e 2,4 e 80,8 e 1,2 respectivamente. Os acessos 01, 08 e 12 foram os mais produtivos, com uma produção equivalente a aproximadamente 626, 565 e 548 g respectivamente. Variáveis relacionadas às folhas e as sementes foram as que mais contribuíram para a diversidade encontrada. O acesso 11 destacou-se como o mais divergente em todas as análises fenotípicas, também mostrando as características qualitativas mais diferenciadas. Os marcadores ISSR geraram um total de 128 bandas. Os acessos 01, 04, 05 e 11 foram os mais divergentes genotipicamente, enquanto que na análise conjunta os acessos 01, 11, 14 e 15 foram os mais divergentes. Nesse estudo a variável produção de grãos (PTS) apresentou uma alta correlação com o número de sementes (NuS) e com número de vagens (NuV), enquanto que o valor de proteína bruta não apresentou correlação alta com nenhuma das variáveis analisadas. Os acessos 01, 08 e 12 foram os mais produtivos, são recomendados cruzamentos entre o acesso 01 e qualquer um dos acessos citados, cruzamentos entre os acessos 06, 09 e 12 também podem ser promissores.

**Palavras-chave:** Diversidade genética, análise multivariada, marcadores ISSR, feijão-fava.

## ABSTRACT

DIEGUES, Isabela Pereira. **Genetic Diversity Among accesses fava bean (*Phaseolus lunatus* L.) Measured via morphological characters and ISSR markers.** 2014. 61p. Dissertation (Master Science in Fitotecnia). Instituto de Agronomia, Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2014.

The lima bean (*Phaseolus lunatus*) has shown impressive economic results and great social importance within the context of family farming. The plants belong to the genus *Phaseolus*, family Fabaceae and feature a huge variety of shapes and sizes of seeds. Related to diversity studies are necessary, that they know better and more deeply species. In this way the research was to evaluate the genetic diversity present in 15 accessions of lima bean (*Phaseolus lunatus*), as well as knowing the productive potential of each of these. Analyzes were performed in a greenhouse and later in the field, were evaluated in all 34 variables, where analyzes were performed univariate and multivariate analysis, with the formation of dendrograms via UPGMA clustering method, scatter plots and correlation. For genotypic analysis 15 ISSR primers were used for the analysis of genetic diversity, finally a joint analysis of all data obtained throughout the work was performed. Initially assessed the seeds had high germination rates, ranging 87-100 %, plus a good germination rate with an average of 5.7 days. Important variables such as weight of a seed (PuS) and total weight of seeds (PTS) showed high heritability and genetic variability, with 94,4 and 2,4 and 80,8 and 1,2 respectively. Accessions 01, 08 and 12 were the most productive, with an equivalent to approximately 626, 565 and 548 g respectively production. Variables related to leaves and seeds were those that contributed most to the diversity found. Access 11 stood out as the most divergent in all phenotypic analyzes, also showing the most differentiated quality characteristics. ISSR markers generated a total of 128 bands. The access 01, 04, 05 and 11 were the most divergent genotypically , while on the analysis accesses 01, 11, 14 and 15 were the most divergent. In this study the variable grain production (PTS) showed a high correlation with the number of seeds (NuS) and number of pods (NuV) , while the value of crude protein were highly correlated with any of the variables . Accessions 01, 08 and 12 were the most productive, crossings are recommended between access 01 and any of the accesses cited, crosses between accessions 06, 09, and 12 may also be promising.

**Keywords :** Genetic diversity , multivariate analysis , ISSR , lima bean.

## ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Bandejas de germinação de *Phaseolus lunatus*, período do experimento realizado em casa de vegetação pertencente ao Departamento de Fitotecnia da UFRRJ. .... 12
- Figura 2.** Campo experimental pertencente ao Departamento de Fitotecnia da UFRRJ, transplântio de mudas de *Phaseolus lunatus* para os vasos..... 13
- Figura 3.** Dendrograma de dissimilaridade genética obtido a partir da distância de mahalanobis e o método de agrupamento UPGMA, das variáveis fenotípicas quantitativas dos 15 acessos de *Phaseolus lunatus* pertencentes a Coleção de Germoplasma da UFRRJ. Correlação Cofenética = 0,79. .... 29
- Figura 4.** Gráfico de dispersão referente as variáveis quantitativas dos 15 acessos de *Phaseolus lunatus* pertencentes à Coleção de Germoplasma da UFRRJ, considerando os três primeiros componentes principais (C1, C2 e C3)..... 30
- Figura 5.** Representação das três categorias de folhas observadas entre os 15 acessos de *Phaseolus lunatus* na Coleção de Germoplasma da UFRRJ; A – Folha Redonda; B – Folha Oval; C – Folha Oval-lanceolada. .... 35
- Figura 6.** A – Flores Rosas; B – Inflorescência pertencente ao acesso 11; C - Flores Brancas. .... 36
- Figura 7.** A – Vagens ligeiramente curvas; B - Vagens curvas..... 36
- Figura 8.** Imagem das sementes dos 15 acessos de *Phaseolus lunatus* pertencentes à Coleção de Germoplasma da UFRRJ. .... 38
- Figura 9.** Perfil do gel de ISSR utilizando o *primer* 15 ((GATA)<sub>4</sub>), para os 30 acessos de *Phaseolus lunatus*. Seropédica – RJ, 2013; M – Marcador Ladder. .... 40
- Figura 10.** Dendrograma de dissimilaridade genética obtido a partir da distância de Jaccard e o método de agrupamento UPGMA, dos 15 *primers* utilizados nos 30 genótipos de *Phaseolus lunatus*, pertencentes a Coleção de Germoplasma da UFRRJ. Correlação cofenética = 0,97. 41
- Figura 11.** Dendrograma obtido a partir do algoritmo de Gower e o método de agrupamento UPGMA, das variáveis fenotípicas e genotípicas de *Phaseolus lunatus*. Correlação Cofenética = 0,96. .... 42

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Caracterização das variáveis analisadas nos 15 acessos de <i>Phaseolus lunatus</i> pertencente à Coleção de Germoplasma da UFRRJ.....	14
<b>Tabela 2.</b> Relação dos 15 <i>primers</i> ISSR, temperatura de anelamento otimizadas, utilizados nos 15 acessos de <i>Phaseolus lunatus</i> pertencentes à Coleção de Germoplasma da UFRRJ....	19
<b>Tabela 3.</b> Quadro de análise de variância das variáveis dos 15 acessos de <i>Phaseolus lunatus</i> realizadas em Casa de Vegetação.....	21
<b>Tabela 4.</b> Quadro de agrupamento de médias pelo método Scott-Knott das variáveis analisadas dos 15 acessos de <i>Phaseolus lunatus</i> em Casa de Vegetação.....	22
<b>Tabela 5.</b> Tabela de presença de antocianina nas folhas (PAF) e cor de hipocótilo (CH) avaliados em Casa de Vegetação.....	23
<b>Tabela 6.</b> Análise de variância das variáveis fenotípicas quantitativas dos 15 acessos de <i>Phaseolus lunatus</i> .....	24
<b>Tabela 7.</b> Quadro de agrupamento das médias pelo método de Scott-Knott das 20 variáveis fenotípicas quantitativas dos 15 acessos de <i>Phaseolus lunatus</i> pertencentes a Coleção de Germoplasma da UFRRJ.....	26
<b>Tabela 8.</b> Estimativas de variância (autovalores), coeficiente de ponderação associados (autovetores) e contribuição relativa e acumulada a partir das 20 variáveis quantitativas avaliadas em 15 acessos de <i>Phaseolus lunatus</i> pertencentes a Coleção de Germoplasma da UFRRJ.....	31
<b>Tabela 9.</b> Caracterização quanto ao tipo de ramificação (RAM), a pigmentação do caule (PiC), o formato da folha (FoF), a cor da folha (CrF) e a pilosidade das folhas (PiF) dos 15 acessos de <i>Phaseolus lunatus</i> pertencentes à Coleção de Germoplasma da UFRRJ. ....	34
<b>Tabela 10.</b> Tempo médio de floração em dias (TMF), cor de asa (CrA), cor de quilha (CrQ), cor de estandarte (CrE), pilosidade de estandarte (PiE) e abertura de asas (AbA) realizada nos 15 acessos de <i>Phaseolus lunatus</i> pertencentes a Coleção de Germoplasma da UFRRJ. ....	37
<b>Tabela 11.</b> Variáveis relacionadas à forma de semente (FoS), perfil de semente (PeS), pesos de cem sementes (PCS) e os grupos dos 15 acessos de <i>Phaseolus lunatus</i> pertencentes a Coleção de Germoplasma da UFRRJ.....	39
<b>Tabela 12.</b> Correlação Fenotípica entre as 20 variáveis quantitativas avaliadas nos 15 acessos de <i>Phaseolus lunatus</i> .....	44



## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	2
2.1. Aspectos Gerais do Gênero <i>Phaseolus</i> .....	2
2.2. Aspectos Gerais do Feijão-fava .....	2
2.3. Origem e Dispersão do feijão-fava .....	3
2.4. Diversidade Genética no Gênero <i>Phaseolus</i> .....	4
2.5. Marcadores Moleculares .....	5
2.6. Diversidade genética .....	8
2.6.1. Estimativa da diversidade .....	8
2.6.2. Análises de agrupamento .....	9
2.6.3. Análises de dispersão .....	10
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	12
3.1. Localização do Experimento .....	12
3.2. Material Vegetal .....	12
3.3. Semeio em casa de Vegetação, Delineamento Estatístico e Avaliações .....	12
3.4. Transplântio para Vasos no Campo, Delineamento Estatístico, Condições Edafoclimáticas .....	13
3.5. Caracterização e Avaliação Fenotípica .....	13
3.5.1. Análise estatística .....	17
3.6. Análise Genotípica .....	17
3.6.1. Genotipagem .....	17
3.6.2. Coleta e extração de DNA genômico .....	17
3.6.3. Quantificação do DNA genômico .....	18
3.6.4. Condições de amplificação .....	18
3.6.5. Seleção de iniciadores .....	19
3.6.6. Fotodocumentação .....	19
3.6.7. Análise estatística .....	19
3.7. Análise conjunta das variáveis fenotípicas e genotípicas .....	20
<b>4. RESULTADO E DISCUSSÃO</b> .....	21
4.1. Germinação e Desenvolvimento das Sementes em Casa de Vegetação .....	21
4.2. Diversidade Genética Entre Acessos de <i>Phaseolus lunatus</i> .....	24
4.2.1. Diversidade estimada através de variáveis fenotípicas quantitativas .....	24
4.2.2. Diversidade estimada através de variáveis fenotípicas qualitativas .....	33
4.2.3. Diversidade estimada via marcadores ISSR entre acessos de <i>Phaseolus lunatus</i> pertencentes à Coleção de Germoplasmas da UFRRJ .....	40
4.2.4. Diversidade estimada via caracteres fenotípicos e genotípicos via marcadores ISSR entre acessos de <i>Phaseolus lunatus</i> pertencentes à Coleção de Germoplasmas da UFRRJ .....	42
<b>5. CONCLUSÃO</b> .....	46
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	47

## 1. INTRODUÇÃO

O Nordeste brasileiro tem se destacado como um dos maiores produtores de feijão-fava (*Phaseolus lunatus*) no Brasil, atingindo de acordo com dados fornecidos pelo IBGE (2012), no ano de 2011 uma produção de cerca de, 16.680 toneladas de grãos secos de fava, em uma área plantada de 37. 223 há. Os estados de maior produtividade no nordeste são a Paraíba, Rio Grande do Norte, Ceará, Sergipe e Piauí. Além do estado do Paraná, que também possui uma produção de destaque dentro do cenário nacional, ainda segundo o IBGE (2012), no Piauí a produtividade média foi de 485 kg de grãos.ha<sup>-1</sup> no ano. Na região sudeste, apenas Minas Gerais se configura como estado produtor, porém, representando apenas 3% da produção brasileira. A cultura do feijão-fava atinge uma relativa importância socioeconômica, principalmente junto às famílias da região do semi-árido, onde seu consumo é mais tradicional, devido a uma maior rusticidade dos seus grãos e onde representa uma fonte alternativa de renda. De acordo com Ramalho et al. (1993) o fava, juntamente com o feijão-comum se constituem nas espécies mais importantes dentro do gênero, pois em algumas regiões, principalmente no nordeste do Brasil, são utilizadas como a principal fonte de proteína.

Os expressivos resultados econômicos e sua importância social, tanto na alimentação quanto em sua rentabilidade, para pequenos e médios produtores, faz com que a cultura da fava (*Phaseolus lunatus*) represente uma grande importância dentro do contexto da agricultura familiar. No entanto esta cultura tem recebido pouca atenção dos órgãos de pesquisa, resultando num limitado conhecimento de suas potencialidades (AZEVEDO et al., 2003). De acordo com Santos et al. (2002) o emprego de baixas tecnologias tem dificultado o cultivo e afetado a qualidade dos grãos prejudicando assim a produção desta cultura.

Estudos relacionados à diversidade genética existente em fava, ainda se fazem necessários, para que se conheça melhor e de forma mais profunda a espécie. Segundo Cabral et al. (2010) a variabilidade genética é essencial para o sucesso de programas de melhoramento de praticamente todos os caracteres de importância econômica. Dentro deste contexto, estudos que apresentem inferências sobre a diversidade genética presente em novos materiais é de enorme valia. Técnicas de análise multivariadas são importantes ferramentas que possibilitam avaliar a divergência entre acessos, além disso, possibilitam a discriminação de descritores mais importantes para uma melhor estimativa da variabilidade genética entre os acessos (AMARAL JÚNIOR et al., 1996).

Atualmente, a Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro dispõe de uma Coleção de Germoplasma com 30 acessos de fava (*Phaseolus lunatus*), instalada na área de campo do Departamento de Fitotecnia do Instituto de Agronomia. Portanto, existe uma grande necessidade de se estudar a diversidade genética entre estes afim de se explorar melhor o potencial de cada acesso, bem como, conhecê-los para utilizá-los em programas de melhoramento genético da cultura, principalmente, quando se pretende hibridações visando a obtenção de ganhos genéticos para as diversas variáveis a serem estudadas.

O presente trabalho de pesquisa objetivou avaliar a diversidade genética entre 15 acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus*), bem como conhecer o potencial produtivo de cada um destes.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Aspectos Gerais do Gênero *Phaseolus*

Cronquist (1988) classifica o gênero *Phaseolus* como pertencente, ao filo Magnoliophyta, classe Magnoliopsida, subclasse Rosidae, ordem Fabales, família Fabaceae, subfamília *Papilionoideae* e tribo *Phaseoleae*. Esta é uma das tribos mais importantes, economicamente, pois além de incluir o gênero *Phaseolus*, inclui também as espécies *Phaseolus vulgaris* (feijão-comum), *Glycine max* L. (soja) e *Vigna unguiculata* (L.) Walp. (feijão-caupi). Broughton et al. (2003) afirmaram que a família Fabaceae é uma das maiores entre as dicotiledôneas, com 643 gêneros e 18.000 espécies distribuídas por todo o mundo, especialmente nas regiões tropicais e subtropicais.

Quanto à classificação baseada na morfologia floral, inicialmente Maréchal et. al. (1978) reconheceram três seções para o gênero, *Phaseolus*, *Alepidocalyx* e *Minkeliersia*. Posteriormente, Delgado-Salinas (1985), sugeriu quatro seções: *Chiapasana*, *Phaseolus*, com o maior número de espécies, *Minkeliersia*, *Xanthotricha*. Estes agrupamentos, de acordo com Silva e Costa (2003) foram posteriormente, confirmados através de estudos baseados em polimorfismo de DNA cloroplastídico e genômico.

O número exato de espécies ainda é desconhecido (SILVA E COSTA, 2003). Freytag e Debouck (2002) sugerem cerca de 70 espécies, entre espécies cultivadas e silvestres. Dentre esta grande diversidade apenas cinco espécies são cultivadas pelo homem: *P. vulgaris* L., *P. lunatus* L., *P. coccineus* L., *P. acutifolius* A. Gray e *P. polyanthus* Greenman.

O gênero *Phaseolus* possui uma origem monofilética, limitada ao continente americano. Investigações filogenéticas baseados em dados morfológicos e moleculares realizados por Delgado-Salinas et al. (1999), sustenta esta afirmação, outras evidências seriam, a grande diversidade genética de espécies cultivadas e silvestres que existem na região, como também achados arqueológicos que demonstram a antiguidade do seu cultivo.

As espécies do gênero são amplamente distribuídas e cultivadas nos trópicos, subtropicais e zonas temperadas, possuindo uma ampla distribuição pelas Américas. Devido à sua importância econômica, esse gênero tem sido alvo de vários estudos agrônômicos, sistemáticos e moleculares.

### 2.2. Aspectos Gerais do Feijão-fava

Em 1800, Linnaeus denominou como *Phaseolus lunatus*, os tipos de sementes pequenas e achatadas, enquanto que as sementes grandes, foram denominadas de *P. inamoenus* (RACHIE et al., 1980). Anos depois, Piper em 1926, concluiu que o termo *P. lunatus* deveria ser utilizado para todas as formas. Em 1977, Baudet propôs denominações diferentes para as formas cultivadas e silvestres, formando assim duas subespécies.

A espécie *P. lunatus*, denominado, como feijão fava, é uma das cinco espécies cultivadas do gênero *Phaseolus*. Possui hábito de crescimento do tipo determinado e indeterminado. As raízes desenvolvem-se mais rapidamente que as do feijão-comum e tendem a ser tuberosas (BAUDOIN, 1988).

A germinação do feijão-fava é epígea, e possui folhas trifoliadas, geralmente apresentando coloração escura, mais persistente que em outras espécies do gênero, mesmo depois do amadurecimento das vagens. Possui brácteas pequenas e pontiagudas, vagens de forma geralmente oblonga e recurvada, coriáceas, pontiagudas, de coloração bege, verde e marrom,

contendo de duas a quatro sementes, nas quais apresentam uma enorme diversidade de cor tegumento e tamanho (SANTOS et al., 2002). De acordo com Vieira (1992), o peso de 100 sementes varia de 30 a 300 g. O hilo da semente é oblongo curto e central. As linhas que se irradiam do hilo para a região dorsal das sementes, se constitui em uma característica marcante em feijão-fava que o distingue dos outros tipos de feijões.

O modo de reprodução preferencial do feijão-fava é a autogamia, sendo que aproximadamente 10% dos cruzamentos na espécie se dão por alogamia. (HARDY et al., 1997). A inflorescência da espécie é em forma de racemo, apresentando algumas vezes variação de tamanho, cada inflorescência possui diversas flores, a corola pode ser da cor lilás, rosada a violeta ou branca, sendo pequenas em torno de 10 mm (BEYRA E ARTILLES, 2004).

O valor nutricional de algumas variedades de feijão-fava já foram estudadas, como por exemplo, variedades que apresentam sementes com tegumento bege-claro apresentam um alto valor proteico, de 26,7%, superando o encontrado no feijão carioca, 23,4% (AZEVEDO et al., 2003), desta maneira esta espécie têm grande importância como fonte alternativa de proteína. O feijão-fava contém taxas elevadas de ácido cianídrico (HCN) (BRESSANI E ELIAS, 1980), esta característica confere um sabor amargo ao feijão-fava, sendo que em outros feijões é ausente. Diversas espécies de plantas são potencialmente tóxicas por apresentarem altas taxas de HCN, porém no consumo de grãos verdes de feijão-fava não representa perigo, uma vez que o HCN só é formado nas últimas etapas de maturação da planta (STANTON, 1966).

Esta leguminosa tropical pode ser caracterizada pela elevada diversidade genética e elevado potencial de produção, possui a qualidade de se adaptar às mais diferentes condições ambientais, mas desenvolve-se melhor nos trópicos úmidos e quentes (MAQUET et al., 1999). O feijão fava se adapta melhor em solo areno-argiloso, fértil e bem drenado, tendo bom rendimento com pH entre 5,6 e 6,8, o plantio é realizado em covas, com espaçamento de 1,00 x 0,50 m (FILGUEIRA, 2000). De acordo com Hernández Bermejo e León (1994) existem ainda formas de feijão-fava que possuem a capacidade de resistirem a baixas temperaturas e altas altitudes, especialmente no Peru.

Segundo Rachie et al. (1980) existem algumas variedades que podem ser colhidas com 90 dias após o plantio e que apresentam maturação uniforme, porém a maioria das variedades são tardias e mostram uma maturação desuniforme, fato este que refletirá em mais de um período de colheita. Em relação à produção de grãos observa-se dados variados, Oliveira et al. (2011) trabalhando com oito acessos de feijão-fava observaram uma variação de 920 a 276 kg.ha<sup>-1</sup>, enquanto que Santos et al. (2002) ao analisarem oito variedades de feijão-fava consorciado com milho observaram a variedade “Olho-de-ovelha” como a mais produtiva e a variedade “Orelha-de-vó” como a de menor produção, apresentando 852 e 293 kg.ha<sup>-1</sup> respectivamente. Finalmente segundo Sirait et al. (1994) o espaçamento de 10 cm entre plantas e 38 cm entre fileiras mediante irrigação apresentaram os maiores rendimentos de feijão-fava, chegando a 3,6 ton.ha<sup>-1</sup>.

### **2.3. Origem e Dispersão do feijão-fava**

Vavilov em 1935, citado por Maquet et. al. (1999), propôs dois centros de origem para o feijão-fava, o centro Mesoamericano para as sementes pequenas, e o Centro Andino para as sementes grandes. Os centros de origem podem ser descritos como as regiões onde o ancestral silvestre apresentaria a maior diversidade genética para certos caracteres, e uma vez que ocorresse um deslocamento para a periferia destas regiões, a variabilidade viria a diminuir (VAVILOV, 1993). Gentry (1969) sugeriu que trepadeiras silvestres seriam as progenitoras do feijão americano, em torno de 7000 anos atrás. Porém, Mackie (1943), propôs a Guatemala

como único centro de origem para *Phaseolus lunatus*, também teorizou a dispersão da espécie em três diferentes rotas, nas quais caracterizavam-se por serem também rotas comerciais. A ramificação Hopi que atingiu os Estados Unidos, seguindo para o norte; esta ramificação apresenta sementes médias e achatadas e são definidas como grupo “Sieva”. A ramificação Caribe, teve sua rota de comércio seguindo para o leste, onde atingiu as Antilhas e o norte da América do Sul, as sementes são pequenas e globosas e são definidas como grupo “Batata”. E finalmente, a ramificação chamada de Inca, seguiu para o sul, onde atingiu a América Central pela Colômbia, Equador e Peru, nesta, as sementes são grandes e achatadas, definidas como grupo “Lima Grande”. Os espanhóis levaram sementes de feijão-fava para as Filipinas e depois para a Ásia, bem como do Peru para Madagascar.

Mais tarde, dados bioquímicos e moleculares (JACOB et al., 1995), não confirmam a Guatemala como centro de origem, mas sugeriram domesticações independentes, uma para genótipos com sementes pequenas e outra para sementes grandes. Ainda hoje ocorre um grande debate à respeito da origem e dispersão de *Phaseolus lunatus*, e a falta de maiores estudos acaba gerando barreiras para que se possa formular uma teoria mais precisa sobre o tema (ESQUIVEL et al., 1990).

A diversidade das espécies de *Phaseolus* está organizada em conjuntos gênicos primário, secundário e terciário (BAUDOIN, 2001). O conjunto gênico primário compreende espécies silvestres e domesticadas, e é dividido em dois grupos principais, o Mesoamericano e Andino, e um pequeno grupo contendo genótipos com características intermediárias. O estudo de populações relacionadas aos conjuntos gênicos Andino e Mesoamericano em feijão-fava, é de grande importância para a diversidade genética da espécie, sendo realizado por vários autores (FOFANA et al., 2001; CAICEDO et al., 1999; LIOI et al., 1998). Estes últimos autores citados investigaram a diversidade genética de feijão-fava através de marcadores isoenzimáticos, analisando genótipos Andinos e Mesoamericanos, além de tipos intermediários, concluindo que realmente ocorreu a formação de dois grupos distintos e que isto poderia ter como causa a maneira como ocorreu a dispersão da espécie e seus centros de domesticação.

#### **2.4. Diversidade Genética no Gênero *Phaseolus***

O feijão apresenta uma grande variabilidade genética, principalmente em suas formas e espécies silvestres, segundo Toro et al. (1990) a importância de conhecer melhor esses novos germoplasmas reside no fato, deste posteriormente poder vir a ser utilizado como fonte de resistência ou tolerância a doenças, pragas, estresses abióticos e aumento de ganhos para a produção. A variabilidade genética só pode ser eficientemente utilizada se for devidamente avaliada e quantificada, desta maneira a descrição dos acessos ou cultivos se transforma em uma necessidade para a manutenção e o potencial de exploração das coleções (CABRAL et al., 2010).

A seleção assistida por marcadores (SAM) é uma forma de seleção indireta, a qual se baseia na seleção de um caráter que está associado a outro a ser melhorado. A partir de um maior desenvolvimento da biotecnologia a biologia molecular passa a ser utilizada como uma importante ferramenta complementar, contribuindo para o aumento na eficiência dos programas de melhoramento atuais. Limitações da seleção baseado no fenótipo poderão ser parcialmente elucidadas, através do uso da informação obtida com os marcadores moleculares, isto poderá gerar uma seleção mais precoce e de menor custo, uma vez que estes genótipos serão selecionados através da análise do DNA. Além disto a biologia molecular ainda se constitui como uma importante ferramenta para a verificação ou identificação de

parentescos, em programas de conservação genética e na quantificação da diversidade genética (DEKKERS E HOSPITAL, 2002).

Em *Phaseolus* a diversidade entre as espécies está organizada em *pools gene* ou complexos gênicos, e estes podem ser primário, secundário e terciário. O conjunto gênico primário compreende os grupos andinos e mesoamericanos, que são formados por formas silvestres da espécie. O conjunto gênico secundário é formado por espécies provenientes da América do Sul, como *P. augusti*, *P. bolivianus* e *P. pachyrrhizoides*; e, finalmente, o conjunto gênico terciário inclui as espécies distribuídas pelos Estados Unidos e México, como *P. maculatus*, *P. ritensis*, *P. polystachyus* e *P. salicifolius*. Utilizar genes de origens evolucionárias diferentes dentro de um mesmo *pool* gênico ou entre *pools* diferentes, são uma alternativa para ampliar a base genética do feijão-fava.

No feijão-fava pode-se afirmar que ocorrem duas formas genéticas principais, o feijão Sieva com sementes pequenas (24 a 70 g, para peso de 100 sementes) e o feijão Lima com sementes grandes (54 a 280 g, para peso de 100 sementes). Ambas teriam sido domesticadas a partir de formas silvestres com morfologia e tamanhos de sementes distintos (HENÁNDEZ BERMEJO E LEÓN, 1994).

## 2.5. Marcadores Moleculares

Quando trabalha-se com análise de diversidade em coleções de germoplasma, as avaliações de caracteres morfoagronômicas são de grande valia como forma de caracterização, este recurso permite o conhecimento e a organização das coleções de germoplasma. Sendo assim, o processo de caracterização pode ser complementado e enriquecido com o auxílio de marcadores moleculares, capazes de detectar o polimorfismo genético contido no DNA. O estudo da variabilidade genética progrediu nos últimos anos mediante os avanços das técnicas moleculares, com o surgimento de diversos tipos de marcadores de DNA (FERREIRA et al., 2007).

Marcadores do DNA foram inicialmente utilizados no melhoramento de plantas no início da década de 1980. Esta ferramenta possui várias definições diferentes, segundo Ferreira e Grattapaglia (1998) os marcadores moleculares são todos e qualquer genótipo molecular oriundo de um gene expresso ou de um segmento específico de DNA. Já Milach (1998) os descreve como características de DNA que diferenciam dois ou mais indivíduos e são herdados geneticamente.

Estas bandas (sequências) podem ser evidenciadas por métodos que combinam o uso de enzimas de restrição à hibridização entre sequências complementares de DNA, como no caso do RFLPs (*Restriction Fragment Length Polymorphisms* - Polimorfismo no Comprimento dos Fragmentos de Restrição) ou pela técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction* - Reação em Cadeia pela Polimerase), ambas técnicas desenvolvidas em meados da década de 1980. O grande potencial do uso de marcadores moleculares no melhoramento reside no fato de eles serem praticamente ilimitados em número e de fácil detecção (ALZATE-MARIN et al., 2005).

O RFLP (HELENTJARIS et al., 1986) foi um dos primeiros marcadores de DNA utilizado no melhoramento de plantas, esta técnica foi proposta inicialmente por Bostein et al. (1980), onde o DNA total de um indivíduo é inicialmente isolado e clivado com enzimas de restrição. Os fragmentos obtidos são separados por eletroforese e transferidos para uma membrana de celulose ou náilon. Em seguida, fragmentos específicos podem ser detectados pela incubação da membrana com uma sonda radioativa. Este tipo de sonda é produzido a partir da digestão total do DNA e da construção de uma biblioteca gênica, onde os fragmentos

obtidos, podem ser caracterizados por um tamanho de até 5000 pb e inclui regiões do DNA que podem ou não ser transcritas (WATSON, 2004).

O RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA* - Polimorfismo do DNA Amplificado ao Acaso) é uma técnica que utiliza a PCR para detectar fragmentos específicos de DNA. Ao contrário do PCR convencional, o RAPD utiliza apenas um “primer” curto (cerca de dez nucleotídeos) que, devido ao seu pequeno tamanho, pode parear em diversos pontos no genoma. Portanto, é uma técnica que não exige o conhecimento prévio da sequência que está sendo amplificada, logo, um mesmo conjunto de *primers* pode ser usado para amplificar o DNA dos mais diversos tipos de organismos.

A fração de DNA repetitivo é composta de sequências de DNA presentes em mais de uma cópia do genoma, podendo ser dividido, conforme a frequência de repetição, em moderadamente repetido e altamente repetitivo. O DNA altamente repetitivo é conhecido como DNA satélite ou SSR (*Simple Sequence Repeats* - Repetição de Sequências Simples) termo cunhado por Jeffrey em 1985, podem estar ou não presentes dentro de regiões codantes do DNA. Os minissatélites são repetições ao acaso em sequências de 10 a 60 pb, altamente polimórficos e com elevada taxa de heterozigosidade nas populações (JEFFREYES et al., 1985). Segundo Tautz (1989), os microssatélites são segmentos curtos de DNA de 1 a 6 pb, repetidos aleatoriamente ao acaso por todo o genoma, sendo altamente polimórficos (devido ao número de repetições de determinada sequência) e suas repetições específicas por *loci* de microssatélites são facilmente detectadas com utilização de PCR.

Os SSRs têm sido preferidos em estudos de diversidade e construção de mapas genéticos, pois utilizam a agilidade da técnica de PCR, são codominantes e estão distribuídos ao acaso no genoma com uma frequência relativamente alta (AKKAYA et al., 1992). Para que o microssatélite seja útil como marcador, ele deve ser inicialmente clonado, sequenciado e amplificado a partir de *primer* que o flanqueiem. Em seguida, os produtos de amplificação são separados por eletroforese e visualizados. Esses marcadores são capazes de fornecer excelentes resultados na caracterização de germoplasma e na identificação de duplicatas (DOBROVOLSKAYA et al., 2005; HOSHINO et al., 2002). Também possuem outras inúmeras finalidades dentro da análise genética, fornecendo assim informações mais precisas como, identificação de clones, linhagens, híbridos, cultivares, estudos de fluxo gênico e estimativas de taxas de cruzamento e parentesco (CUNHA et al., 2012).

Outra classe de marcadores baseados em PCR são os ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats* - Marcadores de Inter Sequencias Repetidas), estes marcadores também são conhecidos em alguns casos como microssatélites ancorados e foram descritos inicialmente por Zietkiewicz et. al. (1994). São dominantes ocorrendo co-dominância em somente alguns casos, e utiliza somente um *primer* que é formado por sequências repetidas de di ou trinucleotídeos, e estes por sua vez podem ser, ou não, ancorados. Tal característica, permite que o *primer* se anele somente a extremidade do microssatélite (3' ou 5') ou ainda permite que somente um subconjunto do microssatélite sirva de molde para a amplificação (REDDY et. al., 2004).

Uma grande vantagem que o ISSR apresenta é a necessidade de poucas informações sobre o genoma, não precisando desta forma que haja um conhecimento prévio da sequência a ser amplificada. Os marcadores ISSR também possuem a capacidade de gerar um alto nível de polimorfismo, e segundo Bornet e Brachard (2001), este marcador gera muitas informações a baixos custos e com alta reprodutibilidade. Muitos estudos foram realizados a partir desta técnica, como por exemplo, onde foi possível determinar a diversidade genética presente em *Zea mays* (KANTETY et al., 1995).

Outra importante técnica é o AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism* - Polimorfismo de Comprimento de Fragmentos Amplificados), que combina a clivagem de fragmentos de DNA com enzimas de restrição e a amplificação desses fragmentos por PCR (VOS et al., 1995). Resumidamente, nessa técnica, o DNA de um indivíduo é clivado com enzimas de restrição, às suas extremidades são ligados adaptadores, os quais servem de sítios de ligação para “*primers*” numa reação de PCR (ALZATE-MARIN, et al., 2005). É um marcador bastante útil para a realização de DNA *fingerprints*, principalmente quando existem poucas informações disponíveis a respeito do genoma de interesse, como na construção de mapas genéticos, na caracterização da diversidade genética e na detecção de mutações.

Os EST (*Expressed Sequence Tag Markers* - Marcadores de Sequência Expressa), são marcadores obtidos através do sequenciamento parcial de clones aleatórios de cDNA, e são úteis na clonagem de genes específicos de interesse e no mapeamento sintênico de genes funcionais em vários organismos relacionados. As informações obtidas através destes EST's e as próprias sequências são depositadas em bancos de dados ao redor do mundo, como por exemplo o NCBI (“Centro Nacional para Informação em Biotecnologia” – “*National Center for Biotechnology Information*”).

A maioria das características quantitativas são determinadas por muitos genes, e cada um deles apresenta um pequeno efeito, porém alguns genes podem ter maior influência no controle desta característica, desta forma é possível identificar o QTL (Locos de característica quantitativa – “*Quantitative trait loci*”) através da utilização de marcadores moleculares, que ainda podem ser usados para o desenvolvimento de mapas genéticos (CREGAN et al., 1999). O mapeamento dos QTLs é uma importante ferramenta dentro do melhoramento genético, pois possibilita que regiões do genoma responsáveis pela expressão de importantes caracteres sejam identificadas. A localização dos QTLs ocorre através da hipótese de que, as marcas genômicas já conhecidas, ou os marcadores polimórficos estarão próximos, e desta maneira ligados ao QTL, e com isso, na progênie de um indivíduo heterozigoto para o marcador, será possível fazer uma associação das variações na característica de interesse com o genótipo do marcador. Mediante a ocorrência de *crossing-over* na meiose da formação de gametas da geração anterior, não ocorrerá à associação entre os genótipos do QTL e do marcador, indicando desta maneira um desequilíbrio da ligação. A frequência de recombinação causada pelo *crossing-over* dos cromossomos dos indivíduos parentais vai permitir, estimar a distância genética entre o marcador e o QTL, uma vez que a localização do marcador é conhecida será possível realizar uma estimativa a respeito da localização do QTL (LIU, 1998).

Vários fatores podem influenciar na detecção dos QTLs, como o número de genes envolvendo a expressão do caractere, a existência e a forma das interações gênicas, a herdabilidade do caráter, o número de genes segregantes na população de mapeamento e o número de marcadores moleculares presentes no mapa de ligação (LIU, 1998).

Dentro do gênero *Phaseolus* várias técnicas de marcadores moleculares são empregadas com diversas finalidades, como por exemplo, no estudo realizado por Maciel et al. em 2003, onde foi estudada a variabilidade genética presente em acessos de *P. vulgaris* e *V. unguiculata* através de marcadores AFLP, neste trabalho foi possível observar uma grande variação entre os acessos brasileiros estudados. Silva et al. (2003) estudaram genes associados a resistência a mancha-angular em feijão-fava, concluíram que um dos marcadores SSR utilizado localiza-se a 7,6 cM do gene que confere resistência a doença.

Maquet et al. (1997) avaliaram através de marcadores isoenzimáticos, a estrutura genética de 235 genótipos de feijão-fava, confirmando assim a existência de dois conjuntos gênicos na espécie, o Andino e Mesoamericano. Os resultados obtidos por Fofana et al. (1997), utilizando marcadores RAPD, corroboram com os obtidos pelos autores citados



anteriormente. Castillo et al. (2008), visando verificar o risco de erosão genética, estimaram a diversidade genética de fava, utilizando 90 *loci* ISSR, observaram que variedades frequentemente cultivadas apresentam uma menor diversidade em comparação as variedades pouco cultivadas.

## **2. 6. Diversidade genética**

O estudo da diversidade é de grande importância dentro de programas de melhoramento genético, pois é através dele que um pesquisador obtém condições de definir uma estratégia de seleção em busca de cruzamentos mais eficientes e melhores genes (FERREIRA, 2007), para que possam ser formados genótipos com características superiores. Desta maneira o sucesso de um programa de melhoramento se faz na possibilidade da variabilidade genética dentro da população com a qual se trabalha. Falconer (1987) afirma que a diversidade genética reside na diferença entre as frequências alélicas.

Quando o estudo da diversidade é realizado dentro de acessos de uma mesma cultura, trás consigo diversas vantagens, como a possibilidade de identificação de materiais genéticos muito próximos ou duplicatas. De acordo com Fonseca e Silva (1997) as duplicatas atrapalham o processo de caracterização de bancos de germoplasma, aumentando os gastos e o tempo para a execução da tarefa. Sendo assim a diversidade genética pode ser definida como qualquer medida quantitativa ou diferença genética, ao nível de sequência ou frequência alélica, que possa ser calculada entre indivíduos, populações ou espécies (BEAUMONT et al., 1998; MOHAMMADI E PRASANNA, 2003). Desta forma o estudo da diversidade teria como objetivo estimar as relações genéticas, verificar ou prever o nível de variabilidade e sua distribuição dentro das coleções de germoplasma.

### **2. 6. 1. Estimação da diversidade**

A estimação da diversidade genética pode ser realizada através da medição de características morfológicas, agronômicas e moleculares, fazendo uso de métodos biométricos baseados em processos preditivos (MIRANDA, 1998). Na predição da diversidade pode-se fazer uso de diversas análises multivariadas, com destaque para os métodos aglomerativos (análise de agrupamento), componentes principais e variáveis canônicas (CRUZ e REGAZZI, 2004).

Características que sofrem variações mensuráveis ou não geralmente são chamadas de variáveis, e esta pode assumir distribuição contínua ou em classes, dependendo da sua natureza. Quando estas variáveis assumem distribuição contínua são chamadas de quantitativas (altura de plantas, peso de grãos), quando formam classes são denominadas qualitativas (cor de folha, marcador molecular) (BARBÉ et al., 2010). Dentro da diversidade é possível trabalhar com vários tipos de variáveis, como quantitativas e qualitativas, as informações geradas por essas variáveis para cada genótipo são expressas em medidas de similaridade ou dissimilaridade.

Barroso e Artes (2003) descrevem que quanto maior o valor apresentado na medida de similaridade, maior será a semelhança entre os indivíduos avaliados, enquanto que na dissimilaridade o maior valor alcançado representa uma menor semelhança entre os indivíduos. De forma geral estas medidas são inter-relacionadas, além disto, Viera (2005) comenta que a matriz de similaridade pode ser transformada em dissimilaridade partindo do complemento da similaridade estimada.

A maior parte dos métodos de análise de agrupamento necessita de uma matriz de similaridade ou dissimilaridade, entre os indivíduos avaliados. Sendo que o coeficiente

escolhido irá depender da natureza dos dados, onde variáveis quantitativas são mais adequadas a medidas de dissimilaridade, enquanto que nas medidas de similaridade dados quantitativos ficam mais bem representados (AZAMBUJA, 2005). Segundo Cormack (1971) as distâncias mais utilizadas em agrupamentos são, a distância Euclidiana e a distância de Mahalanobis também chamada de distância generalizada.

A distância Euclidiana que é baseada no teorema de Pitágoras pode ser descrita como, a distância entre dois genótipos (i e j) sendo a raiz quadrada do somatório dos quadrados das diferenças entre valores de i e j para todas as variáveis. Cruz e Carneiro (2003) atentam para o fato de que nesta distância a escala pode afetar o valor obtido, sendo mais prudente o uso das variáveis padronizadas.

A distância de Mahalanobis (1936) ou também chamada de distância generalizada considera a variabilidade existente em cada unidade amostral, sendo aplicada para dados oriundos de experimentos com delineamento amostral, quando as variáveis são correlacionadas (CRUZ, 1990). Esta medida leva em consideração a matriz de covariância para o cálculo da distância. De forma geral este método de representação de distância leva em consideração qualquer correlação existente entre as variáveis utilizadas, independentemente das unidades de medida em que estas foram expressas. Rao (1952) faz uma ressalva quanto ao cálculo desta distância, onde deve ocorrer uma distribuição normal multidimensional e uma homogeneidade da matriz de covariância residual referentes aos dados amostrais.

O coeficiente de Jaccard se faz como exemplo de coeficiente de similaridade, onde se compara a presença ou ausência de certas características, sendo representado por uma variável binária. O coeficiente de Gower (1971) calcula a similaridade de uma só vez, através da combinação de variáveis qualitativas e quantitativas, contemplando inclusive a comparação de elementos amostrais com informações incompletas (MINGOTI, 2005).

## **2. 6. 2. Análises de agrupamento**

A análise de agrupamento é uma técnica multivariada que tem por objetivo proporcionar a organização dos dados em grupos por algum critério de classificação, de tal forma que exista máxima homogeneidade dentro e máxima heterogeneidade entre grupos (SNEATH E SOKAL, 1973). Durante a formação do agrupamento há a necessidade constante de se recalcularem o coeficiente de dissimilaridade entre os grupos estabelecidos para que ocorra a entrada ou não de novos indivíduos nestes grupos já estabelecidos. O processo de agrupamento é formado geralmente por duas etapas, onde inicialmente se escolhe e se realiza o cálculo da medida de dissimilaridade entre os genótipos, posteriormente define-se a técnica que acarrete na melhor formação de grupos (CRUZ E REGAZZI, 2004).

Os métodos de agrupamento mais utilizados são, os de otimização (Tocher) e os hierárquicos (vizinho mais próximo, vizinho mais distante, centroide, ward, UPGMA) (CRUZ E CARNEIRO, 2003). O método de otimização forma os grupos a partir da adequação de algum critério de agrupamento, este método tem como objetivo maximizar ou minimizar alguma medida de distância pré-estabelecida entre os indivíduos otimizados. Na metodologia de hierarquização não há um número pré-definido de grupos, não ocorrendo assim uma preocupação com a quantidade de grupos que irão ser formados, os agrupamentos ocorrem através de um processo que se repete em vários níveis, formando uma hierarquia, estabelecida através de um dendrograma. Os dendrogramas podem ser considerados como uma representação gráfica de todo o processo de agrupamento através de uma estrutura de árvore (EVERITT et al., 2001). Onde os nós representam os agrupamentos que são compostos pelos grupos ou genótipos. Caso o dendrograma seja cortado em um determinado nível de distância,

será observada uma classificação dos grupos existentes nesse nível e dos indivíduos que o formam.

O método de otimização proposto Tocher, citado por Rao (1952) consiste na formação de um grupo inicial composto pelo par de indivíduos mais similares, identificados mediante a matriz de dissimilaridade. Posteriormente avalia-se a inclusão de novos indivíduos, a partir do critério que a distância média intragrupo deverá ser menor que a intergrupo. Este método foi empregado na identificação da divergência genética presente entre genótipos de feijão-comum (BENIN et al., 2002; ELIAS et al., 2007; CARGNELUTTI FILHO et al., 2008).

No método da ligação simples também denominado vizinho mais próximo (*Neighbourhoods*) a distância entre dois grupos é definida pela distância mínima existente entre os indivíduos a eles pertencentes. Os dendrogramas formados a partir deste método são pouco informativos, uma vez que informações referentes a grupos intermediários não se ficam evidentes. O método de ligação completa ou vizinho mais distante possui uma metodologia contrária à descrita acima, sendo aqui utilizada a distância máxima entre os indivíduos para a formação dos grupos. Este método geralmente forma grupos compactos e discretos, apresentando altos valores de dissimilaridade (BUSSAB et al., 1990).

O método do centroide foi proposto inicialmente por Sokal e Michener (1958), onde cada agrupamento é considerado um simples ponto, representado pelo seu centro de massa, denominado centroide. Para este método a distância entre dois grupos é calculada como a diferença entre as suas médias para todas as variáveis. Neste método há possibilidade de ocorrer o fenômeno de reversão, é quando a distância entre centroides é menor que a distância entre os grupos já formados, isto faz com que haja a formação de novos grupos em um nível inferior a grupos já existente, fazendo com que o dendrograma fique confuso (ROMESBURG, 1984). Na metodologia de Ward (1963) também chamada de variância mínima o agrupamento é formado pelas somas dos quadrados dos desvios entre os acessos, ou de forma alternativa, através do quadrado da distância euclidiana uma vez que ocorra a relação (CRUZ, FERREIRA E PESSONI, 2011). Este método forma grupos que possuem alta homogeneidade interna, assim como o método de vizinho mais distante (BARROSO E ARTES, 2003).

Finalmente o método UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method Using na Arithmetic Average*) determinado por Sneath e Sokal, citado por Menezes (2005), baseia-se na atualização da matriz de distância a partir do cálculo da média das distâncias entre os indivíduos de dois grupos. Faria (2009) define este método como sequencial, aglomerativo, sem superposição, considerado um dos mais utilizados. De forma geral esta metodologia visa trabalhar com médias ao invés de valores mais extremos. Araújo (2004) comenta que este método proporciona dendrogramas com simetria de ramos ao redor de um nó. Estudos utilizando o método UPGMA foram realizados para a identificação de variabilidade entre acessos de feijão comum (ELIAS et al., 2007) e feijão fava (GUIMARÃES et al., 2007).

Mediante a existência de várias técnicas de agrupamento, cabe ao pesquisador observar qual é a melhor, ou seja, qual técnica formará um dendrograma com uma imagem menos distorcida da realidade. Para tanto há o coeficiente de correlação cofenética (SOKAL e ROHLF, 1962), que auxilia na verificação do ajuste entre a matriz de dissimilaridade e o dendrograma obtido (VIEIRA et al., 2005).

### **2. 6. 3. Análises de dispersão**

Os métodos de dispersão mais utilizados que são o de componentes principais e das variáveis canônicas (CRUZ E REGAZZI, 2004). Ambas as técnicas permitem uma simplificação no conjunto de dados estudados, resumindo-se em poucas variáveis com a

capacidade de reter o máximo da variação que estava disponível originalmente e ainda ser independentes entre si.

A técnica de componentes principais foi descrita inicialmente por Pearson em 1901 (CRUZ E REGAZZI, 2004), segundo Morrison (1976) esta técnica pode ser descrita como, a transformação do conjunto de variáveis originais em outro, chamado de componentes principais (CP), que possuem dimensões equivalentes, apresentando a vantagem de cada componente reter a variância original e que estas decrescem do primeiro ao último componente principal. Esta ferramenta é frequentemente utilizada na estimação de diversidade genética, via dispersão gráfica dos componentes de maior variação. Para isso Morrison (1976) adverte que os dois primeiros componentes devem reter 75% de toda a variação pronunciada, enquanto que Cruz e Carneiro (2003) recomendam que no mínimo, 80% da variação esteja presente nos três primeiros componentes principais, fazendo com que se tenha mais segurança na representação gráfica, em planos bi ou tridimensionais. Segundo Jolliffe (1972 e 1973), quando se dispõem de um grande número de descritores, muitos destes podem vir a ser redundantes, sendo assim passíveis de descarte, dado o baixo valor informativo adicionado à avaliação.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Localização do Experimento

Todo experimento foi realizado entre os meses de maio de 2012 a fevereiro de 2014, nas dependências do Departamento de Fitotecnia, Instituto de Agronomia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), localizada no município de Seropédica, RJ (22°45' S; 43° 41' W) (RAMOS et al., 1973).

#### 3.2. Material Vegetal

No presente trabalho foram utilizados 15 acessos da espécie *Phaseolus lunatus*, vulgarmente conhecida como feijão-fava, pertencentes à Coleção de Germoplasma do Departamento de Fitotecnia, Instituto de Agronomia da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

#### 3.3. Semeio em casa de Vegetação, Delineamento Estatístico e Avaliações

O semeio foi realizado em casa de vegetação localizada no campo experimental do Departamento de Fitotecnia. Na segunda quinzena do mês de maio de 2012 foi iniciado o plantio das sementes de feijão-fava em bandeja de germinação de polietileno (Figura 1), contendo substrato na proporção de 1:1:1 (areia, terra, esterco bovino curtido). As plantas foram dispostas na bandeja em DBC (Delineamento em Blocos Casualizados), tendo 15 tratamentos (acessos) com 3 repetições, contendo 15 plantas por parcela, totalizando desta maneira 675 plantas.

Durante o período de germinação das sementes foi realizada apenas uma avaliação, onde foi verificada a porcentagem de germinação das sementes (GER), o número de dias que as sementes levaram para germinar (DG), a presença ou ausência de antocianina nas folhas (PA), a cor do hipocótilo das plântulas (CH), classificado como verde, vermelho, vermelho-púrpura e púrpura, a altura das plântulas (AP) e o diâmetro do caule (DiC). Os tratamentos foram submetidos, no Programa GENES, à análise da variância e também foram estimados os coeficientes de variação experimental, de determinação genotípica e de variação genotípica, bem como a correlação intra-classe e o índice de variação.



**Figura 1.** Bandejas de germinação de *Phaseolus lunatus*, período do experimento realizado em casa de vegetação pertencente ao Departamento de Fitotecnia da UFRRJ.

Deve-se dizer que as variáveis PA e CH foram avaliadas plântula a plântula dentro de cada acesso, estimando-se, portanto, a porcentagem de plantas com tais características. Dessa forma, estas variáveis tiveram natureza quantitativa.

### 3.4. Transplântio para Vasos no Campo, Delineamento Estatístico, Condições Edafoclimáticas

A área de campo em questão apresenta as seguintes características, solo pertencente à classe dos Planossolos Háplicos, com textura arenosa de baixada, o clima pode ser caracterizado por estações chuvosas no verão e secas no inverno, com uma média anual de precipitação em torno de 1.200 mm (MARTORANO et al., 1997). Após 15 dias em casa de vegetação, as plantas foram transplantadas para vasos de polietileno, com capacidade de oito litros, contendo o mesmo substrato das badejas de germinação. Os vasos foram dispostos em espaçamento de 1 x 1 m em DBC (Delineamento em blocos casualizados), com 15 tratamentos (acessos) com três repetições, contendo cinco plantas por parcela, totalizando assim 225 plantas no experimento (Figura 2). Para as análises da porcentagem de N-proteico na semente (NPS) e valor de proteína bruta (VPB) foram utilizados apenas duas plantas escolhidas aleatoriamente em cada parcela experimental, totalizando assim, um número de 6 plantas/acesso utilizadas nestas análises.



**Figura 2.** Campo experimental pertencente ao Departamento de Fitotecnia da UFRRJ, transplântio de mudas de *Phaseolus lunatus* para os vasos.

A adubação das plantas ocorreu 60 dias após a semeadura, onde em cada vaso foi depositado cerca de 100 g de esterco bovino curtido, visando assim um bom desenvolvimento da planta durante o seu período de floração. O controle de plantas daninhas foi realizado mediante capina manual a cada 15 dias, e a irrigação foi realizada por meio de regadores manuais durante todo o ciclo de desenvolvimento com frequência de dois em dois dias. Como todos os acessos aqui trabalhados apresentaram hábito de crescimento indeterminado, as plantas foram tutoradas com auxílio de uma vara de bambu de um metro de comprimento.

### 3.5. Caracterização e Avaliação Fenotípica

Todas as plantas presentes no experimento foram avaliadas conforme lista de descritores para a espécie *Phaseolus lunatus* (IPGRI, 2001). Onde foram avaliados caracteres vegetativos e reprodutivos (Tabela 1). Todas as avaliações foram realizadas a partir do início da floração, com exceção das variáveis pigmentação do caule (PiC) e ramificação (RAM) que ocorreram 6 semanas após a germinação das sementes, como consta no descritor para a espécie.

**Tabela 1.** Caracterização das variáveis analisadas nos 15 acessos de *Phaseolus lunatus* pertencente à Coleção de Germoplasma da UFRRJ.

Variáveis	Categoria da Variável	Natureza dos Dados	Mensuração dos Dados	Unidades de Medida	Categoria dos dados
Diâmetro de Caule (DiC)	Vegetativa	Quantitativo	Média	milímetros	–
Pigmentação do Caule (PiC)	Vegetativa	Qualitativo	Avaliação visual e Porcentagem	–	Sem pigmentação; Localizada nos nós; Generalizada; Quase total
Hábito de Crescimento (HC)	Vegetativa	Qualitativo	Avaliação visual e Porcentagem	–	Determinado; Indeterminado
Ramificação (RAM)	Vegetativa	Qualitativo	Avaliação visual e Porcentagem	–	1 Caule Principal, ramos laterais curtos, raros ou inexistentes; 1 Caule principal, raros ramos laterais a começar nos primeiros nós; 2 ou 3 caules principais a começar nos primeiros nós; 2 ou 3 caules principais e outros ramos laterais; Densamente ramificado
Número de Nós (NuN)	Vegetativa	Quantitativo	Contagem	Números inteiros	–
Cor da Nervura das Folhas (CrNF)	Vegetativa	Qualitativo	Avaliação visual e Porcentagem	–	Verde; Púrpura
Cor da Folha (CrF)	Vegetativo	Qualitativo	Avaliação visual e Porcentagem	–	Verde pálido; Verde intermediário; Verde escuro
Pilosidade das Folhas (PiF)	Vegetativa	Qualitativo	Avaliação visual e Porcentagem	–	Glabra; Ligeiramente pubescente; Moderadamente pubescente; Altamente pubescente
Comprimento de Folha (CoF)	Vegetativa	Quantitativo	Média	milímetros	–
Largura de Folha (LaF)	Vegetativa	Quantitativo	Média	milímetros	–

Continua...					
Variáveis	Categoria da Variável	Natureza dos Dados	Mensuração dos Dados	Unidades de Medida	Categoria dos dados
Forma de Folha (FoF)	Vegetativa	Qualitativo	Avaliação visual e Porcentagem	–	Redondo; Oval; Oval-lanceolado; Lanceolado; Linear-lanceolado
Tempo Médio de Floração (TMF)	Reprodutivo	Quantitativo	Contagem	Números Reais	Até que 50% das plantas apresentem inflorescências
Tamanho de Botão Floral (TBF)	Reprodutivo	Quantitativo	Média	Milímetros	–
Cor das Asas (Pétalas)* (CrA)	Reprodutivo	Qualitativo	Avaliação visual e Porcentagem	–	Branca; Rosa claro; Rosa escura a púrpura; Violeta
Cor da Quilha (CoQ)	Reprodutivo	Qualitativo	Avaliação visual e Porcentagem	–	Esverdeada; Tingida (rosa ou púrpura)
Cor do Estandarte (CrE)	Reprodutivo	Qualitativo	Avaliação visual e Porcentagem	–	Branco; Rosa claro; Rosa escuro a púrpura; Violeta; Verde
Padrão de Abertura das Asas (AbA)	Reprodutivo	Qualitativo	Avaliação visual e Porcentagem	–	Asas paralelas (fechadas); Medianamente abertas; Asas muito separadas
Número das Vagens (NuV)	Reprodutivo	Quantitativo	Soma	Número reais	–
Comprimento das Vagens (CoV)	Reprodutivo	Quantitativo	Média	Milímetros	–
Largura das Vagens (LaV)	Reprodutivo	Quantitativo	Média	Milímetros	–
Espessura das Vagens (EsV)	Reprodutivo	Quantitativo	Média	Milímetros	–
Curvatura das Vagens (CuV)	Reprodutivo	Qualitativo	Avaliação visual e Porcentagem	–	Direita; Ligeiramente curva; Curva
Número de lócus na Vagem (NLV)	Reprodutivo	Quantitativo	Média	Números reais	–



Continua...					
Variáveis	Categoria da Variável	Natureza dos Dados	Mensuração dos Dados	Unidades de Medida	Categoria dos dados
Número de Sementes (NuS)	Reprodutivo	Quantitativo	Soma	Números reais	–
Comprimento da Semente (CoS)	Reprodutivo	Quantitativo	Média	Milímetros	–
Largura da Semente (LaS)	Reprodutivo	Quantitativo	Média	Milímetros	–
Espessura da Semente (EsS)	Reprodutivo	Quantitativo	Média	Milímetros	–
Peso de uma Semente (PuS)	Reprodutivo	Quantitativo	Média	Gramas	–
Peso de Cem Sementes	Reprodutivo	Quantitativo		Gramas	–
Peso total de Sementes (PTS)	Reprodutivo	Quantitativo	Soma	Gramas	–
Forma da Semente (FoS)	Reprodutivo	Qualitativo	A partir da variável RCL	–	Esférica; Elíptica; Oblonga ou reniforme curta
Perfil da Semente (PeS)	Reprodutivo	Qualitativo	A partir da variável REL	–	Achatada; Semi-achatada; Cheia
N-Proteico na semente (NPS)	Nutricional	Quantitativo	Média	Porcentagem	–
Valor de Proteína Bruta (VPB)	Nutricional	Quantitativo	Média	–	–

Para as variáveis forma de semente (FoS) e perfil de semente (PeS) foi utilizado a classificação descrita por Puerta Romero e citado por Vilhordo et al. (1996). Onde a forma da semente é representada pelo coeficiente J que é obtido pela relação comprimento largura de semente (RCL) e o perfil é representado pelo coeficiente H que é obtido através da relação espessura largura de semente (REL) (Tabela 1).

A porcentagem de N-protéico nas sementes (NPS) e valor de proteína bruta (VPB) foram estimadas, a partir da utilização de grãos crus. Estas foram trituradas em moinho de facas e peneiradas em malha de 30 “*mesh*” com a finalidade de obtenção de uma farinha. Essa farinha foi armazenada em saco fechado de polietileno, e mantida em temperatura de refrigeração (4° C). Para a determinação do teor de proteína utilizou-se destilador Microkjeldahl e bloco digestor segundo AOAC (1995), avaliando-se a porcentagem de nitrogênio na amostra. A conversão para proteína foi realizada multiplicando-se o conteúdo de nitrogênio total pelo fator 6,25.

### **3. 5. 1. Análise estatística**

Para as análises das variáveis fenotípicas quantitativas (Tabela 1) foram realizadas análises de variância, testes de média pelo método de Scott-Knott e correlações genotípicas. Todas estas análises foram realizadas no Programa GENES (CRUZ, 2008).

Também foram realizadas análises de diversidade genética, estimando-se a princípio matrizes de distância genética submetidas às análises de agrupamento via método *Unweighted Pair-Group Method Using na Arithmetic Average* (UPGMA). As análises de consistência entre a matriz fenética e cofenética foi realizadas através da correlação cofenética. As análises de diversidade foram todas executadas no Programa R, versão 2.6.1 (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2011)

O uso da análise de Componentes principais (CPA) foi realizado para se obter o gráfico de dispersão dos acessos, além de informar quais das variáveis analisadas ao longo do experimento contribuíram mais para a diversidade genética da encontrada. Estas análises foram realizadas no Programa GENES (CRUZ, 2008).

Para as variáveis qualitativas foi realizada uma análise descritiva dos dados, onde verificou-se a porcentagem de plantas dentro dos acessos conforme cada variável expressa na Tabela 1.

## **3.6. Análise Genotípica**

### **3. 6. 1. Genotipagem**

Para a genotipagem foram caracterizadas 30 plantas, sendo duas plantas selecionados aleatoriamente entre cada um dos 15 acessos de *Phaseolus lunatus* pertencentes à Coleção de Germoplasma da UFRRJ.

### **3. 6. 2. Coleta e extração de DNA genômico**

Folhas jovens foram coletadas no início da manhã, as folhas correspondentes a cada acesso foram envolvidas em papel alumínio, identificadas e colocadas em caixas de isopor contendo gelo em escama. Uma vez no laboratório foram macerados cerca de 250 mg de tecido vegetal em nitrogênio líquido, até formar um pó fino. Este pó foi distribuído em dois tubos *eppendorf* de 2 ml, previamente identificados e armazenados em ultrafreezer -72°C, para uma posterior extração do DNA genômico.

A extração DNA genômico foi realizada de acordo com o método CTAB (cetyltrimethylammonium bromide) proposto por Doyle e Doyle (1990) mediante algumas modificações descritas a seguir.

Foram adicionados aos tubos *epENDORF* contendo as amostras, 850 µl de tampão de extração pré-aquecido contendo 2,0 g de CTAB, 8,12 g de NaCl, 4 ml de EDTA (0,5 M/pH 8,0), 100 ml de Tris-HCl (1 M/pH 8,0), 1 g de PVP e 2 µl de β- mercaptoetanol, estes dois últimos necessários para a remoção de compostos fenólicos. Este material foi incubado a 65 °C em banho-maria por 40 minutos e agitados suavemente a cada dez minutos, logo em seguida foi submetido ao processo de centrifugação por cinco minutos a 14.000 rpm. O sobrenadante foi transferido para novos tubos *epENDORF* de 1,5 ml, onde foi acrescentado 800 µl de clorofórmio: álcool isoamílico (CIA/24:1) em cada tubo, este material sofreu suaves inversões por aproximadamente 10 minutos até ficar turvo, esta etapa foi repetida três vezes, isto serviu para separar toda a fase orgânica. Após o processo foi transferido a fase aquosa para novos tubos, adicionado 400 µl de isopropanol gelado e o material foi incubado em freezer a -20° C por uma noite.

Os tubos que saíram do freezer foram centrifugados por 10 minutos a 14.000 rpm, o sobrenadante foi descartado e o precipitado foi lavado três vezes, sendo uma vez com 200 µl de etanol 95% e duas vezes com 200 µl de etanol 70%, para a retirada do sal presente. Após o descarte do último sobrenadante o material foi seco em condições naturais até que o etanol fosse removido. Em seguida o material foi ressuscitado em 200 µl de TE (1 ml de Tris-HCl (1 M/pH 8,0), 0,2 ml de EDTA (0,5 M/pH 8,0) e água ultra-pura para avolumar) com RNase, incubados em banho-maria por 30 minutos a 60° C, acrescenta-se ao material 20 µl de NaCl (5m/L) e 150 µl de isopropanol gelado, após este processo o material foi armazenado em freezer a -4° pelo período de *over night*. No dia seguinte é realizada uma centrifugação por 10 minutos a 14.000 rpm, feita outra lavagem e secagem do precipitado conforme descrição anterior e, finalmente ocorre uma ressuspensão de precipitado em 200 µl de TE (1 ml de Tris-HCl (1 M/pH 8,0), 0,2 ml de EDTA (0,5 M/pH 8,0) e água ultra-pura para avolumar), esta mistura é passada em vortex e levada para a quantificação.

### **3. 6. 3. Quantificação do DNA genômico**

Encerrado o processo de extração, o DNA foi quantificado em gel de agarose a 1%, onde foi utilizado 6 µl de DNA e 4 µl de *gel red* e *blue juice*, chegando à concentração final de 10 µl de cada amostra.

Os valores de concentração de DNA nas amostras foram estimadas por meio de análise digital de imagens, utilizando-se o programa GelQuant, utilizando-se como padrão um marcador de 100 pb. A observação e captura da imagem do gel foi realizada através do fotodocumentador MiniBis Pro 1.3 MP.

Para nível de comparação dos resultados obtidos com a análise de imagem, também foi realizada uma quantificação do DNA através do quantificador NanoDrop.

Posteriormente o DNA foi diluído (5 ng. µL<sup>-1</sup>) para as reações de polimerase em cadeia (PCR).

### **3. 6. 4. Condições de amplificação**

As reações de amplificação serão realizadas conforme Williams et al. (1990), com algumas modificações. As reações finais foram completadas com água ultra-pura para o volume de 10 µl, contendo os seguintes reagentes: Tampão 20x (Invitrogen), 100 µmol L<sup>-1</sup> de cada dNTP, 1 µl de MgCl 50 M, 0,8 de Taq DNA polimerase. Sendo aplicado cerca de 2 µl de DNA genômico a 5 ng e 8 µl do mix descrito acima.

As reações de PCR (GeneAmp PCR System Thermal cycler – Applied Biosystems) foram conduzidas da seguinte maneira: três minutos a 94° C para a desnaturação inicial, após seguindo-se 40 ciclos, cada um composto por um minuto a 94° C, 40-52° C (dependendo do *primer* ISSR utilizado), três minutos a 72° C, e a extensão final por sete minutos a 72° C.

### 3. 6. 5. Seleção de iniciadores

As condições de amplificação foram otimizadas para cada iniciador, onde foi detectada a temperatura mais adequada para a amplificação. Ao todo foram utilizados 15 *primers* (Tabela 2).

**Tabela 2.** Relação dos 15 *primers* ISSR, temperatura de anelamento otimizadas, utilizados nos 15 acessos de *Phaseolus lunatus* pertencentes à Coleção de Germoplasma da UFRRJ.

<i>Primers</i>	Sequências 5' – 3'	Ta
1	(AGA) <sub>3</sub> (GAG) <sub>2</sub> GG	52°C
2	(GT) <sub>6</sub> CC	45°C
3	(CAC) <sub>3</sub> GC	45°C
4	(TGT) <sub>3</sub> (GTG) <sub>2</sub> GA	52°C
5	(CT) <sub>8</sub> TG	40°C
6	(GA) <sub>8</sub> YT	47°C
7	(CA) <sub>8</sub> RG	47°C
8	(AG) <sub>8</sub> C	45°C
9	(CT) <sub>8</sub> AC	40°C
10	(CT) <sub>8</sub> GC	40°C
11	(CA) <sub>6</sub> AC	40°C
12	(CA) <sub>6</sub> AG	40°C
13	(GT) <sub>6</sub> GG	40°C
14	(GT) <sub>6</sub> CC	40°C
15	(GATA) <sub>4</sub>	45°C

Legenda: Lista de sequências de *primers* cedidos pela Universidade Estadual do Norte Fluminense (UENF). Ta – Temperatura de Anelamento. R = A, G; Y = C, T.

### 3. 6. 6. Fotodocumentação

Os produtos amplificados (bandas) foram separados através de gel de agarose 2%, corados com gel red e submetidos a luz UV para a visualização dos resultados (Fotodocumentador MiniBis-Pro – Bio-imaging System). As imagens dos géis foram capturadas no programa GelCapture para uma posterior análise.

### 3. 6. 7. Análise estatística

Os dados dos fragmentos amplificados foram obtidos pela avaliação visual das bandas mais consistentes e evidentes nas 30 plantas analisadas. Estes foram utilizados para a elaboração de uma matriz de dados binários, utilizada para calcular a matriz de dissimilaridade, em que o número 1 (um) correspondeu à presença de banda, o 0 (zero) correspondeu a ausência de banda. A matriz de distância genética dos dados foi obtida através da distância de Jaccard, e o dendrograma foi construído a partir do método UPGMA. Análises de consistência foram realizadas através da correlação cofenética. Estas foram executadas no Programa R versão 2.6.1 (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2011).

### **3.7. Análise conjunta das variáveis fenotípicas e genotípicas**

Nesta etapa utilizou-se as mesmas plantas selecionadas para a análise genotípica. A matriz de distância referente a análise conjunta dos dados genotípicos e fenotípicos foi estimada a partir do algoritmo de Gower, e o dendrograma foi formado através do método UPGMA (*Unweighted Pair-Group Method Using na Arithmetic Average*).

As validações de todos os dados foram feitas através da correlação cofenética. O Programa R, versão 2.6.1 (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2011), foi usado para a análise de todo o trabalho.

## 4. RESULTADO E DISCUSSÃO

### 4.1. Germinação e Desenvolvimento das Sementes em Casa de Vegetação

Inicialmente a partir da Tabela 3 pode-se observar que a maioria das variáveis apresentou um excelente coeficiente de variação ( $CV_{(%)}$ ), sendo assim autenticando a precisão experimental dos dados coletados, somente a variável presença de antocianina nas (PA) apresentou um  $CV_{(%)}$  de valor mais elevado de 64,34, este fato pode ser explicado pela natureza qualitativa desta variável.

Para o presente experimento foram utilizadas sementes armazenadas previamente por um período de seis meses em câmara fria, constatou-se que os grupos avaliados continuam com um alto poder germinativo, com valores entre 87 e 100% e uma média bastante elevada de 96,26 (Tabela 2). Bragantini (2005) estudando cultivares de feijão-comum (*Phaseolus vulgaris*) relata que após os três primeiros meses de armazenamento as sementes de apresentaram perda de vigor, sendo assim pode-se dizer que as sementes de feijão-fava são mais resistentes ao armazenamento, apresentando desta forma pouca ou nenhuma diminuição no vigor de suas sementes.

Ainda em relação à germinação foi observado que os acessos 03, 06, 13 e 14 apresentaram um alto valor de porcentagem de germinação das sementes (PGS) 100%, enquanto que o acesso 11 obteve 87% que foi a menor taxa, sendo assim não houve uma diferença significativa entre os acessos para a taxa de germinação (Tabela 3). Em trabalho realizado com genótipos crioulos de feijão-comum Coelho et al. (2010) observaram uma taxa de germinação inferiores variando de 36 a 100%, ainda no mesmo trabalho foi observado a germinação no quinto dia após a semeadura, verificou-se esta mesma época para germinação em cinco acessos no experimento (03, 04, 05, 06 e 07), enquanto que a maioria dos acessos levaram seis dias e apenas o acesso 15 levou sete dias para que a plântula rompesse o solo, a média desta variável no experimento foi de 5,73 dias (Tabela 3), apesar desta diferença não se observa uma diferença estatística significativa entre os acessos.

**Tabela 3.** Quadro de análise de variância das variáveis dos 15 acessos de *Phaseolus lunatus* realizadas em Casa de Vegetação.

FV	GL	PGS	DGS	API	DiC	PAF	CH
Bloco	2	164,86	0,26	422,25	0,05	20,68	71,35
Tratamento	14	42,96 <sup>ns</sup>	0,58 <sup>ns</sup>	183,78*	0,09*	1098,40*	1318,40*
Resíduo	28	22,34	0,36	49,65	0,02	22,40	38,64
$\bar{x}$		96,26	5,73	94,62	1,75	7,35	88,24
$CV_{(%)}$		4,91	10,49	7,44	5,02	64,34	7,04
$H^2$		47,99	37,70	72,98	91,39	97,96	97,06
rI		23,52	16,78	47,37	77,97	94,12	91,69
$CV_g$		2,72	4,71	7,06	9,46	257,47	23,40
$IV_g$		0,55	0,44	0,94	1,88	4,00	3,32

Legendas: FV – Fonte de variação; PGS – Porcentagem de germinação das sementes; DGS – Dias de germinação das sementes; API – Altura de plântulas (mm); DiC – Diâmetro de caule (mm); PAF – Presença de antocianina nas folhas; CH – Cor do hipocótilo;  $CV_{(%)}$  - coeficiente de variação experimental (%);  $\bar{x}$  - média;  $H^2$  – coeficiente de determinação fenotípico; rI – correlação intra-classe;  $CV_g$  – coeficiente de variação genotípico;  $IV_g$  – índice de variação; \*diferença estatística significativa a 5% de probabilidade; ns - não houve diferença significativa

Oliveira et al. (2013) trabalhando com sementes de feijão-fava da subamostra “Boca de Moça” oriundas do banco de germoplasma da UFPI obtiveram uma média de oito dias

para que as plântulas rompessem o solo, sendo assim as plantas aqui avaliadas possuem uma maior capacidade germinativa além de uma média de emergência de plântulas em menos tempo.

Segundo a legislação vigente no país as sementes de feijão-fava não estão classificadas para que haja uma comercialização, utilizando-se a categoria vigente para o feijão comum (*Phaseolus vulgaris*), se observa que a germinação mínima para sementes básicas é de 70%, enquanto que para sementes certificadas (C1 e C2) ou não certificadas (S1 e S2) de primeira e segunda gerações é de 80% (BRASIL, 2005), partindo desta premissa todas as sementes de feijão-fava utilizadas no presente trabalho estariam aptas a comercialização. Nobre et al. (2012) avaliando sementes de dez variedades de feijão-fava observou quatro variedades que não atenderam aos valores mínimos de germinação.

O comportamento dos acessos é de grande importância para que haja a possibilidade de agrupá-los e desta maneira estimar a diversidade presente dentro de cada variável, para tanto optou-se pelo método de Scott-Knott onde é feito um agrupamento estatístico dos dados, para características relacionadas a germinação observou-se a formação de 6 grupos para PGS (Tabela 4), enquanto que para dias de germinação das sementes (DGS) não ocorreu distinção de grupos.

**Tabela 4.** Quadro de agrupamento de médias pelo método Scott-Knott das variáveis analisadas dos 15 acessos de *Phaseolus lunatus* em Casa de Vegetação.

Acessos	PGS	DGS	APL	DiC
1	98 b	6 a	106,6 a	1,84 a
2	91 e	6 a	102,65 a	1,88 a
3	100 a	5 a	93,73 a	1,75 a
4	93 d	5 a	81,18 a	1,48 a
5	96 c	5 a	84,34 a	1,59 a
6	100 a	5 a	97,44 a	1,78 a
7	98 b	5 a	101,56 a	1,70 a
8	96 c	6 a	87,85 a	2,02 a
9	98 b	6 a	106,05 a	1,73 a
10	98 b	6 a	99,42 a	1,92 a
11	87 f	6 a	87,44 a	1,46 a
12	98 b	6 a	97,51 a	1,94 a
13	100 a	6 a	90,82 a	1,83 a
14	100 a	6 a	89,03 a	1,59 a
15	93 d	7 a	93,83 a	1,81 a
$\bar{x}$	96,26	5,73	94,63	1,75

Legenda: PGS – Porcentagem de germinação das sementes; DGS – Dias de germinação das sementes; APL – Altura de plântula (mm); DIC – Diâmetro de caule (mm);  $\bar{x}$  - média; Medidas seguidas da mesma letra em cada coluna pertencem a mesma classe, de acordo com o teste de Scott-Konott (P<0,005)

Ainda sobre estas variáveis observando a Tabela 3 nota-se que ambas possuem os menores valores de coeficiente de determinação fenotípico ( $H^2$ ) 47,99 e 37,70 e do índice de variação ( $IV_g$ ) 0,55 e 0,44 respectivamente, estes valores que podem ser considerados de magnitude moderada a baixa. De acordo com Kurek et al. (2001) caracteres com baixa herdabilidade tendem a dificultar o processo de seleção, devido a uma grande influência do ambiente.

Já para as variáveis, altura de plântula (API) e diâmetro de caule (DiC) observa-se uma média de 94,62 e 1,75 mm respectivamente, apresentando assim diferença significativa entre os tratamentos, os acessos 01 e 09 apresentaram as plântulas mais altas (106,6 e 106,05 mm) e os maiores DiC ocorreram nos acessos 08 e 12 (2,02 e 1,94 mm), no acesso 04 ocorreu uma correspondência entre as variáveis, apresentando assim um dos menores valores de altura de plântulas e diâmetro de caule (81,18 e 1,48 mm). Tanto para coeficiente de determinação fenotípico ( $H^2$ ) quanto para índice de variação ( $IV_g$ ) os valores são altos, 72,98, 91,39 e 0,94, 1,88 respectivamente, indicando desta forma que estas características possuem uma boa variabilidade genética e uma boa probabilidade para ganhos genéticos. Apesar dos fatos já descritos anteriormente não ocorreu distinção de grupos formados para estas variáveis (Tabela 4).

Quanto às duas variáveis qualitativas analisadas (Tabela 5) na casa de vegetação pode-se comentar que elas apresentam certo grau de correspondência em seus valores, nos acessos 02, 04, 05, 07, 08, 10, 11, 12, 13 e 15 em nenhuma planta constatou-se a presença de antocianina nas folhas (PAF), sendo que nestes mesmos acessos observa-se que a maior parte das plantas avaliadas apresenta a cor verde para cor de hipocótilo (CH) (Tabela 5), ou seja, sem a presença de outras substâncias fotossintéticas. Após a clorofila, as antocianinas são o mais importante grupo de pigmentos de origem vegetal (HARBORNE E GRAYER, 1988). Compõem o maior grupo de pigmentos solúveis em água do reino vegetal e são encontradas em maior quantidade nas angiospermas (BRIDLE E TIMBERLAKE, 1997).

**Tabela 5.** Tabela de presença de antocianina nas folhas (PAF) e cor de hipocótilo (CH) avaliados em Casa de Vegetação.

Descritor/ Categorias	Acessos															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
PAF*	Pre.	2	0	4	0	0	2	0	0	70	0	0	0	0	31	0
	Aus.	98	100	96	100	100	98	100	100	30	100	100	100	100	69	100
CH*	Ved.	93	75	96	100	90	98	95	100	23	100	100	100	100	62	90
	Ver.	7	25	4	0	10	2	5	0	77	0	0	0	0	38	10

Legenda: Pre. – Presença; Aus. – Ausência; Ved. – Verde; Ver. – Vermelho

\*Observação: Os valores dos descritores representam a porcentagem de plantas dentro dos acessos que apresentam a determinada característica

A avaliação do caractere cor de hipocótilo (CH) foi realizada mediante instruções contidas na lista de descritores para a espécie *Phaseolus lunatus*, onde se observa algumas categorias de coloração, variando assim do verde ao púrpura, neste caractere os acessos que obtiveram um valor igual a 100 não possuem nenhuma planta dentro de sua população que tenha a presença de antocianina em seu hipocótilo. Vale ressaltar ainda que ambas as variáveis apresentaram os maiores valores de  $H^2$ , de 97,96 e 97,06 e também de  $IV_g$  4 e 3,32 sendo assim para estas características observa-se uma altíssima variabilidade genética e



também que as características devem ser mantidas nos indivíduos dos grupos ao longo das gerações, isto ainda pode ser corroborado pela formação de vários grupos nos agrupamentos por média (Tabela 4). Este fato pode ser de grande valia uma vez que plantas que apresentam antocianina em suas folhas estão menos propensas a ter problemas por causa de excesso de luminosidade, além de uma maior proteção antioxidante (LOPES et al., 2007).

## 4.2. Diversidade Genética Entre Acessos de *Phaseolus lunatus*

### 4.2.1. Diversidade estimada através de variáveis fenotípicas quantitativas

De acordo com a Tabela 6 observa-se para todas as variáveis analisadas uma excelente precisão experimental, evidenciada pelos coeficientes de variação ( $CV_{(%)}$ ) obtidos. Tais estimativas conduzem a uma alta confiabilidade estatística dos dados aqui a serem analisados e discutidos, bem como propiciam a tomada de decisão de forma mais clara e sólida. O maior CV obtido foi para a variável número de vagens (NuV), com estimativa de 18%, enquanto que o menor CV, estimado em 3,9%, foi para a relação espessura largura de semente (REL).

**Tabela 6.** Análise de variância das variáveis fenotípicas quantitativas dos 15 acessos de *Phaseolus lunatus*.

FV	Gl	DiC	CoF	LaF	TBF	NuN	NuV	CoV	LaV	EsV	NLV
Bloco	2	1,8	36,1	48,3	0,1	0,1	2300,9	8,1	0,6	0,0	0,1
Trat.	14	0,8 <sup>ns</sup>	48 <sup>ns</sup>	174,5 <sup>**</sup>	9,4 <sup>**</sup>	0,3 <sup>**</sup>	2550 <sup>**</sup>	57,2 <sup>**</sup>	9,9 <sup>**</sup>	0,7 <sup>**</sup>	0,8 <sup>**</sup>
Resíduo	28	0,4	36,7	8,3	0,2	0,0	931,5	7,4	0,3	0,2	0,1
$\bar{x}$		6,5	73,9	37,8	7,0	2,0	169,3	52,3	14,1	6,9	2,7
$CV_{(%)}$		10,2	8,2	7,6	6,0	10,0	18,0	5,2	4,0	5,8	12,7
$H^2$		48,7	23,5	95,2	98,1	84,1	63,5	87,0	96,7	77,6	85,0
rl		24,1	9,3	86,9	94,5	63,9	36,7	69,0	90,8	53,6	65,4
$CV_g$		5,7	2,6	19,7	25,0	13,4	13,7	7,8	12,6	6,3	17,4
$IV_g$		0,6	0,3	2,6	4,2	1,3	0,8	1,5	3,1	1,1	1,4

	Gl	NuS	PuS	PTS	CoS	LaS	EsS	RCL	REL	NPS	VPB
Bloco	2	9611,0	0,0	4150,4	1,3	1,5	1,0	0,0	0,0	0,0	0,5
Trat.	14	28956 <sup>**</sup>	0,0 <sup>**</sup>	2747 <sup>**</sup>	12,2 <sup>**</sup>	5,4 <sup>**</sup>	4,3 <sup>**</sup>	0,2 <sup>**</sup>	0,0 <sup>**</sup>	0,1 <sup>*</sup>	5,4 <sup>*</sup>
Resíduo	28	4584,4	0,0	526,5	0,6	0,6	0,5	0,0	0,0	0,1	2,6
$\bar{x}$		414,2	0,4	153,0	11,7	8,6	6,3	1,4	0,7	3,1	19,5
$CV_{(%)}$		16,3	6,4	15,0	6,5	9,2	11,4	4,5	3,9	8,0	8,3
$H^2$		84,2	94,4	80,8	95,2	88,4	87,9	97,6	95,8	58,7	51,6
rl		63,9	85,0	58,4	87,0	71,8	70,9	93,1	88,4	32,1	26,2
$CV_g$		21,7	15,1	17,8	16,7	14,7	17,8	16,7	10,7	5,5	4,9
$IV_g$		1,3	2,4	1,2	2,6	1,6	1,6	3,7	2,8	0,7	0,6

Legenda: FV – Fonte de Variação; Trat. – Tratamento;  $\bar{x}$  - média;  $CV_{(%)}$ - Coeficiente de variação experimental;  $H^2$  – coeficiente de determinação fenotípico; rl – correlação intra-classes;  $CV_g$  – coeficiente de variação genotípico;  $IV_g$  – índice de variação; Gl – Graus de Liberdade; DiC – diâmetro de caule (mm); CoF – comprimento de folha (mm); LaF – Largura de folha (mm); TBF – Tamanho de botão floral (mm); NuN – Número de nós; NuV – Número de vagens; CoV – Comprimento de vagem (mm); LaV – Largura de vagem (mm); EsV – Espessura de vagem (mm); NLV – Número de locus por vagem; NuS – Número de sementes; PuS – Peso de uma semente (g); PTS – Peso total das sementes (g); CoS – comprimento de semente (mm); LaS – Largura de semente (mm); EsS – Espessura de semente (mm); RCL – Relação entre o comprimento e largura de semente; REL – Relação entre a espessura e a largura de semente; NPS - N-proteico presente na semente (%); VPB – Valor de Proteína Bruta; ns – não houve diferença significativa; \* significativo a 5% de probabilidade; \*\*significativo a 1% de probabilidade

Para algumas variáveis como comprimento e largura de vagem (CoV e LaV), o CV<sub>(%)</sub> encontrado está abaixo da amplitude vista em outros trabalhos (MACHADO et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2011). De forma geral, as variáveis diâmetro de caule (DiC), comprimento de folha (CoF) e largura de folha (LaF) apresentaram médias, respectivamente, de 6,5, 73,9 e 37,8 mm (Tabela 6 e 7). Os índices de variação obtidos (IV<sub>g</sub>) indicaram reduzida variabilidade genética para DiC e CoF, enquanto que a maior variação entre os três parâmetros referidos foi para LaF, sendo este estimado em 2,6. Tal fato é corroborado pela análise de variância efetuada, onde não se observa diferença estatística significativa entre os tratamentos para as variáveis DiC e CoF, mas apenas para LaF. O Teste de Scott-Knott (Tabela 7) indicou para LaF que apenas o acesso 11 diferiu dos demais, tendo este a média de 64,4 mm de largura de folha, enquanto que a média foi estimada em 37,8 mm. Portanto, apesar da variação encontrada, de forma geral, não há muitas diferenças na largura de folha entre os acessos da Coleção. Comportamento idêntico a LaF ocorreu para a variável NuN. Assim sendo, pode-se inferir que para as variáveis morfológicas referentes ao caule e folha dos acessos da Coleção, apenas o acesso 11 mostrou-se divergente dos demais.

Deve-se informar também que conforme coeficientes de determinação fenotípicos (H<sup>2</sup>) estimados, somente as variáveis LaF e NuN proporcionarão maiores ganhos genéticos na seleção de plantas quando comparado com as variáveis DiC e CoF, ou seja, a probabilidade de se aumentar ou diminuir a largura de folha e o número de nós na planta é maior do que a probabilidade de se aumentar ou diminuir o diâmetro de caule e o comprimento de folha nos futuros materiais genéticos a serem selecionados.

As variáveis relacionadas à morfologia das vagens no experimento foram: CoV (comprimento de vagens), LaV (largura de vagens), EsV (espessura de vagens) e NLV (número de lócus por vagem). As médias gerais obtidas para estas variáveis foram respectivamente de 52,3 mm, 14,1 mm, 6,9 mm e 2,7 lócus (Tabelas 6 e 7). Todas essas variáveis apresentaram-se com uma razoável variabilidade genética entre os acessos estudados, principalmente, a variável LaV, cujo IV foi da ordem de 3,1. A possibilidade de obtenção de ganhos genéticos tanto no aumento quanto na largura das vagens e também o número de lócus, mostrou-se bastante viável, sendo as estimativas de H<sup>2</sup> para estas variáveis da ordem de 87,0, 96,7, 77,6 e 85,0% (Tabela 6). Na tabela 7 a variável NLV formou três grupos através do método Scott-Knott variando de 3,8 (acesso 11) a 2,1 (acessos 05, 09 e 15), Oliveira et al. (2011) analisando oito acessos de feijão-fava no município de Mossoró encontraram duas sementes por vagem em todas as plantas analisadas, enquanto que Guimarães et al. (2007) em trabalho com 14 acessos de feijão-fava já encontraram uma maior variação, de duas a seis sementes por planta.

Os acessos com os maiores comprimento de vagem foram, em ordem decrescente, os acessos 11 ( $\bar{x}$ =60,2), 01 ( $\bar{x}$ =57,0), 09 ( $\bar{x}$ =55,1), 02 e 10 ( $\bar{x}$ =55,0), 08 ( $\bar{x}$ =53,1) e 07 ( $\bar{x}$ =52,6), formando assim um agrupamento pelo Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade (Tabela 7). O acesso 11 continuou se destacando dos demais acessos, em LaV com média de 19 mm, porém, não se deve deixar de mencionar que pelo Teste de Scott-Knott ocorreu a formação de três grupos distintos de acessos tanto para CoV quanto para LaV. Oliveira et al. (2011) não observaram diferença de grupos para CoV em seus oito acessos estudados, além disto a variável LaV também mostrou pouca diferença entre grupos em estudos realizados por Santos et al. (2002), no presente estudo tal fato não ocorre, sendo visto altos valores de IV<sub>g</sub> para estas variáveis, 1,5 e 3,1 respectivamente.

**Tabela 7.** Quadro de agrupamento das médias pelo método de Scott-Knott das 20 variáveis fenotípicas quantitativas dos 15 acessos de *Phaseolus lunatus* pertencentes a Coleção de Germoplasma da UFRRJ.

Acessos	DiC	CoF	LaF	TBF	NuN	NuV	CoV	LaV	EsV	NLV	NuS	PuS	PTS	CoS	LaS	EsS	RCL	REL	NPS	VPB
1	6,5b	72,9a	35,5b	6,2b	2b	633a	57a	15b	6,8c	2,5c	1492 <sup>a</sup>	0,4b	626,5a	11,3c	7,8c	5,1c	1,44c	0,65c	3,4a	21,5a
2	6,6b	71,5a	38,6b	6,5b	2b	476c	55a	13,8b	7b	2,5c	1038c	0,4b	435,9e	13,5b	9,5b	5c	1,42c	0,52d	3,3a	20,6a
3	6,7b	81,7a	37,5b	6,6b	2b	569b	48,4c	13,6b	6,9c	3b	1543 <sup>a</sup>	0,3c	436,9e	8,9d	8,4c	6,8b	1,05e	0,80a	2,8b	17,8a
4	6,5b	72,1a	36,7b	6,7b	2b	512b	50,8b	11,1c	6,1c	2,2c	909d	0,3c	326,7g	11,6c	7c	4,9c	1,66b	0,70b	2,8b	17,3a
5	5,7b	71,5a	31,1b	6,5b	2b	541b	44,4c	10,8c	7b	2,1c	972d	0,4c	372,1f	12,7b	6,6	4,7c	1,92a	0,71b	3b	19,3a
6	6,5b	74,4a	36,2b	6,2b	2b	547b	51,3b	14,7b	6,3c	2,7b	1523 <sup>a</sup>	0,3c	521,7c	8,6d	7,2c	6c	1,19d	0,83a	3,3a	20,9a
7	7,4a	75,0a	39,4b	6,2b	2b	456c	52,6a	14,2b	6,6c	2,6b	1206b	0,4c	446,9e	11,9c	8,3c	5,9c	1,43c	0,71b	3b	19a
8	8,1a	77,7a	36,8b	6,0b	2b	551b	53,1a	14,3b	7,8b	3b	1574 <sup>a</sup>	0,3c	564,9b	9,6d	8,4c	7b	1,14e	0,83a	3,2a	20,1a
9	6,2b	72,0a	33,5b	6,7b	2b	530b	55,1a	14,2b	7,3b	2,1c	1030c	0,5a	518,1c	13,6b	9,5b	6,7b	1,43c	0,70b	3,4a	21,4a
10	6,7b	71,8a	35,9b	6,7b	2b	526b	55a	13,8b	7b	2,9b	1441 <sup>a</sup>	0,3c	473,2d	11,4c	7,5c	5,3c	1,52c	0,70b	2,9b	18,4a
11	7,8a	80,8a	64,4a	13,3a	3a	289e	60,2a	19a	7,3b	3,8a	1136b	0,3d	307,3g	11,9c	10,1b	7,5b	1,17d	0,74b	3,4a	20,6a
12	6,4b	72,9a	36,4b	6,6b	2b	629a	45,5c	14,4b	6,5c	2,7b	1637 <sup>a</sup>	0,3c	548,5b	10,9c	10b	8,3a	1,09e	0,83a	3,1b	19,6a
13	6,5b	71,5a	34,6b	6,3b	2b	519b	47,9c	14,5b	6,4c	2,8b	1487 <sup>a</sup>	0,3c	491,5d	11,1c	9b	7,4b	1,23d	0,82a	2,8b	17,5a
14	5,6b	77,1a	36,1b	6,8b	2b	442c	56a	14,1b	8,1a	2,4c	909d	0,5a	447,6e	16,8a	11,6a	8,3a	1,55c	0,71b	3,1b	19a
15	5,5b	66,2a	34,4b	6,8b	2b	400d	51,4b	13,5b	7b	2,1c	768e	0,5a	364,1f	12,3c	7,9c	5,7c	1,55b	0,72b	3,1b	19,2a
$\bar{x}$	6,58	73,94	37,80	6,94	2,06	508	52,24	14,06	6,94	2,62	1244,3	0,36	458,79	11,74	8,58	6,30	1,38	0,73	3,10	19,48

Legenda: DiC – diâmetro de caule (mm); CoF – comprimento de folha (mm); LaF – Largura de folha (mm); TBF – Tamanho de botão floral (mm); NuN – Número de nós; NuV – Número de vagens; CoV – Comprimento de vagem (mm); LaV – Largura de vagem (mm); EsV – Espessura de vagem (mm); NLV – Número de locus por vagem; NuS – Número de sementes; PuS – Peso de uma semente (g); PTS – Peso total das sementes (g); CoS – comprimento de semente (mm); LaS – Largura de semente (mm); EsS – Espessura de semente (mm); RCL – Relação entre o comprimento e largura de semente; REL – Relação entre a espessura e a largura de semente; NPS - N-proteico presente na semente (%); VPB – Valor de Proteína Bruta;  $\bar{x}$  - Média; Medidas seguidas da mesma letra em cada coluna pertencem a mesma classe, de acordo com o teste de Scott-Konott (P<0,005).

Vale destacar que a variável espessura de vagem (EsV) apresentou a formação de três grupos (Tabela 7) e a maior média foi encontrada no acesso 14, cujo valor foi de 8,1 mm, enquanto que a média geral foi de 6,9 mm, sendo, estatisticamente, a maior média para essa característica.

As médias das variáveis relacionadas diretamente com a produção NuV (número de vagens), NLV (número de lócus por vagem), PuS (peso de uma semente), CoS (comprimento de semente), LaS (largura de semente), EsS (espessura de semente), RCL (relação comprimento e largura de semente), REL (relação espessura e largura de semente), NuS (número de sementes) e PTS (peso total de semente) apresentaram, de forma geral, respectivamente médias de 169,3 vagens, 2,7 lócus, 0,4 g, 11,7 mm, 8,6 mm, 6,3 mm, 1,38 mm, 0,73 mm, 414,2 sementes e 153,0 g (Tabela 6). Essas variáveis apresentaram considerável variação no geral, fato este que pode também ser observado pelo Teste F, que indicou diferença estatística significativa entre os tratamentos. Excetuando as variáveis referentes à relação entre uma variável e outra, nota-se na Tabela 6 que o comprimento da semente e o peso de uma semente foram as características que mais variaram dentre as relacionadas diretamente com a produção. Tal constatação é também corroborada pelas análises referentes às médias, via Teste de Scott-Knott, onde tanto CoS quanto PuS, formaram quatro grupos distintos. Silva (2011) analisando a diversidade genética entre 192 subamostras de feijão-fava pertencentes ao banco de germoplasma da EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia, observou uma ampla variação para os valores de CoS e LaS, sendo 8,61 a 21,03 mm e 6,56 a 14,03 mm respectivamente.

A variável, número de vagens (NuV) é de grande importância, já que para a espécie é recomendável um valor superior a 20 vagens por planta (SILVA E FREITAS, 1996), no presente trabalho a média geral dos acessos ficou em torno de 508 vagens, com uma estimativa de aproximadamente 34 vagens por planta, Oliveira et al. (2011) obtiveram uma média muito similar de 34,5 vagens por planta entre seus 8 acessos estudados, também apresentando um acesso com média de 19 vagens por planta.

O peso total de semente (PTS), ou seja, a produção propriamente dita, apresentou  $IV_g$  de 1,2, e  $H^2$  de 80,8% (Tabela 6), indicando, respectivamente, que PTS é um caráter possuidor de razoável variabilidade genética e alta probabilidade para obtenção de ganhos genéticos, ou seja, aumento da produção. Observa-se na Tabela 7 que o acesso 01 foi estatisticamente o mais produtivo, com média de 626,5 g, em seguida, observam-se os acessos 08 e 12, com médias de 564,9 e 548,5 g, respectivamente. Os acessos 06 e 09 apresentaram médias respectivamente, de 521,7 e 518,1 g, sendo estatisticamente os terceiros mais produtivos. Na quarta posição ficaram os acessos 10 e 13, respectivamente produzindo 473,2 e 491,5 g, em seguida, na quinta posição, os acessos 02, 03, 07 e 14, estatisticamente iguais, apresentaram médias de produção de 435,9, 436,9, 446,9 e 447,6 g. Os menos produtivos foram os acessos 04, 05, 11 e 15, com médias de produção de 326,7, 372,1, 307,3 e 364,01 g, respectivamente. Porém, deve-se mencionar que os acessos 05 e 15 foram estatisticamente superiores aos acessos 04 e 11. Com base nestes dados pode-se inferir que existe uma alta variabilidade genética para o caráter produção na Coleção de Germoplasmas da UFRRJ, o que possibilita selecionar acessos e genótipos individualmente, bem como programar cruzamentos afim de, se explorar melhor os efeitos da heterose ou vigor híbrido, Broughton et al. (2003) afirmaram que para se conseguir aumentar a produtividade em feijoeiro, pelo menos um dos componentes de produtividade deve ser considerado, como o número de vagens por planta, o número de sementes por vagem, o peso de 100 sementes e o peso total de grãos.

Na alimentação dos brasileiros o feijão é uma das principais fontes de proteínas, e de acordo com Sgarbieri (1980) o consumo diário de feijão está entre 50 e 100g por dia/pessoa,

havendo desta maneira uma contribuição de 28% de proteínas e 12% de calorias ingeridas. Sendo assim variáveis ligadas à qualidade nutricional das sementes de feijão ganham grande importância, neste trabalho foram avaliadas dois caracteres, a porcentagem de N protéico contido na semente (NPS) e valor de proteína bruta (VPB). Na Tabela 6 pode-se observar que, PNS e VPB apresentaram os menores índices de variação ( $IV_g$ ) entre todas as variáveis estudadas, porém, ainda com estimativas não tão baixas, sendo estas da ordem de 0,7 e 0,6, respectivamente.

Estatisticamente pelo Teste F houve diferenças significativas entre os tratamentos para as variáveis NPS e VPB (Tabela 6), porém, não foi possível observar diferenças estatísticas através do Teste de média via Scott-Knott para VPB (Tabela 7). Por esse mesmo teste foi possível separar em dois grupos, os acessos 01, 02, 06, 08, 09 e 11 como os detentores das maiores médias de NPS e os acessos 03, 04, 05, 07, 10, 12, 13, 14 e 15 com as menores médias. Silva et al. (2010) trabalhando com três cultivares de feijão-comum encontraram valores superiores ao presente trabalho para proteína bruta, variando de 24,5 a 25,6, na literatura ainda são citados outros valores, que variam de 22 a 29,5 (MOURA, 1998; ESTEVES, 2000; RIOS, 2003), enquanto que a variação aqui obtida foi de 21,5 a 17,3, desta maneira em comparação ao feijão comum o feijão-fava possui um valor proteico menor, porém deve-se ressaltar que o programa de melhoramento da espécie de feijão-fava ainda tende a avançar, priorizando o aumento produtivo e nutricional nos grãos da espécie.

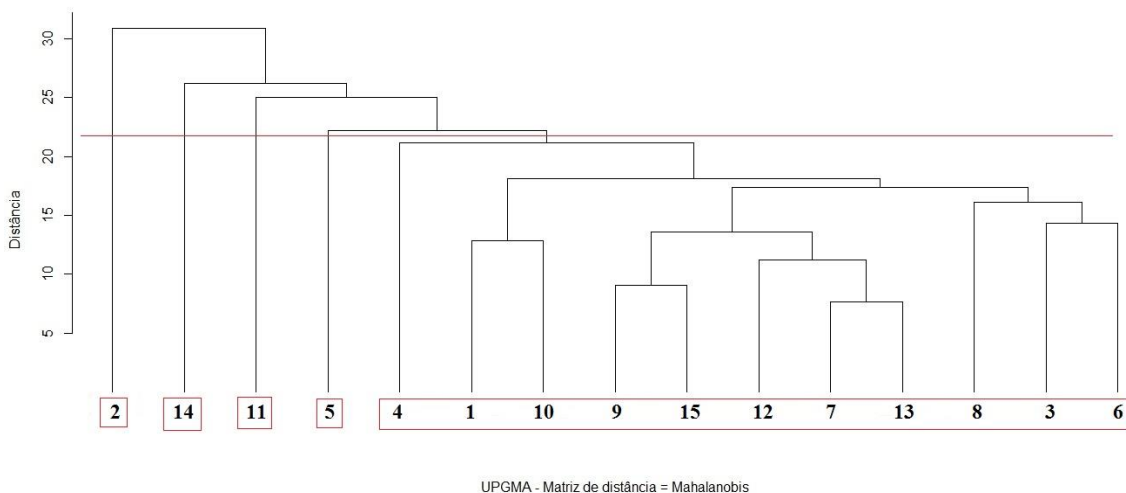
Os coeficientes de determinação fenotípicos obtidos ( $H^2$ ) indicaram dificuldades no processo de seleção quando se objetiva o aumento nutricional das sementes dos diferentes acessos no experimento, ou seja, a possibilidade de aumento é realmente bastante reduzida. Neste caso, as possibilidades são a inserção de novos materiais genéticos na Coleção e a obtenção de híbridos, buscando-se explorar os efeitos benéficos da heterose em tal caráter, como por exemplo, a ocorrência de heterobeliose.

Para Moura et al. (1999) a determinação da dissimilaridade genética apresenta-se como uma boa ferramenta para a identificação da variabilidade genética, pois possui a capacidade de dimensionar vários caracteres simultaneamente nos genótipos. A partir da Figura 3, que mostra o agrupamento via método do UPGMA, estimado pela distância de Mahalanobis, com amplitude de 30 observa-se a formação de cinco grupos distintos, porém, quatro desses grupos são formados por apenas um acesso, são eles: 02, 14, 11 e 05. O quinto grupo é formado pelos demais acessos aqui estudados, ou seja, pelos outros onze acessos. Deve-se informar que o ponto de corte ou número de grupos ótimo no dendrograma foi estimado através do algoritmo proposto por Kelley et al. (1996), denominado *Kelley-Gardner-Sutcliffe penalty function* (KGS). Fonseca e Silva (1997) trabalhando com acessos de feijão-comum, utilizando a mesma distância só que com agrupamento via método Vizinho mais Próximo, observou a formação de três grupos, a partir dos sete acessos avaliados, com uma baixa amplitude de divergência (20).

Dois desses grupos formados com um único acesso foram compostos pelos acessos 11 e 05, que figuram entre os quatro acessos, as menores médias de PTS, ou seja, produção total de sementes. Os outros dois grupos foram formados, um pelo acesso 14 e outro pelo acesso 02. O acesso 14 destacou-se por conter a maior espessura de vagem (EsV) e as maiores médias para comprimento de semente (CoS) e largura de semente (LaS), porém em relação ao valor de PTS se caracteriza como um dos menos produtivos, juntamente com o acesso 02, no qual se destaca apenas por apresentar a segunda maior média para o valor de proteína bruta (VPB).

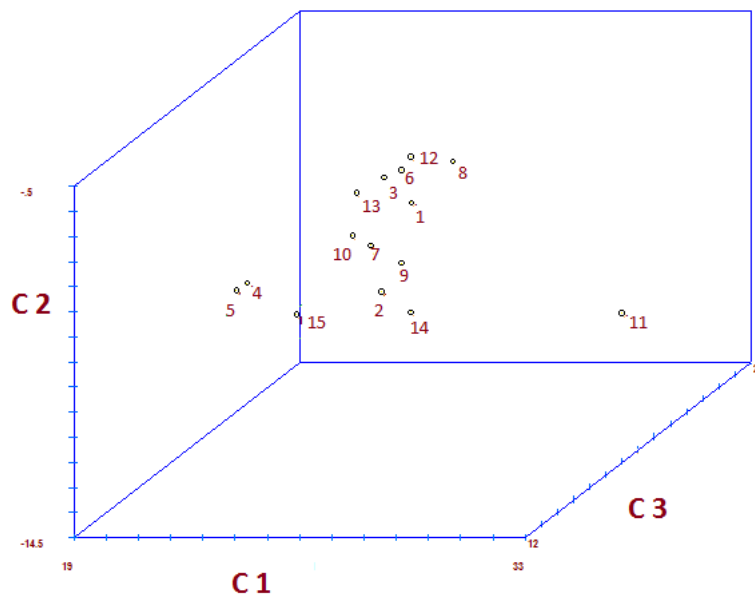
Nota-se na Figura 4 que o acesso 11 manteve-se também, via PCA (*Principal Component Analysis*), distante dos demais acessos, indicando que este material genético é

realmente divergente dos demais. A PCA também mostrou que os acessos 02, 14 e 05, que formaram apenas um grupo cada um deles na análise de agrupamento via UPGMA, divergiu levemente da maioria dos acessos, e esta análise indicou também os acessos 04 e 15 como divergentes também da maioria dos acessos estudados. Vale destacar que estes três últimos acessos citados se destacaram por estarem entre os acessos que menos produziram na Coleção, além do acesso 11. Com base nestes relatos, pode-se afirmar que na análise de PCA indicou uma tendência de posicionar os acessos menos produtivos na parte inferior do gráfico.



**Figura 3.** Dendrograma de dissimilaridade genética obtido a partir da distância de Mahalanobis e o método de agrupamento UPGMA, das variáveis fenotípicas quantitativas dos 15 acessos de *Phaseolus lunatus* pertencentes a Coleção de Germoplasma da UFRRJ. Correlação Cofenética = 0,79.

Ainda na Figura 3, observa-se que o maior grupo formado se subdivide, a uma distância genética em torno de 0,2, em dois grupos, um deles formado apenas pelo acesso 04, e o outro formado pelos demais. Deve-se dizer que o acesso 04 destacou-se como um dos menos produtivos, e dispersou-se também na PCA (Figura 4). O outro grupo, que agrega a maior parte dos acessos, se subdividiu, a uma reduzida distância genética em torno de 0,17, em três pequenos grupos, um formado pelo acesso 01 e 10, outro formado pelos acessos 09, 15, 12, 07 e 13, que também se subdividiu, e outro grupo formado pelos acessos 08, 03 e 06. Este grupo formado por estes acessos agrupou os materiais genéticos mais produtivos do experimento, entre eles os acessos 01, 12 e 08, respectivamente, o de maior produção e, estatisticamente, os dois últimos acessos citados, como segundo no *ranking* de produção. O grupo formado pelos acessos 09, 15, 12, 07 e 13 se subdividiu em dois pequenos grupos, formados, um formado pelos acessos 09 e 15, e outro pelos acessos 12, 07 e 13.



**Figura 4.** Gráfico de dispersão referente as variáveis quantitativas dos 15 acessos de *Phaseolus lunatus* pertencentes à Coleção de Germoplasma da UFRRJ, considerando os três primeiros componentes principais (C1, C2 e C3).

As análises multivariadas via UPGMA e PCA indicaram razoável a baixa diversidade genética a partir dos caracteres fenotípicos quantitativos, visto, respectivamente, a formação de grupos distintos bem definidos e a tendência de dispersão de acessos produtivos e não-produtivos, respectivamente, nas porções superior e inferior do gráfico da PCA. Tal fato confirma a diversidade genética já encontrada nas análises univariadas anteriormente discutidas, porém, aqui há um nível muito menor do que quando se considerou as variáveis individualmente. Dessa forma, a Coleção de Germoplasma de *Phaseolus lunatus* da UFRRJ agrega razoável diversidade fenotípica e possibilita o avanço do Programa de Melhoramento da espécie conduzido na mesma Instituição. Porém, é necessário cautela na inferência sobre a diversidade entre os acessos do maior grupo formado porque as bifurcações não se apresentaram muito altas, ou seja, ocorreram em pequenas distâncias genéticas, e portanto, análises dos dados qualitativos e genotípicos se fazem muito úteis na discussão e na inferência do nível de diversidade entre os acessos que compõe a referida Coleção de Germoplasma.

Conforme as estimativas de autovetores e autovalores estimados e mostrados na Tabela 8, foi possível, através da PCA, inferir sobre as variáveis que mais influenciaram a diversidade aqui estimada. Em decrescente as variáveis que mais contribuíram para a diversidade foram: largura de folha (LAF), número de sementes (NUS), produção total de sementes (PTS), espessura de semente (EPS) e comprimento de folha (COF), enquanto que número de nós (NUN), número de locus na vagem (NLV), espessura de semente (EPS), comprimento de semente (COS) e a percentagem de N proteico na semente (PNS) foram as que apresentaram a menor contribuição sobre a diversidade. Dessa forma, no presente trabalho, as variáveis relacionadas à morfologia da folha e relacionadas às sementes foram as que mais contribuíram para a estimativa da diversidade genética. Fonseca e Silva (1997) trabalhando com acessos de feijão-comum via variáveis canônicas também encontraram a largura e comprimento de folha e número de sementes como variáveis de importância para a diversidade.

**Tabela 8.** Estimativas de variância (autovalores), coeficiente de ponderação associados (autovetores) e contribuição relativa e acumulada a partir das 20 variáveis quantitativas avaliadas em 15 acessos de *Phaseolus lunatus* pertencentes a Coleção de Germoplasma da UFRRJ.

Variáveis	CP1	CP2	CP3	CP4	CP5	CP6	CP7	CP8	CP9	C10
DC	0,25	0,18	-0,03	-0,19	0,37	-0,02	-0,22	0,13	<b>0,70</b>	-0,12
CF	0,26	0,11	-0,00	0,15	<b>0,42</b>	<b>0,48</b>	0,11	0,37	-0,31	-0,24
LF	<b>0,34</b>	-0,07	-0,16	-0,08	-0,04	-0,05	0,12	0,09	-0,01	-0,08
TBF	0,31	-0,14	-0,19	-0,04	-0,21	0,09	0,20	-0,13	-0,10	-0,14
NN	0,32	-0,10	-0,17	-0,07	-0,19	0,10	0,17	-0,13	-0,02	-0,13
NV	-0,19	0,28	0,25	-0,05	0,09	0,12	<b>0,45</b>	-0,05	-0,10	-0,27
CV	0,21	-0,23	0,14	-0,20	0,31	-0,23	-0,36	-0,13	-0,26	-0,39
LV	0,34	-0,01	0,13	-0,04	-0,17	-0,25	-0,10	-0,18	-0,18	0,02
EV	0,10	-0,28	0,18	0,24	0,27	0,47	-0,15	-0,36	0,04	<b>0,44</b>
NLV	0,33	0,15	-0,07	-0,02	0,15	-0,07	0,04	-0,29	-0,11	0,27
NS	0,08	<b>0,40</b>	0,19	-0,03	0,08	-0,06	0,17	-0,31	-0,09	0,11
P1S	-0,16	-0,29	0,30	0,09	-0,03	-0,00	-0,29	0,15	-0,25	-0,10
PT	-0,04	0,20	<b>0,48</b>	0,06	0,07	-0,09	-0,00	-0,28	0,05	-0,19
CS	-0,04	-0,39	0,08	0,22	0,11	-0,10	0,25	-0,17	0,23	-0,24
LS	0,18	-0,15	0,23	0,40	0,03	-0,27	0,26	0,18	0,15	0,07
ES	0,19	0,06	0,16	<b>0,50</b>	-0,20	-0,04	0,01	0,01	0,17	-0,17
C/L	-0,23	-0,26	-0,18	-0,15	0,03	0,23	0,13	<b>-0,42</b>	0,18	-0,30
E/L	0,06	0,31	-0,03	0,28	-0,39	0,32	-0,43	-0,15	0,08	-0,30
N%	0,17	-0,13	0,34	-0,32	-0,25	0,18	0,06	0,17	0,10	0,01
P	0,11	-0,11	0,39	-0,33	0,24	0,25	0,07	0,14	0,15	0,14
$\lambda_j$	7,06	4,80	3,08	2,23	0,89	0,59	0,41	0,29	0,28	0,18
$\lambda_j$ (%) <sub>1</sub>	35,34	24,04	15,41	11,15	4,48	2,96	2,09	1,48	1,40	0,93
$\lambda_j$ (%) <sub>2</sub>	35,34	59,39	74,80	85,95	90,44	93,41	95,50	96,99	98,40	99,33

...Continuação



Variáveis	CP11	CP12	CP13	CP14	CP15	CP16	CP17	CP18	CP19	CP20
DC	0,10	0,30	-0,09	-0,13	-0,06	-0,01	0,09	0,03	-0,00	-0,02
CF	-0,36	-0,01	-0,12	0,01	0,00	-0,06	-0,05	-0,03	0,04	-0,03
LF	-0,01	0,14	<b>0,75</b>	-0,02	0,31	0,10	-0,18	0,02	-0,18	0,19
TBF	0,31	0,15	-0,25	-0,29	-0,14	-0,49	-0,23	0,20	0,04	0,23
NN	0,13	0,22	-0,27	0,47	-0,13	<b>0,54</b>	-0,02	-0,01	-0,10	-0,17
NV	<b>0,46</b>	0,12	0,07	-0,11	0,17	0,07	0,42	-0,11	0,01	0,05
CV	0,28	-0,42	0,02	-0,04	-0,03	0,13	-0,02	0,00	0,12	-0,01
LV	-0,32	0,26	-0,24	-0,31	<b>0,40</b>	-0,00	0,26	-0,31	0,03	-0,11
EV	0,27	0,05	0,03	-0,60	0,20	0,04	-0,07	-0,10	-0,09	-0,02
NLV	-0,11	-0,04	0,21	0,31	-0,31	-0,24	<b>0,51</b>	0,13	0,15	0,14
NS	-0,14	-0,01	0,08	-0,42	-0,30	0,28	-0,29	0,28	-0,13	-0,23
P1S	-0,00	<b>0,61</b>	0,17	-0,04	-0,32	0,03	0,13	0,25	-0,00	-0,01
PT	-0,14	0,16	-0,05	<b>0,48</b>	0,16	-0,26	-0,38	-0,01	-0,06	0,19
CS	-0,29	-0,16	-0,08	-0,10	-0,13	0,03	0,22	0,03	<b>-0,51</b>	0,26
LS	0,06	-0,07	-0,07	0,07	0,28	0,04	0,00	0,49	0,35	-0,18
ES	0,08	-0,05	0,21	-0,02	-0,38	-0,04	-0,11	<b>-0,54</b>	0,20	-0,09
C/L	-0,28	0,07	0,19	-0,04	0,04	-0,05	-0,00	0,03	0,46	-0,29
E/L	-0,02	-0,16	0,02	-0,01	0,18	0,59	0,19	0,34	-0,07	0,08
N%	0,02	-0,21	0,11	0,07	-0,04	-0,32	0,11	0,04	-0,30	<b>-0,54</b>
P	0,15	-0,15	-0,03	-0,11	-0,11	0,28	0,00	-0,00	0,34	0,48
$\lambda_j$	0,06	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
$\lambda_j (\%)_1$	0,34	0,26	0,04	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
$\lambda_j (\%)_2$	99,67	99,93	99,98	99,99	99,99	99,99	99,99	99,99	99,99	100

Legenda: DC – Diâmetro de caule (mm); CF – Comprimento de folha (mm); LF – Largura de folha (mm); TBF – Tamanho de botão floral (mm); NN – Número de nós; CV – Comprimento de vagem (mm); LV – Largura de vagem (mm); EV – Espessura de vagem (mm); NLV – Número de locos na vagem; NS – Número de sementes; P1S – Peso de 1 semente (gr); PT – Peso total de sementes (gr); CS – Comprimento de semente (mm); LS – Largura de semente (mm); EV – Espessura de semente (mm); C/L – Relação entre comprimento e largura de semente; E/L – Relação em espessura e largura de semente; N% - Porcentagem de N-proteico na semente (%); P – Valor proteico presente na semente;  $\lambda_j$  – Autovalores;  $\lambda_j (\%)_1$  -  $\lambda_j$  Relativa;  $\lambda_j (\%)_2$  –  $\lambda_j$  Acumulada.

Mediante a Tabela 8 pode-se observar que foram necessários quatro componentes principais para explicar os 85,95% da variância total obtida, onde os três primeiros componentes foram responsáveis por 74,80% desta variação. Apesar deste valor não estar dentro do padrão recomendado por Cruz e Carneiro (2003), optou-se pela plotagem do gráfico, pois o valor fica bastante aproximado ao advertido por Morrison (1976).

#### **4.2.2. Diversidade estimada através de variáveis fenotípicas qualitativas**

Inicialmente observa-se que todos os acessos aqui trabalhados tiveram hábito de crescimento (HC) do tipo indeterminado, que caracteriza-se pelo desenvolvimento da gema terminal em uma guia trepadora, conferindo assim, um crescimento maior que as plantas de hábito determinado (FREIRE FILHO et al., 2005). Conforme Sax (1926), Miranda (1973) e Freire Filho (1980), o hábito de crescimento indeterminado se trata de uma característica monogênica. Oliveira et al. (2011) afirmaram que cultivares com hábitos de crescimento indeterminado possuem uma maior produtividade em comparação aos de hábito determinado, uma vez que o crescimento vegetativo nestas plantas prossegue com a emissão de novos nós, local onde são emitidas novas florações. De forma geral em estudos relacionados a feijão-fava nota-se predomínio de plantas com este padrão de crescimento (SANTOS et al., 2002; OLIVEIRA et al., 2004). No nordeste brasileiro plantas com este padrão de crescimento é a escolha mais comum entre os pequenos produtores (GUIMARÃES et al., 2007).

No que se refere ao tipo de ramificação (Tabela 9) todos os acessos apresentaram ramificação densa, e apenas o acesso 11, um tipo distinto de ramificação, partindo-se do terceiro nó do caule principal. Portanto, sendo o acesso 11, um acesso com um número acentuadamente menor de ramificações em relação aos demais.

Com base nas descrições acima pode-se inferir que exista uma base genética relativamente estreita quando considera-se a arquitetura das plantas da Coleção de feijão-fava. Tal fato pode ser corroborado quando considera-se também mais uma variável relacionada ao caule das plantas, ou seja, o diâmetro do caule (DiC), onde, conforme já discutido, observou-se uma dos menores índices de variação detectados no presente experimento (Tabela 6), e portanto, uma reduzida diversidade genética. Assim sendo, espera-se maiores dificuldades quando o objetivo for alterar a arquitetura da planta considerando apenas os genótipos existentes na Coleção de feijão-fava da UFRRJ.

Ainda em relação ao caule da planta, apenas a variável pigmentação do caule apresentou alta variação. Observa-se na Tabela 9 que apenas os acessos 05, 06 e 07 não segregaram. De forma geral, observa-se nesta Tabela, que houve, dentro dos acessos, um predomínio de ausência de pigmentação no caule entre as plantas estudadas, porém, exceção apenas para os acessos 02, 09, 14 e 15, que apresentaram uma porcentagem maior de plantas com pigmentação nos nós. Guimarães et al. (2007) também observaram um predomínio de ausência de pigmentação no caule nos 14 genótipos de feijão-fava avaliados.

Para as folhas observa-se uma grande variabilidade para a forma e cores das folhas apresentadas pelos acessos avaliados na Coleção de Germoplasma da UFRRJ (Figura 5). Na Tabela 9 também são descritos variáveis relacionadas a folha, como formato, cor da folha (limbo), nervura e pilosidade. Ao contrário das variáveis relacionadas ao caule, as relacionadas à folha apresentaram uma elevada diversidade entre e dentro dos genótipos, evidenciando que para estas variáveis, os acessos analisados ainda possuem muitos *loci* em heterozigose. Deve-se dizer que apenas a cor da nervura foi idêntica a todos os acessos, considerando variações entre e dentro. Observou-se também na Tabela 9 que apenas o acesso 02 e 11 não segregaram para o tipo de folha, sendo, respectivamente, dos tipos oval e redonda.

**Tabela 9.** Caracterização quanto ao tipo de ramificação (RAM), a pigmentação do caule (PiC), o formato da folha (FoF), a cor da folha (CrF) e a pilosidade das folhas (PiF) dos 15 acessos de *Phaseolus lunatus* pertencentes à Coleção de Germoplasma da UFRRJ.

Acessos	RAM	Pigmentação do Caule (PiC)*		Forma de Folha (FoF)*			Cor de Folha (CrF)*			Pilosidade de Folha (PiF)*	
		Ausência	Localizada nos nós	Oval	Oval-lanceolada	Redonda	Verde Pálido	Verde Intermediário	Verde Escuro	Glabra	Ligeiramente Pubescente
1	DR	87	13	40	60	0	27	46	27	53	47
2	DR	47	53	100	0	0	27	27	46	47	53
3	DR	87	13	33	67	0	7	40	53	60	40
4	DR	87	13	73	27	0	60	33	7	60	40
5	DR	100	0	20	80	0	47	47	6	20	80
6	DR	100	0	47	53	0	27	33	40	60	40
7	DR	100	0	80	20	0	6	47	47	67	33
8	DR	80	20	47	53	0	27	53	27	73	27
9	DR	27	73	20	80	0	7	73	20	20	80
10	DR	87	13	80	20	0	13	47	40	27	73
11	CPPN	93	7	0	0	100	80	13	7	60	40
12	DR	93	7	67	33	0	13	40	47	20	80
13	DR	73	27	40	60	0	20	73	7	53	47
14	DR	47	53	60	40	0	60	33	7	47	53
15	DR	47	53	80	20	0	53	27	20	40	60

Legenda: DR – Densamente Ramificada; CPPN – Caules principais a partir dos Primeiros Nós;

\*Observação: Os valores das variáveis representam a porcentagem de plantas dentro do acesso que apresentam a determinada característica

No presente experimento, há um predomínio do formato de folha oval e oval-lanceolado. Tal fato foi bastante esperado visto que a média da largura de folha (LaF) e comprimento de folha (CoF) foram, respectivamente, de 0,3 e 2,6 cm (Tabelas 6 e 7), portanto, havendo uma tendência das folhas serem mais compridas e menos largas, e assim, tendendo também para tipos oval e lanceolado. Segundo Halvankar e Patil (1994) esta variável possui herança monogênica.



**Figura 5.** Representação das três categorias de folhas observadas entre os 15 acessos de *Phaseolus lunatus* na Coleção de Germoplasma da UFRRJ; A – Folha Redonda; B – Folha Oval; C – Folha Oval-lanceolada.

Quanto à cor da folha os acessos apresentaram-se bastante variados entre e dentro (Tabela 9) e, realmente, não houve efetivamente um predomínio de nenhum dos tipos neste descritor que, aliás, caracteriza-se pela tonalidade da cor verde nas folhas. Conclusões baseadas em avaliações visuais da tonalidade podem ser bastante inconsistentes, inclusive no presente caso. Como já foi mencionado anteriormente, a cor das nervuras das folhas foi a mesma tanto entre como dentro de cada acesso trabalhado. Para conclusões mais sólidas quanto à tonalidade da cor verde no limbo foliar e na nervura das folhas propõe-se no presente trabalho que sejam utilizadas metodologias que possam inferir de forma mais segura sobre a tonalidade da cor verde no limbo foliar e nas nervuras das folhas.

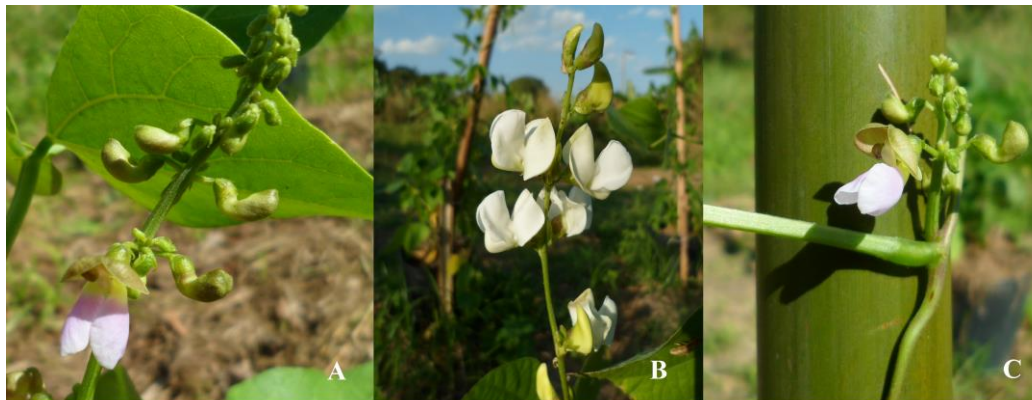
A pilosidade das folhas foi uma das variáveis de maior diversidade genética entre e dentro dos acessos (Tabela 9). Observa-se que todos os acessos apresentaram plantas do tipo glabra e ligeiramente pubescentes, evidenciando assim, a existência de genótipos segregantes nos acessos.

Na Tabela 10, observa-se dados referentes ao tempo médio de floração e a morfologia das flores nos acessos de feijão-fava. Dos quatro tipos propostos pelo IPGRI (2001) para o descritor cor de flor, observou-se apenas a presença dos tipos branca e rosa (Figura 6), com uma predominância muito alta do primeiro tipo mencionado. Segundo Romero (1961) a luz solar provoca rapidamente uma diminuição nos tons das cores das flores, desta forma tomou-se o cuidado de realizar as avaliações desta variável nas primeiras horas da manhã. O acesso 11 destaca-se por possuir uma inflorescência bastante diferenciada dos outros acessos (Figura 6), vale lembrar que este o acesso 11 também obteve a maior média para tamanho de botão floral (Tabela 7).

Apenas os acessos 06, 07, 10, 11, 12 e 13 não segregaram para a cor de flor, exibindo a cor branca. Além dos acessos anteriormente citados, também o acesso 08 não segregou para a cor de quilha (Tabela 10), e deste grupo, excluindo-se o acesso 10, todos os demais não segregaram para a cor do estandarte, conforme apresentado na Tabela 10.

Ainda sobre Tabela 10 informa sobre o descritor, abertura de asas, ou seja, abertura das pétalas florais. Neste caso, apenas os acessos 06, 11, 12 e 13 não segregaram para o descritor abertura das asas (Tabela 10). Tais análises revelaram que 53% dos acessos avaliados ainda segregam para cor de flor, e somente os acessos 06, 11, 12 e 13 não

segregaram para nenhum dos descritores relacionados à morfologia da flor, ou seja, apenas 26,67%. Resumidamente, esses acessos apresentaram cor de flor branca, cor de quilha esverdeada, cor do estandarte branca e pétalas fechadas. Dessa forma, pode-se inferir que aspectos morfológicos da flor na Coleção de feijão-fava da UFRRJ, segregam dentro e entre acessos, porém, alguns acessos já possuem alelos fixados quanto as variáveis relacionadas ao descritor mencionado.



**Figura 6.** A – Flores Rosas; B – Inflorescência pertencente ao acesso 11; C - Flores Brancas.

Com relação ao tempo médio de floração (TMF), o que se pode observar através da Tabela 10 é que o acesso 02 e 09 foram o mais precoces, apresentando plantas em floração aos 62 dias após a semeadura, sendo que a maior parte dos acessos apresentou a floração aos 68 dias (01, 03, 07, 08, 10, 13), e apenas o acesso 11, apresentou floração aos 71 dias, sendo o mais tardio. Santos et al. (2002) observaram em feijão-fava que as variedades “Amarelo-cearense” e “Orelha-de-vó” apresentaram floração aos 49 dias, enquanto que as variedades “Boca-de-moça”, “Raio-de-sol”, “Branquinha” e “Mororó” levaram 71 dias para florescer. Uma importante vantagem das variedades precoces é a possibilidade da realização de até três cultivos ao ano, aumentando desta forma a renda dos pequenos produtores (FREIRE FILHO et al., 2005).

Quanto à curvatura da vagem, apenas o acesso 11 apresentou vagens curvas, enquanto os demais acessos apresentaram vagens ligeiramente curvadas (Figura 7). Vale lembrar que o acesso 11 apresentou as maiores médias para comprimento e largura de vagem (CoV e LaV), bem como maior número de lócus (Tabela 7).



**Figura 7.** A – Vagens ligeiramente curvas; B - Vagens curvas.

**Tabela 10.** Tempo médio de floração em dias (TMF), cor de asa (CrA), cor de quilha (CrQ), cor de estandarte (CrE), pilosidade de estandarte (PiE) e abertura de asas (AbA) realizada nos 15 acessos de *Phaseolus lunatus* pertencentes a Coleção de Germoplasma da UFRRJ.

Acessos	TMF	Cor das Asas (CrA)*		Cor de Quilha (CrQ)*		Cor do Estandarte (CrE)*		Abertura das Asas (AbA)*	
		Branco	Rosa	Esverdeada	Tingida	Branco	Rosa	Fechada	Medianamente Abertas
1	68	80	20	73	27	73	27	100	0
2	69	47	53	33	67	33	67	100	0
3	68	93	7	93	7	93	7	100	0
4	62	93	7	93	7	93	7	67	33
5	69	87	13	73	27	73	27	73	27
6	67	100	0	100	0	100	0	100	0
7	68	100	0	100	0	100	0	93	7
8	68	93	7	100	0	100	0	93	7
9	62	13	87	13	87	20	80	93	7
10	68	100	0	100	0	93	7	67	33
11	71	100	0	100	0	100	0	100	0
12	69	100	0	100	0	100	0	100	0
13	68	100	0	100	0	100	0	100	0
14	66	13	87	13	87	27	73	80	20
15	67	13	87	13	87	20	80	87	13

\*Observação: Os valores das variáveis representam a porcentagem de plantas dentro do acesso que apresentam a determinada característica

A partir da Tabela 11 verifica-se a classificação da forma da semente (FoS) e do perfil da semente (PeS) como descrito no item 3.5.1, a maior parte dos acessos avaliados apresentou formato esférico e o perfil semi-achatado, apenas os acessos 04 e 05 apresentaram a forma de semente oblonga. De acordo com Vilhordo et al. (1996), tal caracterização é importante na identificação de variedades. Os resultados encontrados no presente trabalho são similares aos de Santos et al. (2002) onde também verificaram as mesmas formas e perfis entre as 8 variedades por eles avaliadas. Caracteres relacionados às sementes são de grande valia, pois a partir deles é possível identificar os tipos de cultivares e o grupo de dispersão. A cor e a forma do tegumento das sementes é um fator que pode contribuir para a boa comercialização do produto dependendo das preferências dos consumidores em diferentes regiões (GUIMARÃES et al., 2007). A partir da Figura 8 pode ser vista a ampla variabilidade dos diferentes tegumentos e perfis das sementes dos 15 acessos estudados na Coleção de Germoplasmas de feijão-fava da UFRRJ.

Em relação ao peso de cem sementes (PCS) foi observada uma variação de 27,05 a 49,34 g, respectivamente para os acessos 11 e 14. Apesar do acesso 01 ser o mais produtivo (Tabela 7), o peso unitário de suas sementes é menor em comparação ao acesso 14, sendo 0,40 e 0,50 g respectivamente (Tabela 7). De maneira geral encontra-se na literatura uma grande variação para a variável, peso de cem sementes (SANTOS et al., 2002; OLIVEIRA et al., 2011). A partir do peso de cem sementes (PCS) também é possível realizar uma classificação mediante ao tamanho, para tanto foi utilizada a classificação de Mateo Box, citado por Vilhordo et al. (1996) onde sementes maiores que 60 g são consideradas grandes, o tamanho normal possui uma variação entre 40-59,9 g e finalmente o tamanho médio com sementes menores que 40 g. Desta maneira a maior parte dos acessos possui tamanho médio, enquanto que os acessos 01, 02, 09, 14 e 15 foram consideradas normais. Para Dobert e Blevins (1993) o tamanho da semente é bastante significativo, uma vez que eles verificaram que plantas oriundas de sementes maiores produziram mais nódulos e matéria seca de parte aérea.



Figura 8. Imagem das sementes dos 15 acessos de *Phaseolus lunatus* pertencentes à Coleção de Germoplasma da UFRRJ.

Castineiras (1991) reconhece três grupos de feijão-fava a partir da forma e do peso das sementes, o grupo “Batata” (sementes pequenas, com peso de 100 sementes entre 35-50 g), o “Sieva” (sementes médias e planas, com peso de 100 sementes entre 51-70 g) e o “Grande Lima” (sementes grandes, com peso de 100 sementes entre 71-110 g). Mediante este critério de avaliação os 15 acessos analisados durante o trabalho pertencem ao grupo “Batata”. Silva (2011) também observou um predomínio de aproximadamente 78% do grupo “Batata” entre as 192 subamostras de *Phaseolus lunatus* que analisou, porém dentro de seu trabalho ainda encontrou subamostras representantes dos outros grupos descritos.

Segundo a teoria de dispersão proposta por Mackie (1943) que baseia-se na morfologia das sementes, os acessos fariam parte da ramificação Caribe que é constituída por sementes pequenas e mais globosas. Esquivel et al. (1990) estudando 173 subamostras de feijão-fava encontrou os três grupos citados anteriormente e além disto algumas sementes com características intermediárias aos três.

**Tabela 11.** Variáveis relacionadas à forma de semente (FoS), perfil de semente (PeS), pesos de cem sementes (PCS) e os grupos dos 15 acessos de *Phaseolus lunatus* pertencentes a Coleção de Germoplasma da UFRRJ.

Acessos	FoS	PeS	PCS	Grupo
1	Elíptica	Achatada	42,50	Batata
2	Esférica	Achatada	41,97	Batata
3	Esférica	Cheia	33,31	Batata
4	Oblonga	Semi-Achatada	34,06	Batata
5	Oblonga	Semi-Achatada	38,15	Batata
6	Esférica	Cheia	35,00	Batata
7	Elíptica	Semi-Achatada	37,35	Batata
8	Esférica	Cheia	35,87	Batata
9	Elíptica	Semi-Achatada	50,31	Batata
10	Elíptica	Semi-Achatada	32,91	Batata
11	Esférica	Semi-Achatada	27,05	Batata
12	Esférica	Cheia	33,52	Batata
13	Esférica	Cheia	33,43	Batata
14	Elíptica	Semi-Achatada	49,34	Batata
15	Elíptica	Semi-Achatada	47,44	Batata

Com base nos resultados obtidos quanto às variáveis qualitativas, verifica-se para as variáveis ligadas aos aspectos morfológicos das flores e folha, que apesar do feijão-fava ser autógama e cleistógama, os acessos da Coleção de Germoplasmas de feijão-fava da UFRRJ ainda encontram-se segregando, dessa forma, com alelos ainda não fixados nos *loci*. Dessa forma, encontra-se uma relativa diversidade genética para aspectos florais entre e dentro dos acessos. Porém, quando se trata de aspectos ligados a arquitetura da planta e morfologia das sementes, pode-se notar, com base nos resultados apresentados anteriormente, que existe limitada variabilidade para o primeiro aspecto citado, e uma razoável a alta variabilidade para os aspectos relacionados às sementes, apesar de se observar na presente Coleção de Germoplasma apenas acessos de feijão-fava do grupo batata. Mas que em nenhum dos casos, de forma geral, a variabilidade intra-acesso é observada.

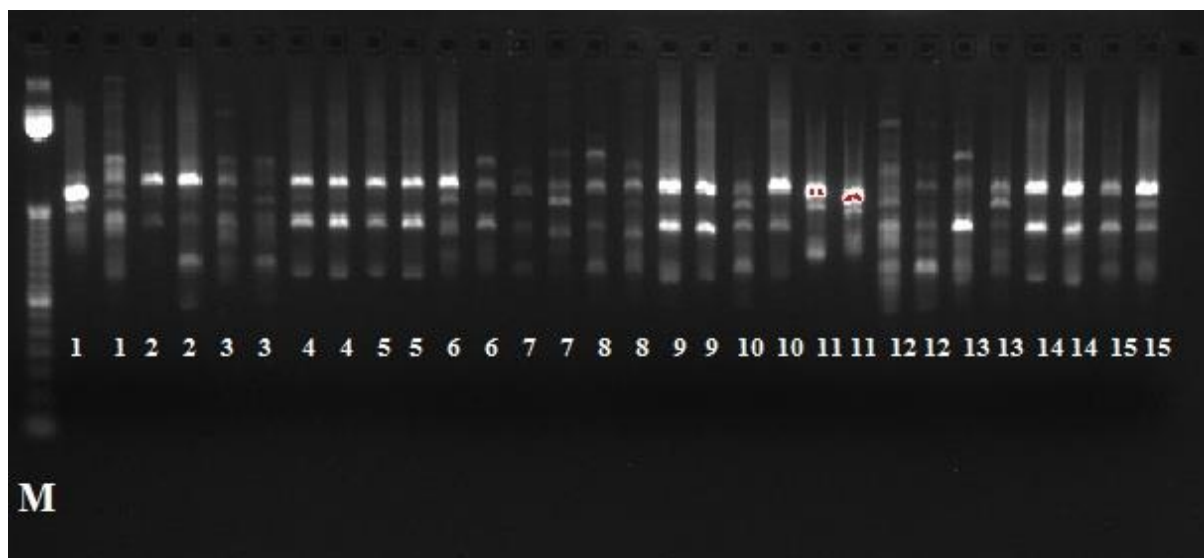
Outra causa que pode justificar essa falta de padrão na segregação dos caracteres observados seria que os genótipos aqui utilizados seriam obtidos através de multilinhas. As



multilinhas nada mais são que misturas de genótipos de linhagens puras, sendo que estes genótipos formados por sua vez apresentam maior estabilidade contra doenças principalmente (BECKER E LÉON, 1988). Isto pode ter ocorrido uma vez que produtores de feijão-fava não adquirem suas sementes regularmente, reutilizando os grãos colhidos para o próximo plantio.

#### 4.2.3. Diversidade estimada via marcadores ISSR entre acessos de *Phaseolus lunatus* pertencentes à Coleção de Germoplasmas da UFRRJ

Nesta etapa do trabalho foram testados aproximadamente 25 *primers* ISSR, e destes foram selecionados 15 que apresentaram compatibilidade com a espécie, resultando em um razoável polimorfismo. Desta maneira foram obtidas 128 bandas, sendo 105 polimórficas (82,03%) e 23 monomórficas (17,97%). O número médio de fragmentos gerados por *primer* foi de 8,53 bandas. Os iniciadores que apresentaram o maior número de bandas foram os *primers* 1 ((AGA)<sub>3</sub>(GAG)<sub>2</sub>GG), o 12 ((CA)<sub>6</sub>AG) e o 13 ((GT)<sub>6</sub>GG) com 12 bandas cada um, o *primer* 4 ((TGT)<sub>3</sub>(GTG)<sub>2</sub>GA) apresentou 5 bandas, sendo assim considerado o menor. O nível de polimorfismo observado para os marcadores ISSR neste trabalho foi bastante elevado (Figura 9).



**Figura 9.** Perfil do gel de ISSR utilizando o *primer* 15 ((GATA)<sub>4</sub>), para os 30 acessos de *Phaseolus lunatus*. Seropédica – RJ, 2013; M – Marcador Ladder.

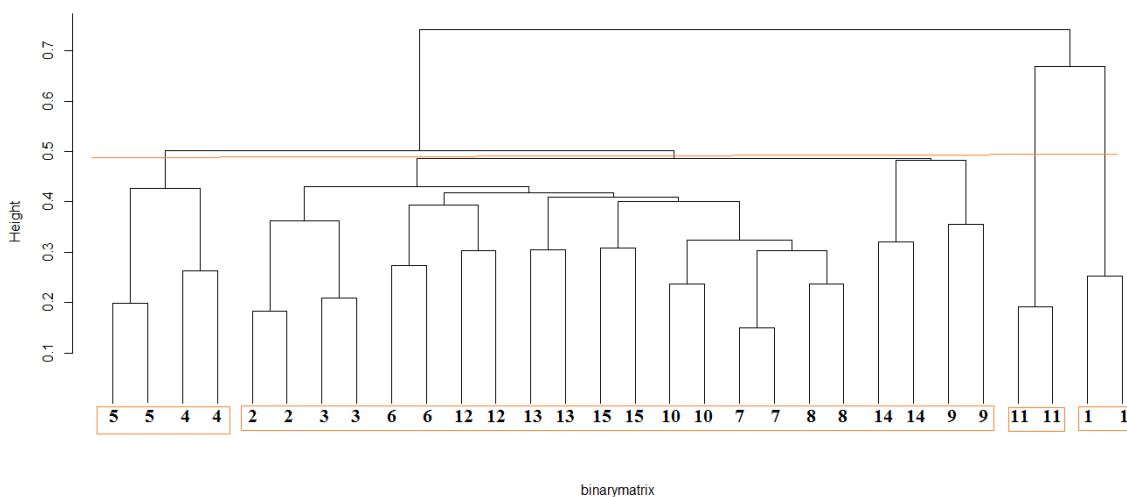
A Figura 10 corresponde a um dendrograma obtido a partir de dados genotípicos utilizando marcadores ISSR (*Inter Simple Sequence Repeats*) analisados via metodologia de UPGMA estruturado a partir da distância genética estimada pela metodologia de Gower. Conforme já descrito no item 3.6.1, do material e métodos, foram utilizados dois genótipos para representar cada um dos 15 acessos trabalhados. Na Figura 10 é observada a formação de quatro grupos, conforme metodologia proposta Kelley *et al.* (1996) para determinação do número ótimo de grupos num dendrograma. Destes quatro grupos, dois deles foram formados por apenas um acesso (1 e 11), e o outro, com os acessos 04 e 05. A distância genética estimada em 0,7 dividiu o maior grupo dos dois outros grupos, que por sua vez se distanciaram em cerca de 0,66. De forma geral, observa-se sempre o agrupamento de pares genotípicos pertencentes ao mesmo acesso, fato este que indica claramente uma composição genotípica mais próxima dentro dos acessos do que entre os acessos. Tal fato já poderia ser

esperado, visto que existem caracteres que definem especificamente cada acesso, porém, de forma geral, foi detectada uma limitada diversidade genética entre a maioria dos acessos.

O maior grupo se subdividiu em dois outros grupos, com distância estimada em 0,49. Formou-se neste ponto de corte dois subgrupos, um contendo dois acessos (09 e 14), e o outro com nove acessos, dos 11 contidos neste grande grupo. De forma geral, a distância genética entre os acessos dentro do maior grupo formado foi estimada em 0,45, e distâncias menores foram alcançadas apenas dentro de cada acesso, ou seja, entre os pares de genótipos. Uma observação importante pode ser feita na ramificação formada pelos acessos 04 e 05 que possuem o maior valor para RCL (Relação comprimento e largura de semente) e na ramificação com os acessos 09 e 14 que possuem o maior comprimento de semente, onde nota-se um pequeno agrupamento de maiores sementes dentro deste grupo maior. Nienhuis et al. (1995) genotipando 65 acessos de feijão-fava via marcadores RAPD constataram que os agrupamentos formados corroboraram com o tamanho da semente.

Os acessos 01 e 11 são os mais divergentes em relação aos outros acessos com uma distância estimada em 0,67 com bases nos *primers* utilizados. Os acessos 02, 03, 05, 07 e 11 tiveram os genótipos menos divergentes, respectivamente, com distâncias estimadas em 0,18, 0,23, 0,20, 0,16 e 0,19. Os acessos 09, 12, 13, 14 e 15 apresentaram as maiores distâncias entre os genótipos, com respectivamente de 0,37, 0,31, 0,32, 0,35, 0,32.

Comparando a diversidade genética encontrada no primeiro dendrograma aqui apresentados (Figuras 3) com o dendrograma construído a partir dos dados genotípicos (Figura 10) pode-se observar que existem profundas modificações ao nível de formação de grupos, porém não muito ao nível de distância genética, porém, a discussão das distâncias entre os diferentes dendrogramas, devem ser pautada com muita cautela, visto que as matrizes fenéticas dos dados quantitativos e moleculares foram distintas.



**Figura 10.** Dendrograma de dissimilaridade genética obtido a partir da distância de Jaccard e o método de agrupamento UPGMA, dos 15 *primers* utilizados nos 30 genótipos de *Phaseolus lunatus*, pertencentes a Coleção de Germoplasma da UFRRJ. Correlação cofenética = 0,97.

De maneira geral observa-se uma diversidade um tanto quanto limitada entre os acessos pertencente à Coleção de Germoplasma da UFRRJ, esta ocorrência pode ser explicada pelo fato das sementes que foram classificadas anteriormente ao grupo “Batata” apresentando assim, um mesmo centro de domesticação. Vasconcelos et al. (1996), confirmaram a existência de considerável diferenciação genética entre cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris*) pertencentes a diferentes centros de domesticação através de marcadores

moleculares. Martinez-Castilho et al. (2008) afirmam que sementes pertencentes ao grupo “Lima Grande” representam o conjunto gênico Andino, já as sementes pertencentes aos dois outros grupos formariam o conjunto gênico Mesoamericano, este fato corrobora a limitada diversidade observada, uma vez que todas as sementes analisadas fariam parte do mesmo conjunto gênico. Lioi e Galasso (2002) fazendo uso de microsatélites, conseguiram separar acessos através dos seus conjuntos gênicos pertencentes.

Os acessos 1 e 11 apresentaram-se na Figura 10 agrupados entre si, portanto, um agrupamento distinto do apresentado na Figuras 3, onde neste, o agrupamento foi distinto. Constatou-se na última Figura citada, que apesar dos acessos 1 e 11 não ter sido agrupado no mesmo grupo, a distância genética entre estes neste dendrograma foi inferior ao dendrograma da Figura 10.

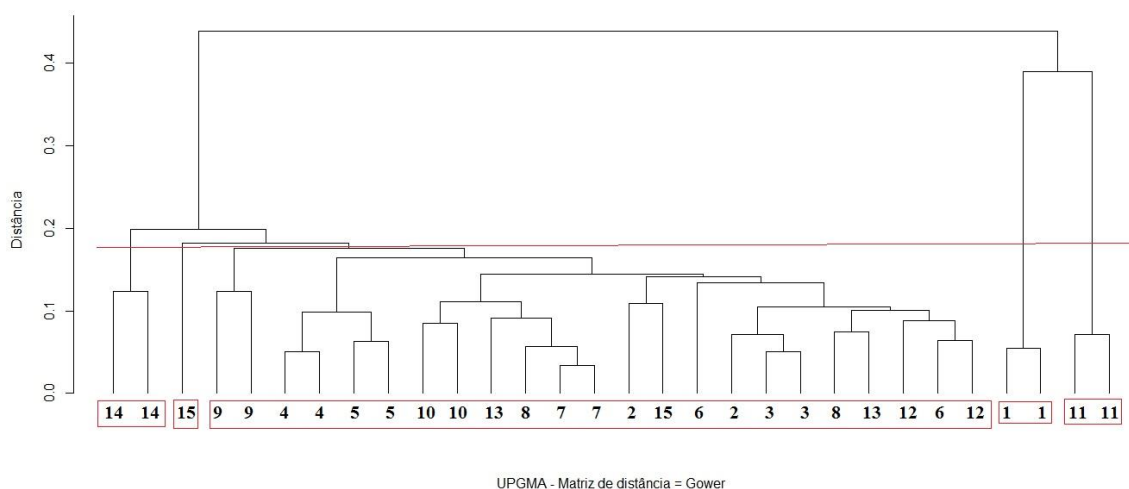
Os acessos 2 e 3 não foram agrupados no mesmo grupo, e divergiram a uma distância genética de 0,17 no dendrograma da Figuras 3. No dendrograma referente aos aspectos genotípicos, estes acessos agruparam-se, porém, divergiram a uma distância da ordem de 0,38. Dessa forma, apesar de estarem no mesmo grupo, foram ainda mais distantes geneticamente ao nível de DNA do que quando não agruparam-se no mesmo grupo.

Os acessos 5 e 4 divergiram a uma distancia de 0,44 quando considerou-se as análises de DNA, porém, com base nos dados quantitativos fenotípicos, estes distanciaram-se a 0,24.

Observa-se de forma geral que o polimorfismo encontrado entre os acessos nas análises genotípicas foi superior ao notado nas análises fenotípicas.

#### 4.2.4. Diversidade estimada via caracteres fenotípicos e genotípicos via marcadores ISSR entre acessos de *Phaseolus lunatus* pertencentes à Coleção de Germoplasmas da UFRRJ

Conforme o dendrograma apresentado na Figura 11, constatou-se que a distância genética de 0,45 separou os acessos em cinco grupos, um deles contendo os acessos 1 e 11, outro o acesso 14, um contendo somente um genótipo do acesso 15 e por fim um grande grupo contendo o restante dos acessos. A distância genética entre os acessos 1 e 11 foi estimada em 0,39.



**Figura 11.** Dendrograma obtido a partir do algoritmo de Gower e o método de agrupamento UPGMA, das variáveis fenotípicas e genotípicas de *Phaseolus lunatus*. Correlação Cofenética = 0,96.

Com base no referido dendrograma, e considerando a metodologia proposta por Kelley *et al.* (1996), observa-se a formação de cinco grupos distintos. Deve-se lembrar, que este dendrograma foi estruturado via metodologia UPGMA, cuja distância genética foi estimada pela metodologia de Gower, utilizando nesta estimativa, dados genotípicos obtidos via marcadores ISSR, e dados fenotípicos de natureza quantitativa. Apesar da formação de cinco grupos distintos, observa-se limitada diversidade genética entre a maioria dos acessos analisados. Vale dizer, que o dendrograma na Figura 11 contém 15 acessos, onde cada um destes foi representado por dois acessos.

Estatisticamente, pela metodologia de Kelley *et al.* (1996), os dendrogramas construídos a partir dos dados fenotípicos (Figura 3) e conjunto (Figura 11) foram muito semelhantes entre si no que diz respeito ao número de grupos iniciais formados, ou seja, cinco grupos. Apesar disso, apenas os dendrogramas formados a partir dos dados moleculares e conjunto apresentaram agrupamentos semelhantes. De forma geral, a distância genética entre os genótipos dentro de cada acesso, e entre os acessos foram inferior a 0,1. Portanto, observa-se também neste dendrograma (Figura 11) uma diversidade genética um tanto quanto limitada.

Apesar da constatação acima mencionada, observou-se que as variáveis morfológicas e as ligadas à produção apresentaram geralmente altos índices de variação, como já discutido anteriormente. Dessa forma, é bastante importante considerar a diversidade genética via análise multivariada como uma ferramenta auxiliar na definição ou na programação de cruzamentos promissores para obtenção de híbridos detentores de alelos favoráveis para a produção de grãos.

Segundo Falconer (1987) a heterose ou vigor híbrido pode ser definida, como a manifestação genética dos efeitos benéficos da hibridação. No caso de ação genética complementar, a população  $F_1$  é superior aos pais, por apresentar uma heterose díbrida ao se considerar dois pares de genes, isto ocorre, pois, nesta situação os pais portarão genes contrastantes, porém com um deles sendo homocigoto recessivo (BARELLI *et al.*, 1998). Albuquerque e Vieira (1974) ao realizarem cruzamentos entre cinco variedades de feijão-comum observaram que a heterose manifestou-se principalmente via, aumento de matéria seca nas plantas, em conjunto com o aumento de produção de sementes.

Um dos acessos mais promissores quanto à produção de grãos é o acesso 01, bem como os acessos 08, 12, 06 e 09, todos estes com produção superior a 500,0 g. Com exceção do acesso 11, genotipicamente, o acesso 01 divergiu bastante dos demais acessos. Considerando a análise conjunta, seria muito promissor o cruzamento entre os acessos 01 com qualquer um dos acessos produtivos citados acima, explorando de forma bastante satisfatória a combinação alélica e a distância genética. Porém, quando consideramos os dados fenotípicos quantitativos cuidados são necessários, visto que o acesso 01 divergiu destes acessos (08, 12, 06 e 12) a uma distância de 0,18, portanto, muito inferior à distância no dendrograma dos dados moleculares, que foi de 0,62 e 0,52, respectivamente Figuras 10 e 11. Cruzamentos entre os acessos 06 com 09 e com 12 também podem ser promissores, visto que estes foram divergentes nos dendrogramas mostrados nas Figuras 3 e 10.

Como esperado, a variável produção de grãos em gramas (PTS) apresentou uma alta correlação com o número de sementes (NuS) e com número de vagens (NuV), sendo estas estimativas respectivamente de 0,78 e 0,61 (Tabela 12). Cabral *et al.* (2011) ao analisarem 52 genótipos de feijão-comum, encontraram a mesma tendência na correlação entre as variáveis citadas anteriormente

**Tabela 12.** Correlação Fenotípica entre as 20 variáveis quantitativas avaliadas nos 15 acessos de *Phaseolus lunatus*.

	DC	CF	LF	TBF	NN	NV	CV	LV	EV	NLV	NS	P1S	PT	CS	LS	ES	C/L	E/L	N	P	
DC	1	0,63	0,45	0,29	0,38	0,06	0,27	0,54	0,02	0,64	0,60	-0,47	0,34	-0,52	0,13	0,37	-0,69	0,44	0,34	0,26	
CF		1	0,55	0,45	0,38	-0,13	0,25	0,46	0,28	0,60	0,36	-0,39	-0,01	-0,21	0,35	0,46	-0,58	0,31	0,10	0,00	
LF			1	0,95	0,90	-0,68	0,56	0,78	0,17	0,63	-0,03	-0,45	-0,42	-0,03	0,35	0,29	-0,35	-0,00	0,38	0,19	
TBF				1	0,88	-0,71	0,50	0,73	0,23	0,48	-0,17	-0,34	-0,50	0,07	0,32	0,27	-0,19	-0,00	0,40	0,22	
NN					1	-0,56	0,31	0,65	-0,06	0,64	0,06	-0,64	-0,44	-0,26	0,03	0,08	-0,24	0,07	0,27	0,10	
NV						1	-0,49	-0,43	-0,39	-0,10	0,60	-0,00	0,73	-0,39	-0,32	-0,12	-0,09	0,20	-0,11	0,02	
CV							1	0,63	0,46	0,23	-0,19	0,22	-0,00	0,31	0,37	0,01	-0,10	-0,45	0,60	0,49	
LV								1	0,23	0,75	0,28	-0,21	0,11	-0,08	0,52	0,51	-0,63	0,13	0,60	0,46	
EV									1	-0,08	-0,35	0,49	-0,06	0,65	0,61	0,35	0,06	-0,23	0,30	0,29	
NLV										1	0,69	-0,69	0,18	-0,49	0,25	0,42	-0,76	0,36	0,20	0,10	
NS											1	-0,53	0,69	0,72	-0,06	0,27	-0,70	0,54	0,03	0,06	
P1S												1	0,17	0,68	0,27	-0,05	0,38	-0,45	0,22	0,31	
PT													1	-0,25	0,07	0,17	-0,39	0,18	0,32	0,43	
CS														1	0,55	0,11	0,49	-0,56	0,08	0,08	
LS															1	0,79	-0,43	-0,04	0,26	0,18	
ES																1	0,67	0,56	0,05	-0,01	
C/L																	1	-0,54	-0,20	-0,12	
E/L																		1	-0,25	-0,26	
N																			1	0,97	
P																				1	

Legenda: DC – diâmetro de caule (mm); CF – comprimento de folha (mm); LF – Largura de folha (mm); TBF – Tamanho de botão floral (mm); NN – Número de nós; NV – Número de vagens; CV – Comprimento de vagem (mm); LV – Largura de vagem (mm); EV – Espessura de vagem (mm); NLV – Número de locus por vagem; NS – Número de sementes; P1S – Peso de uma semente (g); PT – Peso total das sementes (g); CS – comprimento de semente (mm); LS – Largura de semente (mm); ES – Espessura de semente (mm); C/L – Relação entre o comprimento e largura de semente; E/L – Relação entre a espessura e a largura de semente; N% - Porcentagem de N-proteico presente na semente; P – Valor proteico presente na semente;

. O estudo da correlação se mostra como uma importante ferramenta, para que ocorra o conhecimento do grau de associação entre variáveis agronômicas. Estas podem ser explicadas, de forma geral, pelo efeito aditivo dos genes afetando dois caracteres simultaneamente, isto se faz importante principalmente porque a seleção de determinado caractere pode vir a alterar o comportamento de outro (COIMBRA et al., 1999).

A variável PTS correlacionou de forma pouco expressiva com as variáveis NLV, DiC e as variáveis ligadas a morfologia da folha (CoF e LaV). Com as demais variáveis aqui analisadas, PTS apresentou uma baixa correlação, exceção apenas das variáveis número de nós do caule (NuN) e peso de uma semente (PuS), com as quais obteve correlações negativas, principalmente com NuN, onde esta foi estimada em -0,50 (Tabela 12). Portanto, existe uma tendência de quanto maior o número de nós de uma planta e mais pesada a semente, menor será a produção. Visando o aumento da produtividade, recomenda-se cruzamentos do acesso 01 com 06, 08 ou 12, bem como o cruzamento entre os acessos 06 e 12. Nesta, excluiu-se o acesso 09 em função da correlação negativa entre PTS e PuS, descartando assim, a possibilidade de se obter híbridos com sementes pesadas e portanto, haver decréscimo na produção.

Portanto, existe uma tendência de quanto maior o número de nós de uma planta e mais pesada a semente, menor será a produção. Silva et al., 2009 também observaram que seleções baseadas no porte da planta apresentavam um pequeno decréscimo na média de produtividade da planta. Tal fato evidencia que plantas com hábito de crescimento indeterminado não necessariamente terão inflorescências em todos os nós, principalmente plantas que se desenvolvem em demasiado, produzindo assim muitos nós.

Com exceção do acesso 11, com média superior do NuN, todos os outros acessos foram estatisticamente semelhantes, apenas os acessos 09, 14 e 15 tiveram a semente mais pesada. Dessa forma, será mínima as chances de redução da média de produção nos futuros híbridos oriundos de cruzamentos entre genitores contendo número de nós elevado. Collicchio et al., 1997 observaram que em presença de umidade e calor o feijoeiro tende a se desenvolver mais vegetativamente, apresentando plantas desenvolvidas na época “das águas” com um porte maior que plantas desenvolvidas em outras épocas.

De acordo com a Tabela 12 pode-se observar também que acessos possuidores de média superiores de comprimento e largura de folhas (CoF e LaF), bem como de diâmetro de caule (DiC) podem contribuir para a redução da largura e espessura das sementes, respectivamente, LaS e EsP. Porém, apesar de um maior comprimento de caule contribuir para menores LaS e EsP, observa-se que as correlações entre PuS com CoF e LaF são baixas, respectivamente de 0,23 e 0,19. Dessa forma, aumento do tamanho da folha pode ter pouca influência sobre o peso de uma semente, e conseqüentemente, na produção de grãos, este dado é contrário ao encontrado por Collicchio et al., 1997 para feijão-comum onde observaram que plantas com folhas pequenas produziram grãos pequenos.

Na Tabela 12, observa-se que a correlação entre produção de grãos em gramas (PTS) e valor de proteína bruta (VPB) é baixa, da ordem de 0,17. O valor de proteína bruta não apresentou correlação alta com nenhuma das variáveis analisadas, exceto para a porcentagem de N-proteico na semente (NPS), cuja função é estrutural da proteína.

## 5. CONCLUSÃO

As sementes de feijão-fava aqui analisadas apresentam taxas de germinação elevadas, além de uma boa velocidade de germinação para todos os acessos estudados.

De forma geral observa-se para todas as variáveis analisadas uma excelente precisão experimental, evidenciada pelos coeficientes de variação ( $CV_{\%}$ ) obtidos.

Algumas variáveis importantes como tamanho de botão floral (TBF), peso de uma semente (PuS) e peso total de sementes (PTS) apresentaram altos valores de coeficiente de determinação fenotípico ( $H^2$ ) e variabilidade genética ( $IV_g$ ).

Neste presente trabalho, as variáveis quantitativas relacionadas à morfologia da folha e relacionadas às sementes foram as que mais contribuíram para a estimativa da diversidade genética.

As análises multivariadas indicaram menor diversidade genética em relação às variáveis quando analisadas ou consideradas individualmente, ou seja, em análises univariadas. Estas últimas exibiram um alto potencial para seleção, evidenciando uma alta variabilidade genética para a maioria dos caracteres avaliados. Destas variáveis, exceção foi apenas para as variáveis ligadas às questões nutricionais das sementes e relativas ao caule, ao comprimento de folha e número de vagens, onde todos os índices de variação ficaram abaixo da unidade. Isso evidencia maior dificuldade no processo de seleção de acessos e de genótipos dentro dos acessos. Ocorrendo especial dificuldade encontrada para a variável comprimento de folha.

Em relação as variáveis qualitativas observa-se que os acessos apresentam segregação para a maior parte das variáveis analisadas.

Os marcadores ISSR aqui utilizados demonstraram ser uma boa ferramenta para a análise de diversidade, produzindo bastante polimorfismo na espécie. De forma geral o polimorfismo encontrado entre os acessos nas análises genotípicas foi superior ao notado nas análises fenotípicas.

Os acessos 01, 06, 08, 09 e 12 foram os mais produtivos. Sendo que o acesso 01 mostrou-se uma dos mais divergentes na análise genotípica e conjunta, desta maneira pode-se recomendar cruzamentos entre este acesso e qualquer acesso descrito anteriormente. Porém, quando consideramos os dados fenotípicos quantitativos cuidados são necessários visto que, a divergência é menor em relação à divergência genotípica. Cruzamentos entre os acessos 06 com 09 e com 12 também podem ser promissores, visto que estes foram divergentes.

A variável produção de grãos (PTS) apresentou uma alta correlação com o número de sementes (NuS) e com número de vagens (NuV). O teor de proteína não apresentou correlação alta com nenhuma das variáveis aqui analisadas.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKKAYA, M. S.; BHAGWAT, A. A.; CREGAN, P. B. Length polymorphisms of simple sequence repeat DNA in soybean. **Genetics**, v. 132, n. 4, p. 1131-1139, 1992.
- ALBUQUERQUE, M. M.; VIEIRA, C. Manifestações da heterose em *Phaseolus vulgaris* L. **Revista Ceres**, v. 21, p. 148-166, 1974.
- ALZATE-MARIN, A. L.; CERVIGNI, G. D. L.; MOREIRA, M. A.; BARROS, E. G. Seleção assistida por marcadores moleculares visando ao desenvolvimento de plantas resistentes a doenças, com ênfase em feijoeiro e soja. **Fitopatologia Brasileira**, v. 30, n. 4, p. 333-342, 2005.
- AMARAL JÚNIOR, A. T.; CASALI, V. W. D.; FINGER, F. L.; CRUZ, C. D.; SILVA, L. F. C. Variabilidade morfo-agronômica isozimática entre acessos de moranga (*Cucurbita máxima* Duch.). **Revista Ceres**, v. 43, n. 249, p. 581-590, 1996.
- ARAÚJO, A. M. **Paternidade e diversidade genética em caprinos no Brasil por meio de microssatélites de DNA**. 2004. 104 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis. Washington, DC, 1995.
- AZAMBUJA, S. de. **Estudo e implementação da análise de agrupamento em ambientes virtuais de aprendizagem**. 2005. 212 p. Dissertação (Mestrado em Informática) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Matemática/ Núcleo de Computação Eletrônica, 2005.
- AZEVEDO, J. N.; FRANCO, L. J. D.; ARAÚJO, R. O. C. **Composição química de sete variedades de feijão-fava**. Embrapa Meio-Norte, 4 p. 2003.
- BARBÉ, T. C.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; GONÇALVES, L. S. A.; RODRIGUES, R.; SCAPIM, C. A. Association between advanced generations and genealogy in inbred lines of snap bean by the Ward-Modified Location Model. **Euphytica**, v. 173, n. 3, p. 337-343, 2010.
- BARROSO, L. P.; ARTES, R. **Análise Multivariada**. Lavras: UFLA, 2003. 157 p.
- BARRELLI, M. A. A.; GONÇALVES-VIDIGAL, M. C.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; VIDIGAL FILHO, P. S.; SCAPIM, C. A. Heterose relativa em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Acta Scientiarum**, v. 20, n. 3, p. 257-262, 1998.
- BAUDET, J. C. Signification taxonomique des caracteres blastogênicos dans la tribu Papilionaceae – Phaseoleae. **Bulletin du Botanique National de Belgique**, v. 44, p. 259-293. 1977.
- BAUDOIN, J. P. Genetic resources, domestication and evolution of lima bean, *Phaseolus lunatus*. In: **Genetic resources of Phaseolus beans**. Springer Netherlands, 1988. p. 393-407.
- BAUDOIN, J.P. Contribuição des ressources phylogénétiques à la sélection variétale de légumineuses alimentaires tropicales. **Biotechnology, Agronomy, Society and Environment**, v. 5, n. 4, p. 221-230, 2001.
- BEAUMONT, M. A.; IBRAHIM, K. M.; BOURSOT, P.; BRUFORD, M. W. Measuring genetic distance. p. 315-325. In: KARP A. et al. (ed.) **Molecular tools for screening biodiversity**. Chapman and Hall, London, 1998.
- BECKER, H. C.; LÉON, J. Stability analysis in plant breeding. **Plant Breeding**, Berlin, v. 101, n. 1, p. 1-23, 1988.
- BENIN, G.; CARVALHO, F. I. F. de.; ASSMANN, I. C.; CIGOLINI, J.; CRUZ, P. J.; MARCHIORO, V. S.; LORENCETTI, C.; SILVA, J. A. C. Identificação da dissimilaridade



genética entre genótipos de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) do grupos preto. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 8, n. 3, p. 179-184, 2002.

BEYRA, A.; ARTILES, G. R. Revisión taxonômica de los gêneros *Phaseolus* y *Vigna* (Leguminosae – Papilionoideae) em Cuba. **Anales Del Jardín Botánico de Madrid**, v. 61, n. 2, p. 135-154, 2004.

BORNET, B.; BRANCHARD, M. Non anchored Inter Simple Sequence Repeat (ISSR) Markers: Reproducible and Specific Tools for Genome Fingerprinting. **Plant Molecular Biology Reporter**, v. 19, n. 3, p. 209-215, 2001.

BOTSTEIN, D.; WHITE, R. L.; SKOLNICK, M.; DAVIS, R. W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. **American journal of human genetics**, v. 32, n. 3, p. 314, 1980.

BRAGANTINI, C. Alguns aspectos do armazenamento de sementes e grãos de feijão. **Embrapa Arroz e Feijão. Documentos**, 2005.

BRASIL. 2005. Padrões para produção e comercialização de sementes de feijão. Anexo IV da Instrução Normativa nº 25, de 16 de dezembro de 2005. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

BRESSANI, R.; ELIAS, L. G. Nutritional value of legume crops for humans and animals. In; SUMMERFIELD, R. J.; BUTING, A. H. (Ed.). **Advances in legume science**. Kew: Royal Botanic Gardens, p. 135-155, 1980.

BRIDLE, P.; TIMBERLAKE, C. F. Anthocyanins as natural food colours – selected aspects. **Food Chemistry**, v. 58, n. 1-2, p.103-109, 1997.

BROUGHTON, W.J.; HERNÁNDEZ, G.; BLAIR, M.; BEEBE, S.; GEPTS, P.; ANDERLEYDEN, J. Beans (*Phaseolus* spp.) - model food legumes. **Plant and soil**, v. 252, n. 1, p. 55-128, 2003.

BUSSAB, W. O. de.; MIAZAKI, E. S.; ANDRADE, D. **Introdução à análise de agrupamentos**. São Paulo: Associação Brasileira de Estatística, 1990. 105 p.

CABRAL, P. D. S.; SOARES, T. C. B.; GONÇALVES, L. S. A.; AMARAL JUNIOR, A. T.; LIMA, A. B. P.; RODRIGUES, R.; MATTA, F.P. Quantification of the diversity among common bean accessions using Ward-MLM strategy. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, n.10, p. 1124-1132, 2010.

CABRAL, P. D. S.; SOARES, T. C. B.; LIMA, A. B. P.; SOARES, Y. J. B.; SILVA, J. A. Análise de trilha do rendimento de grãos de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) e seus componentes. **Revista Ciência Agronômica**, v. 42, n. 1, p. 132-138, 2011.

CAICEDO, A.; GAITÁN, E.; DUQUE, M. C.; TORO CHICA, O.; DEBOUCK, D. G.; TOHME, J. AFLP fingerprinting of *Phaseolus lunatus* L. and related wild species from South America. **Crop Science**, v. 39, n. 5, p. 1497-1507, 1999.

CARGNELUTTI FILHO, A.; RIBEIRO, N. D.; REIS, R. C. P. dos.; SOUZA, J. R. de.; JOST, E. Comparação de métodos de agrupamento para o estudo da divergência genética em cultivares de feijão. **Ciência Rural**, v. 38, n. 8, p. 2138-2145, 2008.

CASTINEIRAS, L.; ESQUIVEL, M. ; RIVERO, N. ; MARINO, A. Variabilidad de la semilla de *Phaseolus lunatus* L. en Cuba. **Revista Del Jardín Botánico Nacional**. v.12, p. 109-114, 1991.

CASTILLO, J. M.; COLUNGA, G. M. P.; VILLAREAL, D. Z. Genetic erosion and in situ conservation of Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) landraces in its Mesoamerican diversity center. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 55, p. 1065-1077, 2008.

COELHO, C. M. M.; COIMBRA, J. L. M.; SOUZA, C. A.; BOGO, A.; GUIDOLIN, A. F. Divergência genética em acessos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Ciência Rural**, v. 37, p. 1241-1247, 2007.

COELHO, C.M.M.; MOTA, M.R.; SOUZA, C.A.; MIQUELLUTI, D.J. Potencial Fisiológico em sementes de cultivares de feijão crioulo (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v.32, n.3, p. 097-105, 2010.

COIMBRA, J. L. M.; GUIDOLIN, A. F.; CARVALHO, F. I. F.; COIMBRA, S. M. M.; MARCHIORO, V. S. Análise de Trilha I: Análise do rendimento de grãos e seus componentes. **Ciência Rural**, v. 29, n. 2, p. 213-218, 1999.

COLLICCHIO, E.; RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B. Associação entre o porte da planta do feijoeiro e o tamanho dos grãos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 32, n. 3, p. 297-304, 1997.

CREGAN, P.B., JARVIK, T., BUSH, A.L., SHOEMAKER, R.C., LARK, K.G., KAHLER, A.L., KAYA, N., VANTOAI, T.T., LOHNES, D.G., CHUNG, J. & SPECHT J.E. An integrated genetic linkage map of the soybean. **Crop Science**, v. 39, p. 1464-1490, 1999.

CRONQUIST, A. **The evolution and classification of flowering plants**. New York Botanical Garden, 1988. 555 p.

CRUZ, C. D. **Aplicação de algumas técnicas multivariadas no melhoramento de plantas**. 1990. 188 p. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 1990.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Volume 2. Viçosa: Editora UFV, 2003. 585 p.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 2. ed. (revisada). Viçosa: Editora UFV, 2004. 390 p.

CRUZ, C. D. **Programa Genes - Diversidade Genética**. 1. ed. Viçosa: Editora UFV, 2008. 278 p.

CRUZ, C. D.; FERREIRA, F. M.; PESSONI, L. A. **Biometria aplicada ao estudo da diversidade genética**. Visconde do Rio Branco, MG: Suprema, 2011. 620 p.

CUNHA, C. P.; HOOGERHEIDE, E. S.; ZUCCHI, M. I.; MONTEIRO, M.; PINHEIRO, J. B. New microsatellite markers for garlic, *Allium sativum* (Alliaceae). **America Journal of Botany**, v. 99, n. 1, 2012.

DEKKERS, J. C. M.; HOSPITAL, F. The use of molecular genetics in the improvement of agricultural populations. **Nature Reviews Genetics**, v. 3, p. 22-32, 2002.

DELGADO-SALINAS, A. **Systematics of the genus Phaseolus (Leguminosae) in North and Central America**. 1985. 363 p.

DELGADO-SALINAS, A.; TURLEY, T.; RICHIMAN, A.; LAVIN, M. Phylogenetic analysis of the cultivated and wild species of *Phaseolus* (Fabaceae). **Systematic Botany**, v. 24, n. 3, p. 438-460, 1999.

DOBERT, R. C.; BLEVINS, D. G. Effect of seed size and plant growth on nodulation and nodule development in lima bean (*Phaseolus lunatus* L.). **Plant and Soil**, Dordrecht, v. 148, n. 1, p. 11-19, 1993.

DOBROVOLSKAYA, O.; SALEH U., MALYSHEVA-OTTO L., RÖDER M.S., BÖRNER A., Rationalising germplasm collections: a case study for wheat. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 111, p. 1322-1329, 2005.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v. 12, p. 13-15, 1990.

ELIAS, H. T.; VIDIGAL, M. C. G.; GONELA, A.; VOGT, G. A. Variabilidade genética em germoplasma tradicional de feijão-preto em Santa Catarina. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 10, p. 1443-1449, 2007.

- ESQUIVEL, M. E.; CASTAÑEIRAS, L.; HAMMER, K. Origin, classification, varietion and distribution of lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) in the light of Cuba material. **Euphytica**, v. 49, p. 89-97, 1990.
- ESTEVEZ, A. M. **Composição química e enzimática de seis linhagens de feijão (Phaseolus vulgarisL.)**. 2000. 55 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- EVERITT, B. S.; LANDAU, S.; LEESE, M. **Cluster analysis**. 4. ed. London: Arnold. 2001. 207 p.
- FALCONER, D. S. **Introdução à genética quantitativa**. Tradução de M.A. SILVA; J.C. SILVA. Viçosa: UFV, 1987. 279p
- FARIA, P. N. Avaliação de métodos para a determinação do número ótimo de *clusters* em estudo de divergência genética entre acessos de pimenta. . 2009. 67 p. Dissertação (Mestrado em Estatística Aplicada e Biometria) – Universidade Federal de Viçosa..
- FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análises genéticas**. 3.ed. Embrapa-Cenargen, 1998. 220 p.
- FERREIRA, F. M. Diversidade em populações simuladas com base em locus multialélicos. 2007. 177 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal de Viçosa.
- FERREIRA, M. E.; MORETZSOHN, M. de C.; BUSO, G. S. C. Fundamentos de caracterização molecular de germoplasma vegetal. In: NASS, L. L. (Editor Técnico). **Recursos Genéticos Vegetais**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, p. 377-415, 2007.
- FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. Viçosa, 2000. 402 p.
- FOFANA, B.; VEKEMANS, X.; JARDIN, P.; BAUDOIN, J.P. Genetic diversity in Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) as revealed by RAPD markers. **Euphytica**, v. 95, p.157-165, 1997.
- FOFANA, B.; JARDIN, P.; BAUDOIN, J.P. Genetic diversity in the Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) as revealed by chloroplast DNA (cpDNA) variations. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 48, n. 5, p. 437-445, 2001.
- FONSECA, J. R. & SILVA, H. T. Emprego da análise multivariada na caracterização de acessos de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 19, n. 2, p. 334-340, 1997.
- FREIRE FILHO, F. R. Herança no número de dias para a floração e do hábito de crescimento em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*L.). 1980. 38 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa.
- FREIRE FILHO, F. R. et al. Adaptabilidade e estabilidade de rendimento de grãos de genótipos de caupi de porte semi-ereto. **Revista Científica Rural**, v. 6, n. 2, p. 31-39, 2001.
- FREIRE FILHO, F. R.; LIMA, J. A. A.; RIBEIRO, V. Q. Feijão-caupi: avanços tecnológicos. Embrapa Informação Tecnológica, Teresina, PI: Embrapa Meio-Norte, 2005.
- FREYTAG, G.F.; DEBOUCK, D.G. Taxonomy, Distribution, and Ecology of the Genus *Phaseolus* (Leguminosae-papilionoideae) in North America, Mexico and Central America. **Botanical Research Institute of Texas (BRIT)**, 2002. 298 p.
- GENTRY, H. S. Origin of the common bean, *Phaseolus vulgaris*. **Economy Botany**, v. 23, p. 55-69, 1969.
- GOWER, J. C. A general coefficient of similarity and some of its properties. **Biometrics**, p. 857-874, 1971.

GUIMARÃES, W.N.R.; MARTINS, L.S.S.; SILVA, E.F.; FERRAZ, G.M.G.; OLIVEIRA, F.J. Caracterização morfológica e molecular de acessos de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.). **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 11, n. 1, p. 37-45, 2007.

HARBORNE, J. B.; GRAYER, R. J., The anthocyanins. In: **The flavonoids**. Springer US, 1988. p. 1-20.

HARDY O.; DUBOIS, S.; ZORO BI, I.; BAUDOIN, J.P. Gene dispersal and its consequences on the genetic structure of wild populations of Lima bean (*Phaseolus lunatus*) in Costa Rica. **Plant Genetic Resources Newsletter**, v.109, p.1-6, 1997.

HALVANKAR, G. B.; PATIL, V. P. Inheritance and linkage studies in soybean. **Indian Journal of Genetic and Plant Breeding**, New Delhi, v.54, n.3, p.216-224, 1994.

HELENTJARIS, T.; SLOCUM, M.; WRIGHT, S.; SCHAEFER, A.; NIENHUIS J. Construction of genetic linkage maps in maize and tomato using restriction fragment length polymorphisms. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 72, n. 6, p.761-769, 1986.

HENANDÉZ BERMEJO, J. E.; LEÓN, J. **Neglected crops 1492 from a diferente perspective**. Rome: FAO Plant Production and Protection Series No. 26, 1994, 341 p.

HOSHINO, A.; BRAVO, J. ; PALMIERI, D.; LOPES, C.R. ; BARATA, T.; GIMENES, M. A. Marcador microssatélite na conservação de germoplasma vegetal. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, v. 29, p.146-150, 2002.

IBGE. Banco de dados agregados: pesquisa: produção agrícola municipal. Rio de Janeiro, 2011. Disponível em <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp?z=t&o=10&i=P>> Acesso em: out, 2012.

IPGRI. Descritores para *Phaseolus lunatus* (Feijão-espadinho). **International Plant Genetic Resources Institute**, Rome. 2001.

JACOB, M., ZINK, D.; NAGL, W. RFLPs of the rRNA genes in the genus *Phaseolus*. **Genetic Resources Crop Evolution**, v. 42, n. 2, p. 97-106, 1995.

JEFFREYS, A. J.; WILSON, V.; THEIN, S. L. Hypervariable “minisatellite” regions in human DNA. **Nature**, v. 314, p. 67-73, 1985.

JOLLIFFE, I.T. Discarding variables in a principal component analysis. I. Artificial data. **Applied Statistics**, v. 21, n. 2, p. 160-173, 1972.

JOLLIFFE, I.T. Discarding variables in a principal component analysis. II. Real data. **Applied Statistics**, v. 22, n. 1, p. 21-31, 1973.

KANTETY, R. V.; ZHANG X.; BENNETZEN J. L.; ZEHR B. Z. Assessment of genetic diversity in dent and popcorn (*Zea mays* L.) inbred lines using inter-simple sequence repeat (ISSR) amplification. **Molecular Breeding**. v. 1, n. 4, p.365–372, 1995.

KEARSEY, M. J.; POONI, H. S. The potential of inbred lines in the presence of heterosis. In: **Reproductive Biology and Plant Breeding**. Springer Berlin Heidelberg, 1992. p. 371-385.

KELLEY, L. A.; GARDNER, S. P.; SUTCLIFFE, M. J. An automated approach for clustering an ensemble of NMR-derived protein structures into conformationally related subfamilies. **Protein Engineering**, v. 9, n. 11, p. 1063-1065, 1996.

KUREK, A.J.; CARVALHO, F.I.F.; ASSMANN, I.C.; MACHIORO, V.S.; CRUZ, P.J. Análise de trilha como critério de seleção indireta para rendimento de grãos em feijão. **Revista Brasileira de Agrociências**, v. 7, n. 1, p.29-32, 2001.

LINNAEUS, C. **Species plantarum**. Vol. 4. Impensis GC Nauk, 1800.

LIOI, L.; LOTTI, C.; GALASSO I. Isozyme diversity, RFLP of the rDNA and phylogenetic affinities among cultivated Lima beans, *Phaseolus lunatus* L. (Fabaceae). **Plant Systematics and Evolution**. v. 213, p. 153–164, 1998.

LIOI, L.; GALASSO, I. Oligonucleotide DNA fingerprinting revealing polymorphism in *Phaseolus lunatus* L. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 49, n. 1, p. 53-58, 2008.

- LIU, B. H. **Statistical genomics: linkage, mapping and QTL analysis**. CRC Press, 1998. 611 p.
- LOPES, T. J.; XAVIER, M. F.; QUADRI, M. G. N.; QUADRI, M. B. Antocianinas: Uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade. **Revista Brasileira de Agrociências**, v. 13, n. 3, p. 291-297, 2007.
- MACHADO, C. F.; TEIXEIRA, N. J. P.; FREIRE FILHO, F. R.; MOURA ROCHA, M.; GOMES, R. L. F. Identificação de genótipos de feijão-caupi quanto à precocidade, arquitetura da planta e produtividade de grãos. **Revista Ciência Agronômica**, v. 39, n. 1, p. 114-123, 2008.
- MACIEL, F. L.; ECHEVERRIGARAY, S.; GERALD, L. T. S.; GRAZZIOTIN, F. G. Genetic relationships and diversity among Brazilian cultivars and landraces of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) revealed by AFLP markers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 50, n. 8, p. 887-893, 2003.
- MACKIE, W. W. Origin dispersal and variability of the Lima bean (*Phaseolus lunatus*). **Hilgardia**, v. 15, n. 1, p. 1-29, 1943.
- MAHALANOBIS, P. C. **On the generalized distance in statistics**. Proceedings of The National Institute of Sciences of India, v. 12, p. 49-55, 1936.
- MAQUET, A.; ZORO BI, I.; DELVAUX, M.; WATHELET, B.; BAUDOIN, J. P. Genetic structure of a Lima bean base collection using allozyme markers. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 95, p. 980-991, 1997.
- MAQUET, A.; VEKEMANS, X.Z.; BAUDOIN, J.P. Phylogenetic study on wild allies of lima bean, *Phaseolus lunatus* L. (Fabaceae), and implications on its origin. **Plant Systematics and Evolution**, v. 218, n.1-2, p. 43-54, 1999.
- MARÉCHAL, R.; MASCHERPA, J. M.; STAINIER, F. Étude taxonomique d'un groupe complexe d'espèces des genres *Phaseolus* et *Vigna* (Papilionaceae) sur la base de données morphologiques et polliniques traitées par l'analyse informatique. **Boissiera**, v. 28, p. 1-273, 1978.
- MARTÍNEZ-CASTILLO, J.; COLUNGA-GARCÍAMARÍN, P.; ZIZUMBO VILLAREAL, D. Genetic erosion and in situ conservation of Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) landraces in its Mesoamerican diversity center. **Resources and Crop Evolution**, v. 55, n. 7, p. 1065-1077, 2008.
- MARTORANO, L. G.; MATOS, R. M.; SILVA, E. M. R.; ANGELOCCI, L. R.; PEREIRA, F. A.; VILLA NOVA, N. A. **Disponibilidade climática para o cultivo da bananeira na região de Seropédica/Itaguaí-RJ**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE AGROMETERELOGIA, 10. Piracicaba, 1997, Piracicaba: SBA, 1997. **Anais...** p.301-303.
- MINGOTI, S. A. **Análise de dados através de métodos de estatística multivariada: uma abordagem aplicada**. Editora UFMG, 2005.
- MILACH, S.C.K. **Marcadores moleculares em plantas**. SCK (Ed.), 1998.
- MIRANDA, C. S. Mejoramiento genético del frijol. In: **BRAUER, O. Fitogenética aplicada**. Chapingo: Limusa, 1973. p. 412-440.
- MIRANDA, G. V. **Diversidade genética e desempenho de cultivares de soja como progenitores**. 1998. 117 p. Tese (Doutorado em Genética e melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Viçosa.
- MOHAMMADI, S. A.; PRASANNA, B. M. Analysis of genetic diversity in crop plants: salient statistical tools and considerations. **Crop Science**, 43: p.1.235-1.248, 2003.
- MOURA, A. C. de C. **Análises físico-químicos e enzimáticas antes e após armazenamento em grãos de feijão (*Phaseolus vulgaris*L.) submetidos a diferentes tempos e tipos de**

**secagem.** 1998. 70 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) Universidade Federal de Lavras.

MOURA, W. M.; CASALI, V. W. D.; CRUZ, C. D.; LIMA, P. C. Divergência genética em linhagens de pimentão em relação à eficiência nutricional de fósforo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 34, n. 2, p. 217-224, 1999.

MORRISON, D. F. **Multivariate statistical methods.** 2. ed. Singapore: McGraw-Hill, 1976. 415 p.

NIENHUIS, J.; TIVANG, J.; SKROCK, P.; SANTOS, J. B. Genetic relationships among cultivars and landraces of lima bean (*Phaseolus lunatus*L.) as measured by RAPD markers. **Journal of the America Society for Horticultural Science**, v.120, n.2, p. 300-306, 1995.

NOBRE, D. A. C.; BRANDÃO JUNIOR, D. S.; NOBRE, E. C.; SANTOS, J. M. C.; MIRANDA, D. G. S.; ALVES, L. P. Qualidade física, fisiológica e morfologia externa de sementes de dez variedades de feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.). **Revista Brasileira de Biociências**, v. 10, n. 4, p. 425-429, 2012.

OLIVEIRA, A. P. et al. Produção de feijão-fava em função do uso de doses de fósforo em um Neossolo Regolítico. **Horticultura Brasileira**, v. 22, n. 3, p. 543-546, 2004.

OLIVEIRA, F. N.; TORRES, S. B.; BEBEDITO, C. P. Caracterização botânica e agrônômica de acessos de feijão-fava, em Mossoró, RN. **Revista Caatinga**, v.24, n. 1, p. 143-148, 2011.

OLIVEIRA, M. S. A. E. S.; SANTOS, A. R. B.; EGNALDO, F.; RIBEIRO, A. A. Determinação de ETc e Kc para feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) na região de Teresina, Piauí. **Revista Verde**, v. 8, n. 2, p. 278-283, 2013.

PIPER, C. V. Studies in American Phaseolineae. **Natl. Herb**, v. 22, p. 663-701, 1926.

R DEVELOPMENT CORE TEAM (2011). **R: A language and environment for statistical computing.** R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2011. Disponível em: URL <http://www.r-project.org/>.

RACHIE, K. O.; SONG, L.; LYMAN, J. Lima bean (*Phaseolus lunatus*) and potential in the tropics. In: SUMMERFIELD, R. J.; BUNTING, A. H. Advances in legumes science. **Royal Botanic Garden**, 1980. p. 375-381.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B. dos; ZIMMERMANN, M. J. de O. **Genética quantitativa em plantas autógamas: aplicações ao melhoramento do feijoeiro.** Goiânia: UFG, 271 p. 1993.

RAMOS, D. P.; CASTRO, A. F.; MARCELO, N. C. Levantamento detalhado de solos da área da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 8, n.6, p.1-27, 1973.

RAO, C. R. **Advanced statistical methods in biometric research.** New York, John Wiley, 1952.

REDDY, M. P.; SARLA, N.; REDDY, E. A. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application plant breeding. **Euphytica**, v. 128, p. 9-17, 2002.

RIOS, A. de O.; ABREU, C. M. P.; CORRÊA, A. D. Efeito da estocagem e das condições de colheita sobre algumas propriedades físicas, químicas e nutricionais de três cultivares de feijão (*Phaseolus vulgaris*, L.). **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v. 23, p. 39-45, 2003.

ROCHA, M. M. CAMPELO, J. E. G; FILHO, F. R. F.; RIBEIRO, V. Q. R.; LOPES, A. C. A. Estimativas de parâmetros genéticos em genótipos de feijão-caupi de tegumento branco. **Revista Científica Rural**, v. 8, n. 1, p. 135-141, 2003.

ROMERO, J. P. Variedades de judias cultivadas en España. Madrid: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 1961. 798 p. Monografia.

ROMESBURG, C. H. **Cluster analysis for researchers.** Belmont: Lifetime Learning Publications, 1984. 334 p.

- SANTOS, C. A. F.; OLIVEIRA, C. A. V.; MENEZES, E. A. Seleção de descritores na caracterização e avaliação preliminar de germoplasma de guandu. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 7, p. 971-975, 1995.
- SANTOS, D.; CORLETT, F. M. F.; MENDES, J. E. M. F.; WANDERLEY JÚNIOR, J. S. A. Produtividade e morfologia de vagens e sementes de variedades de fava no estado da Paraíba. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 10, p. 1407-1412, 2002.
- SAX, K. Quantitative inheritance in *Phaseolus*. **Journal of Agricultural Research**, Beltsville, v.33, n.4, p. 349-354, 1926.
- SCAPIM, C. A.; PIRES, I. E.; CRUZ, C. D.; AMARAL JÚNIOR, A. T.; BRACCINI, A. L.; OLIVEIRA, V. R. Avaliação da diversidade genética em *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh, por meio da análise multivariada. **Revista Ceres**, v. 46, n. 266, p. 347-356, 1999.
- SGARBIERI, V. C. Estudo do conteúdo e de algumas características das proteínas e sementes de plantas leguminosas. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 32, n. 1, p. 78-84, 1980.
- SILVA, P. S. L.; FREITAS, C. J. Rendimento de grãos verdes de milho e caupi em cultivos puros e consorciados. **Revista Ceres**, v. 43, n. 245, p. 28-38, 1996.
- SILVA, H. T.; COSTA, A. O. **Caracterização botânica das espécies silvestres de gênero *Phaseolus* L. (Leguminosae)**. Santo Antônio de Goáis: Embrapa, (Embrapa Arroz e Feijão. Documentos, 156) 40 p. 2003.
- SILVA, C. A.; ABREU, A. F. B.; RAMALHO, M. A. P. Associação entre arquitetura de planta e produtividade de grãos em progênies de feijoeiro de porte ereto e prostrado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 44, n. 12, p. 1647-1652, 2009.
- SILVA, A. G.; ROCHA, L. C.; CANNIATTI BRAZACA, S. G. Caracterização físico-química, digestibilidade proteica e atividade antioxidante do feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.). **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 20, n. 4, p. 591-597, 2010.
- SILVA, R. N. O. Diversidade genética em feijão-fava (*Phaseolus lunatus* L.) por marcadores morfoagronômicos e moleculares. 2011. 176p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal do Piauí, Teresina.
- SIRAIT, Y.; PILL, W. G.; KEE JUNIOR, W. E. Lima Bean (*Phaseolus lunatus* L.) response to irrigation regime and plant population density. **HortScience**, v. 29, n. 2, p. 71-71, 1994.
- SNEATH, P. H.; SOKAL, R. R. **Numerical taxonomy: The principles and practice of numerical classification**. San Francisco, H. Freeman and Co., 1973, 573 p.
- SOKAL, R. R.; MICHENER, C. D. A statistical method for evaluating systematic relationships. *Bulletin of the Society University of Kansas*, v. 38, p. 1409-1438, 1958.
- SOKAL, R. R.; ROHLF, F. J. The comparison of dendrograms by objective methods. **Taxon**, v. 11, p. 33-40, 1962.
- STANTON, W. R. **Leguminosas de grano africanas**. Roma: FAO, 1966, 162 p.
- TAUTZ, D.; TRICK, M.; DOVER, G. A. Cryptic simplicity in DNA is a major source of genetic variation. **Nature**, v. 322, p. 652-656, 1986.
- TORO, O.; TOHME, J.; DEBOUCK, D. G. **Wild bean (*Phaseolus vulgaris* L.): description and distribution**. CIAT, 1990.
- VASCONCELOS, M. J. V.; BARROS, E. G.; MOREIRA, M. A.; VIEIRA, C. Genetic diversity of the common bean *Phaseolus vulgaris* L. determined by DNA based molecular markers. **Revista Brasileira de Genética**, v. 19, n. 3, p. 447-451, 1996.
- VAVILOV, N. I. **Centros de origem das plantas cultivadas**; tradução e compilação Alfredo Lam-Sánchez. Jaboticabal: FUNEP, 1993, 45p.
- VIEIRA, R. F. A cultura do feijão-fava. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.16, n.174, p. 30-37, 1992.

VIEIRA, E. A.; ZIMMER, P. D.; OLIVEIRA, A. C.; CARVALHO, F. I. F.; MALONE, G.; BENIN, G. Emprego de modelos gráficos na seleção de genitores de milho para hibridização e mapeamento genético. **Ciência Rural**, v. 35, n. 5, p. 986-994, 2005.

VILHORDO, B. W. et al. Morfologia. **ARAÚJO, R.S.; RAVA, C.A.; STONE, L.F.; ZIMMERMAN, M.J. de O. Cultura do feijoeiro comum no Brasil. Piracicaba: Potafos**, p. 71-99, 1996.

VOS, P.; HOGERS, R.; BLEEKER, M.; REIJANS, M.; VAN DE LEE, T.; HORNES, M.; FRIJTERS, A.; POT, J.; PELEMAN, J.; KUIPER, M.; ZABEAU, M. AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. **Nucleic Acids Research**, v. 23, n. 21, p. 4407-4414. 1995.

WARD, J. H. Hierarchical grouping to optimize an objective function. **Journal of American Statistical Association**, v. 58, p. 236-244, 1963.

WATSON, J. D. **Molecular biology of the gene**. Pearson Education. India, 2004.

WILLIAMS, J. G. K.; KUBELIK, A. R.; LIVAK, K. J.; RAFALSKI, J. A.; TINGEY, S. V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetics makers. **Nucleic Acids Research**, v. 18, n. 22, p. 6531-6535, 1990.

ZIETKIEWICZ, E.; RAFALSKI, A.; LABUDA, D. Genoma fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. **Genomics**, v. 20, n. 2, p.176-183, 1994.